

DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM SUSPENSÕES DE AMOSTRAS DE VEGETAIS ORGÂNICOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM FORNO DE GRAFITE.

Cilene do Carmo Federici Padilha, Giuseppina Pace Pereira Lima, Renato de Cássio Ferreira Neves, Rafael Milantonio.
- Ciências Biológicas – Botânica - Departamento de Química e Bioquímica - Instituto de Biociências - Campus de Botucatu.

O consumo de vegetais obtidos do cultivo orgânico pela população teve um aumento significativo. Esses alimentos são considerados mais saudáveis porque, conforme descrito na literatura, apresentam maior teor de nutrientes e total ausência de agrotóxicos. Estudos sobre o teor dos microminerais nesses alimentos, principalmente em relação ao selênio, elemento este em que o teor considerado essencial à saúde humana é bem próximo da sua toxicidade, são poucos. A toxicidade e a essencialidade do selênio para os seres humanos e animais depende da concentração na qual é administrada. Sua deficiência é responsável por cardiomiopatias, distrofia muscular e desordens na reprodução em várias espécies de animais. A concentração desse micronutriente nos vegetais depende das condições do solo e do método de preparação dos alimentos. Frutos e vegetais são fontes que apresentam baixas concentrações de selênio e, além disso, uma fração significativa do elemento é perdida durante o processo de cozimento em água (OLIVEIRA, 1998).

Na determinação de selênio em amostras biológicas, um problema frequentemente encontrado é a baixa concentração desse elemento. Normalmente sua quantificação exige a utilização de técnicas com alta sensibilidade e seletividade, como por exemplo, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (FGAAS) ou por geração de hidreto (HGAAS) (ROSA et. al., 2002). A principal dificuldade encontrada na determinação do selênio é o procedimento de preparação da amostra, etapa na qual se podem perder os compostos de selênio por volatilização durante a mineralização da amostra.

Neste contexto, a determinação de analitos metálicos em suspensões por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), apresenta-se como uma técnica promissora (MINAMI et. al., 2004). Essa técnica proporciona diversas vantagens, como alta sensibilidade, limites de detecção em níveis de ng Kg^{-1} , utilização de pequenos volumes de amostra, determinação de uma ampla variedade de elementos traços e considerando-se que o atomizador pode agir como um reator químico, tem-se a possibilidade de amostragem sólida, o que elimina a etapa de decomposição prévia total da amostra (ROSA et. al., 2002; MINAMI et. al., 2004; SILVA et. al., 2006).

Considerando o exposto, neste trabalho um método simples, rápido e sensível é proposto para determinação de selênio em amostras de vegetais orgânicos por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) utilizando-se a introdução direta de suspensões das amostras no tubo de grafite do espectrômetro.

As amostras após limpeza e secagem adequada, foram moídas em grau de porcelana na presença de nitrogênio líquido até apresentarem granulometria menor que $60 \mu\text{m}$. Em seguida as suspensões das amostras foram preparadas misturando-se diretamente no copo do amostrador automático do espectrômetro 10 mg de material moído com 1 mL de solução contendo 0,005% v/v de Triton X-100 e 0,50% v/v de HNO_3 suprapuro. Após sonificação durante 20 segundos, 20 μL de suspensão foi injetada para dentro do tubo de grafite, que continha na sua parede interna película de tungstênio mais paládio, que atuaram como modificador químico permanente. Uma parte das amostras foram também mineralizadas em forno de microondas. Para isso, massas de 100 mg de amostras moídas criogenicamente, foram transferidas diretamente para os frascos de teflon do forno de microondas, adicionando-se em seguida 2,5 mL de ácido nítrico suprapuro 14 mol L^{-1} mais 0,50 mL de peróxido de hidrogênio 30% m/m. O programa de aquecimento utilizado foi o proposto no manual do equipamento.

Para determinação de selênio foi utilizado espectrômetro de absorção atômica SHIMADSU modelo AA-6800, equipado com corretor de absorção de fundo com lâmpada de deutério e sistema self-reverse (SR), tubo de grafite pirolítico com plataforma integrada e amostrador automático ASC-6100. Tubos de grafite pirolítico com plataforma integrada e recobertos internamente com W^0 e Pd^0 foram utilizados nas determinações. Suspensões padrão contendo de 2 a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Selênio foram

preparadas nas mesmas condições descritas para o preparo das suspensões das amostras de vegetais, utilizando, no entanto, 5 mg de celulose como material biológico. Soluções padrão aquosas, em meio de HNO_3 10% v/v e contendo a mesma faixa de concentração de selênio das suspensões padrão, foram também utilizadas no preparo de curvas analíticas para determinação desse micronutriente nas amostras de vegetais mineralizadas por digestão ácida utilizando forno de microondas. O programa de aquecimento utilizado nesses estudos encontra-se descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Programa de aquecimento do tubo de grafite otimizado para determinação de selênio em suspensões de amostras de vegetais.

Etapas	Temperatura (°C)	Estágios		Fluxo de Argônio (L min ⁻¹)
		Rampa (s)	Aquecimento (s)	
Secagem	90	10	0	1
Secagem	150	10	5	1
Secagem	250	10	5	1
Pirólise	1600	10	20	1
Atomização	2400	1	5	0 (leitura)
Limpeza	2800	5	0	1

A influência da temperatura de pirólise e atomização sobre sinal de absorbância obtido para o Se nas suspensões padrão são mostradas na Figura 1.

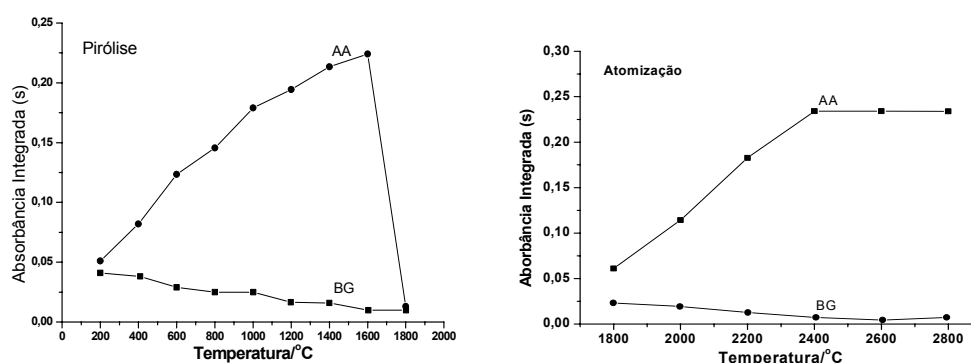


Figura 1. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização de suspensões padrão contendo 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de selênio.

Em relação à temperatura de pirólise observa-se um rápido decréscimo no sinal de absorbância a partir 1600°C, indicando que nessa temperatura todos os concomitantes da matriz orgânica foram eliminados. Com base nesse comportamento, todos os demais experimentos foram feitos utilizando essa temperatura na etapa de pirólise. Em relação à temperatura de atomização, observa-se que os sinais de absorbância obtidos para o Se são constantes a partir de 2400 °C, dessa forma, essa temperatura de atomização foi selecionada para todos os demais experimentos.

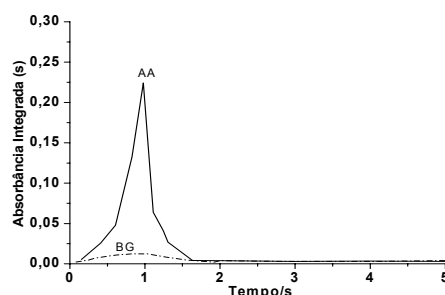


Figura 2. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) na atomização de selênio na suspensão padrão contendo 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de analito.

Na Figuras 2, são mostrados os sinais de absorbância do analito (AA) e de absorção de fundo (BG) para a suspensão padrão de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de selênio. Analisando-se a Figura 2, um sinal de absorção de fundo relativamente baixo pode ser observado. Este baixo sinal de BG demonstra a eficiência do modificador permanente W^0 com co-injeção de Pd(II) na pirólise dos concomitantes da matriz.

A Figura 3 mostra as curvas analíticas das suspensões e soluções padrão de selênio com as suas respectivas equações das retas.

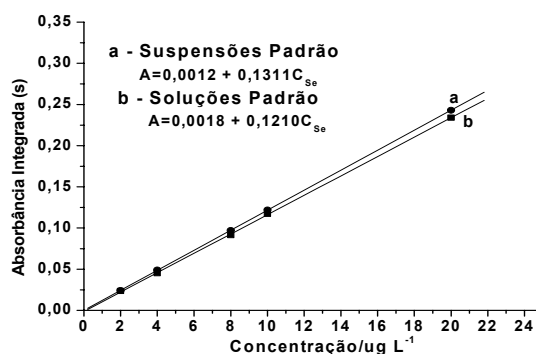


Figura 3. Curvas analíticas obtidas a partir de suspensões padrão e padrões aquosos contendo 2, 4, 8, 10, e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de selênio.

Comparando-se as curvas analíticas obtidas, observa-se que estas não apresentam diferenças significativas nas inclinações ($k = 0,1311$ para a curva das suspensões e $k = 0,1210$ para a curva de padrões aquosos). A massa característica calculada em relação à suspensão padrão de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se foi de 36 pg. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram calculados considerando o desvio padrão de 20 leituras obtidas em relação ao branco das suspensões padrão e as inclinações das curvas analíticas ($\text{LOD} = 3\sigma/\text{slope}$ e $\text{LOQ} = 10\sigma/\text{slope}$). Esses valores foram de 0,34 e 1,10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se, o que corresponde a 1,40 e 4,40 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ de Se, respectivamente (ROSA et. al., 2002). A comparação entre o valor do limite de detecção obtido pelo método proposto com o valor obtido por GFAAS utilizando padrões aquosos (0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$ of Se), mostraram-se equivalentes. O tempo de vida útil do tubo de grafite foi equivalente a 572 queimas. Considerando-se a complexidade das matrizes biológicas, a vida útil do tubo obtida para o método proposto é aceitável quando comparada com outros métodos descritos na literatura (ROSA et. al., 2002; MINAMI et. al., 2004; SILVA et. al., 2006).

Após os procedimentos de otimização, determinação do LOD e LOQ, a aplicabilidade do método desenvolvido foi testada na determinação de selênio em quatro amostras de vegetais orgânicos (pepino, morango, casca de manga e semente de abóbora). A Tabela 2 mostra os resultados obtidos utilizando-se método proposto e por GFAAS após mineralização das amostras de rações em forno de microondas.

Tabela 2. Concentração de selênio em amostras de vegetais orgânicos utilizando-se o método proposto e determinações por GFAAS após mineralização das amostras em forno de microondas.

Amostras							
Pepino ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ de Se)		Morango ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ de Se)		Casca de Manga ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ de Se)		Semente de Abóbora ($\mu\text{g Kg}^{-1}$ de Se)	
2,60±0,06*	2,40±0,04 [#]	1,70±0,04*	1,30±0,03 [#]	3,80±0,07*	3,60±0,06 [#]	3,40±0,05*	3,20±0,05 [#]

*Concentração Se determinado pelo método proposto

[#] Concentração de Se determinado por GFAAS após mineralização das amostras em forno de microondas

A comparação dos resultados obtidos nas determinações de selênio em amostras de vegetais orgânicos, mostrados na Tabela 3, indica que os valores determinados utilizando-se o método proposto

estão de acordo com os valores obtidos utilizando-se determinações por GFAAS após mineralização das amostras em forno de microondas. No entanto, como não exige a necessidade da mineralização das amostras, apresenta as vantagens de não gerar resíduos tóxicos que podem contaminar o meio ambiente e de diminuir consideravelmente o tempo das determinações analíticas.

J. E. D. OLIVEIRA. Ciências Nutricionais, Salvier, São Paulo, 1998.

C. R. ROSA, M. MORAES, J. A. G. NETO, J. A. NÓBREGA, A.R.A. NOGUEIRA. Effect of modifiers on thermal behaviour of Se in acid digestates and slurries of vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Food Chemistry, v.79, p. 517-523, 2002.

H. MINAMI, M. YADA, T. YOSHIDA, T., Q. ZHANG, S. INOUE, I. ATSUYA. Simultaneous direct determination of aluminum, calcium and iron in silicon carbide and silicon nitride powders by slurry-sampling graphite furnace AAS. Analytical Sciences, v.20, p. 455-459, 2004.

F. A. SILVA, C. C. F. PADILHA, L. E. PEZZATO, M. M. BARROS, P. M. PADILHA. Determination of chromium by GFAAS in slurries of fish feces to estimate the apparent digestibility of nutrients in feed used in pisciculture. Talanta, v.30, p.1025-1030, 2006.