

DETERMINAÇÃO DIRETA DE SELÊNIO EM ÁGUA DE COCO E EM LEITE DE COCO UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA EM FORNO DE GRAFITE**Poliana C. Aleixo e Joaquim A. Nóbrega***

Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos - CP 676 - 13560-970 - São Carlos - SP

Dário Santos Júnior e Regina C. S. Muller

Departamento de Química - Centro de Ciências Exatas e Naturais - Universidade Federal do Pará - Belém - PA

Recebido em 12/2/99; aceito em 25/8/99

DIRECT DETERMINATION OF SELENIUM IN COCONUT WATER AND COCONUT MILK USING GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. Selenium is both essential and toxic to man and animals, depending on the concentration and the ingested form. Most fruits and vegetables are poor sources of selenium, but coconut can be a good selenium source. Samples were suspended (1 + 4 v/v) in a mixture of tertiary amines soluble in water (10% v/v CFA-C). This simple sample treatment avoided contamination and decreased the analysis time. The standard addition method was adopted for quantification. The action of the autosampler was improved by the presence of the amines mixture in the suspension. A Varian model AA-800 atomic absorption spectrometer equipped with a graphite furnace and a GTA 100 autosampler was used for selenium determination in coconut water and coconut milk. Background correction was performed by means of the Zeeman effect. Pyrolytically coated graphite tubes were employed. Using Pd as chemical modifier, the pyrolysis and the atomization temperatures were set at 1400 and 2200°C, respectively. For six samples, the selenium concentration in coconut water varied from 6.5 to 21.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ and in coconut milk from 24.2 to 25.1 $\mu\text{g L}^{-1}$. The accuracy of the proposed method was evaluated by an addition-recovery experiment and all recovered values are in the 99.5-102.3% range. The main advantage of the proposed method is that it can be directly applied without sample decomposition.

Keywords: selenium; graphite furnace AAS; coconut.**INTRODUÇÃO**

Em 1967 Parizek e colaboradores mostraram que a administração de selenito em dietas diminuiu a toxicidade do HgCl_2 . Estudos têm sido feitos para elucidar o mecanismo responsável por essa relação entre selênio e mercúrio na forma orgânica (CH_3Hg) e inorgânica. Experimentos realizados com codornas japonesas e ratos mostraram que o selenito apresenta alta habilidade para liberar o CH_3Hg de certas proteínas, diminuindo a mortalidade e neurotoxicidade causada pela contaminação. A adição de selenito também foi efetiva na liberação do CH_3Hg em albumina de soro bovino e soro humano e em cisteína e glutadiona. Uma das teorias propostas é que o selênio complexa com mercúrio no sangue diminuindo a atividade desse elemento, pois o selênio, assim como S, complexa rapidamente com Hg e ambos tendem a associar-se com o S de algumas proteínas. Assim, é esperado que selênio e mercúrio ocorram juntos, como resultado dessa afinidade por S, liberando CH_3Hg dos tecidos. Os resultados de vários estudos indicam que o tratamento com selênio para exposição de CH_3Hg tem um efeito positivo na saúde dos animais pela diminuição do total de Hg armazenado em órgãos como fígado e rim¹⁻³.

Selênio é elemento essencial ou tóxico para homens e animais dependendo da concentração na qual é administrado. Sua deficiência é responsável por cardiomiopatias, distrofia muscular e desordens na reprodução em várias espécies animais. A quantidade encontrada no sangue humano é de 100 ng/mL, mas isso pode variar em função da idade, fatores médicos e região na qual o indivíduo vive. A concentração de selênio depende das condições do solo, alimentação e método de preparação

dos alimentos. Frutos e vegetais são fontes pobres em selênio e além disso uma fração significativa do elemento é perdida durante o cozimento com água⁴⁻⁵.

O coco verde pode ser uma boa fonte de minerais na alimentação, sendo um produto barato e abundante em regiões tropicais, como é o caso no norte brasileiro. A água de coco é utilizada como uma bebida saborosa e nutritiva e o leite de coco é um dos principais ingredientes na preparação de sobremesas, bebidas e molhos⁶. Contudo, do ponto de vista nutricional, o coco usado na alimentação não tem recebido intensos estudos. A análise de seus componentes químicos é limitada e restrita a certos constituintes⁷. A composição da água de coco e da polpa, depende de fatores como a variedade da palmeira, grau de maturação e natureza do solo no qual o fruto cresceu.

Na determinação de selênio um problema frequentemente encontrado é a baixa concentração do elemento, sendo necessário o uso de técnicas com alta sensibilidade e seletividade. Entre as mais empregadas para essa determinação, estão a espectrometria de absorção atômica utilizando atomização eletrotérmica (ETAAS) ou geração de hidretos (HGAAS).

Para melhorar a sensibilidade e a seletividade são adotados procedimentos de decomposição e tratamento da amostra, como pré-concentração, extração e coprecipitação. Isso pode ser uma desvantagem na análise, pois envolve o consumo de reagentes químicos e tempo de trabalho do analista. Além disso, esses procedimentos requerem elevado volume de amostra e oferecem riscos de contaminação.

A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos possibilita uma efetiva separação entre o selênio e a matriz, mas isso também envolve um pré-tratamento com riscos de perda do analito, sendo necessário o controle do estado de oxidação e, conseqüentemente, das condições de decomposição ácida. O procedimento de preparação da amostra precisa

e-mail: djan@zaz.com.br

ser cuidadosamente selecionado para prevenir a perda de compostos de selênio durante a decomposição, pois essas ocorrem a partir de 200°C.

Uma outra dificuldade na determinação de selênio é o alto fundo que torna essencial o uso de corretor. A correção do sinal de fundo pode ser efetuada com um corretor baseado no efeito Zeeman. Além disso, o uso de um modificador químico adequado possibilitará a execução da etapa de pirólise sob uma maior temperatura e uma remoção mais efetiva dos concomitantes. Usando correção do sinal de fundo e modificador químico pode se executar com sucesso a determinação direta de selênio por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS)⁸⁻⁹.

Neste trabalho foram feitas determinações diretas de selênio em amostras de água de coco naturais e industrializadas e em amostras de leite de coco utilizando GFAAS. Paládio foi empregado como modificador químico¹⁰.

A metodologia proposta para determinação direta desse elemento foi baseada naquela anteriormente proposta por Nóbrega e colaboradores¹¹, na qual amostras de leite foram diluídas com uma mistura de aminas terciárias solúveis em água e a suspensão resultante foi diretamente introduzida em um espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido (ICP-AES) ou em um espectrômetro de massa acoplado a plasma induzido (ICP-MS). Esse novo reagente está sendo empregado para a determinação direta de selênio em GFAAS, pois o uso de aminas facilita a introdução da solução ou suspensão da amostra no tubo de grafite e, conseqüentemente, melhora a repetibilidade do sinal analítico. Além disso, esse tratamento simples da amostra minimiza a ocorrência de contaminação que pode ocorrer em processos de decomposição e reduz o tempo de análise.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Varian modelo AA-800), com corretor baseado no efeito Zeeman para correção de fundo, amostrador automático, sistema de aquisição de dados OS/2, ultra-lâmpada de cátodo de selênio, operando a 15 mA, no comprimento de onda de 196,0 nm. Utilizou-se uma fenda de 1,0 nm, tubos de grafite recobertos piroliticamente e vazão de 3 L min⁻¹ de argônio como gás de purga. Esse gás foi interrompido durante a etapa de atomização (etapas 8 e 9, Tabela 1). Utilizou-se integração dos sinais para eliminar erros de leitura de sinais causados por efeitos cinéticos que possam ocorrer durante a atomização. Os volumes de amostra e de modificador químico Pd injetados no tubo de grafite foram de 10 µL. Os copos do amostrador automático foram previamente descontaminados em banhos contendo 10% v/v HNO₃ por 24 h.

Tabela 1. Programa de aquecimento para determinação de selênio. Volume injetado: 10 µL de amostra + 10 µL de modificador Pd.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Leitura
1	85	5	Não
2	95	40	Não
3	120	10	Não
4	120	5	Não
5	1400	5	Não
6	1400	1	Não
7	1400	2	Não
8	2200	2	Sim
9	2200	1,1	Sim
10	2500	2	Não

Reagentes, Soluções e Amostras

Foram utilizadas soluções estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de selênio (Merck) e 2% m/v Pd em 1% v/v HNO₃, com pureza de 99,999% (Aldrich), mistura de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C, Spectrasol, EUA) e amostras de água de coco natural e comercial e leite de coco comerciais.

Todas as soluções foram preparadas com água purificada à 18 MΩ.cm em sistema Milli-Q® (Millipore).

Um volume de 1,0 mL de amostra de água de coco ou de leite de coco foi transferido para um balão volumétrico de 5,0 mL. Adicionou-se a esse balão 50 µL de solução contendo 10 mg L⁻¹ de selênio e completou-se o volume com solução 10% v/v CFA-C. Um volume dessa mesma amostra foi igualmente diluído com a solução de CFA-C, porém sem adição de selênio. Dessa forma, o método das adições de analito foi implementado com o auto-amostrador usando essas duas soluções diluídas preparadas a partir da amostra e, conseqüentemente, a curva analítica foi obtida sem alteração da concentração de componentes da matriz. Volumes apropriados de cada uma dessas soluções foram combinados pelo auto-amostrador de tal forma a obter as seguintes concentrações de selênio adicionadas 0, 5, 10, 15 e 20 µg L⁻¹. Um volume de 10 µL do modificador químico Pd(NO₃)₂, que corresponde a uma massa de 200 µg foi adicionado a 10 mL da suspensão da amostra. Usou-se como branco analítico uma solução aquosa 10% v/v CFA-C, que foi introduzida juntamente com 10 µL da solução do modificador. O programa de aquecimento usado está apresentado na Tabela 1. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

Para determinação da exatidão do método foram feitos estudos de adição e recuperação de soluções contendo 3,0 ou 4,0 µg L⁻¹ de Se nas amostras diluídas 1+4 v/v com solução 10% v/v de CFA-C. O mesmo volume de suspensão e de modificador foi introduzido no tubo de grafite. Essas medidas também foram feitas em triplicata com o programa de aquecimento apresentado na Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de temperatura de pirólise e atomização foram obtidas com a diluição das amostras em água e em solução 10% v/v de CFA-C utilizando-se como modificador químico Pd(NO₃)₂. Para a diluição efetuada apenas com água obteve-se sensibilidade e estabilidade térmica similares àquelas encontradas em meio contendo CFA-C, porém a repetibilidade das medidas foi acentuadamente prejudicada atingindo valores de coeficientes de variação de até 40% devido a dificuldades na atuação do auto-amostrador. Esse aspecto inviabiliza a diluição em água como alternativa para preparo da amostra, mostrando que a solução de aminas é essencial para garantir a repetibilidade da introdução de alíquotas de amostras no tubo de grafite.

O leite de coco e a água de coco são matrizes orgânicas complexas que contêm gorduras e açúcares. O entupimento do capilar do auto-amostrador altera o volume da amostra coletada que será introduzida no forno. Após algumas medidas observa-se acúmulo de resíduos no tubo que causam uma interceptação do feixe de radiação incidente e dificultam as medidas devido ao alto sinal de fundo. A formação de resíduos também diminui a vida útil do tubo.

Para estabelecer as condições adequadas para emprego da solução 10% v/v CFA-C foi necessário executar um estudo do fator de diluição que deveria ser adotado para as amostras de leite de coco e água de coco. As seguintes diluições foram avaliadas: 1+1, 1+2, 1+3 e 1+4 v/v. Para os três primeiros casos os sinais de absorbância obtidos para selênio não foram proporcionais à extensão da diluição, principalmente para as amostras de leite de coco. No entanto a diluição 1+4 v/v apresentou resultados proporcionais ao teor de selênio adicionado e sinais com um menor fundo, com a eliminação dos resíduos e

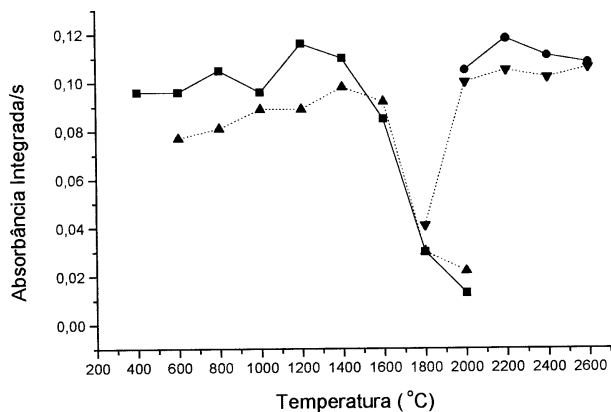


Figura 1. Curvas de temperatura de pirólise e atomização para 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Selênio em água de coco e leite de coco diluído 1+4 v/v em solução 10% v/v de CFA-C (■) Curva de pirólise para leite de coco (T atomização = 2200°C) (▲) Curva de pirólise para água de coco (T atomização = 2200°C); (●) Curva de atomização para leite de coco (T pirólise = 1400°C); (▼) Curva de atomização para água de coco (T pirólise = 1400°C). Modificador utilizado – 10 μL de Pd em HNO_3

sem o engordamento do capilar do auto-amostrador. Esses efeitos benéficos suplantam o efeito indesejável de perda de sensibilidade devido ao fator de diluição.

A quantificação do teor de selênio nas amostras foi avaliada utilizando-se dois procedimentos: curva analítica com soluções de selênio preparadas em meio ácido e o método das adições de analito. Devido aos efeitos causados pela matriz das amostras de água de coco e de leite de coco sobre o processo de atomização e também aos efeitos causados pela adição da solução de aminas às amostras o uso da curva analítica em meio ácido não se mostrou adequado. Assim, adotou-se o método das adições de analito como procedimento para quantificação. Todas as curvas obtidas pelo método das adições de analito apresentaram coeficiente de correlação linear superior a 0,9990.

Experimentos de adição e recuperação foram executados para avaliar a exatidão do procedimento proposto (Tabela 2). Os percentuais de recuperação variaram de 99,5 a 102,3%.

Tabela 2. Fatores de recuperação de selênio em experimentos de adição e recuperação.

Amostra	Teor Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Água de coco natural 1	4,0	99,5
Água de coco natural 2	3,0	101,9
Água de coco com.* 1	3,0	99,9
Água de coco com.* 2	4,0	99,7
Leite de coco 2	4,0	102,3
Leite de coco 3	4,0	100,8

* com. - comercial

A Tabela 3 contém os resultados para os teores de selênio determinados nas amostras de água de coco naturais e comerciais e leite de coco comerciais.

O limite de detecção calculado como $3\sigma_{\text{branco}} / \text{coeficiente angular}$ foi de 0,41 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água de coco e 0,29 $\mu\text{g L}^{-1}$ em leite de coco. A vida útil média do tubo de grafite foi de 270 ciclos de aquecimento para as amostras estudadas. O desvio padrão relativo para as condições de trabalho adotadas para as

amostras variou de 0,4 a 6,6%, sendo que os maiores valores ocorreram quando o tubo de grafite já estava no final de sua vida útil.

Tabela 3. Teores de selênio determinados em amostras de água de coco e leite de coco (n=3)

Amostra	Concentração de Selênio ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Água de coco natural 1	6,5
Água de coco natural 2	21,0
Água de coco com.* 1	12,3
Água de coco com.* 2	20,5
Leite de coco 2	24,2
Leite de coco 3	25,1

* com. - comercial

CONCLUSÃO

A determinação direta de selênio em GFAAS com o uso de aminas mostrou-se um método eficiente na diminuição do tempo de análise, no consumo de reagentes químicos e amostras e no risco de contaminações causadas por etapas sucessivas de manipulação da amostra. As amostras foram apenas diluídas e inseridas no tubo de grafite, não havendo acúmulo de gordura no capilar do auto amostrador e também evitando o acúmulo de resíduos de material orgânico depois da queima, melhorando dessa forma a repetibilidade do sinal analítico. Os teores de selênio determinados nas amostras de água de coco e leite de coco indicam que esses alimentos podem ser úteis como fontes de selênio facilmente disponíveis à população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela Bolsa de Mestrado concedida à P.C.A. (Processo 02530-5/98) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa concedida à J.A.N. Os autores também são gratos ao Projeto PADCT/CNPq (Processo 62.0585/94-3).

REFERÊNCIAS

- Sumino, K.; Yamamoto, R.; Kitamura, S.; *Nature* **1977**, 268, 73.
- Ganther, E. H.; Goudie, C.; Sunde, M. L.; Kopecky, M. J.; Hoekstra, W. G.; *Science* **1972**, 175, 1122.
- Glynn, A. W.; Ilback, N. G.; Brabencova, D.; Carlsson, L.; Enqvist, E. C.; Netzel, E.; Oskarsson, A.; *Biol. Trace Elem. Res.* **1993**, 39, 91.
- Arruda, M. A. Z.; Gallego, M.; Valcàrcel, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1994**, 9, 657.
- Hoenig, M.; *Analisis* **1991**, 19, 41.
- Seow, C. C.; Gwee, C. N.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **1997**, 32, 189.
- Santoso, U.; Kubo, K.; Ota, T.; Tadokoro, T.; Mackawa, A.; *Food Chem.* **1996**, 7, 299.
- Li, M.; Ni, Z. M.; Rao, Z.; *Spectrochim. Acta* **1998**, 53B, 1381
- Chen, W. K.; Yen, C. C.; Wei, B. L.; Hu, C. C.; Yu, J. J.; Chung, C.; Kuo, S. C.; *Spectrochim. Acta* **1998**, 53B, 131
- Bulska, E.; Pyrzyńska, K.; *Spectrochim. Acta* **1997**, 52B, 1283.
- Nóbrega, J. A., Gélinas, Y., Krushevska, A. e Barnes, R. M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1997**, 12, 1243.