ESTUDO DA QUANTIFICAÇÃO DE SELÊNIO(IV) EMPREGANDO DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Lucas Caixeta Gontijo^{1*}, Sebastião de Paula Eiras²

¹ Universidade Federal de Uberlândia – Escola Técnica de Saúde, Uberlândia - MG.

*E-mail: quilucas10@gmail.com

² Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica, Instituto de Química, Uberlândia - MG.

Recebido em: 15/08/2021 – Aprovado em: 15/09/2021 – Publicado em: 30/09/2021

DOI: 10.18677/EnciBio_2021C18

trabalho licenciado sob licença [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

RESUMO

Estudos analíticos foram realizados para quantificação de selênio(IV) com 2,3-diaminonaftaleno (DAN) em soluções fase única empregando determinação espectrofotométrica. As diferentes variáveis que influenciam a reação entre Se(IV) e DAN foram avaliadas e otimizadas em dois sistemas fase única através de técnicas quimiométricas. A metodologia em estudo apresentou limites de detecção de 0,07 e 0,03 mg L⁻¹ de Se(IV) na fase aquosa dos sistemas fase única água-etanol-clorofórmio e água-etanol-tolueno, respectivamente, com faixas lineares de 7,5 e 17 mg L⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: 4,5-benzopiazoselenol; fase única; selênio.

STUDY OF THE QUANTIFICATION OF Se(IV) USING SPECTROPHOTOMETRIC DETECTION

ABSTRACT

Analytical studies were performed to determine Se (IV) with 2,3-diaminonaphthalene (DAN) in single phase solutions using spectrophotometric detection. The different variables affecting the reaction between Se (IV) and DAN were studied in two single phase systems where the best conditions for complex formation 4,5-benzopiazselenol (4,5-BPS) were found. For this study used chemometrics techniques of optimization. The detection limits obtained were 0.07 and 0.03 mg L⁻¹ of Se (IV) in the aqueous portion of the single phase system water-ethanol-chloroform and water-ethanol-toluene respectively, with linear ranges from 7.5 and 17 mg L⁻¹.

KEYWORDS: 4,5-benzopiazselenol; single phase; selenium.

INTRODUÇÃO

Selênio (Se) é um elemento essencial, o qual, apresenta múltiplas funções biológicas em vários organismos. Este elemento é encontrado em pelo menos 25 selenoproteínas humanas (WANG *et al.*, 2017). Devido à importância deste elemento nos sistemas e, além deste apresentar propriedades antioxidantes e anticancerígenas, estudos da sua determinação tornam-se necessários (ARRUDA *et al.*, 1994). Assim, vários métodos analíticos têm sido estudados para sua determinação. Dentre as metodologias utilizadas na determinação deste elemento

pode-se citar: espectrofotometria UV-Visível (WEN *et al.*, 2014), absorção atômica com geração de hidreto (COELHO; BACCAN, 2004) e fluorescência atômica (WANG, *et al.*, 2017); forno de grafite (MENDIL *et al.*, 2017), cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (VRIENS *et al.*, 2015), espectrometria de massa com fonte de plasma (MACLACHLAN *et al.*, 2016; BUNCH *et al.*, 2017) e espectroscopia de raio X (QIN *et al.*, 2017). Cada método apresenta vantagens e desvantagens. Alguns métodos apresentam como desvantagem o alto custo e complexidade de operação dos instrumentos. Portanto, o interesse em desenvolvimento de metodologias que sejam sensíveis, econômicas e de fácil operação é necessário.

As quantificações de selênio podem ser determinadas espectrofotometricamente através das medidas de absorbância dos complexos piazoselenóis, formados entre selênio(IV) e *o*-diaminas. Várias *o*-diaminas tem sido empregadas na quantificação deste elemento, se destacando 2,3-diaminonaftaleno (DAN) que forma o complexo 4,5-benzopiazoselenol (4,5-BPS) (MANISH *et al.*, 1994).

Um problema encontrado no emprego destes reagentes no desenvolvimento de metodologias na quantificação deste elemento são o grande número de variáveis a serem otimizadas. Cukor e Lott (1965), estudaram os fatores que influenciam a reação entre selênio(IV) e DAN, porém os planejamentos de otimização das variáveis eram realizadas aplicando-se procedimentos de otimização univariada. Este processo de avaliação talvez não consiga obter as condições ótimas para a reação devido a possíveis interações entre as variáveis. Portanto, utilizando-se de técnicas de planejamentos experimentais podem obter do sistema em avaliação o máximo de informação útil (BARROS NETO, *et al.*, 2003).

Neste intuito, este trabalho aplicou planejamentos fatoriais para encontrar as condições ótimas das variáveis que influenciam a reação entre Se(IV) e DAN com objetivo de quantificar selênio(IV) nas soluções fase única água-etanol-clorofórmio e água-etanol-tolueno empregando detecção espectrofotométrica.

MATERIAL E MÉTODOS

Água deionizada (DDW, 18 M cm^{-1}) obtida em sistema Milli-Q (Millipore) foram empregadas para preparar as soluções contendo selênio(IV). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Solução padrão estoque de Se(IV) (1000 mg L^{-1}) foi preparada diluindo-se o teor de uma ampola contendo 1000 mg de SeO_2 (Merck) em água deionizada. As soluções padrão de trabalho foram preparadas diariamente pela diluição da solução estoque padrão. As soluções de 2,3-diaminonaftaleno foram preparadas diariamente dissolvendo-se a massa desejada de 99% m/m de DAN (Acros) em clorofórmio (Quimex) ou tolueno (Quimex). A massa de 90% m/m de dodecilsulfato de sódio (Merck) foi adicionada diretamente nas soluções fase única.

Um espectrofotômetro DR 4000U (Hach) foi empregado para as medidas do sinal analítico com células de quartzo de 3 cm de caminho óptico. As medidas de pH foram obtidas em pHmetro (Analion). Um aparelho de Ultra-Som (Ultrasonic) foi empregado na dissolução de DAN nos solventes clorofórmio e tolueno. No controle da temperatura reacional empregou-se banho termostaticado (Marconi). O complexo formado entre Se(IV) e DAN foi determinado por espectrofotometria UV-Visível.

Para dar início aos processos de otimização foram escolhidas as proporções dos solventes representadas pelos pontos A e B dos diagramas ternários de solventes (Figura 1). Na avaliação da melhor concentração de DAN foi realizado o

seguinte procedimento: adicionou-se volumes diferentes de uma solução de DAN – 0,100% m/v, em clorofórmio ou tolueno, à 1,0 mL de porção aquosa contendo Se(IV) na concentração de 10 mg L⁻¹, em pH = 2,0; e 6 mL de etanol. A seguir completou-se o volume correspondente de clorofórmio ou tolueno puro para 2,0 mL, mantendo o sistema a temperatura ambiente. Após 30 minutos obteve-se medidas de absorbância em $\lambda_{\text{máx}} = 380$ nm contra um branco de reagentes.

No processo de otimização das variáveis (tempo, temperatura e pH) foi utilizado um planejamento fatorial 2³ em ambos os sistemas. Nesta avaliação utilizou-se uma concentração de selênio igual a 10 mg L⁻¹ (na fase aquosa). No entanto, após a otimização da concentração de DAN obteve-se concentrações diferentes para cada sistema. No sistema contendo clorofórmio utilizou-se 1,0 mL de solução de DAN – 0,100% m/v e no sistema contendo tolueno este volume foi de 0,5 mL. Para completar o volume dos solventes orgânicos foram necessários adicionar clorofórmio ou tolueno puro com a finalidade de manter as proporções da fase única constantes, ou seja, 1,0:6,0:2,0 v/v. Após este estudo construiu-se a curva analítica de calibração.

No sistema água-etanol-clorofórmio utilizou-se um planejamento experimental com 11 pontos na região de fase única, enquanto no sistema contendo o solvente tolueno foram 9 pontos. Nos dois sistemas foi realizada a triplicata no ponto central. Em ambos os sistemas foram mantidas constante a concentração de selênio(IV) e de 2,3-diaminonaftaleno em 1,0 mg L⁻¹ e 0,010% (m/v), respectivamente. Após o preparo das soluções estas foram mantidas em banho termostaticado, sendo empregado uma temperatura de 23 °C (± 2) por 40 minutos para o sistema contendo clorofórmio e temperatura de 45 °C (± 2) durante 30 minutos para o sistema contendo tolueno. Ao término do tempo reacional fez-se a leitura de absorbância em 380 nm. Após o estudo desta influência foi obtida uma nova curva analítica de calibração para ambos os sistemas otimizados.

Além de todos estes procedimentos de otimização foi avaliado no sistema a influência da adição de surfactante no sinal analítico, empregando para esta finalidade o dodecilsulfato de sódio. Para este estudo, foram adicionadas diferentes quantidades em massa de SDS diretamente aos dois sistemas fase única. Neste caso, mantiveram-se todas as demais variáveis constantes. Para o sistema água-etanol-clorofórmio mantendo as seguintes condições: pH = 1,0; tempo de 40 minutos, temperatura de 23 °C, concentração de Se(IV) igual a 10 mg L⁻¹ (na porção aquosa), concentração de DAN igual a 0,010% m/v (na fase única) e composição dos solventes iguais a 2,0:4,0:1,0 (v/v). No sistema água-etanol-tolueno manteve-se pH = 1,0; tempo reacional de 30 minutos; temperatura de 45 °C; concentração de Se(IV) igual a 10 mg L⁻¹ (na porção aquosa), concentração de DAN igual a 0,010% (m/v) (na fase única) e composição 2,0:12,0:1,0 (v/v), respectivamente para os solventes água, etanol e tolueno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente as proporções dos solventes para formação da fase única (FU) foram escolhidas aleatoriamente conforme indicados pelos pontos A e B na Figura 1. Assim para preparar a fase única adicionou-se 1,0 mL de água deionizada ou proporção contendo o analito de interesse, 6,0 mL de etanol e, por fim, 2,0 mL de clorofórmio ou tolueno ou frações destes para manter sempre as proporções fixas.

FIGURA 1. Representação dos diagramas ternários obtidos à 25 °C. As composições em volumes de ambos os sistemas foram 1:6:2 v/v, respectivamente para os solventes (a) água-etanol-clorofórmio (ponto A) e (b) água-etanol-tolueno (ponto B).

Fonte: Autores (2021)

No processo de determinação da melhor concentração do complexante DAN no sistema água-etanol-clorofórmio mostrou que um máximo na conversão de Se(IV) no complexo 4,5-BPS foi obtido quando se adicionou aproximadamente 50 vezes o excesso de DAN. Para a otimização das variáveis: pH, tempo e temperatura foi empregado um planejamento fatorial 2^3 . A partir dos valores dos efeitos de cada variável estes foram analisados aplicando-se o gráfico das normais dos efeitos. Os resultados demonstraram que a variável tempo, mostrou-se independente e ocorreu um efeito significativo da interação entre as variáveis pH e temperatura. Portanto, estas duas variáveis influenciam mutuamente. Desta forma, a variável tempo foi otimizada univariadamente encontrando como tempo ótimo de reação 40 minutos. Para a otimização das variáveis pH e temperatura estas foram otimizadas utilizando-se planejamento fatorial 2^2 completo, no qual, foi obtido uma superfície de resposta (Figura 2).

FIGURA 2. Dados de saída do processo de otimização das variáveis pH e Temperatura no sistema água-etanol-clorofórmio. (a) Superfície de resposta e (b) linhas de contorno.

Fonte: Autores (2021)

Analisando a Figura 2b que são as linhas de contorno da superfície (Figura 2^a) verifica-se que os dados matemáticos sugerem 4 possibilidades de tendência no sentido de aumentar o sinal analítico (ΔAbs). Duas destas possibilidades são elevar a temperatura e o valor de acidez. O aumento de temperatura no sistema indica ser indesejável, já que, poderá perder-se solvente por evaporação. Assim, optou-se em diminuir a temperatura para encontrar as melhores condições reacionais. O aumento do pH da fase aquosa não é satisfatório devido a reação química ser dependente de meio ácido para ocorrer (LOTT *et. al.*, 1963). Portanto, o processo adotado para continuar o estudo da influência destas variáveis foi diminuir simultaneamente tanto a temperatura quanto o pH. Neste caso, os melhores resultados encontrados foram pH = 1,0 e temperatura reacional igual a 23 °C. Após a otimização destas variáveis foi obtida uma curva analítica de calibração cujas figuras de mérito estão descritas na Tabela 1.

Para o sistema contendo água-etanol-tolueno os resultados encontrados mostraram um máximo na conversão de Se(IV) no complexo 4,5-BPS quando se adicionaram aproximadamente 25 vezes o excesso de DAN. A análise das variáveis: pH, tempo e temperatura foram realizadas aplicando um planejamento fatorial 2^3 com análise das normais dos efeitos. A análise das normais dos efeitos revelou que as três variáveis são independentes. Portanto, aplicou-se o processo de otimização univariada encontrando-se como valores ótimos pH igual a um, tempo de 30 minutos e temperatura reacional de 45 °C. As figuras de mérito da curva analítica de calibração obtida estão apresentadas na Tabela 1.

Na avaliação da melhor proporção entre os solventes foram escolhidos 11 pontos na região de fase única do sistema água-etanol-clorofórmio para avaliar o aumento do sinal analítico referente apenas ao emprego dos solventes. Os resultados foram avaliados através de programas estatísticos (BARROS NETO *et al.*, 2003) obtendo-se a equação do modelo quadrático conforme Equação 1.

$$\Delta\text{Abs} = 0,1767X + 0,1728Y + 0,1382Z + 0,1180XY + 0,0345XZ + 0,6003YZ \quad (1)$$

onde X = fração de etanol; Y = fração de água e Z = fração de clorofórmio.

Com a equação 1 foi possível obter as linhas de contorno que indicam o máximo e mínimo da influência da composição dos solventes no sinal analítico (Figura 3).

FIGURA 3. Resultado do estudo da proporção dos solventes na influência do sinal analítico para o sistema água-etanol-clorofórmio. As linhas tracejadas representam trajetórias hipotéticas na tendência da superfície.

Fonte: Autores (2021)

Analisando-se a Figura 3, a região I é a que indica uma maior influência da composição dos solventes, ou seja, região de máxima absorbância. Portanto, adotou-se uma proporção nesta região (2,0; 3,0 e 1,0 mL) para obter uma nova curva analítica de calibração. Os resultados das figuras de mérito após esta otimização de misturas estão descritos na Tabela 1.

No sistema água-etanol-tolueno foram escolhidos 9 pontos na região de fase única para avaliar o aumento do sinal analítico referente ao emprego dos solventes. Os resultados foram avaliados através de programas estatísticos obtendo-se a equação do modelo quadrático conforme Equação 2.

$$\Delta\text{Abs} = 0,1830X - 0,1972Y - 0,1661Z + 0,5117XY + 0,2259XZ + 1,0245YZ \quad (2)$$

onde X = fração de etanol; Y = fração de água e Z = fração de tolueno.

Utilizando-se a Equação 2 obteve-se as linhas de contorno (Figura 4) que indicam as regiões de maior influência no sinal analítico. Verificando estas linhas a região em que ocorre um máximo de absorbância é a região representada pela letra I. A partir desta informação, escolheu-se um ponto dentro desta região para construção de uma nova curva analítica de calibração. A proporção adotada foi 0,16:0,77:0,07 (m/m) que corresponde em volumes a 2,0:12,0:1,0 mL, respectivamente para água-etanol-tolueno. As figuras de mérito obtidas após este processo de otimização estão apresentadas na Tabela 1.

FIGURA 4. Resultado do estudo da proporção dos solventes na influência do sinal analítico para o sistema água-etanol-tolueno. As linhas tracejadas representam trajetórias hipotéticas na tendência da superfície.

Fonte: Autores (2021)

A presença de surfactantes pode melhorar a solubilidade de compostos não polares ou pouco polares e também podem aumentar a sensibilidade em medidas espectrofotométricas (HUANG *et al.*, 1996). Nesta perspectiva, no sistema contendo clorofórmio observou-se que quando foram adicionados 40 mg de SDS houve um aumento do sinal analítico de aproximadamente 10%, portanto obteve-se uma nova curva de calibração. Para o sistema contendo tolueno não foi observado ganho significativo de resposta até uma massa de 200 mg de SDS adicionada.

Nos processos de otimização das variáveis, estudo de misturas e adição de SDS foram obtidas suas respectivas curvas de calibração. A Tabela 1 informa as figuras de mérito obtidas em cada uma e o ganho de sensibilidade após cada estágio de otimização.

TABELA 1. Figuras de mérito das curvas analíticas de calibração obtidas em cada estágio de otimização

Sistema	Curva de calibração	Figuras de mérito				Ganho*
		Sensibili- dade	Linearidade, mg L ⁻¹	<i>I.d</i> , mg L ⁻¹	<i>L.Q</i> , mg L ⁻¹	
Água-etanol- clorofórmio	Após estudo das variáveis	0,024	30	0,4	1,8	---
	Após otimização de misturas	0,037	30	0,2	1,3	54%
	Após adição de SDS	0,041	7,5	0,07	0,23	70%
Água-etanol- tolueno	Após estudo das variáveis	0,024	20	0,2	1,1	---
	Após otimização de misturas	0,036	25	0,03	0,63	50%

* Ganho de sensibilidade em relação à curva analítica sem otimização de misturas

A partir da Tabela 1 observa-se que o estudo da otimização da proporção entre os solventes demonstrou ganhos significativos na sensibilidade analítica para ambos os sistemas. Isto demonstra que no desenvolvimento de metodologias é muito importante que se empreguem métodos quimiométricos de otimização. No caso do sistema contendo clorofórmio ainda foi possível obter melhores condições no sinal analítico com a utilização do surfactante SDS, chegando a obter ganho aproximado de 70%. Além disso, verifica-se que o sistema contendo tolueno ocorre melhores limites de detecção e quantificação (*I.d* e *L.Q*).

CONCLUSÃO

O emprego de misturas homogêneas de solventes (solução fase única) após otimizações, através de planejamentos experimentais, melhorou significativamente a sensibilidade analítica com ganhos superiores a 50%. Isto garante à metodologia proposta competitividade com os outros métodos propostos visto que apresenta condições similares ou até melhores que vários métodos já estudados. Portanto, a determinação de Se(IV) com DAN em misturas homogêneas de solventes é viável e ainda permite a possibilidade de pré-concentração tornando-se uma metodologia competitiva.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, M. A. Z.; GALLEGOS, M.; VALCÁRCEL, M. Determination of selenium in fruit juices by flow injection electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. v. 9, p. 657-662, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/JA9940900657>.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos – pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**, 2ª ed., Editora da Unicamp, Campinas - SP, 2003.
- BUNCH, D. R.; CIESLAK, W.; WANG, S. Whole blood selenium determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Clinical Biochemistry**. v. 50, p. 710-713, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.01.013>.
- COELHO, N. M. M.; BACCAN, N. Determinação de ultratraços de selênio em urina por geração de hidretos e espectrometria de absorção atômica em fluxo. **Eclética Química**. v. 29(1), p. 7-14, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702004000100001>.
- CUKOR, P.; LOTT, P. F. The Kinetics of the Reaction of Selenium (IV) with 2,3-Diaminonaphthalene. **The Journal of Physical Chemistry**. v. 69, p. 3232-3239, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/j100894a002>.
- HUANG, X.; JIE, N.; ZHANG, W.; YIN, Y.; SHAO, H. Study on the spectrophotometric determination of micro amounts of selenium(IV) with 2,3-diaminonaphthalene in the presence of sodium dodecylsulphate. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**. v. 354, p. 195-199, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/PL00012712>.
- LOTT, P. F.; CUKOR, P.; MORIBER, G.; SOLGA, J. 2,3-Diaminonaphthalene as a Reagent for the Determination of Milligram to Submicrogram Amounts of Selenium. **Analytical Chemistry**. v. 35, p. 1159-1163, 1963. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac60202a056>.
- MACLACHLAN, D. J.; BUDD, K.; CONNOLLY, J.; DERRICK, J.; PENROSE, L.; TOBIN, T. Arsenic, cadmium, cobalt, copper, lead, mercury, molybdenum, selenium and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 50, p. 97-107, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.015>.
- MANISH, R.; RAMACHANDRAN, K. N.; GUPTA, V. K. Extraction spectrophotometric determination of selenium(IV) with J acid in environmental samples. **Talanta**. v. 41(10), p. 1623-1626, 1994. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(94\)E0084-5](https://doi.org/10.1016/0039-9140(94)E0084-5).
- MENDIL, D.; DEMIRCI, Z.; ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. A new separation and preconcentration method for selenium in some foods using modified silica gel with 2,6-diamino-4-phenyl-1,3,5-triazine. **Food Chemistry**. v. 221, p. 1394-1399, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.014>.
- QIN, H.; ZHU, J.; LIN, Z.; XU, W.; TAN, D.; ZHENG, L.; TAKAHASHI, Y. Selenium speciation in seleniferous agricultural soils under different cropping systems using

sequential extraction and X-ray absorption spectroscopy. **Environmental Pollution**. v. 225, p. 361-369, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.062>.

VRIENS, B.; MATHIS, M.; WINKEL, L. H. E.; BERGA, M. Quantification of volatile-alkylated selenium and sulfur in complex aqueous media using solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**. v. 1407, p. 11-20, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.06.054>.

WANG, M.; ZHONG, Y.; QIN, J.; ZHANG, Z.; LI, S.; YAHNG, B. Determination of total selenium in food samples by d-CPE and HG-AFS. **Food Chemistry**. v. 227, p. 329–334, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.096>.

WEN, X.; ZHANG, Y.; LI, C.; FANG, X.; ZHANG, X. Comparison of rapidly synergistic cloud point extraction and ultrasound-assisted cloud point extraction for trace selenium coupled with spectrophotometric determination. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 123, p. 200-205, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.12.074>.