

## **COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE DIGESTÃO DE AMOSTRAS DE CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* *H.B.K.*) PARA ANÁLISE DE SELÊNIO**

\* S. C. Freitas<sup>1</sup>, T. S. Silva<sup>1</sup>, J. O. Santos<sup>1</sup>, E. S. Simas<sup>1</sup>

1- Embrapa Agroindústria de Alimentos – Av. das Américas, 29501 – CEP: 23020-470 – Rio de Janeiro – RJ – Brasil, Telefone: (xx-21)3622-9777 – Fax: (xx-21)3622-9713 – e-mail: ([sidi@ctaa.embrapa.br](mailto:sidi@ctaa.embrapa.br))

**RESUMO** – Em virtude da importância do selênio (Se) e de sua presença significativa na castanha-do-brasil, objetivou-se neste trabalho avaliar dois métodos de digestão na análise do teor de Se em castanhas de ouriços procedentes do Estado do Pará, uma vez que estudos anteriores apresentam resultados da grande variabilidade entre castanhas individuais e misturas. Neste estudo priorizou-se a avaliação do teor de selênio por ouriço, homogeneizando as castanhas contidas no mesmo. Dois métodos de digestão foram testados: o primeiro por via úmida, que consiste na reação com os ácidos nítrico e perclórico a quente, e o segundo usando energia de micro-ondas, com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. Aos resultados obtidos foram aplicados os testes T-Student e ANOVA, que demonstraram haver igualdade entre eles num intervalo de confiança de 95%.

**ABSTRACT** – Considering the importance of selenium (Se) and its significant presence in Brazil nut, this study aimed to evaluate the concentration of total Se found in nut shells of Brazil nut grew in the State of Para. Previous studies show a considerable variability in Se level results among individual nuts. This study prioritized the evaluation of the content of selenium per shell by homogenization of all nuts found in the same shell. Two digestion methods were tested: the first, called wet digestion, the reaction was carried out in presence of heated nitric and perchloric acids, and the second using microwave energy, with nitric acid and hydrogen peroxide. Statistical analysis by Student's t and ANOVA tests showed a variation between the levels of Se analyzed and the methods used are equivalent to a confidence level of 95%.

**PALAVRAS-CHAVE:** via úmida; micro-ondas; ICP.

**KEYWORDS:** wet digestion; microwave; ICP.

### **1. INTRODUÇÃO**

O selênio é um elemento traço que, apesar de possuir uma importante função antioxidante, apresenta um efeito nocivo quando ingerido em excesso, e a diferença entre a ingestão recomendada e aquela que produz toxidez é muito pequena. O Se é um microelemento essencial, que está associado à selenoproteínas, muitas das quais são enzimas que protegem contra a oxidação descontrolada no organismo.

Tem sido demonstrado que o conteúdo de selênio em castanha-do-brasil pode variar consideravelmente. Reilly (1999) citou que a faixa média de selênio encontrada em castanha-do-brasil,

analisadas individualmente, foi de 3,6 mg/100g, alcançando níveis de 51,2 mg/100g, sendo esta variação atribuída à eficiência biológica da planta de capturar selênio do solo. Freitas et al (2004) relataram que o valor médio encontrado para castanhas individuais foi 5,20 mg/100g (com variação de 0,18 a 32,08 mg/100g) e que, considerando o peso médio de uma castanha, pode-se aferir que a ingestão de uma castanha pode resultar no consumo de cerca de 178 µg de Se, em média, o que neste caso levaria a um consumo acima da recomendação diária que é de 55 µg/dia.

Barclay et al. (1996) analisaram 700 amostras de alimentos e verificaram que a maior concentração de Se foi encontrada em castanha-do-brasil, com um teor máximo de 0,254 mg/100g.

Relatórios recentes do Institute of Medicine e Food and Nutrition Board da US National Academy of Sciences (2000) reportam valores de UL (limite de ingestão máxima tolerável) para o selênio de 400 g/dia para adultos. Para Amaya-Farfan et al. (2001), este limite foi fixado porque acima desta ingestão o risco de selenose torna-se considerável.

O nível de selênio necessário para causar toxicidade em humanos não é conhecido, mas aproximadamente 5 mg/dia resultou em perda de cabelos e unhas fracas e 13 pessoas sofreram intoxicação por Se após ingestão de suplemento de 27,3 mg de Se por tablete (RDA, 1989).

Para a determinação de espécies químicas de interesse por Espectrometria de Emissão Atômica em matrizes biológicas, é necessário primeiramente oxidar a matéria orgânica presente. No entanto, é nesta etapa de tratamento da amostra que se cometem mais erros e que se consome mais tempo.

A digestão da amostra é um método que converte os componentes da matriz em formas químicas mais simples. Esta digestão é realizada pela adição de reagentes tais como ácidos, ou por aplicação de energia, ou por combinação dos dois métodos. A energia utilizada pode ser a elétrica ou micro-ondas. O reagente usado depende da natureza da matriz. A quantidade de reagente é ditada pelo tamanho da amostra e pela sensibilidade do método de quantificação. A técnica de tratamento de amostras através da radiação por micro-ondas é bastante utilizada na química analítica, principalmente na digestão de amostras biológicas.

O procedimento de preparação da amostra é crítico na obtenção dos resultados. A digestão úmida, que é realizada em vaso aberto, além de necessitar de tempo longo para ser completada, pode ocasionar perda de elementos e contaminação, enquanto que a digestão por micro-ondas, que é realizada em vaso fechado e sob pressão, requer tempo curto para ser completada, porém, é um procedimento mais caro devido ao valor do digestor e de seus acessórios.

Neste trabalho dois métodos de digestão foram comparados: o primeiro, por via úmida, que consiste na reação com os ácidos nítrico e perclórico a quente, e o segundo, usando energia de micro-ondas, empregando como reagentes o ácido nítrico e peróxido de hidrogênio.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostra

Foram avaliados 12 ouriços com cerca de 8 a 21 castanhas-do-brasil procedentes de Belém (PA).

### 2.2 Método 1

A mineralização foi realizada por via úmida ( $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ ), em bloco digestor. Usou-se  $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  (2:1) e aquecimento em bloco a 100°C por 8 horas.

### 2.3. Método 2

As amostras foram preparadas em digestor de micro-ondas, marca Millestone, seguindo programação adequada.

## 2.4. Quantificação

Amostras avolumadas para 50 mL e leitura realizada em espectrofotômetro por plasma induzido (ICP), utilizando uma curva de calibração de 5 pontos nas concentrações de 0, 1, 2, 3 e 5 mg/L. Usou-se o método 990.08 - AOAC (HOROWITZ, 2005).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de Se por digestão via úmida e via micro-ondas podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados da análise de Se obtidos por digestão via úmida e por micro-ondas

Amostra	Via úmida			Micro-ondas		
	rep1	rep2	média	rep1	rep2	média
1	20,82	20,87	20,84	18,44	19,02	18,73
2	11,83	11,64	11,73	10,42	11,23	10,83
3	6,33	5,53	5,93	6,01	6,26	6,13
4	25,37	24,54	24,96	25,00	24,05	24,53
5	22,36	23,13	22,74	23,77	21,79	22,78
6	41,49	39,93	40,71	38,80	37,36	38,08
7	13,09	14,43	13,76	14,54	13,84	14,19
8	28,30	33,57	30,94	39,85	36,93	38,39
9	32,62	30,49	31,55	29,37	28,59	28,98
10	7,45	6,71	7,08	7,44	7,73	7,58
11	12,58	11,55	12,06	11,93	12,16	12,04
12	19,86	20,48	20,17	20,08	19,92	20,00

Aos resultados obtidos aplicou-se o teste T-Student, a fim de se verificar a concordância entre eles. Uma vez que o valor de stat t foi menor que t crítico unicaudal, pode-se, então, afirmar com 95% de confiança, que os métodos de digestão são concordantes.

Aplicando-se o teste da ANOVA nas replicatas das amostras, pode-se confirmar que os métodos de digestão são equivalentes, demonstrado pelo valor de F que apresentou valor maior que  $F_{\text{crítico}}$ .

Morgano et al.(1999) não relataram equivalência entre os métodos, porém, notaram maior exatidão na digestão úmida e maior precisão na digestão por micro-ondas.

Dada a complexidade da matriz em análise, que neste caso possui um teor alto de gordura, verifica-se que a etapa de digestão é a mais limitante, pois para se obter repetibilidade é necessária que a matriz seja levada ao menor tamanho de partícula possível e que toda a matéria orgânica seja destruída, resultando em baixo valor residual de carbono, sem que ocorram perdas por volatilização e projeção.

Pode-se então afirmar que as operações preliminares à quantificação das espécies químicas de interesse são as que contribuem para as maiores variações na análise das espécies.

#### 4. CONCLUSÕES

Pode-se aferir que para análise de Se em castanha-do-brasil, tanto a digestão por via úmida como por via micro-ondas, reportam resultados sem diferenças significativas ao nível de 95%.

O método empregado de digestão depende dos objetivos do estudo, dos elementos ou compostos a serem analisados e, inclusive, das potencialidades do laboratório, da natureza da matriz, da simplicidade, do custo e da segurança operacional.

O processo de via úmida é mais simples, contudo, como é realizado em vaso aberto, está mais propenso à perda de analitos por projeção ou por contaminação oriunda do ambiente e requer longo tempo para a completa reação, enquanto que a digestão via micro-ondas é rápida, não sofre contaminação ambiental, não há perdas por volatilização e projeção, porém, é um processo mais caro, devido ao alto preço do equipamento e acessórios.

#### 5. AGRADECIMENTOS

À FAPERJ, pelo financiamento fornecido ao projeto.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAYA-FARFAN, J. DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. *Revista de Nutrição*, Campinas, v.14, n. 1, p. 71-78, 2001.

BARCLAY, M. N. I.; MACPHERSON, A.; DIXON, J. Selenium content of a range of UK foods. *J. Food Composition and Analysis*, San Diego, v. 6, n. 4, p. 307-318, 1995.

FREITAS, S. C.; ANTONIASSI, R.; FELBERG, I.; SANTOS, N. S. Selênio em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2004. 2 p. (Comunicado Técnico, 71). Disponível em: <<http://www.ctaa.embrapa.br/produtos/pdf/ct71-2004.pdf>>. Acesso: 18 jan. 2010.

HOROWITZ, W. (Ed.) *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists AOAC*. 18.ed. Gaithersburg, Maryland:, 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE. (Estados Unidos) DRI – *Dietary references intakes for Selenium*. Washington: National Academy, 2000, 506p. Disponível em: <[http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI//DRI\\_Vitamin\\_C/284-324\\_150.pdf](http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI//DRI_Vitamin_C/284-324_150.pdf)>. Acesso: 11 de jan. 2010.

MORGANO.M.A.; QUEIROZ, S.C.N.; FERREIRA, M.M.C. Determinação dos Teores de Minerais em Sucos de Frutas por Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.19, n.3, p.344-348. 1999.

RDA – *Recommended Dietary Allowances*, National Research Council, 10th Ed., National Academic Press, Washington, 1989.

REILLY, C. Brazil nuts – the selenium supplement of choice? *BNF-Nutrition Bulletin*, London, v. 24, n.88, p. 177-184, 1999.