

# CONTEÚDO DE SELÊNIO EM AMOSTRAS DE LEITE, QUEIJOS E ACHOCOLATADOS

Carmen S. Kira<sup>1</sup>; Vera A. Maihara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Adolfo Lutz  
Seção de Equipamentos Especializados- Divisão de BQ  
Av. Dr. Arnaldo 355, Cerqueira César,  
01246-902 - São Paulo  
carmkira@ial.sp.gov.br

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)  
Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica  
Caixa Postal 11049, CEP 05422-970, São Paulo, SP  
vmaihara@ipen.br

## RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo contribuir com dados de concentração de selênio em amostras comerciais de leite em pó, diferentes tipos de queijos e achocolatados, adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo, utilizando-se a técnica de Análise por Ativação com Nêutrons. A sua grande vantagem, em relação às demais técnicas, é que a amostra pode ser analisada sem prévia dissolução. Após irradiações de 8 horas em fluxos de nêutrons de  $10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  no reator IEA-R1, os teores de Se foram determinados por espectrometria gama. A validação da metodologia foi efetuada com os materiais de referência NIST Whole Milk Powder e Non Fat Milk Powder. Os teores de Se nas amostras analisadas foram menores de  $0,300 \mu\text{g g}^{-1}$ .

## 1. INTRODUÇÃO

Os alimentos constituem-se uma fonte primária de selênio para o homem e, uma vez que este elemento é essencial, a sua determinação é de fundamental importância. No entanto, informações a respeito do conteúdo de selênio em alimentos de diferentes países, particularmente o Brasil, são limitadas.

Em muitas regiões do mundo, o nível de Se no solo geralmente reflete a sua condição na população. Solos com teores menores de  $0,05 \mu\text{g g}^{-1}$  de Se propiciam dietas com concentrações menores de  $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ , e em geral provocam deficiência neste elemento. Por outro lado, solos com teores maiores de  $5 \mu\text{g g}^{-1}$  contribuem com dietas que promovem a intoxicação por esse elemento [1].

Nos alimentos, a biodisponibilidade do Se depende de sua forma química. Geralmente, formas orgânicas do elemento são mais biodisponíveis e menos tóxicas que suas formas inorgânicas (selenitos e selenatos). Alimentos com alto teor de proteínas representam uma rica fonte de Se [2].

Leite e seus derivados possuem uma matriz complexa, com altos teores de compostos orgânicos e as análises desses alimentos geralmente envolvem processos de digestão que

podem levar a possíveis perdas e contaminações para a determinação de baixos teores de micronutrientes, como o selênio [3].

Níveis reduzidos de Se nas células e tecidos têm como consequência concentrações menores da enzima glutathiona peroxidase, resultando em maior suscetibilidade das células e dos organismos aos danos oxidativos induzidos pelos radicais livres [4].

A técnica de análise por ativação instrumental (AANI) tem sido utilizada para a determinação de micronutrientes, em alimentos como leite, queijos e achocolatados. A sua grande vantagem, em relação aos demais métodos, é que a amostra pode ser analisada sem prévia dissolução[5-6].

No presente trabalho a AANI foi aplicada para a determinação de selênio em amostras de leite em pó, queijos e achocolatados. As amostras foram adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo. Após irradiações de 8 horas em fluxos de nêutrons de  $10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  no reator IEA-R1, os teores de Se foram determinados por espectrometria gama.

A validação da metodologia foi efetuada com os materiais de referência NIST Whole Milk Powder e Non Fat Milk Powder.

## **2 - PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. Coleta e preparação das amostras para análise:**

Cerca de 1 kg de amostra de leite em pó (de três diferentes marcas de mercado) dos tipos integral e desnatado; cerca de 1 kg dos queijos do tipo prato, parmesão, mussarela, minas e de búfala e 1 lata de 250g de achocolatado (de duas marcas diferentes) foram adquiridos em supermercados da cidade de São Paulo.

As amostras de leite em pó e dos achocolatados foram analisadas sem tratamento prévio. As amostras de queijos foram trituradas e homogeneizadas em um multiprocessador cujas lâminas eram de titânio, para evitar contaminação pelo aço-inox das lâminas. Em seguida, as amostras de queijo foram colocadas em bandejas e espalhadas em finas camadas em placas de Petri, congeladas por 24 horas e levadas ao liofilizador (modelo 30P2- Edwards), por cerca de 36 horas. Após a liofilização, as amostras foram trituradas novamente e acondicionadas em sacos plásticos, previamente desmineralizados com solução diluída de  $\text{HNO}_3$  e enxaguados com água Milli-Q.

### **2.2- Determinação de umidade**

Para a determinação de umidade foram utilizadas duas metodologias diferentes: para as amostras de leite em pó e achocolatado e outra para as amostras de queijo

#### **2.2.1- Determinação de umidade para as amostras de leite em pó e achocolatados**

Cerca de 2 g de amostra foram pesados em pesa-filtros, previamente tarados e colocados em estufa a  $105^\circ\text{C}$  por 2 horas. A seguir foram pesados e colocados novamente na estufa até obter o peso constante.

## 2.2.2 - Determinação da umidade para as amostras de queijo

Pesou-se, em cápsula de porcelana, aproximadamente 10 g de areia purificada e dois bastões de vidro apoiados na borda do recipiente, que foram colocados em estufa a 103°C, por 2 horas. Deixou-se resfriar em dessecador e pesou-se a cápsula com areia. Cerca de 3g da amostra foram pesadas na cápsula que foram misturadas com a areia, com auxílio dos bastões de vidro. Deixou-se secar em estufa a 103°C, por 3 horas, resfriou-se em dessecador e pesou-se a cápsula. Retornou-se à estufa por 30 minutos, resfriou-se em dessecador e pesou-se a cápsula novamente. Esta operação foi repetida até se obter peso constante [7].

## 2.3- Preparação e irradiação das amostras e padrão

Cerca de 250 mg das amostras de leites, achocolatados e dos queijos liofilizados foram pesados em sacos de polietileno, previamente limpos, assim como os materiais de referência NIST SRM Whole Milk Powder e Non Fat Milk Powder.

O padrão de selênio foi preparado pipetando-se cerca de 5 µg da solução padrão de Se (1000 µg ml<sup>-1</sup> da Spex) em tiras de papel Whatman 40, de dimensões de 2,0 x 2,0 cm, os quais foram secas sob lâmpadas de raios infra-vermelhos. Os papéis de filtro assim preparados foram acondicionados em envelopes de polietileno para serem posteriormente irradiados com as amostras.

As amostras, materiais de referência e padrão de Se foram irradiados por 8 horas em fluxos de nêutrons térmicos de  $2,3 \times 10^{13} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  no reator IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP.

As medidas das atividades gama induzidas foram feitas com detector de germânio hiperpuro modelo POP TOP da EG&G ORTEC, com uma resolução de 1,90 keV para o pico de 1332,49 keV do <sup>60</sup>Co, acoplado a uma eletrônica associada. As análises dos espectros de raios gama e a quantificação do elemento determinado foram feitas com os programas VISPECT2 e ESPECTRO, usados para localizar os picos e calcular as concentrações, respectivamente.

## 2.4- Validação da metodologia

A validação da metodologia foi feita pela análise dos materiais de referência NIST SRM 8435 Whole Milk Powder e SRM 1549 Non Fat Milk Powder, nas mesmas condições de análise das amostras de leite e dos produtos lácteos.

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

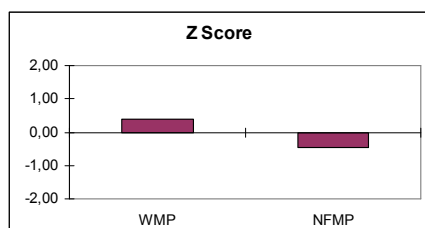
A Tabela 1 mostra os resultados obtidos na determinação de selênio nos dois materiais de referência certificados. Os resultados obtidos mostraram boa concordância com os valores certificados.

**Tabela 1: Resultados de selênio nos materiais de referência analisados por AANI**

Elemento	NIST SRM 8435 Whole Milk Powder		SRM 1549 Non Fat Milk Powder	
	Valor Obtido	Valor certificado	Valor Obtido	Valor certificado
Se ng g <sup>-1</sup>	134 ± 5 (6) <sup>a</sup>	130 ± 14	106 ± 11 (6) <sup>a</sup>	110 ± 10

a: média de seis determinações

A Figura 1 mostra os resultados obtidos de acordo com o critério de z score. O critério de z-score foi calculado utilizando a função de Horwitz [8]. Se  $|z| < 2$ , o valor é considerado satisfatório, dentro do nível de confiança de 0,05 do valor recomendado. Os valores obtidos para z foram 0,40, -0,45, respectivamente para o SRM Whole Milk Powder e Non Fat Milk Powder. Portanto, os valores de Se determinados nos materiais de referência, nestas condições de análise, foram bastante satisfatórios.



**Figura 1: Valores de z score para os materiais de referência**

As concentrações de selênio nas amostras de leite em pó, achocolatados e nos queijos, determinados pela AANI são mostrados na Tabela 2. As concentrações médias e o desvio padrão foram obtidos analisando de 2 a 4 alíquotas de cada amostra.

Os limites de detecção para Se, determinados no presente trabalho pelo critério da IUPAC [9], foram: 50 ng g<sup>-1</sup> para as amostras de leite em pó, 40 ng g<sup>-1</sup> para as amostras de queijo e 20 ng g<sup>-1</sup> para os achocolatados.

As concentrações de Se para as diferentes marcas de leite em pó variaram de 76 a 235 ng g<sup>-1</sup> em peso seco. Os valores de Se mais elevados foram encontrados na amostra de queijo de búfala (302 ng g<sup>-1</sup>), enquanto que os menores valores foram obtidos no achocolatado (42 ng g<sup>-1</sup>).

Há poucos dados na literatura a respeito dos níveis de Se em leite e derivados no Brasil. Aleixo & Nóbrega. [3] determinaram Se em leite bovino e a concentração variou de 17 a 22 µg L<sup>-1</sup>. Nas tabelas de composição de alimentos existentes no Brasil [10,11], não existem dados de teores de selênio nos alimentos brasileiros.

**Tabela 2: Concentração de Se nas amostras de leite em pó, achocolatados e nos queijos (em ng g<sup>-1</sup> peso seco)**

Concentração de selênio em ng g <sup>-1</sup>				
		Média ± DP	DP rel. %	n
Leite em Pó	Integral Marca A	235 ± 2	0,90	4
	Desnatado -Marca A	133 ± 9	6,9	4
	Integral -Marca B	76 ± 8	10,7	3
	Desnatado -Marca B	140 ± 12	8,9	3
	Integral - Marca C	124 ± 2	1,5	2
	Queijo	Minas	89 ± 3	3,5
Prato		251 ± 25	10	3
Mussarela		239 ± 23	9,6	4
Parmesão		152 ± 18	11,8	4
Bufala		302 ± 24	7,9	4
Achocolatado	Marca A	107 ± 8	7,6	2
	Marca B	42 ± 4	8,7	2

n: número de determinações

A concentração de Se nos alimentos varia de região para região [12]. Os níveis deste elemento vai depender muito de sua presença no solo. Isto pode ser comprovado pela variação da concentração em amostras de leite e queijo de vários países, como pode ser observado na Tabela 3. Nesta Tabela as concentrações de Se obtidas neste trabalho estão apresentadas em µg por 100g peso úmido, juntamente com outros valores obtidos na literatura.

**Tabela 3: Valores de selênio em leite e derivados (em µg/100g peso úmido)**

Valores de Se em amostras de leite e derivados (µg/100g)			
	Este Trabalho		Literatura
Leite em Pó	Integral Marca A	22,8 ± 0,2	40,7 <sup>[12]</sup> ; 2,8 <sup>[13]</sup> ; 2,59 <sup>[14]</sup> ; 12,6 <sup>[15]</sup>
	Desnatado -Marca A	12,9 ± 0,9	
	Integral -Marca B	7,4 ± 0,8	
	Desnatado -Marca B	13,6 ± 1,2	
	Integral - Marca C	12,0 ± 0,2	
Queijo	Minas	2,86 ± 0,01	13,3 <sup>[12]</sup> ; 15,2 <sup>[12]</sup> ; 4,8 <sup>[15]</sup> ;
	Prato	14,2 ± 1,4	
	Mussarela	13,8 ± 1,3	
	Parmesão	10,2 ± 1,2	
	Bufala	16,1 ± 1,3	
Achocolatado	Marca A	10,7 ± 0,8	-
	Marca B	4,2 ± 0,4	

## 4-CONCLUSÃO

A importância de selênio na dieta humana é bem estabelecida. Entretanto, dados referentes aos seus teores nos alimentos não é muito freqüente, principalmente em alimentos brasileiros. Desse modo este trabalho constitui-se numa importante contribuição para a tabela de composição de alimentos no Brasil. O método de Análise por Ativação com Nêutron Instrumental (AANI) mostrou-se sensível para a determinação de selênio em amostras de leite, achocolatado e queijos, onde as concentrações desse elementos são extremamente baixas.

## REFERÊNCIAS

- [1] S.M.F.Cozzolino *Biodisponibilidade de Nutrientes*, Edit. Manole, Barueri, Brasil, (2005).
- [2] P. Smrkolj, L. Pograjc, C. Hlastan\_Ribic, V. Stibilj, "Selenium Content in Selected Slovenian Foodstuffs and Estimated Daily Intakes of Selenium", *Food Chemistry*, **90**, pp.691-697, (2005).
- [3] P.C. Aleixo, J.A.Nobrega, "Direct Determination of Iron and Selenium in Bovine Milk by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry", *Food Chem.*,**83**, pp.57-462, (2003).
- [4] M.L.P. Bianchi, L.M.G. Antunes, "Radicais Livres e Principais antioxidantes", *Rev.Nutr. Campinas*, **12(2)**,pp.123-130, (1999).
- [5] V. A. Maihara I. B. Gonzaga, V. L. Silva, D. I. T. Fávaro, M. B. A. Vasconcellos, S. M. F. Cozzolino, "Daily Dietary Selenium Intake of Selected Brazilian Population Groups", *J.Radioanal.Nucl.Chem.*, **259 (3)**, pp. 465-468, (2004)
- [6] C.S.Kira "Estudo da Composição Mineral e dos Elementos-Traço Essenciais em Amostras de Leite e Produtos Lácteos por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Induzido e Análise por Ativação com Nêutrons". Dissertação de Mestrado, Ipen, (2002).
- [7] Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. V.1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos*, 3.ed. São Paulo: IMESP, 1985, p. 22.
- [8] R.Albert, W. Horwitz, "A Heuristic Derivation of the Horwitz Curve", *Anal. Chem.*, **69**, pp.789-790, (1997).
- [9] L.A.Currie, "Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities - International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) Recommendations 1995", *Pure Appl.Chem.*, **67 (10)**, pp.1669-1723, (1995).
- [10] "Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - Projeto Integrado de Composição de Alimentos", <http://www.fcf.usp.br/tabela/> (2005).
- [11] "Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO", <http://www.unicamp.br/nepa/taco/> (2005).
- [12] J. W. Finley, L. Matthys, T. Shuler, E. Korynta, B.S. "Selenium Content of Foods Purchased in North Dakota", *Nutr. Res.***16 (5)**, pp. 723-728, (1996).
- [13] P.P.Sirichakwal; P.Puwastien,J.Polngan, R.Kongkachuichai, "Selenium Content in Thai Foods", *J.Food Compos. .Analysis*. **18**, pp.47-59, (2005).
- [14] S. A. McNaughton,G. C. Marks, "Selenium Content of Australian Foods: A Review of Literature Values", *J.Food Compos.Analys*, **15**, pp.169-182, (2002).
- [15] C. J.Wyatt, J. M. Melendez, N. Acua., A.Rascon, "Selenium (Se) in Foods in Northern Mexico, their Contribution to the Daily Se Intake and the Relationship of Se Plasma Levels and Glutathione Peroxidase Activity". *Nutr. Res.*, **16**, pp.949-960, (1996).