

DETERMINACION DE SELENIO MEDIANTE UNA METODOLOGÍA EN LÍNEA CON DETECCIÓN FLUORESCENTE. APLICACIÓN A MUESTRAS BIOLÓGICAS Y ALIMENTICIAS

Autores: Santarossa, Débora²; Fernández, Liliana P.^{1, 2}

¹ Área de Química Analítica, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, San Luis, Argentina.

² Instituto de Química de San Luis (INQUISAL-CONICET), Chacabuco y Pedernera, 5700, San Luis, Argentina.

E-mail: lfernand@unsl.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El selenio es considerado un elemento esencial para el ser humano cuya principal actividad biológica es su acción antioxidante a través de la enzima glutatión peroxidasa; entre los efectos beneficiosos atribuidos a este metal se encuentran su capacidad antiviral, la prevención del cáncer, la regulación del metabolismo de la glándula tiroides y su función como antagonista frente a los efectos tóxicos de muchos metales tales como arsénico, plomo, cadmio, entre otros.

Este mineral se obtiene de la dieta; sin embargo en regiones donde el contenido de selenio es bajo en aguas y suelos pueden aparecer enfermedades endémicas tales como enfermedad de Keshan una cardiopatía endémica y enfermedad de Kashin-Beck una osteoartropatía deformativa. Para prevenir estos estados carenciales se han llevado a cabo diversas iniciativas, una de ellas consiste en incrementar el nivel de selenio en la dieta a través de la ingesta de suplementos dietarios. El estudio de la dosis aplicada es importante desde el punto de vista de la salud humana, ya que el intervalo de concentración de este elemento para que sea considerado deficiente, esencial o tóxico es muy estrecho.

Por otro lado, se ha visto que tanto las intoxicaciones agudas y crónicas relacionadas con este mineral son poco frecuentes presentando las siguientes manifestaciones clínicas: náuseas, diarrea, aliento a ajo, pérdida de pelo y uñas, cambios ungueales, acidosis metabólica, fatiga, afectación gastrointestinal y afectación del sistema nervioso.

El creciente número de controles analíticos requeridos en áreas como la salud, el medio ambiente y la alimentación conlleva a la necesidad de automatizar los procesos analíticos; los métodos automatizados permiten una mayor frecuencia de análisis, con la consecuente reducción del costo por análisis y de la generación de residuos con beneficios a nivel medioambiental.

Los sistemas de análisis por inyección en flujo (FIA) presentan como principales ventajas su configuración simple, facilidad operativa, versatilidad y relativo bajo costo. Además, la rápida respuesta del FIA permite disponer de la información analítica en tiempo real.

Dentro de las metodologías instrumentales de elevada sensibilidad se encuentra la fluorescencia molecular. El selenio no presenta fluorescencia nativa; por esta razón se debe recurrir a la estrategia de formación de complejos con un reactivo fluorescente para su detección instrumental.

El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar una metodología en línea, rápida, sencilla y de bajo costo para la determinación de selenio con detección fluorescente, basado en la formación de un complejo del analito con el reactivo orgánico cromoazurol S (CAS).

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz se colocaron 0,3 mL de solución de CAS 1×10^{-3} mol L⁻¹, solución patrón de selenio/muestra conteniendo 0,84 - 6 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,3 mL de buffer Tris 1×10^{-2} mol L⁻¹, 0,1 mL de la sal biliar taurodeoxicolato de sodio (NaTDC) 2×10^{-2} mol L⁻¹. La mezcla se diluyó a 10 mL con agua ultrapura y fue inyectada en el sistema FIA diseñado para tal fin, empleando como solución transportadora HCl 1×10^{-4} mol L⁻¹. Se determinó la emisión fluorescente del complejo formado a 407 nm usando una longitud de onda de excitación de 300 nm (slits: 10-5).

RESULTADOS

En una primera etapa se llevaron a cabo ensayos preliminares con el objetivo de evaluar el reactivo orgánico adecuado para la formación de un complejo fluorescente de selenio. Se prepararon sistemas conteniendo una concentración constante del analito y se adicionaron los reactivos difenilcarbazida, ditizona y cromoazurol S, resultando este último satisfactorio para la detección de selenio, evidenciada por la atenuación de la emisión fluorescente del complejo.

Seguidamente se evaluaron los diferentes parámetros experimentales que influyen en la formación del complejo CAS-selenio, a saber: concentración del colorante, naturaleza, concentración y pH del buffer y concentración y naturaleza del agente tensoactivo. Los mejores resultados en cuanto a sensibilidad y repetibilidad se obtuvieron para una concentración de CAS de 3×10^{-5} mol L⁻¹, concentración buffer Tris: 3×10^{-4} mol L⁻¹ de pH 5 y en presencia de NaTDC con una concentración de 2×10^{-4} mol L⁻¹.

Luego se optimizaron las variables que influyen en los sistemas FIA: volumen del bucle de muestra/patrón y velocidad de carga, naturaleza, pH y velocidad de la fase portadora. Los mejores resultados respecto a velocidad de muestreo y repetitividad se obtuvieron empleando un bucle de muestra/patrón de 1 mL, con una velocidad de carga de 12 rpm, empleando una fase portadora de HCl 1×10^{-4} mol L⁻¹ a una velocidad de 15 rpm.

Bajo las condiciones experimentales óptimas se obtuvo un límite de detección de 0,27 $\mu\text{g L}^{-1}$ y un intervalo de linealidad de 0,84 a 6,00 $\mu\text{g L}^{-1}$. La metodología desarrollada fue aplicada con éxito a la determinación de selenio en muestras alimenticias (cebolla y ajo) y a muestras biológicas (suero, plasma y orina), con recuperaciones cercanas al 100%.

CONCLUSIONES

Debido a la importancia que presenta el selenio en la vida humana, resulta necesario poder disponer de metodologías que permitan su cuantificación en concentraciones trazas con elevada sensibilidad y adecuada selectividad cuando se encuentra presente en matrices complejas. Se ha desarrollado una nueva metodología en línea para el análisis de selenio

XXXI Congreso Argentino de Química

25 al 28 de Octubre de 2016 Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749 – Ciudad de Buenos Aires – Argentina

The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) January – December 2016 ISSN: 1852 -1207

Anales de la Asociación Química Argentina AAQAE 095 - 196

basada en la formación de un complejo fluorescente con CAS. Bajo las condiciones óptimas de trabajo se obtuvo una velocidad de muestreo de 24 muestras/hora permitiendo la cuantificación del analito en muestras alimenticias y biológicas. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la factibilidad de monitorear la concentración de selenio empleando una técnica instrumental sencilla y de bajo costo como la fluorescencia molecular. La propuesta representa una contribución relevante con en el campo de la química analítica, con potenciales aplicaciones en las ciencias de la salud, química ambiental y análisis clínico toxicológicos.