



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

**GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM FEIJÃO
VERDE**

FORTALEZA

2024

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM FEIJÃO VERDE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Analítica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestrado em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador(a): Profa. Dra. Gisele Simone Lopes.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A671g

Aragão, Ana Clara Correia.

Geração Fotoquímica de Vapor acoplada a Espectrometria de Absorção Atômica para a determinação de selênio em feijão verde / Ana Clara Correia Aragão. – 2024.

46 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Gisele Simone Lopes.

1. Elementos-traço. 2. Geração de vapor. 3. Alimentos. 4. Selênio. I. Título.

CDD 540

ANA CLARA CORREIA ARAGÃO

GERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE VAPOR ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE
ABSORÇÃO ATÔMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM FEIJÃO VERDE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Analítica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestrado em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 23/08/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Gisele Simone Lopes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Wladiana Oliveira Matos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Jhonyson Arruda Carvalho Guedes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Aos meus pais Socorro e Nonato, e principalmente meu pai, por todo o apoio que sempre me deram, principalmente nesta etapa, e também à minha irmã Marianna, por toda a ajuda. Ao meu namorado Allan por todo o incentivo e companheirismo.

À prof. Dra. Gisele Simone Lopes, por ter me acolhido no laboratório e por todo apoio e paciência que teve comigo.

À prof. Dra. Livia Paulia e prof. Dra. Wladiana Matos pelo apoio e pela disponibilidade em contribuir com o trabalho

Aos professores participantes da banca examinadora por todas as contribuições e sugestões.

Ao Dr. Ralph Sturgeon da National Research Council of Canada (NRC – Ottawa) pelo fornecimento de instrumentos importantes para a execução o trabalho.

Aos membros do Laboratório de Estudos em Química Aplicada (LEQA): Jane, Renato, Tamiris, Eduardo, Luan, Ribeiro, Paulo, Débora, Iago, Maradona, Carlos, Dalton, Felipe, William e Andressa. Gostaria de agradecer a todos pela disponibilidade em ajudar. Um agradecimento especial à Jane, Renato e Felipe por toda a ajuda, apoio e disponibilidade no desenvolvimento do trabalho.

Ao Laboratório de Análise de Traços (LAT) e ao Laboratório de Análise de Água (LANAGUA), em especial ao prof. Ronaldo por disponibilizar a infra-estrutura para a realização dos experimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PGQuim) e à Universidade Federal do Ceará (UFC) pela oportunidade.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

Um dos micronutrientes essenciais para a saúde humana é o selênio. Ele é responsável por atuar como mecanismo de defesa do corpo, porém tanto a deficiência como o excesso desse elemento no organismo podem causar danos à saúde. A maior fonte é a alimentação, como por exemplo, em castanhas, arroz e no feijão. Neste trabalho, foi realizada a determinação de selênio em feijão verde utilizando o método de geração de hidretos acoplada a espectrometria de absorção atômica e o método de geração fotoquímica de vapor acoplada a espectrometria de absorção atômica, com o objetivo de comparar os dois métodos, de modo a avaliar a eficiência de ambos. O desenvolvimento do método de geração fotoquímica de vapor (PVG) teve início pela otimização das condições experimentais do método, como: vazão do gás de arraste, tempo de exposição da amostra a radiação UV, tipo e concentração do precursor orgânico utilizado para a fotorredução do Se e a formação de radicais. A formação de espécies voláteis obteve maior eficiência empregando o ácido acético 6,0 % como precursor orgânico, a vazão de gás de arraste de 10 mL min⁻¹, tempo de exposição à radiação UV de 20,31 s. A curva de calibração utilizada foi por adição de padrão por conta de possíveis efeitos de matriz, todas as curvas tiveram coeficiente de correlação acima de 0,99. As amostras analisadas apresentaram concentrações de selênio entre 0,9 e 2,2 mg kg⁻¹ Se, mostrando que a concentração está dentro da faixa esperada quando comparada a de outros tipos de feijão encontrados na literatura.

Palavras-chave: Elementos-traço; Geração de vapor; Alimentos; selênio.

ABSTRACT

One of the essential micronutrients for human health is selenium. It is responsible for acting as the body's defense mechanism, but both a deficiency and an excess of this element in the body can cause damage to health. The biggest source is food, such as nuts, rice and beans. In this work, the determination of selenium in green beans was carried out using the hydride generation coupled to atomic absorption spectrometry and the photochemical vapor generation coupled to atomic absorption spectrometry, with the aim of comparing the two methods, in order to evaluate the efficiency of both. The development of the photochemical vapor generation (PVG) method began by optimizing the method's experimental conditions, such as: carrier gas flow, sample exposure time to UV radiation, type and concentration of the organic precursor used for photoreduction of selenium and the formation of radicals. The formation of volatile species achieved greater efficiency using acetic acid 6,0% as an organic precursor, a carrier gas flow rate of 10 mL min⁻¹, and an exposure time to UV radiation of 20.31 s. The calibration curve used was by addition of standard due to possible matrix effects, all the curves had a correlation coefficient above 0.99. The analyzed samples presented Selenium concentration range from 0.9 to 2.2 mg kg⁻¹ Se in dry matter of green beans, showing that the concentration is within the expected when compared to other types of beans found in the literature.

Keywords: Trace elements; Vapor Generation; Food; Selenium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação esquemática do sistema instrumental do PVG	19
Figura 2	– Amostra de feijão verde obtida em Fortaleza	21
Figura 3	– Procedimento de preparo de amostra para PVG-AAS	22
Figura 4	– Procedimento de preparo de amostra para HG-ICP-OES	23
Figura 5	– Representação esquemática de um Reator Fotoquímico	24
Figura 6	– Separadores gás-líquido (GLS): (A) Separador labmade; (B) Separador de filme fino	25
Figura 7	– Representação esquemática do sistema PVG – AAS (adaptada de Nilvan et al.)	26
Figura 8	– Representação esquemática do sistema HG-ICP-OES	29
Figura 9	– Efeitos dos ácidos orgânicos na respostas de absorbância e soluções contendo $400 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV). Condições experimentais: tempo de irradiação de 20,31 s e fluxo de gás de arraste de 30 mL min^{-1}	32
Figura 10	– Superfície de resposta para o Planejamento Box-Behnken. (I) Concentração de ácido acético X tempo de irradiação; (II) Fluxo de gás carreador X concentração de ácido acético; (III) Fluxo de gás carreador X Tempo de irradiação	35
Figura 11	– Pictogramas obtidos para HG e PVG	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Condições operacionais do sistema PVG-AAS	26
Tabela 2	– Matriz para o Planejamento Box-Behnken.....	27
Tabela 3	– Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica	28
Tabela 4	– Variáveis e níveis do planejamento experimental	33
Tabela 5	– Variáveis e níveis do planejamento experimental	33
Tabela 6	– Figuras analíticas de mérito para determinação de Se(IV) e Se total	36
Tabela 7	– Limites de detecção para determinação de Se utilizando técnicas diferentes	37
Tabela 8	– Perguntas a serem respondidas para o AGREE	38
Tabela 9	– Critérios de aceitabilidade do AGREE	39
Tabela 10	– Concentração média de selênio em amostra de feijão verde comercial	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês “Atomic Absorption Spectrometry”)
AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica (do inglês “Atomic Fluorescence Spectrometry”)
CVG	Geração Química de Vapor (do inglês “Chemical Vapor Generation”)
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês “Flame Atomic Absorption Spectrometry”)
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (do inglês “Food and Agriculture Organization”)
GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês “Furnace Atomic Absorption Spectrometry”)
GLS	Separador gás líquido (do inglês “Gas Liquid Separator”)
HCL	Lâmpada de catodo oco (do inglês “Hollow-Cathode Lamp”)
HG	Geração de Hidretos (do inglês “Hydride Generation”)
HG-AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica acoplada a Geração de Hidretos (do inglês “Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry”)
LMWCA	Ácido Orgânico de Baixo Peso Molecular (do inglês “Low Molecular Weight Carboxylic Acid”)
LD	Limite de Detecção (do inglês “Limit of Detection”)
LQ	Limite de Quantificação (do inglês “Limit of Quantification”)
NRC	National Research Council of Canada
PVG	Geração Fotoquímica de Vapor (do inglês “Photochemical Vapor Generation”)
PVG-GFAAS	Geração Fotoquímica de Vapor acoplada a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês “Photochemical Vapor Generation Furnace Atomic Absorption Spectrometry”)
RSD	Desvio Padrão Relativo (do inglês “Relative Standard Deviation”)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	Selênio: ocorrência, biodisponibilidade e toxicidade	14
3.2	Feijão verde	15
3.3	Sistema de introdução de amostra	15
3.3.1	<i>Geração química de vapor</i>	16
3.3.2	<i>Geração fotoquímica de vapor</i>	18
4	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	21
4.1	Reagentes, amostras e soluções.....	21
4.2	Preparo de amostra	22
4.2.1	<i>Preparo da amostra para análise por PVG-AAS</i>	22
4.2.2	<i>Preparo da amostra para análise por HG-AAS</i>	22
4.3	Instrumentação	23
4.3.2	<i>Separador gás-líquido (GLS)</i>	24
4.3.3	<i>Arranjo instrumental do sistema PVG- AAS</i>	25
4.4	Figuras de Mérito	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.2	Figuras de Mérito	36
5.3	Método GREEnness	38
5.4	Aplicação da geração fotoquímica de vapor em amostras de feijão verde para determinação de selênio	40
6	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Um dos micronutrientes essenciais para a saúde humana é o selênio (Se). Esse elemento é responsável por atuar como mecanismo de defesa contra efeitos tóxicos provocados por outros elementos e também possui propriedades anti-inflamatórias (Brusa *et al.*, 2023; Da Silva *et al.*, 2013; Duntas *et al.*, 2009). Doenças como cardiopatias, hepatopatias e alguns tipos de câncer estão associados a deficiência de Se. Já o excesso desse elemento no organismo pode causar dermatites e distúrbios gastrointestinais (SIGRIST *et al.*, 2012). A principal fonte de obtenção de selênio é através da alimentação. Muitos alimentos, como verduras, frutas e legumes conseguem absorver o selênio por sua biodisponibilidade no solo, que depende de vários fatores, como: clima, região, adubo orgânico e inorgânico (Alcântara *et al.*, 2022), dentre outros. Portanto, há uma preocupação de se estudar a concentração deste elemento nos alimentos para que seja possível estimar a ingestão real da população.

Nesse contexto, o feijão é um dos alimentos mais consumidos no Brasil, sendo fonte de proteínas, vitaminas e minerais, que são essenciais para suprir os valores nutricionais da população (Carvalho *et al.*, 2012). A composição química dessa leguminosa é muito importante para a qualidade do produto e pode variar de acordo com a localização, clima, tipo de solo, dentre outros fatores (Vieira *et al.*, 2016). Na literatura existem poucos trabalhos sobre a determinação de selênio em feijão, principalmente no que diz respeito ao feijão verde.

Para uma determinação de elementos-traço, a exatidão e precisão dos resultados é imprescindível. Assim, a técnica espectrométrica utilizada deve possuir alta sensibilidade e um baixo limite de detecção. Essas características dependem da eficiência de introdução da amostra no equipamento. Porém, devido a utilização de sistemas com baixa eficiência de transporte da amostra, como por exemplo, o sistema de nebulização pneumática que possui eficiência de introdução de apenas 2-5% do volume de amostra, é necessário buscar outras estratégias que aumentem a sensibilidade da técnica (Nakahara *et al.*, 2005; Romanovski *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2010).

Um dos métodos que pode ser utilizado como alternativa para a utilização da nebulização pneumática é a Geração Química de Vapor, do inglês *Chemical Vapor Generation* (CVG). Esse sistema se baseia na utilização da geração de espécies voláteis por reações químicas para introdução de amostras. Essa metodologia vem sendo adotada por suas vantagens: eficiência de introdução da amostra de até 100%, separação do analito de interesse

da matriz reduzindo possíveis interferentes, aumentando assim a sensibilidade e a seletividade da análise. A Geração de Hidretos é uma dos métodos derivados da CVG que é bastante utilizada (de Jesus *et al.*, 2016). Além disso, a CVG pode ser facilmente acoplada a diversas técnicas espectrométricas, como por exemplo, a Espectrometria de Absorção Atômica – AAS (SIGRIST *et al.*, 2012), a Espectrometria de Fluorescência Atômica – AFS (LI *et al.*, 2022), Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente – ICP-MS (Tai *et al.*, 2016). Entretanto, esse método possui desvantagens, como a utilização de reagentes de alto valor e instáveis, além da elevada geração de resíduos, não seguindo os princípios da Química Verde, o que dificulta sua utilização. Desse modo, para contornar esses problemas, foram desenvolvidos novos sistemas de geração de vapor (Liu *et al.*, 2020).

A Geração Fotoquímica de Vapor (PVG) é um método desenvolvido como sistema de introdução de amostras derivada da CVG que possui as mesmas vantagens do método, porém é uma técnica mais simples, na qual são utilizados ácidos orgânicos de baixo peso molecular (LMWCA), que são parcialmente degradados pela radiação UV, gerando menor quantidade de resíduos, obedecendo assim aos Princípios da Química Verde. O método se baseia em reações de formação de espécies voláteis pela fotólise dos íons do analito na presença de um ácido de baixo peso molecular, formando os compostos voláteis de interesse (Potes *et al.*, 2019). Já foram determinados vários elementos utilizando esse método, dentre eles Pb, As, Bi, Te, Ru, Os, Cd, Re, W, Mo, Hg, Ir (Dong *et al.*, 2022).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar a determinação de selênio em feijão verde utilizando o método de geração fotoquímica de vapor acoplada à espectrometria de absorção atômica, de forma a comparar com o método de geração de hidretos acoplado à espectrometria de absorção atômica para averiguar a eficiência das duas técnicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência da geração fotoquímica de vapor de selênio para a análise em amostras de feijão verde.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar amostras de feijão verde para posterior análise por HG-ICP-OES;
- Otimizar as condições de determinação de selênio por HG-ICP-OES;
- Aplicar o método HG-AAS para determinar o teor de selênio em amostras de feijão verde;
- Preparar amostras de feijão verde para posterior análise por PVG-FAAS;
- Construir um sistema instrumental de PVG e acoplar ao espectrômetro de absorção atômica;
- Otimizar as condições de determinação de selênio por PVG-FAAS;
- Aplicar o método PVG-FAAS para determinar o teor de selênio em amostras de feijão verde;
- Avaliar a eficiência do método através da aplicação das figuras de mérito;
- Avaliar a exatidão do método através da comparação dos dois métodos utilizando Teste F e teste τ de Student.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Selênio: ocorrência, biodisponibilidade e toxicidade

O selênio é um elemento químico considerado um mineral muito importante para os seres vivos. Porém, dependendo de sua forma química e concentração pode causar deficiência ou toxicidade aos seres humanos (Brusa *et al.*, 2023; Bakirdere *et al.*, 2015). De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization), é estabelecido que o teor máximo para a ingestão diária aceitável de selênio para um adulto é de 55 µg/dia, tendo como limite tolerável até 300 µg/dia.

O selênio possui vários estados de oxidação, sendo eles: -II, 0, IV, VI, podendo ser encontrado em suas formas orgânica e inorgânica (J.D. Lee, 1999). Em sua forma orgânica, o selênio desenvolve um papel importante como antioxidante na forma de selenoproteínas, como a selenocisteína ($C_3H_7NO_2Se$) e a selenometionina ($C_5H_{11}NO_2Se$), que estão mais biodisponíveis nos alimentos, por serem obtidas através da conversão do selênio inorgânico proveniente do solo (Alcântara *et al.*, 2022). Por outro lado, em sua forma inorgânica, pode apresentar-se como selenito (SeO_3^{2-}) e selenato (SeO_4^{2-}) (Bakirdere *et al.*, 2015; Duntas *et al.*, 2009), o selenito pode ser encontrado em fórmulas infantis na forma de selenito de sódio, para evitar a deficiência de selênio em crianças e consequentemente o aparecimento de doenças (Fostep *et al.*, 1996). Além disso, a maior parte de trabalhos produzidos para especiação de selênio, utilizam essas duas espécies, principalmente aqueles que utilizam geração de hidretos (Sigrist *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 1996).

A maior fonte de selênio está presente nos alimentos, onde a concentração pode variar dependendo do teor desse elemento presente no solo e também dos fatores ambientais e climáticos da região (Alcântara *et al.*, 2022). No caso do Brasil, as tabelas de composição nutritiva dos alimentos possuem poucas informações acerca da presença de Se nos alimentos ou os dados são baseados em estudos de outros países (Ferreira *et al.*, 2002). Segundo esses estudos, alimentos como leite e derivados possuem uma faixa de 20,3 a 38,3 ppm (Muñiz-Naveiro *et al.*, 2007), em peixes essa faixa é de 0,1 a 1,0 ppm (Rayman *et al.*, 2008), no caso de frutas e vegetais a concentração de Se vai depender da concentração desse elemento no solo (Fairweather-Tait *et al.*, 2011). No feijão, a concentração de Se pode variar tanto por conta da sua concentração no solo, pelo tempo de maturação, como também pela sua variedade de espécies e os fatores ambientais de cada região (Alcântara *et al.*, 2022).

3. 2 Feijão verde

O feijão de corda (*Vigna unguiculata (L.) Walp*), também conhecido como feijão caupi e macassar, é um alimento considerado importante por possuir um alto teor de proteínas, além de ser uma ótima fonte nutricional de carboidratos, vitaminas, minerais e fibras (Borges *et al.*, 2018). Além disso, pode ser comercializado na forma de grãos secos como também de grãos imaturos, que são conhecidos como feijão verde ou fresco (Andrade *et al.*, 2010), possui um baixo custo de produção por se desenvolver em solos de baixa fertilidade, não exige muita irrigação e possui um curto ciclo de cultivo (Marsaro Júnior *et al.*, 2017).

Segundo a Conab, o Brasil foi considerado o terceiro maior produtor mundial de feijão caupi, com uma produção de aproximadamente 713 mil toneladas, sendo distribuída entre as regiões norte, nordeste e centro-oeste (Conab, 2018). Já a safra dos anos de 2022/2023 obteve uma produção de aproximadamente 614 mil toneladas, segundo dados obtidos no site da Conab (www.conab.gov.br).

O cultivo dessa variedade de feijão é feito principalmente por pequenos agricultores, que utilizam os mesmos materiais do cultivo do grão seco para o cultivo do grão verde devido à carência de genótipos comerciais adequados para a produção do feijão verde (Nascimento *et al.*, 2019). Além disso, em sua produção não faz muito uso da tecnologia, por ser um trabalho praticamente manual nas etapas de colheita e debulha (Ribeiro *et al.*, 2019).

O feijão verde apresenta cerca de 60 a 70% de umidade, e é nesse ponto em que o feijão é colhido e usado para consumo ou comercializado na forma de vagem ou os grãos já debulhados. É popularmente conhecido na região nordeste por fazer parte de diversos pratos típicos da cultura nordestina, como por exemplo o baião-de-dois, em que o feijão e o arroz são cozidos juntos (Andrade *et al.*, 2010).

Visto que essa variedade de feijão é bastante consumida, há poucos trabalhos sobre a determinação de selênio em feijão verde.

3. 3 Sistema de introdução de amostra

Para análise de elementos-traços, as técnicas utilizadas são: a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS),

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), Espectrometria de massas com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS) que utilizam como sistema de introdução de amostra nebulizadores pneumáticos e a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS) em que a amostra é colocada diretamente no forno de grafite (Hossain *et al.*, 2021).

Os sistemas de introdução de amostras são muito importantes no desenvolvimento de análises pela espectrometria de absorção atômica. Isso porque há influência na sensibilidade e precisão da análise. Normalmente as amostras são introduzidas por nebulização pneumática, onde o nebulizador introduz a amostra constantemente na chama ou no plasma, através de uma nuvem de gotículas, denominada de aerossol, que são transportadas por um fluxo de gás carreador até o atomizador (Skoog, *et al.* 2006), porém, com apenas cerca de 5% de eficiência de introdução. Além disso, há a interferência da matriz da amostra, principalmente na determinação de elementos-traço (Liu *et al.*, 2020). Com o intuito de diminuir a interferência da matriz e aumentar a sensibilidade da determinação de elementos-traço, outros métodos de introdução de amostra mais eficientes surgiram, como por exemplo os sistemas de geração de vapor, que são facilmente acoplados a Espectrometria de Absorção atômica (AAS) (Skoog, *et al.*, 2006).

3. 3. 1 Geração química de vapor

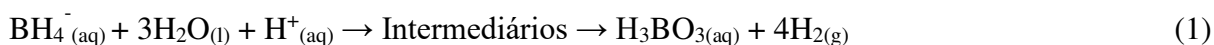
O desenvolvimento de técnicas de introdução de amostras baseada na geração de espécies voláteis mostrou importância a partir da necessidade de aumentar a eficiência de introdução da amostra, e assim, aumentar a sensibilidade da técnica espectrométrica utilizada. Com isso, foi desenvolvido o método de Geração Química de Vapor, que consiste em transformar o analito de interesse em espécies voláteis através de reações químicas utilizando fortes agentes redutores (Liu *et al.*, 2020).

A Geração Química de Vapor (CVG) é um sistema de introdução do analito através da geração de espécies voláteis muito efetivo para determinação de elementos-traço, isso porque há uma alta eficiência da separação do analito de interesse e o transporte deste ao detector, aumentando a sensibilidade e seletividade da análise. A Geração de hidretos (HG) e a geração de vapor frio (CV) são alguns exemplos que utilizam essa técnica (Yin *et al.*, 2011).

A Geração de Hidretos (HG) é um dos métodos mais utilizados, em que há a formação de hidretos voláteis do analito de interesse através de reações químicas em meio ácido e utiliza como agente redutor o borohidreto de sódio (NaBH_4).

Holak e colaboradores, conseguiram reduzir arsênio a arsina através da adição de Zn metálico à amostra ácida que foi transportada para a chama de um espectrômetro de absorção atômica. Com a utilização desse método, a técnica usada obteve maior sensibilidade quando comparada à nebulização pneumática, porém ao usar a chama diretamente, ela possuía uma forte absorção de comprimentos de onda inferiores a 200 nm, onde se encontram as linhas de arsênio. Por conta disso, Chu *et al.*, em sua pesquisa, desenvolveu uma outra metodologia utilizando uma célula de absorção em formato de um tubo em T, de quartzo, eletricamente aquecido, posicionada no caminho óptico do aparelho de absorção atômica, evitando assim que a chama absorvesse a radiação primária do elemento (Takase *et al.*, 2002).

A primeira hipótese do mecanismo de geração de hidretos foi proposta por Robbins e Caruso em 1979, eles postularam que o hidrogênio atômico formado na hidrólise ácida do borohidreto (THB) era o responsável pela derivatização / redução do analito para o hidreto. Porém, recentemente foi evidenciado experimentalmente, após diversas discussões e experimentos, que o hidrogênio atômico não é a espécie favorecida durante a hidrólise ácida de THB, e sim o hidrogênio molecular e intermediários hidroboranos, que são as espécies redutoras ativas na formação dos hidretos voláteis (D’Ulivo *et al.*, 2005). O mecanismo de hidrólise ácida de THB é dado segundo as equações (1) e (2):



Segundo as reações (1) e (2), quando ocorre a hidrólise ácida do THB, há a formação de várias espécies intermediárias chamadas de hidroboranos, que reagem com o analito formando o hidreto volátil (D’Ulivo, 2004; D’Ulivo *et al.*, 2005).

As vantagens dessa técnica são: eficiência de introdução de amostra de quase 100%, separação efetiva da matriz, além de ser facilmente acoplado a técnicas espectrométricas. Porém, gera bastante resíduos, pois utiliza reagentes redutores caros e instáveis, que devem ser preparados em um período próximo ao uso (Büyükpınar *et al.*, 2021). Apesar disso, quando acoplada a espectrometria de absorção atômica se torna uma ferramenta muito poderosa na determinação de elementos-traço (D’Ulivo *et al.*, 2003). Para contornar as desvantagens desse

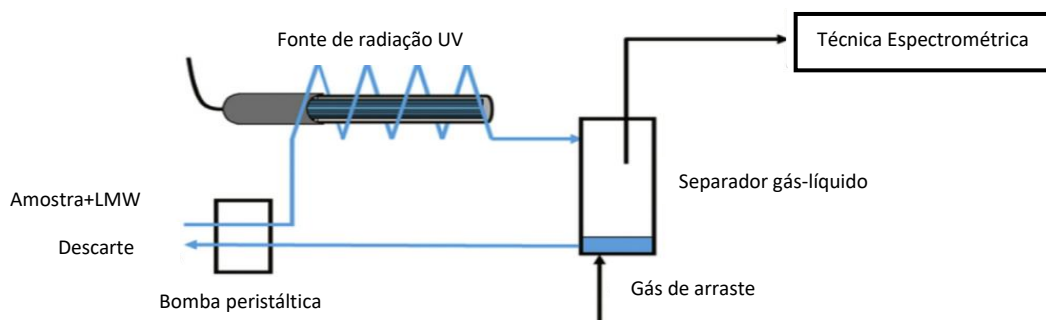
método, uma nova metodologia derivada da CVG foi desenvolvida, a Geração Fotoquímica de Vapor (PVG) (Yin *et al.*, 2011).

3. 3. 2 Geração fotoquímica de vapor

A Geração Fotoquímica de vapor ou *Photochemical Vapor Generation* (PVG) se baseia na fotorredução de elementos em solução de ácidos orgânicos de baixo peso molecular utilizando a radiação ultravioleta (UV) para formar espécies voláteis (Zou *et al.*, 2020). Além de possuir todas as vantagens da CVG, é considerada uma técnica simples, utiliza reagentes mais baratos como precursor, como por exemplo: ácidos, álcoois ou aldeídos orgânicos de baixo peso molecular, obtendo um melhor custo-benefício, além disso esses reagentes são parcialmente degradados pela radiação UV, diminuindo assim a geração de resíduos e obedecendo aos Princípios da Química Verde (De Jesus *et al.*, 2016), além da possibilidade de geração de espécies voláteis com uma maior variedade de elementos químicos (Dong *et al.*, 2022). De acordo com as pesquisas, a geração fotoquímica de vapor desperta o interesse para sua utilização por ser um método altamente eficiente de geração de vapor. Através da separação do analito da matriz da amostra, é somente o analito que vai para o sistema de detecção na forma de espécie volátil, evitando assim interferências da matriz de amostras reais na análise, sendo mais uma vantagem da técnica, principalmente em relação a métodos que são pouco seletivos.

O sistema instrumental da PVG é composto por uma bomba peristáltica responsável pelo transporte da amostra e resíduos, um reator fotoquímico que consiste em uma lâmpada de UV-C de Hg de baixas pressões, um sistema tubular para o percurso analítico da amostra, um separador gás-líquido (GLS), um canal de gás de arraste por onde serão transportadas as espécies voláteis e o acoplamento com uma técnica espectrométrica de detecção (De Jesus *et al.*, 2016), como mostra o esquema na Figura 1.

Figura 1 - Representação esquemática do sistema instrumental do PVG



Fonte: Adaptado de Z. Zou *et al.*, 2020.

A exposição de ácidos orgânicos à radiação UV acarreta na formação de radicais que podem ser: H^\bullet , CO^\bullet , CH_3^\bullet , CO_2^\bullet e COO^\bullet dependendo do ácido utilizado, que formam os compostos voláteis com o analito de interesse (De Jesus *et al.*, 2016). Quando são realizadas as propostas de mecanismos dessas reações fica mais fácil prever as condições e o desempenho analítico do PVG na formação das espécies voláteis. Essas propostas mecanísticas são constantemente estudadas, já que não existe um mecanismo radicalar exato (Yin *et al.*, 2011).

Guo *et al.* (2003) propôs um mecanismo para a reação de fotólise dos ácidos orgânicos formando radicais livres (Yin *et al.*, 2011), segundo as equações (3) e (4):



A partir dos estudos realizados por Guo *et al.* (2003), através da análise por GC/MS, foi possível identificar as espécies formadas para o ácido fórmico, que foram SeCO e SeH_2 . No caso do ácido acético, as espécies foram CH_3Se e CH_3SeCH_3 .

Estudos feitos por Da Luz Potes *et al.* (2019) mostram a determinação de Se em amostras de água de coco desenvolvida pelas técnicas de geração de hidretos (HG) e geração fotoquímica de vapor (PVG) para comparar a eficiência de um método em relação ao outro. De acordo com esse estudo, a eficiência do PVG foi estimada em 79% da de HG.

Apesar de suas vantagens, há um fator que pode afetar a sensibilidade do método de detecção, as espécies voláteis formadas por PVG podem ser diluídas pelo gás carreador e

hidrogênio formado até chegarem à célula para serem atomizadas. Além disso, a atomização de muitas espécies não é eficiente na temperatura máxima que pode ser alcançada no tubo de quartzo utilizado, quando aquecido (Matusiewicz; Sturgeon, 1996).

Essa técnica possui várias aplicações, como por exemplo na determinação de selênio em alimentos como: alho e nozes (PALATNIK et al., 2024); na determinação de mercúrio em alimentos para gatos (SILVA et al., 2021); Determinação de níquel em amostras de água (ŠOUKAL., 2022).

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes, amostras e soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura (resistividade 18,2 M Ω cm), purificada com um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA). As vidrarias e materiais utilizados passaram por um processo de descontaminação através de imersão em banho de ácido nítrico 10% v v⁻¹ por 24 h e depois limpos com água ultrapura.

Amostras frescas de feijão verde (*Vigna unguiculata* L Walp) foram obtidas em mercados locais em diferentes cidades do estado do Ceará (Caucaia e Fortaleza) e Pará (Belém) e foram armazenadas em freezer (-18 °C). As amostras (Figura 2) foram liofilizadas (L101, Liobras®, Brasil). por um período aproximado de 48 horas e maceradas antes da solubilização e digestão em micro-ondas.

Figura 2 - Amostra de feijão verde obtida em Fortaleza



Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

As soluções utilizadas para obter as condições ótimas de trabalho foram preparadas a partir de solução padrão estoque de Se de 1000 mg L⁻¹ preparada através da dissolução do sal de selenito de sódio - Na₂SeO₃ (99%, Sigma). No processo de geração de hidretos por gerador de hidretos, o ácido clorídrico – HCl (Dinâmica, P.A.) foi utilizado no preparo da solução ácida utilizada para manter o meio ácido. E a solução de borohidreto de sódio utilizada foi preparada através da dissolução do borohidreto de sódio - NaBH₄ (Vetec, P.A.) e hidróxido de sódio - NaOH (Vetec, P.A.) em água ultrapura. As soluções utilizadas no processo de geração de

espécies voláteis por Geração Fotoquímica de Vapor foram preparadas usando ácido fórmico - HCOOH (98-100%, P.A., Merck). O ácido nítrico - HNO_3 (65%, P.A., Sigma-Aldrich) e peróxido de hidrogênio - H_2O_2 (30% m m⁻¹, Sigma-Aldrich) foram utilizados no preparo da amostra para análise por HG-AAS.

4.2 Preparo de amostra

4.2.1 Preparo da amostra para análise por PVG-AAS

Baseado na metodologia de LOPES, *et al.* (2016), foram pesados 0,25 g de amostra de feijão verde previamente liofilizado e macerado em um tubo falcon de 50 mL, foram adicionados 8 mL de ácido fórmico e em seguida colocado em um banho ultrassônico (7Lab) por 3 horas a 50°C e depois a 60°C por 15 horas, totalizando 18 horas de preparo. Após esse tempo, foi retirado do banho ultrassônico para esfriar à temperatura ambiente, as amostras foram diluídas para 30 mL com água ultrapura, filtradas e transferidas para outro tubo falcon de 50 mL. A figura 3 mostra a representação esquemática do preparo da amostra para a análise por PVG.

Figura 3 - Procedimento de preparo de amostra para PVG-AAS



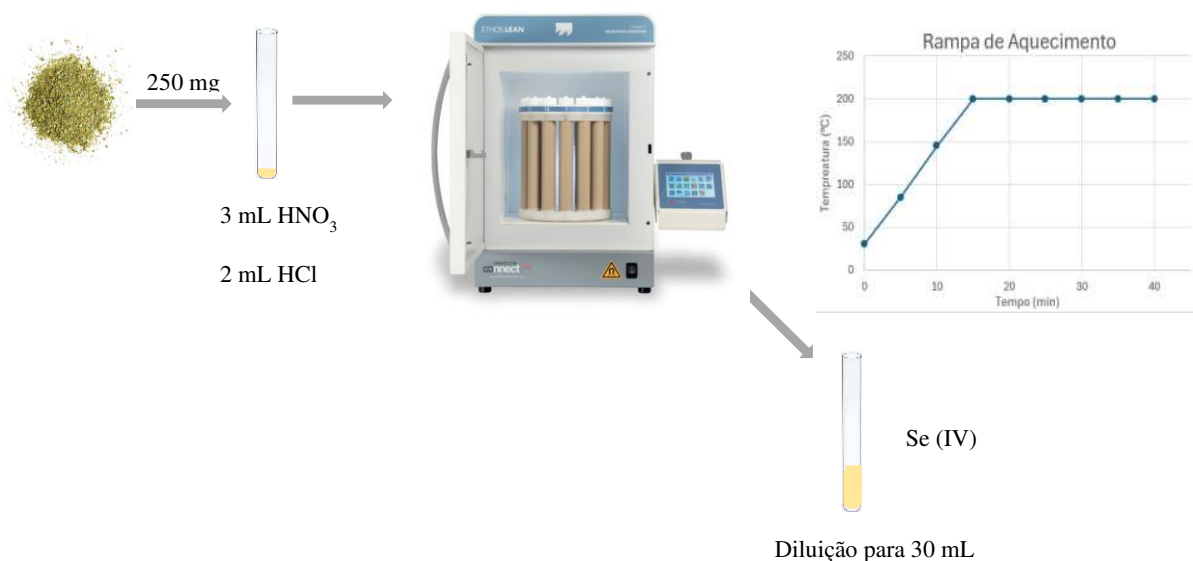
Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

4. 2. 2 Preparo da amostra para análise por HG-AAS

Com adaptações da metodologia de Sigrist *et al.* (2012) para a digestão da amostra para a análise por geração de hidretos (HG), uma massa de 0,25 g de amostra de feijão macerado foi pesada em balança analítica (AND HR-200) e solubilizada com 3 mL de ácido nítrico (HNO_3) e 2 mL de ácido clorídrico (HCl). Posteriormente, foi submetida a aquecimento em

digestor micro-ondas (Milestone) com uma rampa de temperatura variando de 0 °C a 200 °C por 15 minutos e após isso, mantendo a temperatura constante (200 °C) por 25 minutos, totalizando 40 minutos de procedimento. Após esfriar, as soluções foram diluídas para 30 mL em um tubo Falcon e guardadas na geladeira. A Figura 4 mostra resumidamente o procedimento utilizado para o preparo da amostra para a análise de selênio por HG-ICP-OES.

Figura 4 - Procedimento de preparo de amostra para HG-ICP-OES



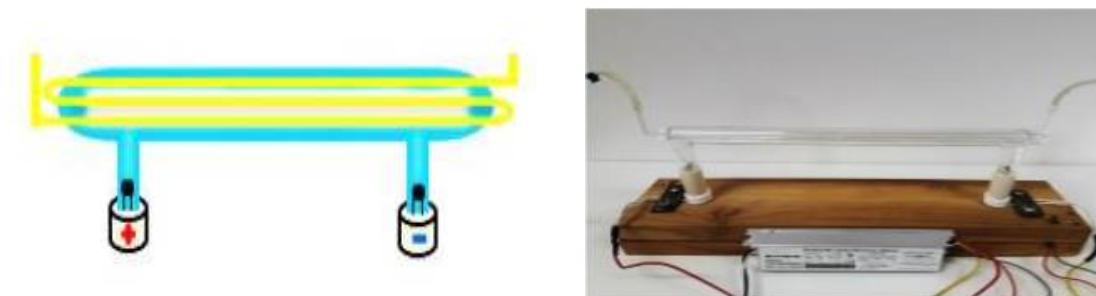
Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

4.3 Instrumentação

4.3.1 Reator Fotoquímico

Para a geração das espécies voláteis de Se por PVG-AAS, o reator foi construído através da utilização de uma Lâmpada de Hg de baixa pressão emissora de radiação UV-C (19 W), com um percurso analítico de quartzo sintético situados no eixo central no interior da lâmpada. Possui 31,5 cm de comprimento e 760 μL de volume interno (Beijing Titan Instrument Co., Pequim, China). Emite radiações no comprimento de onda (λ) 185 e 254 nm e irradia em 360°. A lâmpada possui suas extremidades dobradas, possuindo um eletrodo localizado em cada uma delas, como mostra a Figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática de um Reator Fotoquímico



Fonte: SILVA, N., 2020.

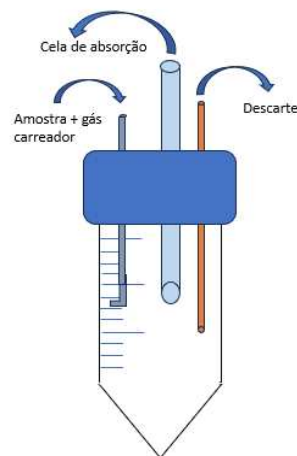
4. 3. 2 Separador gás-líquido (GLS)

Para a separação das espécies voláteis de selênio da fase líquida, foi avaliada a eficiência de 2 configurações diferentes de GLS's acoplados ao reator fotoquímico. O GLS (A), chamado de *labmade* foi construído no laboratório utilizando um tubo de polipropileno de 50 mL para centrífuga (tipo Falcon[®]), semelhante ao construído por Soukal, Sturgeon e Musil (2018). Nesse separador (Figura 6A), a tampa possui três entradas, a primeira entrada é utilizada para a entrada do gás carreador e da espécie volátil gerada a partir da reação ocorrida no sistema montado na metade da altura do separador, a segunda entrada é utilizada para transporte do resíduo e na terceira entrada, as espécies voláteis de Se(IV) são transportadas pelo fluxo do gás carreador, vindo da conexão em "T", para a célula de absorção de quartzo. Um volume morto de 15 mL foi mantido.

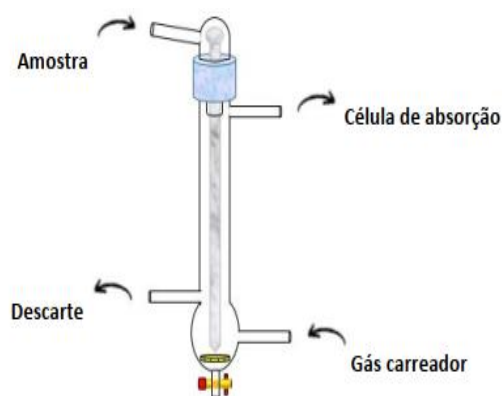
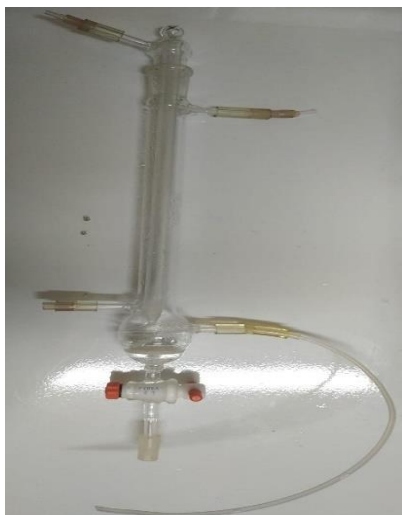
No GLS (6B), a amostra transportada para esse GLS percola por uma haste cilíndrica central de material inerte formando uma fina película de líquido que ajuda na separação da parte vapor da parte líquida através da utilização do gás carreador. Possui dimensão de 37,5 cm de comprimento (Figura 3B). Este GLS foi cedido para este estudo pelo Dr. Ralph E. Sturgeon da *National Research Council Canada* (NRC-CNRC, Ottawa, Canadá).

Figura 6 - Separadores gás-líquido (GLS): (A) Separador labmade; (B) Separador de filme fino

(A)



(B)



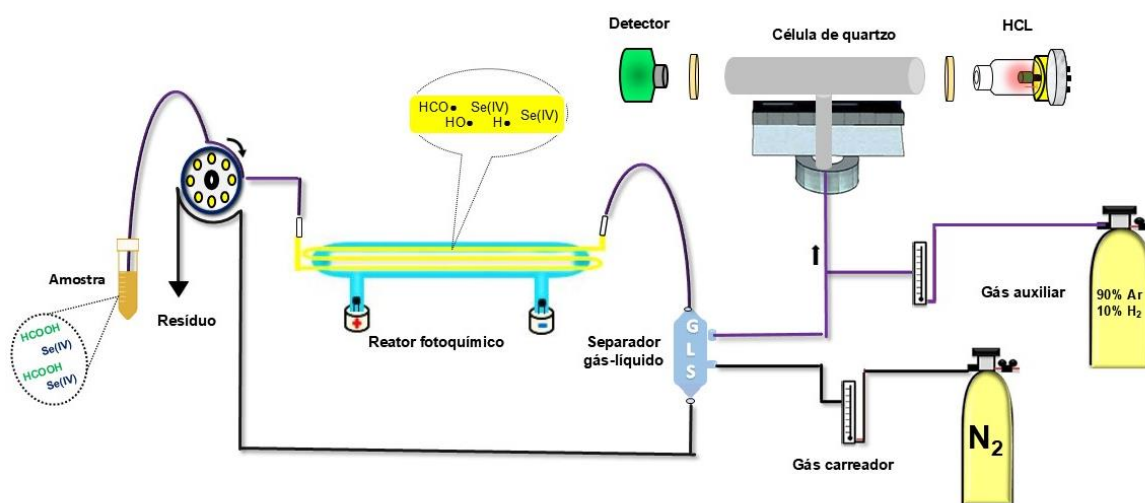
Fonte: Próprio autor e adaptações de Nilvan et al.

4. 3. 3 Arranjo instrumental do sistema PVG- AAS

Baseado na metodologia utilizada por Ding *et al.* (2019), no sistema a amostra é introduzida juntamente com o ácido orgânico de baixo peso molecular (ácido fórmico, ácido acético, etc.) por tubos tygon[®] através de uma bomba peristáltica. Em seguida, a amostra é irradiada pela radiação UV no reator fotoquímico e após isso, transportada para o separador gás-líquido (GLS). No separador, a fase gasosa (contendo a espécie volátil do analito) é separada da fase líquida. O líquido é descartado com o uso da bomba peristáltica e a fase gasosa, carregada por um fluxo de gás de arraste inerte (N₂) e com o auxílio de uma mistura de gases (90% Ar/10% H₂) adicionados simultaneamente para ajudar na quebra das espécies voláteis para que elas possam ser transportadas de forma eficiente até a cela de quartzo posicionada no espectrômetro de absorção atômica. A cela de absorção, constituída por um tubo de quartzo de

166 mm de comprimento e 7 mm de diâmetro interno foi posicionada sobre o queimador, alinhada ao caminho óptico no espectrômetro de absorção atômica (Varian AS 240FS, Mulgrave, Austrália). O espectrômetro foi equipado com lâmpada de deutério para correção de fundo e uma lâmpada de catodo oco (HCL) de selênio (Agilent Technologies) como fonte de radiação. As espécies voláteis de selênio formadas foram carregadas do GLS para a cela através da inserção do gás N₂ (99,996%, White Martins, São Paulo, Brasil) em fluxo contínuo controlado por um fluxímetro (VFA-22, Hygro-Therm). A aquisição do sinal foi feita de formada integrada. As condições operacionais estão dispostas na tabela 1. A figura 7 apresenta o esquema do sistema de PVG-AAS para espécies voláteis.

Figura 7 - Representação esquemática do sistema PVG – AAS (adaptada de Nilvan et al.)



Fonte: Elaborado pela Autora, 2024

Tabela 1 - Condições operacionais do sistema PVG-AAS

Parâmetros Instrumentais do AAS	
Comprimento de onda (nm)	196
Abertura da fenda (nm)	1,0
Corrente da lâmpada (mA)	10
Número de leituras	15
Tempo de leitura (s)	20

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

4. 3. 3. 1. Planejamento experimental

Para avaliar as variáveis do sistema PVG-AAS e as interações entre elas com o intuito de gerar um modelo matemático que descrevesse os melhores valores de absorbância obtidos, foi feito o uso de ferramentas quimiométricas para a otimização dos experimentos. As variáveis de estudo foram: tipo e concentração do precursor orgânico (ácido orgânico de baixo peso molecular), tempo de irradiação UV na amostra e fluxo do gás de arraste.

A otimização foi realizada de forma univariada para o tipo de ácido (ácido fórmico e ácido acético) em diferentes concentrações para avaliar o sinal de absorbância obtido para o selênio. Já as outras variáveis foram otimizadas através da utilização do planejamento experimental do tipo Box-Behnken, que consiste em um total de 15 ensaios, sendo 12 deles 2^2 fatoriais para cada par de variáveis, mantendo as outras condições fixas e os outros 3 apenas com os pontos centrais de cada variável. A variável de resposta utilizada foi o valor de absorbância.

A Tabela 2 apresenta a matriz do planejamento e os níveis estudados para cada variável, o símbolo -1 indica o nível mínimo, 0 o ponto central e +1 o nível máximo. As variáveis foram nomeadas da seguinte forma: X_1 – tempo de irradiação; X_2 – concentração do ácido; X_3 – fluxo de gás de arraste. Para cada ensaio do planejamento foram utilizados $400 \mu\text{g L}^{-1}$ de selênio e 4 mL de amostra de feijão verde solubilizado. Ao final de cada leitura, foi realizada a limpeza do sistema utilizando apenas água ultrapura para eliminar efeitos de memória do equipamento. Para o tratamento e análise dos dados foi utilizado o software ORIGIN® (OriginLab Corporation, Northampton, EUA).

Tabela 2 - Matriz para o Planejamento Box-Behnken

	Variáveis			
	Ensaio	X_1	X_2	X_3
Fatorial 2^2 para X_1 e X_2 com $X_3 = 0$	1	-1	-1	0
	2	+1	-1	0
	3	-1	+1	0
	4	+1	+1	0
Fatorial 2^2 para X_1 e X_3 com $X_2 = 0$	5	-1	0	-1
	6	+1	0	-1
	7	-1	0	+1
	8	+1	0	+1
Fatorial 2^2 para X_2 e X_3 com $X_1 = 0$	9	0	-1	-1
	10	0	+1	-1
	11	0	-1	+1

	12	0	+1	+1
	13	0	0	0
Pontos centrais	14	0	0	0
	15	0	0	0

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

4. 1. 4 Geração de hidretos acoplado a espectrometria de absorção atômica (HG-ICP-OES)

No sistema, a amostra foi introduzida juntamente com o ácido clorídrico em fluxo contínuo por uma bomba peristáltica programável de 8 canais, onde introduziu-se o NaBH₄ (agente redutor) também em fluxo contínuo, para que houvesse a reação de formação do hidreto volátil. Os tubos de transmissão de Tygon® de polietileno de vários diâmetros foram utilizados para transporte dos fluídos. Em seguida, a amostra foi transportada para o separador gás-líquido (GLS). A mesma bomba foi utilizada para o descarte do resíduo no GLS. No separador, a fase gasosa (contendo o hidreto volátil do analito) foi separada da fase líquida. O líquido foi descartado com o uso da bomba peristáltica e a fase gasosa foi carregada por um fluxo de gás de arraste inerte (N₂) até chegar ao plasma do espectrômetro. O espectrômetro foi equipado com lâmpada de deutério para correção de fundo e uma lâmpada de catodo oco (HCL) de Se (Agilent Technologies) como fonte de radiação. As espécies voláteis de Se formadas foram carregadas do GLS para a cela através da inserção do gás N₂ (99,996%, White Martins, São Paulo, Brasil) em fluxo contínuo controlado por um fluxímetro (VFA-22, Hygro-Therm). A aquisição do sinal foi feita de formada integrada. As condições operacionais estão dispostas na Tabela 3.

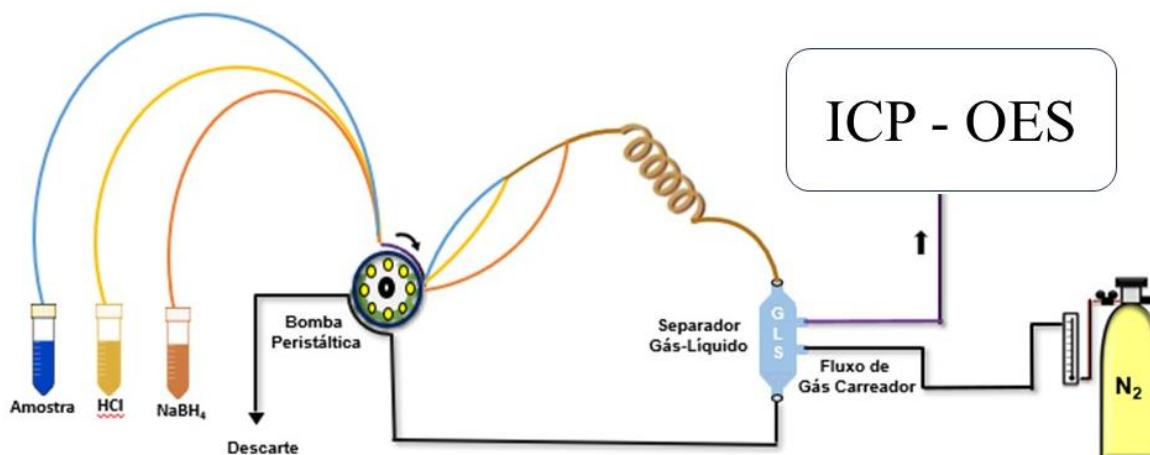
Tabela 3 - Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica.

Parâmetros Instrumentais do AAS	
Comprimento de onda (nm)	196
Abertura da fenda (nm)	1,0
Corrente da lâmpada (mA)	10
Número de leituras	15
Tempo de leitura (s)	25

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

O esquema do sistema instrumental da Geração de Hidretos acoplado ao ICP-OES está apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Representação esquemática do sistema HG-ICP-OES



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A otimização das variáveis do sistema foi feita pelo método univariado em meio reacional de amostra de feijão verde. Com isso, foram utilizadas amostras de feijão verde fortificadas com 300 ppb de padrão de selênio em meio aquoso. Foram investigados alguns parâmetros de forma univariada, como: concentração de ácido clorídrico ($1,0 - 5,0 \text{ mol L}^{-1}$), concentração de borohidreto de sódio ($0,05 - 0,5\% \text{ m v}^{-1}$), vazão de amostra ($1,20 - 3,30 \text{ mL min}^{-1}$) e fluxo do gás de arraste ($6 - 60 \text{ mL min}^{-1}$).

4. 4 Figuras de Mérito

Além das condições otimizadas, a avaliação do desempenho do método utilizado na análise foi feita por meio de algumas figuras de mérito, como: faixa linear, Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão (RSD) e exatidão.

A faixa linear de trabalho é a faixa de concentração utilizada na realização do ensaio, em que a concentração da amostra deve-se estar preferencialmente no centro dessa faixa. Para isso, foram realizados alguns ensaios e a faixa linear de trabalho obtida foi de 25 – 125 ppb. A curva de calibração obtida apresentou coeficiente de correlação maior que 0,99.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados como sendo três e dez vezes o desvio padrão obtido de 10 medidas consecutivas do branco da amostra, dividido pelo coeficiente angular da curva analítica, como mostram as equações (5) e (6) respectivamente:

$$LD = \frac{3 \cdot \sigma}{S}$$

$$LQ = \frac{10 \cdot \sigma}{S} \quad (6)$$

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade, que é calculada pelo desvio-padrão relativo RSD (%). Portanto calculou-se a precisão através do desvio-padrão de 9 medidas de soluções com 25 ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$) de Se (IV), de acordo com a equação (7):

$$RSD (\%) = \frac{s}{\bar{X}} \times 10 \quad (7)$$

A exatidão do método pode ser validada através da comparação com os resultados obtidos por meio de um método de referência já validado, com o intuito de observar o grau de proximidade dos resultados obtidos pelos dois métodos. Ambas as análises foram feitas em triplicata. Para efeitos de comprovação para a comparação dos resultados obtidos é feito um teste de hipóteses, aplicando o teste F para avaliar as variâncias e o teste t de Student, utilizado para verificar se as médias obtidas pelos dois métodos podem ser consideradas estatisticamente iguais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. 1. Otimização do método PVG-AAS

5. 1. 2. *Influência do tipo de separador gás-líquido (GLS)*

Foram avaliados dois tipos de separador gás-líquido (figura 6), o GLS (A) apresentou alta formação de bolhas devido a presença do ácido orgânico, tornando a medição ineficaz pelo risco de introdução dessas bolhas na célula de absorção, por conta disso não foi possível realizar as medidas de absorção com esse GLS.

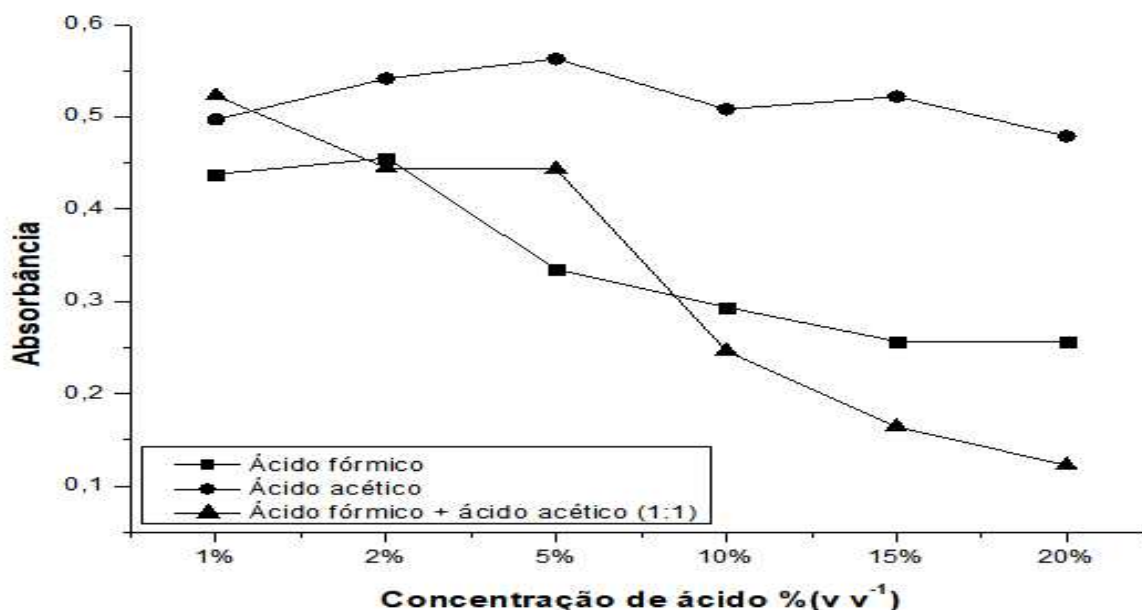
Por outro lado, com o GLS (B) não houve formação de bolhas e os resultados obtidos foram eficientes, portanto, o GLS (B) foi o escolhido para ser utilizado.

5. 1. 2. *Planejamento experimental*

Por ser uma técnica relativamente nova, foi necessária a utilização do planejamento experimental para conseguir analisar o efeito das variáveis no sinal de absorbância obtido pela utilização do sistema PVG-AAS.

A Figura 9 ilustra que as melhores respostas para Se (IV) foram obtidas com a utilização do ácido acético como ácido orgânico. Esse resultado está de acordo com o obtido por Nováková et al (2017). Neste estudo, o ácido acético obteve um aumento de quase 50% na sua absorbância máxima quando comparado a do ácido fórmico. Com isso, o ácido acético foi o escolhido para a realização das medidas. Com relação a concentração do ácido, foi escolhida a faixa entre 2,0% a 6,0% de ácido acético, devido a faixa de maior sinal observada na Figura 9.

Figura 9 - Efeitos dos ácidos orgânicos na respostas de absorvância e soluções contendo $400 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV). Condições experimentais: tempo de irradiação de 20,31 s e fluxo de gás de arraste de 30 mL min^{-1} .



Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

Com relação ao tempo de irradiação da amostra, um maior tempo de exposição a radiação UV pode afetar as espécies e radicais formados durante o processo (FROIS et al., 2020). Os resultados obtidos para essa variável estão de acordo com GUO et al., 2003, que obteve o melhor tempo no intervalo entre 10 e 30 segundos com o uso do H_2 como gás auxiliar para ajudar na quebra das espécies voláteis de selênio formadas, aumentando assim o valor do sinal de absorvância.

O fluxo de gás de arraste quando está com alta vazão pode diluir a nuvem atômica, além de um menor tempo de interação do analito na cela, o que contribui para a diminuição do sinal de resposta obtido. Por isso, um fluxo mais baixo foi utilizado. Esse raciocínio está de acordo com NOVÁKOVÁ et al., 2017, que também utilizou vazões baixas do gás e conseguiu obter um aumento do sinal obtido.

Com relação a concentração do ácido acético, foi realizado um teste preliminar em que foram testadas concentrações de 0% a 20%, e o intervalo com maior resposta obtida foi de 2,0% a 6,0%. Esse resultado está de acordo com o obtido por PALATNIK et al., 2024

O tempo de irradiação UV foi observado através da variação do fluxo de amostra recebido pelo reator fotoquímico com o auxílio de uma bomba peristáltica. Os resultados foram obtidos com o tempo de irradiação variando entre, aproximadamente, 16 a 23 segundos. O fluxo de gás de arraste, assim como o tempo de irradiação foi medido através da variação do fluxo do

gás de arraste (N₂) entre 10 a 30 mL min⁻¹, enquanto que o fluxo de H₂ permaneceu constante em 10 mL min⁻¹. A Tabela 4 apresenta as variáveis independentes e os níveis utilizados no planejamento experimental.

Tabela 4 - Variáveis e níveis do planejamento experimental

Variáveis	Símbolos	Níveis		
		-1	0	+1
Tempo de irradiação (s)	X ₁	22,56	20,31	16,42
Concentração de ácido acético % (v v ⁻¹)	X ₂	2,0%	4,0%	6,0%
Fluxo de gás carreador (mL min ⁻¹)	X ₃	10	20	30

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

As respostas obtidas nos ensaios realizados pelo planejamento são apresentadas na Tabela 5, esses resultados são importantes para plotar os gráficos de superfície para identificar os valores ótimos das variáveis para a análise de selênio.

Tabela 5 - Matriz para o planejamento experimental Box-Behnken

Variáveis				Resposta
Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	0	0,515
2	+1	-1	0	0,626
3	-1	+1	0	0,633
4	+1	+1	0	0,716
5	-1	0	-1	0,651
6	+1	0	-1	0,766
7	-1	0	+1	0,541
8	+1	0	+1	0,590
9	0	-1	-1	0,684
10	0	+1	-1	0,759

11	0	-1	+1	0,541
12	0	+1	+1	0,644
13	0	0	0	0,673
14	0	0	0	0,704
15	0	0	0	0,693

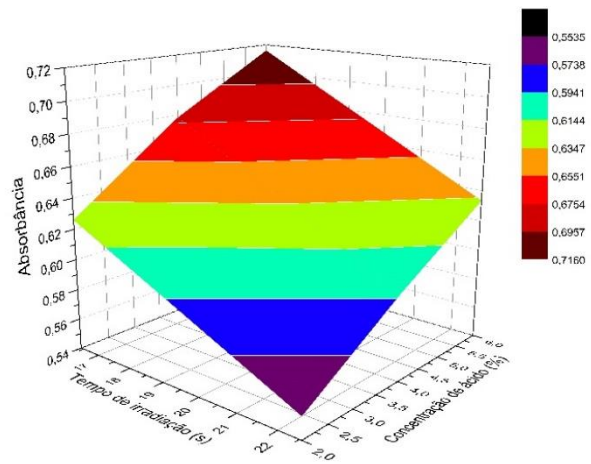
Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

Com base nesses dados é possível plotar os gráficos de superfície (Figura 10). Nas Figuras 10(a) e 10(b), observa-se a concentração de ácido acético versus tempo de irradiação e fluxo de gás carreador versus concentração de ácido acético. A partir deles é possível observar que há um aumento na resposta à medida que a concentração de ácido acético aumenta e o tempo de irradiação e fluxo de gás carreador diminuem. O mesmo acontece na Figura 10(c), que representa o fluxo de gás carreador versus tempo de irradiação, em que a resposta máxima é obtida com os valores mínimos obtidos dessas variáveis.

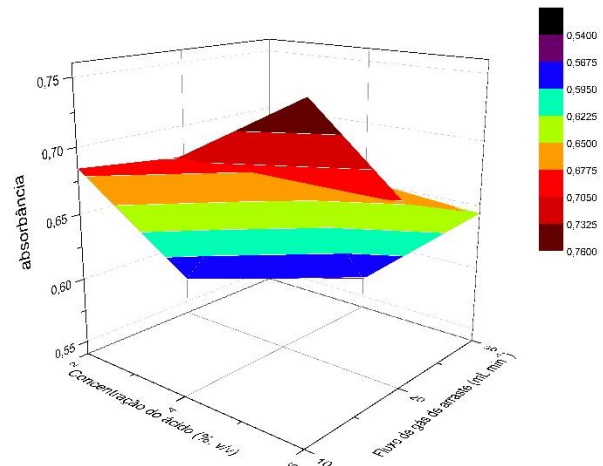
Com isso, a resposta máxima de absorbância pode ser obtida através dos valores otimizados das variáveis, sendo eles: 6,0% v v⁻¹ de ácido acético, 10 mL min⁻¹ para o fluxo de gás carreador e 16,42 s para o tempo de irradiação. Porém, por conta do alto consumo de solução, o tempo de irradiação utilizado foi de 20,31s.

Figura 10 - Superfície de resposta para o Planejamento Box-Behnken. (a) Concentração de ácido acético X tempo de irradiação; (b) Fluxo de gás carreador X concentração de ácido acético; (c) Fluxo de gás carreador X Tempo de irradiação.

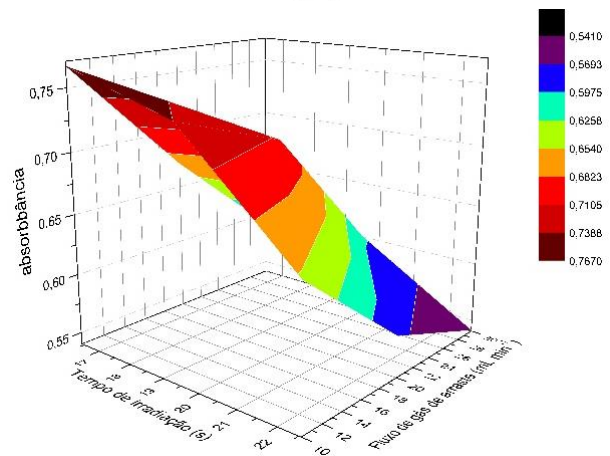
(a)



(b)



(c)



Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

A partir da curva de calibração gerada pela adição de padrão, usando as variáveis otimizadas, foi obtida a equação $y = 0,0027x - 0,0079$ ($R^2 = 0,9985$), apresentando coeficiente de correlação adequado ($R > 0,99$).

5. 2 Figuras de Mérito

A Tabela 6 apresenta os valores obtidos para as figuras de mérito do método utilizado.

Tabela 6 - Figuras analíticas de mérito para determinação de Se(IV) e Se total

Parâmetro	Resposta Se (IV) PVG-AAS	Resposta Se (IV) HG-AAS
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	50 – 175	25 – 125
Precisão (RSD %)	(n=8) 15,1	(n=9) 7,57
LD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	1,60	1,07
LQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	5,33	3,57
Recuperação (mg kg^{-1})	$2,24 \pm 0,38^a$	$2,84 \pm 0,24^a$

^a desvio padrão para análise em triplicata

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

A precisão do método foi calculada a partir da repetibilidade expressa pelo desvio padrão relativo (RSD) de 9 medidas de soluções com 25 ppb ($\mu\text{g. L}^{-1}$) de Se (IV) para HG-ICP-OES e 8 medidas de soluções com 100 ppb ($\mu\text{g. L}^{-1}$) para PVG-AAS. Os resultados de RSD% obtidos estão dentro do parâmetro de repetibilidade sugerido pela AOAC (2012) observando o nível da concentração de até 100 ppb que é de 15%, mostrando que a precisão é relativamente boa para o método empregado. Os limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LQ) foram calculados como sendo 3 e 10 vezes, respectivamente, o desvio-padrão de 10 medidas da solução de branco analítico do método, e dividido pela inclinação da curva de calibração. A recuperação foi testada utilizando a amostra obtida em Caucaia (Ceará), que foi analisada tanto pelo método PVG-AAS e HG-ICP-OES, apresentando resultados muito próximos e para validar foram realizados os Teste F e o teste t de Student, da seguinte forma:

Para o teste F, o $F_{\text{crítico}}$ foi escolhido através do grau de liberdade (GL) de ambos os ensaios (GL = 2), para esse GL o $F_{\text{crítico}}$ é igual a 19,00. A partir disso e com os valores das variâncias (S_1 e S_2) é possível calcular o F através da Equação (8) e avaliar se se aceita a igualdade das variâncias ou não.

$$F_{\text{calc}} = \frac{S_1^2}{S_2^2} = \frac{0,14^2}{0,057^2} = 6.36$$

Sendo:

S_1 = valor da variância obtido para as análises feitas por PVG-AAS

S_2 = valor da variância obtido para as análises feitas por HG-AAS

Comparando o $F_{\text{calculado}}$ e $F_{\text{crítico}}$ é possível observar que $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, portanto aceita-se a igualdade das variâncias.

Para o teste t de student, o $t_{\text{crítico}}$ foi escolhido através do grau de liberdade dos ensaios ($GL = 2$) e a partir disso obter o valor de $t_{\text{crítico}}$ igual a 3,182. A partir da Equação (9) e com os valores das médias obtidas foi possível calcular o $t_{\text{calculado}}$ e avaliar se a igualdade das médias pode ser aceita ou não.

$$t = \frac{|\bar{X} - \mu| \sqrt{n}}{S} = \frac{|2.24 - 2.84| \sqrt{3}}{0.14} = 2,761 \quad (9)$$

A partir do resultado obtido é possível comparar os dois valores de t e é possível observar que $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$, portanto as médias são estatisticamente equivalentes.

A partir dos valores obtidos para o teste F e teste t de student é possível confirmar através dos cálculos que o método de PVG-AAS apresenta exatidão.

Para efeito de comparação, em termos de LOD, a Tabela 7 mostra os valores obtidos de LOD de alguns trabalhos da literatura para determinação de selênio por meio da geração de vapor.

Tabela 7 - Limites de detecção para determinação de Se utilizando técnicas diferentes.

Técnica	Agente redutor	LD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referência
PVG-AAS	Ácido acético	1,60	Este trabalho
HG-AAS	NaBH ₄	1,07	Este trabalho
HG-AAS	NaBH ₄	7,0	Sigrist et al. (2012)
HG-AFS	NaBH ₄	0,7	Matos-Reyes et al. (2010)
PVG-GFAAS	Ácido fórmico	0,65	Da Luz Potes et al. (2019)

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

Através dos dados dispostos na tabela 7, é possível perceber que os LDs obtidos neste trabalho são melhores quando comparados a metodologias que utilizam a mesma técnica de absorção atômica de chama (AAS). É importante ressaltar que o limite de detecção obtido foi maior do que os obtidos por HG-AFS e PVG-GFAAS, o que já era esperado pois ambas as técnicas são mais sensíveis do que a utilizada neste trabalho. Os métodos que utilizam HG também apresentam sensibilidade menor que a obtida por PVG-AAS, porém a utilização de agentes redutores instáveis e a alta geração de resíduos são desvantagens que devem ser levadas em consideração. É necessário ressaltar que tanto o LD quanto LQ possuem valores abaixo das concentrações obtidas de selênio na maioria das amostras analisadas como mostra a Tabela 10, exceto pela amostra de Pará (Belém), mostrando que o método proposto é viável para análise de determinação de selênio em feijão verde.

5.3 Método GREEnness

O método GREEnness proposto por Pena-Pereira *et al.*, 2020 tem como objetivo avaliar quão verde é o método analítico utilizado. Essa avaliação é realizada através de 12 parâmetros (Tabela 8) a serem respondidos e a partir do pictograma gerado é possível avaliar quão verde é o método, seguindo a tabela de valores (Tabela 9).

Tabela 8 - Perguntas a serem respondidas para o AGREE

Princípios
1. As técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar tratamento de amostras.
2. Tamanho mínimo de amostra e número mínimo de amostras são metas.
3. As medições <i>in situ</i> devem ser realizadas.
4. Integração de processos analíticos e as operações que economizam energia e reduzem o uso de reagentes.
5. Métodos automatizados e miniaturizados devem ser selecionados.
6. A derivatização deve ser evitada.
7. Geração de um grande volume de resíduos deve ser evitado e adequado e a gestão correta de resíduos deve ser fornecida.
8. Métodos multianalíticos ou multiparâmetros são preferidos versus métodos que usam um analito por vez.
9. O uso de energia deve ser minimizado.

10. Reagentes obtidos de fontes renováveis devem ser preferidos.

11. Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos.

12. A segurança do operador deve ser aumentada.

Fonte: Pena-Pereira *et al.*, 2020

Tabela 9 - Critérios de aceitabilidade do AGREE

FAIXA	ACEITABILIDADE
0,6 A 1,0	Excelente
0,4 A 0,6	Aceitável
0,0 A 0,4	Não aceitável

Fonte: Pena-Pereira *et al.*, 2020

A partir das respostas aos princípios observados na Tabela 8 foi possível gerar um pictograma para os métodos de Geração de Hidretos (HG) e Geração Fotoquímica de Vapor (PVG) (Figura 12) e comparar os valores com os de aceitabilidade (Tabela 9).

Comparando os valores obtidos nos pictogramas, é possível observar que o método PVG-AAS obteve um valor de 0,69, que é considerado excelente segundo a faixa de aceitabilidade do método, sendo assim considerado um método verde. É importante ressaltar que no pictograma obtido para HG-AAS, foi obtido um valor de 0,49, que é considerado ainda como aceitável, porém quando comparado ao método PVG-AAS é considerado menos verde.

Figura 11 - Pictogramas obtidos para HG e PVG



Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

5. 4 Aplicação da geração fotoquímica de vapor em amostras de feijão verde para determinação de selênio

Os sistemas de geração de hidretos acoplado a espectrometria de emissão atômica (HG-ICP-OES) e o sistema de geração fotoquímica de vapor acoplado a espectrometria de absorção atômica (PVG-AAS) foram aplicados para determinação de selênio em amostras de feijão verde de diferentes locais (Ceará – Fortaleza e Caucaia; Pará – Belém). A estratégia de calibração utilizada foi por adição de padrão por conta do possível efeito de matriz na amostra. As concentrações de selênio obtidos são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Concentração média de selênio em amostra de feijão verde comercial.

	Se (mg Kg ⁻¹)	Localização	Referência
Feijão verde	2,24 ± 0,38	Ceará (Caucaia)	Esse trabalho
Feijão verde	2,00 ± 0,14	Ceará (Fortaleza)	Esse trabalho
Feijão verde	0,848 ± 0,004	Pará (Belém)	Esse trabalho
Feijão	1,72 ± 0,006	Região Norte	Shaltout <i>et al.</i> (2011)
Feijão	< 5 µg kg ⁻¹	9 estados	Shaltout <i>et al.</i> (2020)

Valores em média ± Desvio padrão (n = 3)

Fonte: Elaborado pela Autora, 2024.

As concentrações de Se nas amostras analisadas estão dentro do esperado, quando comparados com os resultados obtidos por Shaltout *et al.*, (2011) para amostras de feijão obtidos da região norte do Brasil, como mostra a Tabela 10. Porém, quando comparado aos teores obtidos por Ventura *et al.* (2007) para amostras obtidas em Portugal e De Lima *et al.* (2013), percebe-se uma variação nos teores médios e que eles são inferiores aos obtidos nesse trabalho. Essa variação da concentração de selênio comprova que os fatores, como: a região, solo, dentre outros fatores ambientais são relevantes com relação a concentração desse elemento nos alimentos. De acordo com a FAO (Food na Agriculture Organization) e o *Institute of Medicine* é estabelecido que a ingestão máxima aceitável de selênio para uma pessoa adulta é de 55 µg/dia, com um limite tolerável de até 300 µg/dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006). A partir desses resultados é possível concluir que o feijão pode ser considerado uma boa fonte de selênio na alimentação e está de acordo com os valores encontrados por outros autores.

Existem poucos artigos que abordam a determinação de selênio em amostras mais complexas pela dificuldade de análise em baixas concentrações. Shaltout *et al.* (2020) realizaram um estudo utilizando um sistema de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite de fonte contínua de alta resolução (HS-CS-GF-AAS) para implementar um método de análise de grãos, utilizaram 14 amostras coletadas em 9 estados do Brasil e encontraram concentrações inferiores a $5 \mu\text{g kg}^{-1}$, e mesmo assim concluíram que métodos com geração de hidretos por captura *in-situ* para pré-concentração e posterior análise de selênio devem ser utilizados para obter sensibilidade suficiente. É importante ressaltar que o feijão utilizado no estudo foi colhido verde.

6 CONCLUSÃO

O estudo realizado para determinação de selênio em feijão verde por PVG-AAS mostrou que com a otimização das variáveis, foi possível avaliar diferentes parâmetros, como a configuração do separador gás-líquido (GLS), em que foi possível mostrar que apesar da formação de bolhas, o GLS utilizado consegue separar eficientemente a parte vapor da parte líquida por conta da haste fina central que permite essa separação com o auxílio do gás carreador. O estudo das variáveis: fluxo do gás de arraste e tempo de irradiação UV na amostra, assim como o tipo e a concentração do ácido orgânico foi importante para possibilitar a obtenção de melhores respostas para a separação quantitativa das espécies de Se da fase líquida para a fase gasosa pela formação das espécies voláteis, o que influencia na sensibilidade do método. A partir da otimização das variáveis foi possível comprovar que dentre os ácidos testados (ácido acético e ácido fórmico) o ácido acético obteve melhores respostas que o ácido fórmico, e que uma baixa concentração de ácido acético, um menor tempo de irradiação e um menor fluxo de gás carreador dentro das faixas estudadas são ideais para obter um sinal analítico máximo. Além disso, obteve LD menor que o obtido para outros métodos convencionais, além de mostrar uma excelente precisão e exatidão.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, Daniel. B. *et al.* Selenium in Brazil nuts: An overview of agronomical aspects, recent trends in analytical chemistry, and health outcomes. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 372, n. March 2021, 2022.
- ANDRADE, Fabrício Napoleão *et al.* Estimation of genetic parameters in cowpea genotypes evaluated for fresh southern pea | Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. **Revista Ciencia Agronomica**, Teresina, v. 41, n. 2, p. 253–258, 2010.
- BAKIRDERE, Sezgin.; VOLKAN, Mürvet.; ATAMAN, Osman. Yavuz. Speciation of Selenium in Supplements by High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, Turkey, v. 48, n. 9, p. 1511–1523, 2015.
- BORGES DE OLIVEIRA SILVA, Marina *et al.* Desempenho agronômico de genótipos de feijão-caupi. **Revista de Ciências Agrárias**, Minas Gerais, v. 41, n. 4, p. 1059–1066, 2018.
- BÜYÜKPINAR, Çağdaş *et al.* An accurate analytical method for the determination of cadmium: Ultraviolet based photochemical vapor generation-slotted quartz tube based atom trap-flame atomic absorption spectrophotometry. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, Turkey, v. 176, 109192, 2021.
- CARVALHO, Ana Fontenele Urano *et al.* Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. **Journal of Food Composition and Analysis**, Fortaleza, v. 26, n. 1–2, p. 81–88, 2012.
- D'ULIVO, Alessandro *et al.* Chemical vapor generation atomic spectrometry using amineboranes and cyanotrihydroborate(III) reagents. **Analytical Chemistry**, Italy, v. 75, n. 11, p. 2591–2600, 2003.
- D'ULIVO, Alessandro *et al.* Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media: A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, Italy, v. 59, n. 6, p. 793–825, 2004.
- D'ULIVO, Alesssandro; MESTER, Zoltán; STURGEON, Ralph E. The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, [s. l.], v. 60, n. 4, p. 423–438, 2005.
- DA LUZ POTES, Mariana *et al.* Investigation of the conditions for selenium determination by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, Porto Alegre, v. 147, n. November 2018, p. 324–332, 2019a.
- DA LUZ POTES, Mariana *et al.* Investigation of the conditions for selenium determination by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, Porto Alegre, v. 147, n. March, p. 324–332, 2019b.
- DA SILVA, Elidiane Gomes; MATAVELI, Lidiane Raquel Verola; ZEZZI ARRUDA, Marco Aurélio. Speciation analysis of selenium in plankton, Brazil nut and human urine samples by

HPLC-ICP-MS. **Talanta**, São Paulo, v. 110, p. 53–57, 2013.

DE JESUS, Honório Coutinho; GRINBERG, Patricia; STURGEON, Ralph E. System optimization for determination of cobalt in biological samples by ICP-OES using photochemical vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 1590–1604, 2016.

DE LIMA, Grazielle Cabral *et al.* Determination of selenium using atomically imprinted polymer (AIP) and hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Minas Gerais, v. 768, n. 1, p. 35–40, 2013.

DING, Yonggang *et al.* Photochemical Vapor Generation for Colorimetric Speciation of Inorganic Selenium. **Analytical Chemistry**, China, v. 91, 3508–3515, 2019.

DONG, Liang *et al.* Vanadium Species-Assisted Photochemical Vapor Generation for Direct Detection of Trace Tellurium with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 94, n. 11, 4770–4778, 2022.

DUNTAS, Leonidas H. Selenium and inflammation: underlying anti-inflammatory mechanisms. **Hormone and metabolic research**, Greece, v. 41, n. 6, p. 443–447, 2009.

FAIRWEATHER-TAIT, Susan *et al.* Selenium in human health and disease. **Antioxidants and Redox Signaling**, United Kingdom, v. 14, n. 7, p. 1337–1383, 2011.

FERREIRA, Karla Silva *et al.* Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, Minas Gerais, v. 11, n. 3, p. 172–177, 2002.

FOSTEP, L. H.; SUMA, S. Hydride generation atomic absorption spectrometric (HGAAS) determination of selenium in term and preterm infant formulae available in the United Kingdom. **Food Chemistry**, United Kingdom, v. 55, n. 3, p. 293–298, 1996.

FROIS, Carla F. G. *et al.* A comparison between chemical and photochemical vapor generation techniques for mercury determination using univariate and multivariate optimization. **Microchemical Journal**, Rio Grande do Sul, v. 157, n. May, p. 105029, 2020.

GUO, Xuming *et al.* UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, Canada, v. 75, n. 9, p. 2092–2099, 2003.

HOSSAIN, Mobarok *et al.* Recent trends in the analysis of trace elements in the field of environmental research: A review. **Microchemical Journal**, India, v. 165, n. January, p. 106086, 2021.

OTTEN, Jennifer J.; HELLWIG, Jennifer Pitz; Meyers Linda D. Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements. Washington, DC: **The National Academies Press**; 2006.

LI, Kejun *et al.* A novel and indirect method for L-cysteine detection in traditional Chinese medicines by chemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. **Microchemical Journal**, China, v. 172, n. PA, p. 106891, 2022.

LIU, Xing *et al.* Plasma induced chemical vapor generation for atomic spectrometry: A review. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, China, v. 167, n. January, p. 105822, 2020.

MARSARO JÚNIOR, Alberto Luiz; ALCANTARA VILARINHO, Aloisio. Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em condições de armazenamento. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 51, 2017.

MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, Ralph. E. Atomic spectrometric detection of hydride forming elements following in situ trapping within a graphite furnace. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, [s. l.], v. 51, n. 4 PART B, p. 377–397, 1996.

MUÑIZ-NAVEIRO, Óscar *et al.* Selenium speciation in cow milk obtained after supplementation with different selenium forms to the cow feed using liquid chromatography coupled with hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, Spain, v. 71, n. 4, p. 1587–1593, 2007.

NAKAHARA, Taketoshi. Development of gas-phase sample-introduction techniques for analytical atomic spectrometry. **Analytical Sciences**, Japan, v. 21, n. 5, p. 477–484, 2005.

SOUZA, Karla Nascimento *et al.* Avaliação de genótipos de feijão-caupi para produção de grãos verdes em Mossoró-RN. **Colloquium Agrariae**, Rio Grande do Norte, v. 15, n. 1, p. 09-14, 2019.

NOVÁKOVÁ, E. *et al.* Flow injection determination of Se in dietary supplements using TiO₂ mediated ultraviolet-photochemical volatile species generation. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, Czech Republic, v. 134, p. 98–104, 2017.

PALATNIK, Jaime *et al.* Sensitive method for total selenium determination in garlic and nuts by UV-photochemical vapor generation coupled to atomic absorption spectrometry using mild conditions. **Journal of Food Composition and Analysis**, Argentina, v. 125, n. June 2023, 2024.

PENA-PEREIRA, Francisco; WOJNOWSKI, Wojciech; TOBISZEWSKI, Marek. AGREE - Analytical GREENness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 2020.

RAYMAN, Margaret P.; INFANTE, Heidi Goenaga; SARGENT, Mike. Food-chain selenium and human health: Spotlight on speciation. **British Journal of Nutrition**, United Kingdom, v. 100, n. 2, p. 238–253, 2008.

RIBEIRO, Carlos César *et al.* Viabilidade econômica do feijão-caupi verde irrigado na microrregião de Teresina, Piauí. **Embrapa - Comunicado técnico 250**, Piauí, ISSN 0104-7647, p. 20, 2019.

ROMANOVSKIY, Konstantin. A. *et al.* A novel photochemical vapor generator for ICP-MS determination of As, Bi, Hg, Sb, Se and Te. **Talanta**, Russia, v. 187, n. May, p. 370–378, 2018.

SHALTOUT, Abdallah A. *et al.* Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic

absorption spectrometry. **Talanta**, Santa Catarina, v. 85, n. 3, p. 1350–1356, 2011.

SIGRIST, Mirna *et al.* Determination of selenium in selected food samples from Argentina and estimation of their contribution to the Se dietary intake. **Food Chemistry**, Argentina, v. 134, n. 4, p. 1932–1937, 2012.

SILVA, Nilvan A.; NOBRE, Nandressa F.; LOPES, Gisele S. Rapid and Low Cost Determination of Total Mercury in Cat Foods by Photochemical Vapor Generation Coupled to Atomic Absorption Spectrometry. **Biological Trace Element Research**, Ceará, v. 199, n. 3, p. 1161–1169, 2021.

ŠOUKAL, Jakub; MUSIL, Stanislav. Detailed evaluation of conditions of photochemical vapor generation for sensitive determination of nickel in water samples by ICP-MS detection. **Microchemical Journal**, Czech Republic, v. 172, 2022.

TAI, Chia-Yi; JIANG, Shiuh-Jen; SAHAYAM, A. C. Determination of As, Hg and Pb in herbs using slurry sampling flow injection chemical vapor generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Food Chemistry**, Taiwan, v. 192, p. 274–279, 2016.

TAKASE, Iracema *et al.* A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 6b, p. 1132–1144, 2002.

VENTURA, Márcia Gonçalves *et al.* Selenium content in selected Portuguese foodstuffs. **European Food Research and Technology**, Portugal, v. 224, n. 3, p. 395–401, 2007.

VIEIRA, Maria Marlene da Silva. **Qualidade física, química, compostos bioativos e capacidade antioxidante em cultivares de feijão verde *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 2015. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2017.

YANG, Jinfu; CONVER, Timothy S.; KOROPCHAK, John A. Direct Speciation of Selenite and Selenate with Thermospray Sample Introduction Methods. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 22, p. 4064–4071, Illinois, 1996.

YIN, Yongguang; LIU, Jingfu; JIANG, Guibin. Photo-induced chemical-vapor generation for sample introduction in atomic spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, China, v. 30, n. 10, p. 1672–1684, 2011.

ZHENG, Chengbin *et al.* UV photochemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements. **Microchemical Journal**, China, v. 95, n. 1, p. 32–37, 2010.

ZOU, Zhirong *et al.* Photochemical vapor generation of selenium: Mechanisms and applications. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, China, v. 27, p. e00094, 2020.