

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Roberta Pereira Matos

**DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL E BIODISPONÍVEL DE
SELÊNIO EM DIFERENTES CLASSES DE SOLOS DA REGIÃO
DO VALE DO JEQUITINHONHA - MG**

Orientadora: Dra. Clésia Cristina Nascentes
Coorientadora: Dra. Cláudia Carvalhinho Windmüller

Belo Horizonte

2017

UFMG/ICEx/DQ. 1196^a

T. 541^a

Roberta Pereira Matos

**DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL E BIODISPONÍVEL DE
SELÊNIO EM DIFERENTES CLASSES DE SOLOS DA REGIÃO
DO VALE DO JEQUITINHONHA - MG**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química.

Belo Horizonte

2017

M425d
2017
T

Matos, Roberta Pereira

Determinação do teor total e biodisponível de selênio em diferentes classes de solos da região do Vale do Jequitinhonha - MG [manuscrito] / Roberta Pereira Matos. 2017.

[xviii], 104 f.: il.

Orientadora: Clésia Cristina Nascentes.

Coorientadora: Cláudia Carvalhinho Windmöller.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

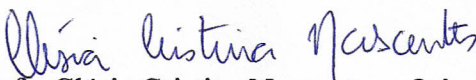
1. Química analítica - Teses 2. Química ambiental - Teses 3. Solos - Análise - Jequitinhonha, Rio, Vale (MG e BA) - Teses 4. Selênio - Teses 5. Espectroscopia de fluorescência - Teses 6. Espectroscopia de absorção atômica - Teses I. Nascentes, Clésia Cristina, Orientadora II. Windmöller, Cláudia Carvalhinho, Coorientadora III. Título.

CDU 043

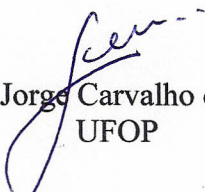
"Determinação do Teor Total e Biodisponível de Selênio em Diferentes Classes de Solos da Região do Vale do Jequitinhonha - MG"

Roberta Pereira Matos

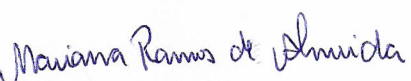
Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Profª. Clésia Cristina Nascentes - Orientadora
UFMG


Profª. Ana Rita de Araújo Nogueira
EMBRAPA


Prof. Jorge Carvalho de Lena
UFOP


Profª. Leticia Malta Costa
UFMG


Profª. Mariana Ramos de Almeida
UFMG

Belo Horizonte, 17 de fevereiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho não seria possível sem a colaboração, estímulo e apoio de diversas pessoas. Quero manifestar os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta tarefa se tornasse uma realidade.

Primeiramente agradeço a Deus por estar presente em todos os momentos de minha vida e ter permitido a conclusão deste trabalho;

Ao meu esposo Ednilton Gama pelo amor, compreensão, estímulo e incansável apoio e ajuda;

À minha família que me apoiou e torceu pelo meu sucesso, em especial, à minha mãe Doreni pelo amor, motivação, orações e confiança em meu potencial;

A minha família de Belo Horizonte, em especial tia Nita (*in memoria*), tio Agapito, Vera e Vaneide, pela acolhida e apoio em Belo Horizonte.

À professora Dra. Clésia Cristina Nascentes pela orientação, ensinamentos, compreensão e conversas, que muito contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação profissional e pessoal.

À professora Dra. Cláudia Carvalhinho Windmöller pela co-orientação e disponibilidade.

Ao professor Dr. Vico Mendes Pereira Lima pela colaboração, coleta das amostras e ensinamentos na área de solos.

À Dra. Heulla Pereira Vieira pela ajuda nas análises da determinação do selênio, imprescindível para realização deste trabalho.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) por disponibilizar sua infraestrutura para a determinação do selênio.

À professora Dra. Luiza de Marilac Pereira Dolabella por disponibilizar os equipamentos do laboratório, imprescindível para a realização das extrações.

Ao professor Dr. Jorge Carvalho de Lena, pela análise dos óxidos pela Fluorescência de raios-X.

Ao professor Dr. Fábio Soares de Oliveira pelo empréstimo da Carta de Munsell.

Ao pessoal do LEAQUA pela amizade e colaboração, em especial à Louise e Mariana.

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em especial ao Departamento de Química (DQ), pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Instituto Federal do Norte de Minas, campus Almenara, pela compreensão em organizar meus horários de forma que pudesse viajar para Belo Horizonte, e pela bolsa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho,
MUITO OBRIGADO!

“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

DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL E BIODISPONÍVEL DE SELÊNIO EM DIFERENTES CLASSES DE SOLOS DA REGIÃO DO VALE DO JEQUITINHONHA - MG

RESUMO

Nesta tese, a concentração de selênio (Se) total e sua biodisponibilidade foram determinadas nos horizontes A e B de diferentes classes de solos, de áreas com mínima ação antropogênica, no Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais. Selênio total foi determinado empregando a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS), após digestão com água régia invertida em forno de micro-ondas. O método apresentou limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, desvio padrão relativo de 1,10% e recuperação de 90%. Para as diferentes classes de solos, a concentração de Se variou de $0,30 \pm 0,03$ a $5,97 \pm 0,20 \text{ mg kg}^{-1}$. As maiores concentrações foram verificadas no Espodossolo e nos solos mais intemperizados (Latosolos Vermelho e Amarelo-Vermelho). Selênio total foi correlacionado com as propriedades físico-químicas (PFQ) do solo (areia, silte, argila, matéria orgânica (MO), pH e óxidos de Al, Fe e Si). As análises estatísticas, da correlação de Pearson (r), análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), mostraram que a concentração de Se correlacionou-se significativamente e positivamente com Al_2O_3 ($r = 0,76$), Fe_2O_3 ($r = 0,57$) e argila ($r = 0,64$), e negativamente com SiO_2 ($r = -0,76$) e areia ($r = -0,54$). Não houve correlação significativa com a MO, pH e silte. Para avaliar a biodisponibilidade do Se, foram realizadas extrações paralelas simples. Soluções extratoras de água ultrapura, tampão fosfato e hidróxido de sódio foram utilizadas para avaliar o Se solúvel em água (Se-SA), Se-trocável (Se-T) e Se ligado à MO (Se-MO), respectivamente. O extrato de Se-MO foi fracionado (usando ácido nítrico) em Se ligado ao ácido fúlvico (Se-AF) e Se ligado ao ácido húmico (Se-AH). A concentração de Se foi determinada nas 3 frações empregando-se a fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF), usando Ga 1 mg L^{-1} como padrão interno. A acurácia do método foi avaliada

por adição e recuperação, obtendo-se recuperações variando de 98% a 107%. A precisão variou de 0,97 a 2,00%. Diferentes níveis de Se biodisponível foram verificados nos solos. Se-MO foi a fração dominante, responsável por 15,2% para 98,2% do Se total. As PFQ foram correlacionadas principalmente com a fração Se-SA. Esta fração foi positivamente correlacionada com pH ($r = 0,49$) e areia ($r = 0,57$), e negativamente com Al_2O_3 ($r = - 0,50$). O Fe_2O_3 foi fortemente correlacionado com Se-AH ($r = 0,78$), Se residual ($r = 0,79$), Se-AF ($r = 0,86$) e Se total ($r = 0,97$). Estes resultados têm implicações significativas para a biodisponibilidade de Se para solos tropicais, que apresentam alta acidez e altos teores de Al_2O_3 e Fe_2O_3 .

Palavras Chave: Selênio, solos, biodisponibilidade, extração paralela simples, HG AAS, TXRF.

DETERMINATION OF TOTAL CONTENT AND BIOAVAILABLE SELENIUM IN DIFFERENTS CLASSES OF SOILS FROM JEQUITINHONHA VALLEY - MG

ABSTRACT

In this work, total selenium (Se) concentration and its bioavailability were determined in A and B horizons of several classes of soils from preserved areas in the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais state. Total Se was determined by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG AAS) after reverse aqua regia digestion in a microwave oven. The detection and quantitation limits (LD and LQ) of the method were 0.03 mg kg^{-1} and 0.30 mg kg^{-1} , respectively, with relative standard deviation of 1.10%, and recovery rate of 90 %. For different classes of soils analyzed, Se concentration ranged from 0.30 ± 0.03 to $5.97 \pm 0.20 \text{ mg kg}^{-1}$. The highest concentrations were determined in Spodosol and weathered soils (Red and Red-Yellow Latosols). Total Se was correlated with soil physicochemical properties (SPP) (sand, silte, clay, organic matter (OM), pH and oxides of Al, Fe and Si). The statistical analysis by Pearson's correlation, principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) showed that Se concentration correlated significantly and positively with Al_2O_3 ($r = 0.76$), Fe_2O_3 ($r = 0.57$) and clay ($r = 0.64$), and negatively with SiO_2 ($r = -0.76$) and sand ($r = -0.54$). There was no significant correlation with OM, pH and silt. To evaluate Se bioavailability were used parallel single extractions. Three extractants (ultrapure water, phosphate buffer and sodium hydroxide) were used to allow assessing water-soluble Se (W-Se), exchangeable Se (E-Se) and Se bound to soil organic matter (OM-Se), respectively. Subsequently, OM-Se extract was fractioned (using nitric acid) into Se associated with fulvic acids (FA-Se) and humic acids (HA-Se). Se concentration was determined in three fractions by total reflection X-ray fluorescence (TXRF), using 1 mg L^{-1} Ga as internal standard. Accuracy was evaluated by addition and recovery, obtaining recoveries ranged from 98% to 107%. Precision ranged from 0.97 to 2.00%. Different levels of Se bioavailable was verified in soils. OM-Se was the dominant fraction, accounted for 15.2% to 98.2% Se content. The SPP was correlated mainly with W-Se fraction. This fraction was positively correlated with pH ($r = 0.49$) and sand ($r = 0.57$), and

negatively with Al_2O_3 ($r = - 0.50$). The Fe_2O_3 was strongly correlated with HA-Se ($r = 0.78$), Residual Se fractions ($r = 0.79$), FA-Se ($r = 0.86$) and total Se ($r = 0.97$). These results have significant implications in the Se bioavailability for tropical soils, that present high acidity and Al_2O_3 and Fe_2O_3 oxides contents.

Keywords: Selenium, soil, bioavailability, parallel single extraction, HG AAS, TXRF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Esquema representativo das fontes de Se para o meio ambiente.	05
Figura 1.2	Esquema de um perfil de solo hipotético mostrando os principais horizontes.	08
Figura 1.3	Limites de detecção das técnicas espectroanalíticas.	10
Figura 1.4	Arranjo simplificado usado para (a) XRF convencional e para (b) TXRF.	14
Figura 2.1	Mapa da área estudada com a localização dos pontos de amostragem no Vale do Jequitinhonha, MG.	28
Figura 2.2	Perfis de alguns solos coletados: (a) Latossolo Vermelho-Amarelo (b) Chernossolo (c) Gleissolo.	33
Figura 2.3	Carta de Munsell.	34
Figura 2.4	(a) Lâmina de vidro com cavidade rasa para amostra em pó. (b) Difratorômetro de raios-X, Shimadzu.	35
Figura 2.5	(a) Gerador de hidretos, modelo VGA77 acoplado ao espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo SpectrAA 220 (Varian, Mulgrave, Austrália) e (b) esquema geral do sistema usado para determinação de Se.	37
Figura 2.6	Digestor de micro-ondas, Ethos 1.	39
Figura 2.7	Programa de aquecimento.	39
Figura 2.8	Amostras dos diferentes tipos de solos coletados.	43
Figura 2.9	Difratograma do horizonte A do Latossolo Vermelho-Amarelo (perfil 7).	45
Figura 2.10	Difratograma do horizonte B do Latossolo Vermelho-Amarelo (perfil 7).	45

Figura 2.11	Comparação do teor de matéria orgânica nos horizontes A e B dos solos estudados.	49
Figura 2.12	Boxplot para o teor de matéria orgânica nos horizontes A e B.	49
Figura 2.13	Comparação dos valores de pH nos horizontes A e B dos solos estudados.	50
Figura 2.14	Boxplot para o pH nos horizontes A e B.	51
Figura 2.15	Comparação dos valores de CTCt nos horizontes A e B dos solos estudados.	52
Figura 2.16	Comparação dos teores de SiO ₂ nos horizontes A e B dos solos estudados.	53
Figura 2.17	Comparação dos teores de Al ₂ O ₃ nos horizontes A e B dos solos estudados.	53
Figura 2.18	Comparação dos teores de Fe ₂ O ₃ nos horizontes A e B dos solos estudados.	53
Figura 2.19	Boxplot para os teores de SiO ₂ , Al ₂ O ₃ e Fe ₂ O ₃ nos horizontes A e B.	53
Figura 2.20	Boxplot para os teores de areia, silte e argila nos horizontes A e B.	55
Figura 2.21	Comparação das concentrações de Se nos horizontes A e B dos solos estudados.	60
Figura 2.22	Boxplot para a concentração de Se nos horizontes A e B.	60
Figura 2.23	Gráfico de <i>loadings</i> PC1 x PC2.	65
Figura 2.24	Gráfico de Escores PC1 x PC2.	66
Figura 2.25	Dendograma obtido pelo HCA das amostras de solos estudados.	68
Figura 3.1	Espectros da TXRF obtidos a partir da análise das frações da amostra LVAd (A): (a) Se ligado à matéria orgânica, (b) Se - trocável, (c) Se - solúvel em água.	88
Figura 3.2	Porcentagens de Se nas diferentes frações do solo.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Concentrações de Se em solos brasileiros, reportadas na literatura.	06
Tabela 1.2	Aplicação da TXRF nas análises de amostras ambientais.	16
Tabela 2.1	Classificação, localização e material de origem dos solos estudados.	32
Tabela 2.2	Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica com gerador de hidretos para determinação de Se.	38
Tabela 2.3	Características da cor e minerais identificados na TFSA dos solos.	44
Tabela 2.4	Características físico-químicas dos solos e as concentrações de Se	47
Tabela 2.5	Teores de óxidos obtidos pelo ataque sulfúrico e índices de intemperização (K _i e K _r) dos solos analisados (horizonte B).	54
Tabela 2.6	Figuras de mérito para determinação de Se por HG AAS.	57
Tabela 2.7	Concentrações de Se total nas amostras de solos.	58
Tabela 2.8	Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre a concentração de Se total e as características físico-químicas dos solos (n= 20).	63
Tabela 2.9	Valores de <i>Loadings</i> para as três PCs e suas respectivas variâncias.	64
Tabela 3.1	Parâmetros de mérito para determinação de Se nas frações de solos por TXRF.	87
Tabela 3.2	Concentrações de Se nas frações dos solos por TXRF e Se total por HGAAS.	89
Tabela 3.3	Matriz de correlação de Pearson entre as frações de Se, Se total e características físico-químicas dos solos (n = 20).	96

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica)
AF	Ácido Fúlvico
AH	Ácido Húmico
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
CTCt	Capacidade de Troca Catiônica efetiva
DMDSe	Dimetildiselenito
DMSe	Dimetilselenito
DPR	Desvio Padrão Relativo
DRX	Difratometria de raios- X
EDXRF	<i>Energy Dispersive X-ray Fluorescence</i> (Fluorescência de raios-X por dispersão de energia)
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ET AAS	<i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica)
F AAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Chama)
GF AAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i> (Análise de Agrupamento Hierárquico)
HG	<i>Hydride Generation</i> (Geração de Hidretos)

HG AAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos)
HG AFS	<i>Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry</i> (Espectrometria de Fluorescência Atômica com Geração de Hidretos)
HG ET AAS	<i>Hydride Generation Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica com Geração de Hidretos)
ICDD	International Center for Diffraction Data
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)
IFNMG	Instituto Federal do Norte de Minas Gerais
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MO	Matéria orgânica
MRC	Material de Referência Certificado
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i> (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia)
PC	<i>Principal Component</i> (Componentes Principais)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise de Componentes Principais)

PFA	<i>Perfluoroalcoxi</i> (PTFE modificado quimicamente)
PFQ	Propriedades físico-química
PI	Padrão Interno
PTFE	<i>Polytetrafluorethylene</i> (Politetrafluoretileno)
SB	Soma de Bases
SDD	Silicon Drift Detector
SiBCS	Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos
Se	Selênio
SeCys	Selenocisteína
SeMet	Selenometionina
SRM	<i>Standard Reference Material</i> (Material de Referência Padrão)
TFSA	Terra Fina Seca ao Ar
TXRF	<i>Total Reflection X-ray Fluorescence</i> (Fluorescência de Raios-X com Reflexão Total)
UFV	Universidade Federal de Viçosa
USEPA	<i>United State Enviroment Protection Agency</i> (Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos)
VRQs	Valores Orientadores de Referência de Qualidade
XRF	<i>X-ray Fluorescence</i> (Fluorescência de Raios - X)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	01
CAPÍTULO 1- FUNDAMENTOS TEÓRICOS	03
1.1. SELÊNIO	04
1.1.1. Selênio no meio ambiente	04
1.1.2. Essencialidade e toxicidade do selênio	07
1.2. SOLO	08
1.2.1. Definição e classificação dos solos no território brasileiro	08
1.3. DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO	09
1.3.1. Principais técnicas para determinação de Se em solos	09
1.3.1.1 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS)	10
1.3.1.2. Fluorescência de raios-X com reflexão total (TXRF)	13
1.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	16
1.4.1. Análise de componentes principais (PCA)	17
1.4.2. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)	18
1.4.3. Coeficiente de correlação de Pearson (r)	19
1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO 2- DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO TOTAL POR HG AAS E SUA CORRELAÇÃO COM AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS SOLOS	27
2.1. INTRODUÇÃO	28
2.2. OBJETIVOS	30
2.2.1. Geral	30
2.2.2. Específicos	30
	31

2.3. PARTE EXPERIMENTAL	
2.3.1 Área de Estudo	31
2.3.2. Coleta e Preparo das Amostras	33
2.3.3. Caracterização das Amostras de Solo	34
2.3.3.1. Determinação da Cor e da Mineralogia	34
2.3.3.2. Análises Físicas e Químicas	35
2.3.4. Determinação de Se Total	36
2.3.4.1. Reagentes e Soluções	36
2.3.4.2. Instrumentação	37
2.3.4.3. Digestão das amostras de solos e do material de referência certificado (MRC).	38
2.3.4.4. Determinação de selênio total por HGAAS	40
2.3.5. Figuras de mérito	41
2.3.5.1. Veracidade e precisão	41
2.3.5.2. Limites de detecção e quantificação	42
2.3.6 Análise Estatística	42
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
2.4.1. Caracterização dos Solos	43
2.4.1.1. Características Morfológicas e Mineralógicas	43
2.4.1.2. Características Físicas e Químicas dos Solos	46
2.4.2. Determinação de selênio total nos solos por HG AAS	56
2.4.3. Correlação entre a concentração de Se total e as características físico-químicas dos solos	62
2.5. CONCLUSÃO	70
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE SELÊNIO NO SOLO POR PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO E FLUORESCÊNCIA DE RAIOS – X POR REFLEXÃO TOTAL	79
3.1. INTRODUÇÃO	80
3.2. OBJETIVOS	82
3.2.1. Geral	82
3.2.2. Específicos	82
3.3. PARTE EXPERIMENTAL	83
3.3.1. Amostras de solos	83
3.3.2. Reagentes e Soluções	83
3.3.3. Instrumentação	84
3.3.4. Determinação de Se total nas frações dos solos por TXRF	84
3.3.4.1. Procedimento de extração paralela simples	84
3.3.4.2. Determinação de Se nas frações por TXRF	85
3.3.5. Análise Estatística	86
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.4.1. Determinação das concentrações de Se nas frações dos solos por TXRF	87
3.4.1.1. Figuras de mérito	87
3.4.1.2. Concentrações de Se nas frações solúvel em água e trocável	91
3.4.1.3. Concentrações de Se nas frações ligadas à matéria orgânica	94
3.4.2. Correlação entre as concentrações de Se nos solos e suas características físico-químicas	96
3.5. CONCLUSÃO	98
3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
CAPÍTULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS	103
4.1. CONSIDERAÇÕES FINAIS	104

INTRODUÇÃO

Selênio (Se) é um micronutriente considerado essencial à nutrição humana e animal. Ele desperta grande interesse devido à pequena diferença entre os níveis de essencialidade ($< 40 \mu\text{g dia}^{-1}$) e toxicidade ($> 400 \mu\text{g dia}^{-1}$) (Levander & Burk, 2006). A maior parte do Se ingerido por animais e humanos é proveniente do solo, onde são cultivadas plantas e legumes que absorvem este elemento.

No Brasil, pode-se distinguir 13 grandes classes de solos representativos: Argissolo, Cambissolo, Chernossolo, Espodossolo, Gleissolo, Latossolo, Luvisolo, Neossolo, Nitossolo, Organossolo, Planossolo, Plintossolo e Vertissolo. Essas classes apresentam propriedades físico-químicas distintas que podem influenciar na concentração total e biodisponível de Se nos solos e, conseqüentemente, para plantas e animais.

Devido à importância deste elemento, sua concentração foi determinada nos solos de alguns estados brasileiros. No entanto, diante da grande área territorial e diversidade ambiental, há poucos estudos sobre a concentração natural de Se nos solos do Brasil. Na região do Vale do Jequitinhonha/Minas Gerais, após ampla pesquisa bibliográfica, não foi identificada nenhuma informação sobre o Se em solos.

Neste contexto, o presente trabalho aborda a determinação de Se total, sua biodisponibilidade e correlação com as propriedades físico-químicas de 12 classes de solos da região do médio e baixo Vale do Jequitinhonha. Foram utilizadas técnicas analíticas como a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) e a fluorescência de raios-x com reflexão total (TXRF) para determinação da concentração do Se.

Esta tese está dividida em quatro capítulos. O Capítulo 1 é o Referencial Teórico, que aborda (i) as propriedades do Se, suas principais fontes para o meio ambiente, essencialidade e toxicidade; (ii) definição e classificação do solos; (iii) as principais técnicas para sua determinação em solos, com ênfase para HG AAS e TXRF e (iv) as ferramentas estatísticas, correlação de Pearson

(r), análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), utilizadas para entender as correlações entre as propriedades físico-químicas dos solos e a concentração de Se.

No Capítulo 2 é apresentado, (i) a região de estudo e a coleta dos solos; (ii) o método utilizado para caracterização das amostras de solos e para a determinação de Se total por HG AAS; e (iii) discutida a influência das propriedades dos solos na concentração do Se.

No Capítulo 3 é realizada a avaliação da biodisponibilidade do Se nos solos, a partir de procedimentos de extração paralela simples e determinação por TXRF. Foram também avaliadas as correlações entre as propriedades do solo e a concentração de Se nas diferentes frações analisadas.

Por fim, no Capítulo 4 são apresentadas as considerações finais, com as contribuições desta tese e as perspectivas de trabalhos futuros à pesquisa apresentada.

CAPÍTULO 1

Fundamentos Teóricos

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1. SELÊNIO

O selênio (Se) foi isolado e identificado em 1817 pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius (1779-1848). Recebeu esse nome, proveniente do grego “*Selene*”, que significa deusa Lua, em virtude de ter sido confundido com o telúrio (Te), nome originado do latim “*Tellus*” que significa deusa Terra. (Fernández-martínez & Charlet, 2009; Lenz & Lenz, 2009).

Este elemento é classificado como não-metal, pertencente à família dos calcogênios, grupo 16 da tabela periódica. Está localizado entre o enxofre (S) e o telúrio, elementos com os quais apresenta semelhanças nas propriedades químicas e físicas, sendo em maior extensão com o S (WHO, 1987). Possui número atômico 34, massa atômica 78,96 g mol⁻¹ e números de oxidação variando de -2 a +6.

1.1.1. Selênio no meio ambiente

Na natureza, Se pode ser encontrado nos diferentes reservatórios naturais (ar, água e solo) em formas inorgânicas como seleneto (Se⁻²), selênio elementar (Se⁰), selenito (SeO₃²⁻) e selenato (SeO₄²⁻) (Casteel & Blodgett, 2004). Na forma orgânica pode existir como ácidos selenoamino, tais como selenocisteína (SeCys) ou selenometionina (SeMet) pela substituição do enxofre em aminoácidos (Dhillon & Dhillon, 2003) e compostos metilados de Se (Zhang et al., 1999) como dimetilselenito (DMSe) e dimetildiselenito (DMDS₂).

Na crosta terrestre, o Se é um dos elementos mais dispersos. Sua abundância é relativamente baixa, com concentração média de 0,05 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2011). As rochas são a fonte primária do Se no sistema terrestre, no entanto, seus compostos entram no meio ambiente por meio de fontes naturais (vulcões, spray marinho, volatilização através do ciclo biótico) e fontes antropogênicas (efluentes industriais, combustão de combustíveis fósseis e insumos agrícolas, como fertilizantes). A Figura 1.1 mostra um esquema representativo das fontes de Se para o meio ambiente.

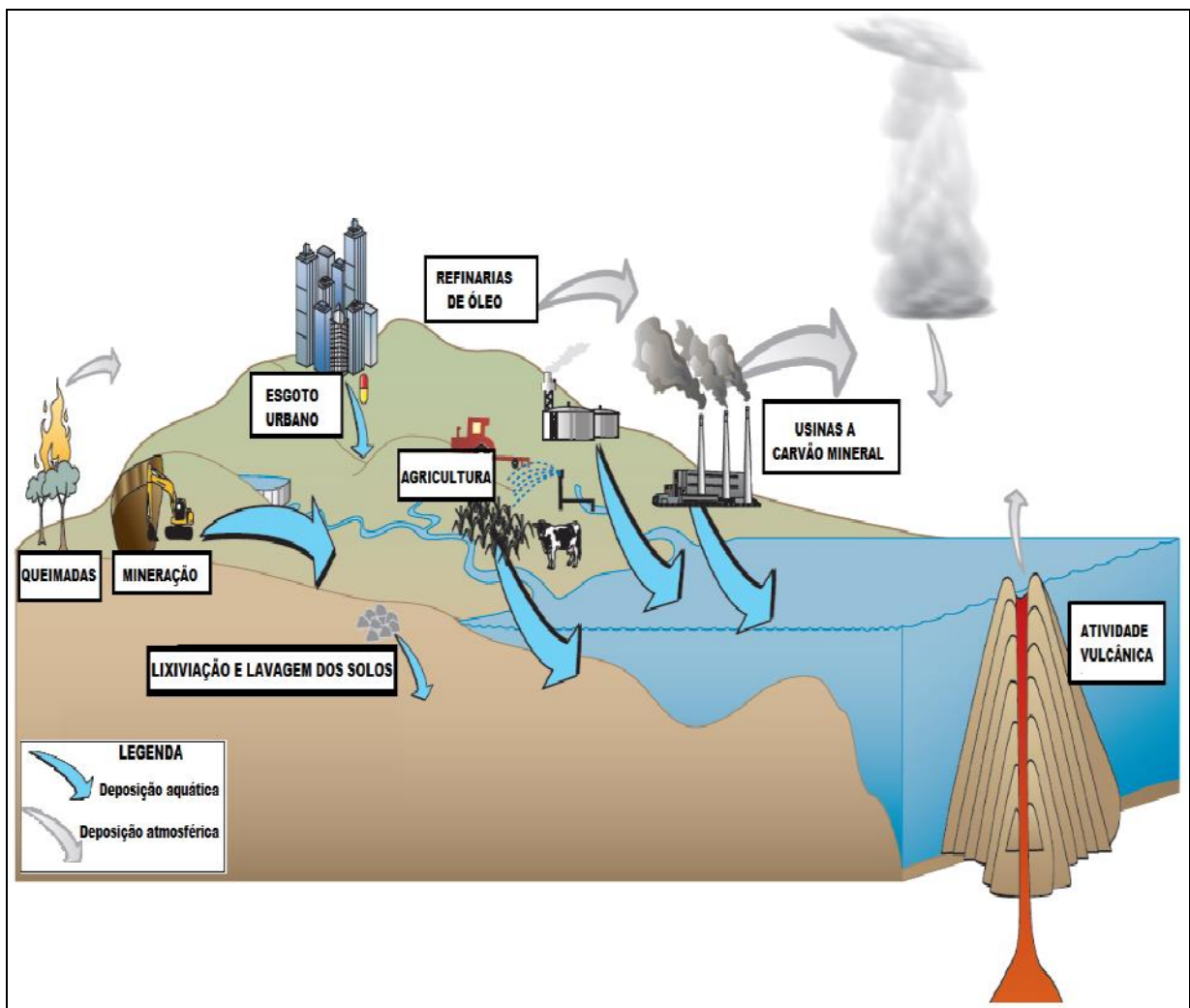


Figura 1.1. Esquema representativo das fontes de Se para o meio ambiente.
 Fonte: Carvalho, 2012.

A rota de exposição mais importante do Se para os animais e os seres humanos é o alimento, mas geralmente, o Se do solo é que determina a concentração do elemento em grãos, vegetais e curso d'água (Li et al., 2008).

A concentração de Se na maioria dos solos varia de 0,01 a 2 mg kg⁻¹ (média mundial 0,44 mg kg⁻¹), mas altas concentrações, acima de 1200 mg kg⁻¹, já foram detectadas em algumas áreas seleníferas (Fordyce, 2007), como na China, Índia e Estados Unidos.

A distribuição de Se no solo pode ser afetada por diferentes processos químicos (como o pH, potencial redox, teor de matéria orgânica e presença de outros íons competitivos), processos físicos, como a sorção e processos

biológicos, como as transformações microbianas envolvendo redução e oxidação (Lenz & Lens, 2009).

Devido à importância desse elemento, alguns autores já realizaram a determinação da concentração de Se em solos de alguns estados brasileiros (Tabela 1.1). Foram obtidas concentrações de Se variando de 0 a 2140 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Verificou-se, dentro do mesmo estado, concentrações distintas.

Tabela 1.1. Concentrações de Se em solos brasileiros, reportadas na literatura.

Se ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Estado	Método/ Técnica	Referência
0 a 800	São Paulo	Destilação com ácido bromídrico e bromo	Paiva Neto & Gargantini, 1956
1 a 8	Goiás	AAS	Fichtner et al., 1990
68 a 220	São Paulo	3051 USEPA / ICP OES)	Faria, 2009
22 a 81	Goiás/Minas Gerais	3051A USEPA / HG AAS	Carvalho, 2011
1692 \pm 21	Minas Gerais		Shaltout et al., 2011
113 \pm 6	Mato Grosso do Sul	Digestão com água régia em	Shaltout et al., 2011
604 \pm 15	Amazonas	forno de micro-ondas/ HG ET AAS	Shaltout et al., 2011
599 \pm 24	Ceará		Shaltout et al., 2011
50 a 2140	Minas Gerais	3051A USEPA / HG-ICP OES	Silva et. al., 2012
80 a 1630	São Paulo	3051A USEPA / HG AAS	Gabos et al., 2014
66 a 734	Região da Amazônia	3051A USEPA / GF AAS	Silva Jr. 2016

A concentração total de Se é muito importante para a caracterização química de um solo, no entanto, não é um dado suficiente para avaliar sua mobilidade e absorção pelas plantas e animais, isto é, sua biodisponibilidade.

Para compreender e avaliar a distribuição de Se e sua mobilidade, procedimentos de extração sequencial têm sido utilizados (Tessier, 1979; Kulp & Pratt, 2004; Qin et al., 2012; Wang et al., 2013). Estes procedimentos utilizam reagentes adequados que são aplicados em sequência na amostra. Eles nos fornecem informações sobre a biodisponibilidade de elementos traço em frações do solo. Dentre as frações pode-se citar a fração do Se solúvel em água, fração trocável, ligada à matéria orgânica, óxidos e residual (Filgueiras et al., 2002). Esta informação é importante porque a deficiência ou a toxicidade em animais e plantas podem surgir dependendo da forma disponível do elemento.

1.1.2. Essencialidade e toxicidade do selênio

No organismo humano, o Se desempenha um grande número de funções biológicas, destacando-se a participação no sistema de controle de processos oxidativos, através da enzima glutatona peroxidase, as propriedades anticarcinogênicas e a prevenção de doenças do coração (Shaltout et al., 2011).

A deficiência de Se está relacionada com doenças conhecidas como doença de Keshan, uma cardiomiopatia, e Kashin-Beck, uma osteoartropatia (Rayman, 2012). A baixa ingestão do Se é causada pelo fluxo insuficiente através da cadeia solo-planta-animal-humano.

De acordo com Kipp et al. (2015), a ingestão diária de Se para se ter uma vida saudável deve ser, a partir dos 15 anos, de 70 $\mu\text{g dia}^{-1}$ para homens adultos, 60 $\mu\text{g dia}^{-1}$ para mulheres adultas. Para crianças, varia de 10 a 45 $\mu\text{g dia}^{-1}$, dependendo da idade.

A quantidade de Se na dieta depende, em grande parte, das condições de cultivo, do solo/forragem onde os animais são expostos e dos alimentos consumidos. As principais fontes de Se na dieta são pães e cereais, além de carnes e mariscos (Fairweather-Tait et al., 2011).

No Brasil, os teores mais elevados de Se foram encontrados nos produtos de origem animal, sobretudo nos pescados (11,3 a 80,9 $\mu\text{g}/100\text{g}$), e também nos produtos derivados do trigo (6,4 a 13,6 $\mu\text{g}/100\text{g}$). Os teores de Se nos alimentos de origem vegetal foram, de modo geral, inferiores a 5,0 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (Ferreira et al., 2002). Entretanto, a castanha-do-pará, ou castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) é o alimento mais rico em Se, reconhecido mundialmente, com concentração variando de 7,54 a 86,33 mg kg^{-1} (Silva Jr., 2016).

Altos níveis de Se causam intoxicação crônica chamada selenose crônica ou doença alcalina do gado, resultante do consumo de plantas cultivadas em solos com alta concentração de Se (Levander & Burk, 2006). Os sintomas observados em bovinos intoxicados incluem a perda de vitalidade, perda de pêlos, cascos alongados e desfigurados, degeneração dos órgãos internos e morte, nos piores casos (Fishbein, 1991).

A intoxicação por Se pode também ocorrer em seres humanos, embora não seja muito comum. Os sintomas podem ser cabelos e unhas fragilizados, danos na pele e no fígado, cansaço, náuseas, vômitos, diarreia, odor de alho na boca, dor abdominal, espasmos musculares e arritmias e neurotoxicidade em níveis mais elevados (Sarmiento, 2006; Thiry et al., 2012).

1.2. SOLO

1.2.1. Definição e classificação dos solos no território brasileiro

Segundo a definição da Embrapa (2006), o solo é uma coleção de corpos naturais, constituídos por partes sólidas, líquidas e gasosas, tridimensionais e dinâmicas, formado por materiais minerais e orgânicos. Quando se examina o seu perfil a partir da superfície, verifica-se que o solo consiste de seções aproximadamente paralelas, organizadas em camadas e, ou, horizontes que se distinguem do material de origem inicial. Isso é resultado de adições, perdas, translocações e transformações de energia e matéria, que ocorrem ao longo do tempo e sob a influência dos fatores clima, organismos e relevo. A Figura 1.2 apresenta o esquema de um perfil de solo.



Figura 1.2. Esquema de um perfil de solo hipotético mostrando os principais horizontes. (Fonte: <http://conectegeoblogspot.com.br/2010/11/perfil-de-solo.html>)

O perfil do solo é utilizado para fins de exame, descrição e classificação do solo, dentro de um sistema organizado de classificação (Santos et al., 2013). As características e dados do perfil do solo, identificados e resultantes de análises físico-químicas realizadas no laboratório, são comparados a atributos diagnósticos definidos pelo Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos (SiBCS) (Embrapa, 2006).

Como descrito anteriormente, no Brasil pode-se distinguir 13 grandes classes de solos representativos. Nas paisagens brasileiras há predominância dos Latossolos (31,49 %), Argissolos (26,84 %) e Neossolos (13,18 %), que no conjunto se distribuem em aproximadamente 72% do território nacional (Santos et al., 2015).

1.3. DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO

1.3.1. Principais técnicas para determinação de Se em solos

As dificuldades relativas à determinação de elementos traços em amostras ambientais, devido à influência da matriz e a baixa concentração do analito, impõem a necessidade do desenvolvimento de métodos extremamente sensíveis e seletivos para a determinação de Se (Haygarth et al., 1993).

A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) é uma técnica frequentemente empregada para análise de Se em solos (Carvalho, 2011; Gabos et al., 2014; Maleki et al., 2005; Zhang, 1999). Mas outras técnicas analíticas também têm sido utilizadas, como a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) (Silva Jr., 2016), espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG AFS) (Wang et al., 2013), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) (Faria, 2009; Silva et al., 2012), espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP MS) (Tolu et al., 2014) e fluorescência de raios-x com reflexão total (TXRF) (Floor et al., 2013).

Os limites de detecção, das técnicas mencionadas, são apresentados na Figura 1.3. A TXRF é uma técnica que também apresenta baixos limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$).

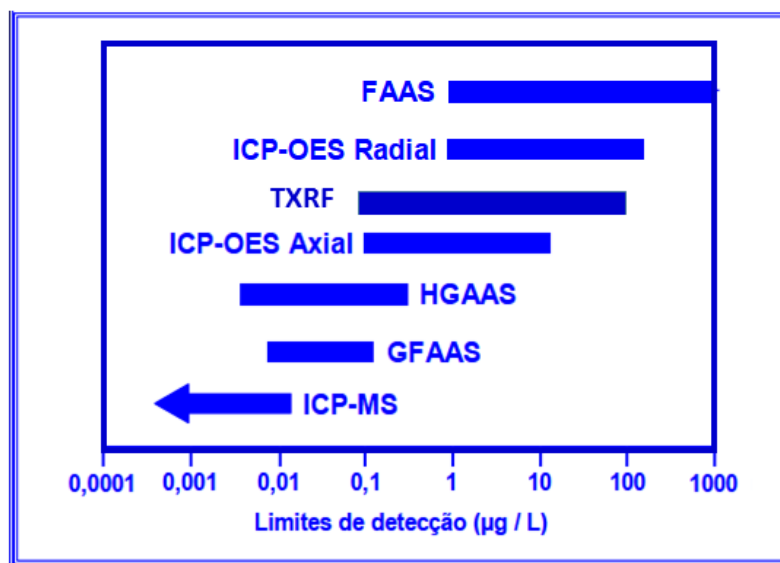


Figura 1.3. Limites de detecção das técnicas espectroanalíticas.
 Fonte: adaptada de <http://perkinelmer.com.br/>

Neste trabalho, maior ênfase será dada a HG AAS e TXRF por serem as técnicas utilizadas.

1.3.1.1 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS)

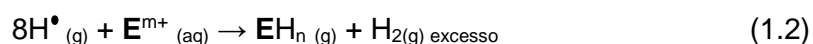
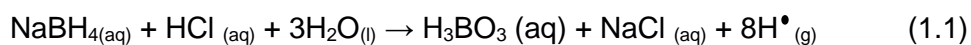
A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) é uma técnica que foi introduzida em 1970 para superar os problemas associados à determinação de As e Se pela espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Posteriormente, estas determinações foram ampliadas, incluindo Bi, Ge, Pb, Sn, Sb, Te, Tl e In, em uma grande variedade de matrizes (Yan & Ni, 1994).

O processo de geração de hidretos e determinação do elemento incluem quatro etapas: (1) geração do hidreto (uso de agentes redutores), (2) coleta ou captura do hidreto formado, caso seja necessário a realização de pré-concentração, (3) transferência do hidreto até o atomizador (com auxílio de um gás inerte) e (4) decomposição do hidreto/ atomização do analito (Yan & Ni, 1994).

A popularidade da técnica surge a partir das seguintes vantagens e características: (i) há uma separação prévia do analito da matriz (espécie volátil), ocorrendo a atomização em um ambiente mais livre de concomitantes, evitando as possíveis interferências; (ii) é um sistema de introdução da amostra mais eficiente do que aqueles baseados na nebulização pneumática convencional, sendo que o transporte do hidreto formado pode atingir cerca de 100%, enquanto que na nebulização pneumática apenas 5 - 10% da amostra chega ao atomizador; (iii) apresenta baixos limites de detecção, devido à maior eficiência de transporte e ao confinamento do vapor atômico no volume definido pela célula de quartzo, que aumenta a densidade de átomos no caminho óptico; (iv) pode ser acoplada a sistemas que exploram a especiação química e (v) é passível de automação (Takase et al., 2002; Dedina & Tsalev, 1995).

Diferentes reagentes são utilizados para converter o analito em seu hidreto. O método mais conveniente e, atualmente, quase que exclusivamente utilizado é o sistema tetraidroborato de sódio em meio ácido (NaBH₄-ácido). A solução de tetraidroborato é muito instável, e por isso, deve ser preparada em meio alcalino (NaOH ou KOH) pouco antes do uso (Feng et al., 1998).

Na mistura da solução contendo o analito com a solução alcalina de tetraidroborato de sódio com a solução de ácido, ocorre imediatamente a oxidação do ânion tetraidroborato a ácido bórico e a formação do hidreto do elemento (E) de interesse. A redução é efetuada de acordo com as equações 1.1 e 1.2 (Takase et al., 2002).



Onde m pode ser ou não igual a n e E é o elemento de interesse.

É importante destacar que a presença do meio ácido é necessária tanto para gerar o hidreto, quanto para pré-reduzir o elemento (Dedina & Tsalev, 1995). A redução apenas com NaBH₄ não é eficiente para As, Sb e Se em seus estados mais altos de oxidação, pois têm baixa capacidade de gerar hidretos.

Por isso, a etapa de pré-redução entra nas etapas do processo de geração do hidreto (Bowman et al., 1997).

A literatura relata a etapa de aquecimento da amostra com HCl para pré-reduzir o Se (VI) a Se (IV). Diferentes tempos, temperatura e meios de aquecimento como a radiação de micro-ondas e banho-maria são apresentados, sendo este último o mais utilizado (Brunori et al., 1998; Hegedús et al., 2008). Teixeira (2014) avaliou a etapa de pré-redução sem aquecimento e com aquecimento a 70°C por 30 min., chegando à conclusão que a retirada da etapa de aquecimento pode ser feita sem prejuízos significativos ao sinal de absorção, deixando o método analítico mais atrativo para laboratórios que fazem análises de rotina.

A geração do hidreto implica na separação do analito da matriz, o que a princípio minimiza algumas interferências. No entanto, constituintes da matriz e do meio onde as amostras foram preparadas podem interferir na etapa de formação dos hidretos, na separação das espécies voláteis, a partir da fase líquida e durante a atomização (Kumar & Riyazuddin, 2010; Takase et al., 2002; Yan & Ni, 1994).

A interferência, durante a formação ou transferência do hidreto do meio reacional líquido para o atomizador, é devida a mudanças na velocidade (interferência cinética), sendo causada pelo próprio composto de interesse e/ou devido aos componentes da matriz. Elementos como As, Sb e Se podem existir em solução em dois estados de oxidação, sendo que os estados de oxidação mais altos apresentam velocidade de redução mais lenta, podendo dificultar a formação do hidreto. Por outro lado, essas propriedades distintas dos diferentes estados de oxidação são úteis na especificação química, permitindo, por exemplo, determinações seletivas de As (III) e As (V), Sb (III) e Sb (V) e Se (IV) e Se (VI), por diferença entre uma análise onde se utiliza um pré-redutor e o teor total do analito é determinado e outra análise sem o pré-redutor, onde apenas a espécie com menor estado de oxidação é determinada (Takase et al., 2002).

Interferências dos componentes da matriz ocorrem quando estes afetam a eficiência da liberação do hidreto como, por exemplo, os elementos de transição Co, Cu e Ni e outros elementos que podem gerar hidretos. Metais de

transição podem ser reduzidos com NaBH_4 , e formar precipitado, com consequente diminuição do sinal analítico (Yan & Ni, 1994).

O uso de ácidos inorgânicos oxidantes, como HNO_3 , H_2SO_4 e HClO_4 interferem na geração do hidreto por converter os elementos formadores de hidreto em seus estados de oxidação mais elevados. Além disso, durante a etapa de geração do hidreto, HNO_3 poderia produzir NO_2 volátil que interfere severamente a atomização. Mas, alguns reagentes já foram utilizados para mascarar o NO_2 tais como sulfanilamida, ácido sulfâmico, ácido amidossulfúrico e tiourea (Kumar & Riyazuddin, 2010; Yan & Ni, 1994).

Interferências no processo de atomização podem ocorrer quando os interferentes causam alterações na concentração dos radicais livres de H no interior do atomizador ou diminuição dos átomos livre do analito (Kumar & Riyazuddin, 2010).

As interferências espectrais são praticamente excluídas, pois o analito passa para o atomizador como hidreto gasoso, enquanto que os possíveis interferentes, normalmente, permanecem no frasco de reação.

A espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos é uma técnica analítica bem atrativa, pois permite a separação do analito da sua matriz, proporcionando alta sensibilidade, baixos limites de detecção, além de poder ser automatizada.

1.3.1.2. Fluorescência de raios-X com reflexão total (TXRF)

A análise por fluorescência de raios-X (XRF) é um método qualitativo baseado na medida das intensidades dos raios-X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra.

Na XRF, uma fonte de raios-X (tubos de raios-X, indução por partícula, radioisótopos naturais, luz síncrotron, etc.) ejeta elétrons de uma camada mais interna dos átomos da amostra. Quando um elétron de uma camada mais externa vai preencher o vazio criado na camada interna, é emitida radiação na região do raio-X característico desse átomo, devido à diferença de energia existente entre os dois níveis de energia. Este processo é chamado de fluorescência. Os comprimentos de onda dos raios-X identificam os elementos

presentes na amostra, e as intensidades das linhas de raios são proporcionais às concentrações dos elementos, permitindo a análise química quantitativa (Thomsen & Schatzlein, 2002).

A fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF) foi proposta como um método especial da fluorescência de raios-X por dispersão de energia (EDXRF), por Yoneda e Horiuchi em 1971 (Klockenkämper & von Bohlen, 2014). Ela surgiu para solucionar, principalmente, a baixa sensibilidade da EDXRF através da alteração da geometria do equipamento. Enquanto o ângulo de incidência e o de fluorescência emitida são de aproximadamente $45^\circ/45^\circ$ na EDXRF, na TXRF são de $< 0,1^\circ/90^\circ$, como pode ser observado na Figura 1.4 (Klockenkämper & von Bohlen, 2001). Isto causa uma reflexão total dos fótons do feixe depois de incidir na amostra, e deste modo, o feixe tem uma interação mínima com o suporte da amostra sobre o qual são depositados alguns μL ou μg da amostra (Towett et al., 2013).

Ao incidir na amostra um feixe totalmente refletido, a absorção, assim como a dispersão do feixe na matriz da amostra é reduzida. Os benefícios resultantes são um ruído de fundo muito reduzido e, conseqüentemente, sensibilidades muito mais elevadas e uma redução significativa de efeitos de matriz eliminando a necessidade de calibração externa. A análise quantitativa é altamente precisa em uma ampla faixa de concentrações, de $\mu\text{g L}^{-1}$ a porcentagem (Bruker, 2012).

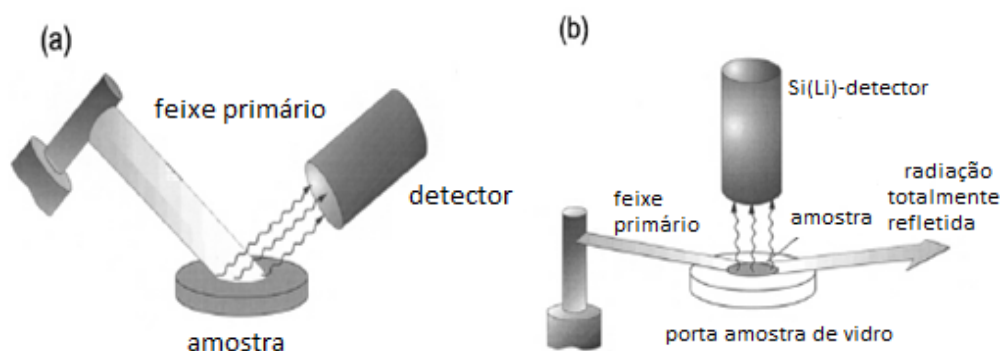


Figura 1.4. Arranjo simplificado usado para (a) XRF convencional e para (b) TRXF. (Fonte: Klockenkämper & Von Bohlen, 2001).

A preparação de amostras como uma fina camada ($< 100 \mu\text{m}$) impede amplamente efeitos de matriz, tais como absorção ou excitação secundária e, em função disso, foi proposto que um único elemento fosse utilizado como padrão interno (PI) para todos os elementos (Towett et al., 2013). Um elemento ideal a ser utilizado como PI não deve estar presente na amostra, não deve apresentar interferência espectral com o(s) elemento(s) a ser(em) quantificado(s) e deve ter uma resposta adequada a XRF (Marguí et al., 2010). Os padrões internos mais comumente utilizados são Ga, Y e Ge.

Assim, entre as vantagens relacionadas ao uso da TXRF na determinação da composição elementar de uma matriz se destacam: (i) capacidade para análises multielementares simultâneas - tipicamente do Na ao U; (ii) análise qualitativa e quantitativa de amostras sólidas, líquidas e gasosas; (iii) independência da forma química em que as espécies se encontram; (iv) pequeno consumo de amostra (μL ou μg); (v) baixo ruído de radiação de fundo (*background*); (vi) simples calibração com o uso de padrões internos (PI); (vii) baixos limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$); (viii) amplo intervalo de medida ($\mu\text{g kg}^{-1}$ a %); (ix) fácil operação, nenhum consumo de gás ou água para resfriamento; (x) tempo de análise relativamente curto (100 - 1000 s) (Resende, 2016). Além disso, as amostras podem ser analisadas diretamente sem tratamento, ou, dependendo do estado físico e da matriz, podem passar por digestões ou calcinações, extrações, pré-concentração, suspensões, dentre outros (De La Calle et al., 2013).

No entanto, a TXRF apresenta desvantagens relativas à resolução espectral e sobreposição de picos, que pode resultar em valores superestimados ou subestimados para elementos presentes em baixas concentrações. Além disso, há impossibilidade de detecção de elementos que são utilizados para gerar os raios X para excitação da amostra, como por exemplo o molibdênio, quando se utiliza o tubo deste elemento para gerar os raios X (Resende, 2016).

Vários estudos têm demonstrado as potenciais aplicações da TXRF na área ambiental. A Tabela 1.2 apresenta alguns trabalhos da literatura.

Tabela 1.2. Aplicação da TXRF nas análises de amostras ambientais.

Elementos	Amostra	Referência
Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb, As, V, Ba	Solos e sedimentos	Bilo et al., 2014
Ca, Cu, Fe, Mn, Zn, Se	Cinzas vulcânicas e águas subterrâneas	Floor et al., 2013
Se	Solos	Marguí ^a et al., 2010
As, Ba, Cd, Cu, Cr, Sn, Fe, Mn, Ni, Pb, Se e Zn	Efluentes de águas residuais industriais	Marguí ^b et al., 2010
Al, As, Br, Ca, Ce, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, V, P, Pb, Rb, S, Sr, Ti e Zn	Ar	Natali et al, 2016
P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Ba e Pb	Tortas de oleaginosas	Resende, 2016
Al, K, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, P, Ca, As, Rb, Sr, Y, Pr, Ta e Pb	Solos	Towett et al., 2013

A espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total é uma técnica que vem ganhando espaço devido às suas grandes vantagens. Além de fornecer informações multielementares, apresenta sensibilidade próxima à fornecida por outras técnicas espectroanalíticas, tornando-se adequada também para análise de elementos traço.

1.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os trabalhos realizados na área ambiental, como os estudos com solos, envolvem a obtenção de um grande volume de resultados e a interpretação de uma grande quantidade de variáveis. Portanto, é importante avaliar as variáveis que são consideradas relevantes, para a compreensão do fenômeno analisado.

Essa análise pode ser feita utilizando métodos estatísticos. Estes métodos podem ser divididos em dois grupos: a estatística univariada e a estatística multivariada. A primeira refere-se à análise das variáveis de maneira isolada, no entanto, quando um fenômeno depende de muitas variáveis, esse tipo de análise pode ser falha, pois é necessário conhecer também a totalidade das informações fornecidas pelo conjunto das variáveis e suas relações. O

método estatístico que analisa todas as variáveis de forma conjunta é a estatística multivariada (Vicini & Souza, 2005).

Quando o interesse é verificar como as variáveis se relacionam, isto é, o quanto estas têm tendências semelhantes, destacam-se dois métodos, a análise de agrupamento hierárquico (HCA) e análise de componentes principais (PCA) (Mingoti, 2013).

1.4.1. Análise de componentes principais (PCA)

A PCA é um método matemático da análise multivariada, que avalia um conjunto de dados em que as observações são descritas por diferentes variáveis inter-relacionadas. Seu objetivo é reduzir o número de variáveis, extrair as informações mais importantes e representá-las como um conjunto de novas variáveis ortogonais chamadas componentes principais (PC).

Estas componentes possuem independência estatística por serem vetores ortogonais e não são correlacionadas. Cada PC é uma combinação linear de todas as variáveis originais correlacionadas (Abdi & Williams, 2010). Essas componentes principais (PCs) são extraídas em ordem decrescente de importância, de modo que as primeiras PCs explicam a maior parte da variância total contida nos dados e podem ser usadas para representá-los.

A análise de PCA pode ser dividida em 4 partes: os dados originais, os *escores*, os *loadings* e os resíduos (contendo o que não foi modelado pela PCA) (Bro & Smilde, 2014). Ela pode ser descrita como a decomposição da matriz \mathbf{X} de dados originais contendo n linhas (amostras) e m colunas (variáveis) em duas matrizes, uma de *escores* (\mathbf{T}) e uma matriz ortogonal de *loadings* (\mathbf{P}), ou pesos, conforme a equação 1.3. O resíduo é representado pela letra \mathbf{E} .

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (1.3)$$

A PCA permite o agrupamento de amostras similares e variáveis similares mediante exames visuais, em dispersões gráficas no espaço bi ou tridimensional, de fácil interpretação geométrica (Vicini & Souza, 2005). O gráfico de *escores* mostra a similaridade e as diferenças entre as amostras e o

gráfico dos *loadings* mostra a relação entre as variáveis para a separação das amostras no gráfico de escores. Os valores dos *loadings* mostram a contribuição de cada variável original para o modelo das PCs, sendo utilizado para a escolha do número de PC.

Importante destacar que se os dados estiverem dispostos em ordens de grandeza diferentes, deve-se eliminar a influência que uma variável pode causar sobre a outra, na formação das componentes, através do pré-processamento dos dados como, por exemplo, o autoescalamento das variáveis. Esse pré-processamento consiste em subtrair de cada elemento de uma coluna da matriz de dados o valor médio da respectiva coluna e dividir o resultado pelo desvio padrão da mesma (Vicini & Souza, 2005; Bro & Smilde, 2014).

A PCA foi utilizada nesse trabalho para avaliar as correlações entre os teores de Se e as propriedades físico-químicas dos solos estudados.

1.4.2. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

O método de agrupamento hierárquico é um método de ligação de encadeamento. O agrupamento tem início com a formação de um grupo que possui as variáveis mais similares. O processo continua sequencialmente, com um decréscimo de similaridade, até que todas as variáveis pertençam a um único grupo. A representação gráfica é feita através de um dendrograma.

O dendrograma é um gráfico bidimensional com as amostras dispostas no eixo horizontal e o índice de similaridade ou distância entre elas no eixo vertical. Ele também pode ser representado de forma invertida, isto é, com as amostras no eixo vertical e o índice similaridade ou distância no eixo horizontal.

A avaliação da semelhança é realizada, geralmente, em termos de distância. As variáveis que possuem a menor distância entre si são mais semelhantes. A medida de distância mais utilizada para a análise de agrupamentos é a distância euclidiana (Mingoti, 2013; Vicini & Souza, 2005), conforme a equação 1.4:

$$D_{(x,y)} = \sqrt{\sum (x_i - y_i)^2} \quad (1.4)$$

Outros coeficientes de similaridade usados para estabelecer o conceito de distância entre as variáveis são a Distância de Mahalanobis – D^2 (covariância) e o Coeficiente de Correlação de Pearson (r).

Essa técnica hierárquica foi utilizada com o intuito de identificar possíveis agrupamentos entre as amostras de solos. Existem vários métodos de agrupamentos hierárquicos, como o Método de Ligação Simples (*Single Linkage*), Método de Ligação Completa (*Complete linkage*), Método da média das distâncias (*Average Linkage*), Método do centroide (*Centroid MethoWad*) e o Método de Ward, também conhecido como “Mínima Variânica” (Mingoti, 2013), que foi utilizado nesse trabalho.

1.4.3. Coeficiente de correlação de Pearson (r)

O coeficiente de correlação de Pearson (r) é uma medida de associação linear entre variáveis que varia de -1 a 1. O sinal indica direção positiva ou negativa do relacionamento e o valor sugere a força da relação entre as variáveis. Uma correlação perfeita (-1 ou 1) indica que o valor de uma variável pode ser determinado exatamente ao se saber o valor da outra. Quanto mais perto de 1 (independente do sinal) maior é o grau de dependência estatística linear entre as variáveis. A correlação de valor zero indica que não há relação linear entre as variáveis. (Filho & Silva Júnior, 2009).

O coeficiente de correlação de Pearson é calculado de acordo com a equação 1.5:

$$r = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \sum_i (y_i - \bar{y})^2}} \quad (1.5)$$

Onde:

x_i = variável 1

\bar{x} = média da variável 1

y_i = variável 2

\bar{y} = média da variável 2

1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdi. H. & Williams. L. J., 2010. Overview Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2, 433-459.

Bowman, J.; Fairman, B., Catterick, T., 1997. Development of a multi element hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry procedure for the simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium in waters. *J. Anal.Atom. Spectrom.*, 2, 313-316.

Bro, R. & Smilde. A. K., 2014. Principal component analysis. Tutorial review. *Analytical Methods*, 6, 2812–2831.

Bruker, S2 Picofox. 2012. *User Manual*, Bruker, Berlin, p. 118.

Brunori, C., Calle-Guntinas, M.B., Morabto, R., 1998. Optimization of the reduction of Se (VI) to Se (IV) in a microwave oven. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 360, 26-30.

Carvalho, A.C.O., 2012. *Comparação dos Teores de Selênio Total em Tecidos de Camarão Selvagem e de Cultivo Experimental para Avaliação como Matéria-Prima para Alimento Funcional*. Monografia, Bacharel em Oceanografia. Fortaleza, 47p.

Carvalho, G. S., 2011. *Selênio e Mercúrio em Solos sob Cerrado Nativo*. Tese de Doutorado, UFLA- Lavras, 95p.

Casteel, S. W. & Blogett, D. J., 2004. Selenium. Metals and Minerals, In: PLUMLEE, K.H. *Clinical Veterinary Toxicology*, Missouri: Mosby Incorporation St.Louise, p.214-217.

De La Calle, I., Cabaleiro, N., Romero, V., Lavilla, I., Bendicho, C., 2013. Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review. *Spectrochimica Acta Part B*, 90, 23-54.

Dhillon, K.S & Dhillon, S. K., 2003. Distribution and management of seleniferous soils. *Advances-in-Agronomy*, 79,119-184.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 2006. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília: Embrapa Produção de informação: Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306p.

Fairweather-Tait, S. J., Bao, Y., Broadley, M. R., Collings, R., Ford, D., Hesketh, J. E., Hurst, R., 2011. Selenium in Human Health and Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14, 1337-1383.

Faria, L.A., 2009. *Levantamento sobre selênio em solos e plantas do Estado de São Paulo e sua aplicação em plantas forrageiras*. Tese de Doutorado, USP/FZEA. Pirassununga, 75p.

Feng, Y. L., Chen, H. Y., Tian, L. C., Narasaki, H., 1998. Off-Line separation and determination of inorganic arsenic species in natural water by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry with hydride generation combined with reaction of arsenic (V) and L-cysteine. *Anal. Chim. Acta*, 375,167-175.

Fernández-Martínez, A. & Charlet, L., 2009. Selenium environmental cycling and bioavailability: a structural chemist point of view. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 8, 81–110.

Ferreira, K. S., Gomes, J. C., Bellato, C. R., Cláudio Pereira Jordão, C. P., 2002. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, 11,172-177.

Filgueiras, A. V., Lavilla, I., Bendicho, C., 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *J. Environ. Monit.*, 4, 823–857.

Filho, D. B. F., Silva Júnior, J. A., 2009. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje*, 18, 115-146.

Fishbein, L., 1991. *Selenium*. In E. Merian (Ed.), *Metals and their compounds in the environment*, p. 1153–1190.

Floor, G. H., Eva Marguí, E., Hidalgo, M., Queralt, I., Kregsamer, P., Strelí, C., Román-Ross, G., 2013. Study of selenium sorption processes in volcanic ash using Total Reflection X-ray Fluorescence (TXRF). *Chemical Geology*, 352, 19–26.

Fordyce, F. M., 2007. Selenium geochemistry and health. *Ambio.*, 36, 94–97.

Gabos, M.B., Alleoni, L.R.F., Abreu, C.A., 2014. Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 145, 35–39.

Haygarth, P. M.; Rowland, A. P.; Sturup, S.; Jones, K. C., 1993. Comparison of instrumental methods for determination of total selenium in environmental samples. *Analyst*, 118, 1303-1308.

Hegedús, O., Hegedúsová, A., Šimková, S., Pavlík, V.; Jomová, K., 2008. Evaluation of the ET-AAS and HG-AAS methods of selenium determination in vegetables. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70,1287–1291.

Kabata-Pendias, A & Pendias, H., 2011. *Trace Elements in Soils and Plants*, fourth ed., CRC Press, Boca Raton, 533p.

Kipp, A.P., Strohm, D., Brigelius-Flohé, R., Schomburg, L., Bechthold, A., Leschik-Bonnet, E., Hesecker, H., German Nutrition Society (DGE)., 2015. Revised reference values for selenium intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 195–199.

Klockenkamper, R. & von Bohlen, A., 2001. Total-reflection X-ray fluorescence moving towards nanoanalysis: a survey. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 56, 2005-2018.

Kumar, A. R. & Riyazuddin, P., 2010. Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, 29,166-176.

Lenz, M. & Lens, P. N. L., 2009. The essential toxin: the changing perception of selenium in environmental sciences. *Science of the Total Environment*, 12, 3620-3633.

Levander, O. A. & Burk, R. F., 2006. *Update of human dietary standards for selenium*. In: Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN (eds) *Selenium its molecular biology and role in human health*, 2nd edn. *Springer*, New York, p.399–410.

Li, Y., Wang, W., Luo, K., Li, H., 2008. Environmental behavior of selenium soil of typical selenosis area, China. *Journal of Environmental Sciences*, 20, 859-864.

Maleki, N., Safav, A., Doroodmand, M. M., 2005. Determination of selenium in water and soil by hydrid generation atomic absorption spectrometry using solid reagents. *Talanta*, 66, 858-862.

Marguí^a, E ; Floor, G H ; Hidalgo, M ; Kregsamer, P ; Román-Ross, G ; Strelí, C; Queralt, I., 2010. Analytical possibilities of total reflection X-ray spectrometry (TXRF) for trace selenium determination in soils. *Analytical Chemistry*, 82, 7744-7751.

Marguí^b, E.; Tapias, J.C.; Casas, A.; Hidalgo, M.; Queralt, I., 2010. Analysis of inlet and outlet industrial wastewater effluents by means of benchtop total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Chemosphere*, 80, 263-270.

Natali, M., Zanella, A., Rankovic, A., Banas, D; Cantaluppi, C; Abbadie, L; Lata, J-C., 2016. Assessment of trace metal air pollution in Paris using slurry-TXRF analysis on cemetery mosses. *Environ Sci Pollut Res.*, 23, 23496- 23510.

Paiva Neto, J. E. & Gargantini, H., 1956. Dosagem de selênio no solo. *Bragantia*, 15, 13-16.

Resende, L. V., 2016. *Desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e fluorescência de raios X por reflexão total*. Tese de Doutorado, UFMG – Belo Horizonte, 141p.

Rayman, M. P., 2012. Selenium and human health. *The Lancet*, 379,1256-1268.

Santos, H. G., Fidalgo, E. C.C., Áglio, M. L. D., 2015. *Solo*. Agência Embrapa de Informação Tecnológica – ageitec. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fesi63xh02wx5eo0y53mhyx67oxh3.html#sci>. Acesso em: novembro/ 2015.

Santos, R. D., Lemos, R. C., Santos, H. G., Ker, C.J., Anjos, L. H. C., Shimizu, S. H., 2013. *Manual de descrição e coleta de solo no campo*. 6ed. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência de solo, 100p.

Sarmiento, R. F. O., 2006. Revisões Sistemáticas em Terapia Intensiva - Suplementação de Selênio, *Medicina Perioperatória*, p.903-912. Disponível em:<<http://www.saj.med.br/uploaded/File/artigos/Revisoes.pdf>>. Acesso em: março/2014.

Shaltout, A. A., Castilho, I. N. B., Welz, B., Carasek, E., Martens, I.B. G., Martens, A., Cozzolino, S.M.F., 2011. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride

generation electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 85, 1350–1356.

Silva, J., Brustoline, C. R., Ferreira, V. P., Junior, L. S., Mello, J. W. V., Filho, M. M., 2012. *Teor natural de selênio em solos do estado de Minas Gerais*. FERTIBIO 2012. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola, 4 p. Disponível em:
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/73195/1/0000000553-FERTBIO-Juscimar.pdf>. Acesso em: maio/2014.

Silva Jr., E. C., 2016. *Selênio na castanha-do-brasil (Bertholletia excelsa) e em solos da região Amazônica brasileira*. Tese de Doutorado, UFLA- Lavras, 82p.

Takase, I., Pereira, H. B., Luna, A. S., Grinberg, P., Campos, R. C., 2002. A geração química de vapor em espectrometria atômica. *Química nova*, 25, 1132-1144.

Teixeira, L. S., 2014. *Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de micronutrientes e contaminantes em fertilizantes orgânicos*. Tese de doutorado, Belo Horizonte, 155p.

Thiry, C., Ruttens, A., Temmerman, L., Schneider, Y-J., Pussemier, L., 2012. Review Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry*, 130, 767–784.

Thomsen, V. B. E., Schatzlein, D., 2002. X-ray fluorescence spectrometry. *Advanced Materials and Processes*, 160, 41-43.

Tolu, J., Thiry, Y., Bueno, M., Jolivet, C., Potin-Gautier, M., Hécho, I, L., 2014. Distribution and speciation of ambient selenium in contrasted soils, from mineral to organic rich. *Science of the Total Environment*, 479–480, 93–101.

Towett, E. K., Shepherd, K. D., Cadisch, G., 2013. Quantification of total element concentrations in soils using total X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF). *Science of the Total Environment*, 463–464, 374–388.

Vicini, L. & Souza, A. M., 2005. *Análise multivariada da teoria à prática*. Santa Maria: UFSM, CCNE. 215p.

Wang, J., Li, H., Li, Y., Yu, J., Yang, L. Feng, F., Chen, Z., 2013. Speciation, Distribution, and Bioavailability of Soil Selenium in the Tibetan Plateau Kashin-Beck Disease Area-A Case Study in Songpan County, Sichuan Province, China. *Biol. Trace Elem. Res.*, 156, 367-375.

Yan, X-P., Ni, Z-M., 1994. Review: Vapour generation atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 291, 89-105.

Zhang, A.Y., Frankenberger, W. T., Mooreb, J. N., 1999. Measurement of selenite in sediment extracts by using hydride generation atomic absorption spectrometry. *The Science of the Total Environment*, 229, 183-193.

CAPÍTULO 2

Determinação de Selênio Total por HG AAS e sua Correlação com as Propriedades Físico-Químicas dos Solos

CAPÍTULO 2. DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO TOTAL E SUA CORRELAÇÃO COM AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS SOLOS

2.1. INTRODUÇÃO

Devido à importância do selênio, sua concentração já foi determinada nos solos de alguns estados brasileiros (Tabela 1.1). No entanto, diante da grande área territorial brasileira (8.515.767,049 km²) (IBGE, 2016) e diversidade ambiental, há poucos estudos sobre a concentração natural de Se nos solos do Brasil (Carvalho, 2011; Faria, 2009; Fichtner et al., 1990; Gabos et al., 2014; Paiva Neto & Gargantini, 1956; Shaltout et al., 2011; Silva et al., 2012; Silva Jr. 2016).

No estado de Minas Gerais foram obtidas concentrações de Se variando de 0 a 2140 µg kg⁻¹ (Carvalho, 2011; Silva et al., 2012; Shaltout et al., 2011). No entanto, esses trabalhos não avaliaram os solos do médio e baixo Jequitinhonha. Essa região está localizada na porção nordeste do estado (Figura 2.1).

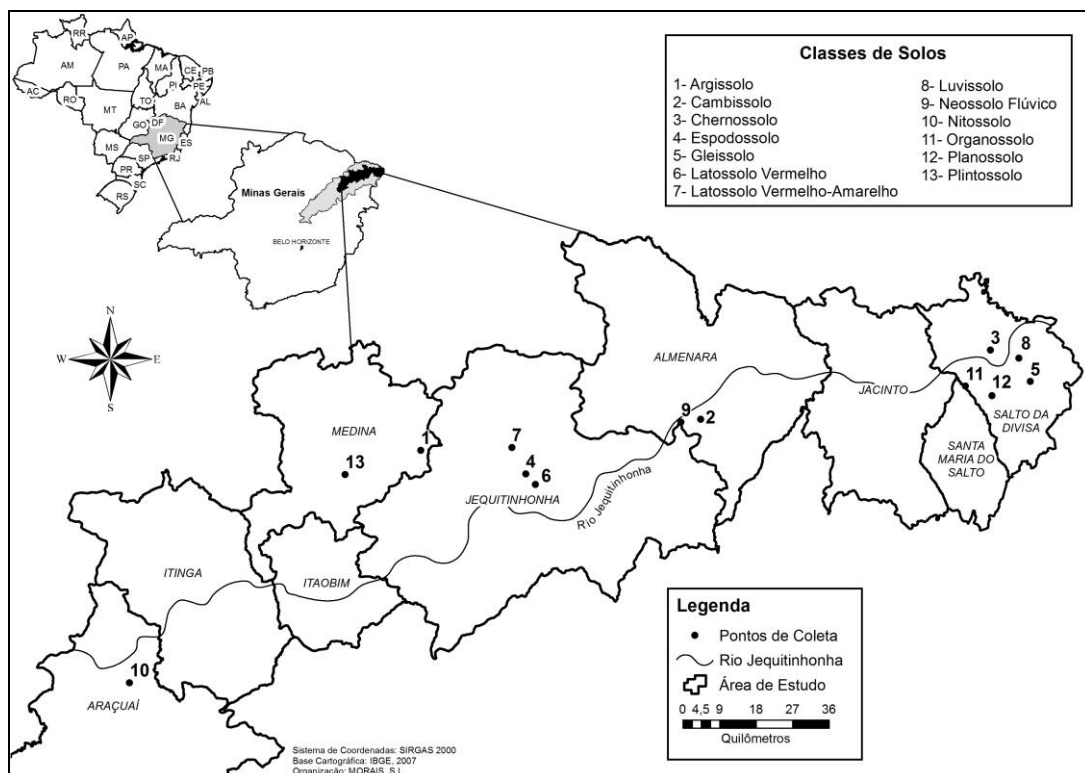


Figura 2.1. Mapa da área estudada com a localização dos pontos de amostragem no Vale do Jequitinhonha, MG.

A região apresenta destacada diversidade social, cultural, econômica e ambiental (campos rupestres, cerrados, caatinga e mata atlântica) (Fávero e Monteiro, 2014).

A pecuária bovina de caráter extensivo e a agricultura de subsistência são a base da economia regional (IBGE, 1997). Considerando que o solo tem significativa influência sobre a concentração do elemento em grãos, vegetais e curso d'água, a determinação de Se nos solos dessa região é importante.

Como as concentrações naturais de Se em amostras de solo são geralmente baixas e por esse tipo de amostra apresentar uma matriz complexa, é necessário aplicar técnicas analíticas sensíveis e seletivas para a sua determinação. A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) e a espectrometria de absorção atômica por geração de hidreto (HG AAS) são mais frequentemente utilizadas para este fim (Shaltout et al., 2011, González-Nieto et al., 2006). Como mencionado no Capítulo 1, a HG AAS apresenta características adequadas para a determinação de Se em solos.

Muitos fatores podem afetar a concentração total de selênio no solo, como exemplo, suas propriedades físico-químicas (Wang et al., 2013). Por isso, algumas dessas propriedades (granulometria, matéria orgânica, pH, óxidos de Fe, Al e Si) foram utilizadas no estudo da correlação das características do solo com a concentração de Se total. Para avaliar as diversas variáveis ao mesmo tempo e determinar suas correlações, foram utilizadas análises multivariadas exploratórias como a Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), bem como o Coeficiente de Correlação de Pearson.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Geral

Determinar a concentração de Se total em diferentes tipos de solos da região do Vale do Jequitinhonha no estado de Minas Gerais e correlacioná-la com as propriedades físico-químicas desses solos.

2.2.2. Específicos

- i. Coletar amostras de solos que sejam representativas das classes de solos existentes no Vale do Jequitinhonha e no Brasil;
- ii Caracterizar os solos estudados quanto aos seguintes parâmetros químicos: matéria orgânica (MO), pH em água, capacidade de troca catiônica (CTC), teores de óxidos de alumínio, ferro e silício; físicos: teores de areia, silte, argila, e aspectos da cor e mineralogia;
- iii. Determinar o teor total de Se nos solos estudados empregando-se decomposição assistida por radiação micro-ondas em forno com cavidade e quantificação por HG AAS;
- iv. Empregar análises estatísticas multivariadas (PCA, HCA) e Coeficiente de Correlação de Pearson para avaliar as correlações entre os teores de Se e as propriedades físico-químicas dos diferentes tipos de solos.

2.3. PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1. Área de Estudo

Amostras de 12 classes de solos, representativas do Vale do Jequitinhonha e da maioria dos solos brasileiros, foram coletadas em áreas preservadas ou com mínima ação antrópica, em alguns municípios do Médio e Baixo Jequitinhonha no estado de Minas Gerais (Figura 2.1).

A escolha dos solos e os locais de avaliação foram determinados a partir de estudos prévios que estabeleceram os solos predominantes na região (Campos et al., 2013; Ministério da Agricultura, 1970). A área em estudo encontra-se sob condições climáticas que variam de subúmido seco a semi-árido, com média anual da temperatura variando de 22 a 26 °C, precipitação pluviométrica anual de 733 a 962 mm.

A vegetação é variada, com cerrado e caatinga no Médio Jequitinhonha e mata atlântica no Baixo Jequitinhonha (Scolforo et al., 2008). A classificação dos solos analisados, as coordenadas geográficas do local de coleta e o material de origem dos solos são apresentados na Tabela 2.1.

A classificação dos solos analisados foi realizada com base nos resultados da sua caracterização físico-química e morfológica.

Tabela 2.1. Classificação, localização e material de origem dos solos estudados.

Perfil	*Classificação dos Solos	Localização	Município	Material de origem
1	ARGISSOLO AMARELO Distrófico típico (PAd)	16°17'13.97"S 41°19'22.53"W	Medina	Gnaiss/granítico
2	CAMBISSOLO HÁPLICO Tb eutrófico (CXbd)	16°13'51.16"S 40°44'37.98"W	Jequitinhonha	Gnaiss/granítico
3	CHERNOSSOLO EBÂNICO Órtico típico (MEo)	16° 3'58.87"S 40° 3'35.54"W	Salto da Divisa	Grafita gnaisses
4	ESPODOSSOLO FERRIHUMILÚVICO Órtico espessarênico (ESko)	16°20'21.14"S 41° 5'24.01"W	Jequitinhonha	Quartzito
5	GLEISSOLO HÁPLICO Tb eutrófico solódico (GXbe)	16° 8'8.24"S 39°58'17.49"W	Salto da Divisa	Sedimentos aluvionares
6	LATOSSOLO VERMELHO Ácrico húmico (LVw)	16°21'46.31"S 41° 4'7.38"W	Jequitinhonha	Rochas Pelíticas
7	LATOSSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico húmico (LVAd)	16°16'52.52"S 41° 7'15.74"W	Jequitinhonha	Rochas Pelíticas
8	LUVISSOLO CRÔMICO Órtico típico (TCo)	16° 8'0.40"S 39°58'11.97"W	Salto da Divisa	Grafita gnaisses
9	NEOSSOLO FLÚVICO Psamítico típico (RYq)	16°13'31.62"S 40°44'45.09"W	Almenara	Sedimentos aluvionares
10	NITOSSOLO VERMELHO Eutrófico típico (NVe)	16°48'1.73"S 41°58'6.78"W	Araçuaí	Calcário
11	ORGANOSSOLO HÁPLICO solódico (OX)	16° 7'22.15"S 40° 5'35.87"W	Santa Maria do Salto	Sedimentos aluvionares
12	LANOSSOLO HÁPLICO Eutrófico típico (SXE)	16° 8'45.42"S 40° 6'55.03"W	Santa Maria do Salto	Gnaiss/granítico
13	PLINTOSSOLO HÁPLICO Distrófico típico (FXd)	16°20'27.48"S 41°29'27.52"W	Medina	Rochas Pelíticas

*Classificação dos solos de acordo com as normas do Sistema Brasileiro de Classificação dos solos – SiBCS (Embrapa, 2006).

2.3.2. Coleta e Preparo das Amostras

A coleta das amostras foi realizada conforme procedimentos normatizados por Santos et al. (2005). Em cada local de amostragem, foram coletados aproximadamente 2 kg de solo, totalizando 26 amostras de 13 perfis de 12 classes de solos dos horizontes A e B (Figura 2.2). As classes de solos coletados foram: Argissolo, Cambissolo, Chernossolo, Espodossolo, Gleissolo, Latossolo, Luvisolo, Neossolo, Nitossolo, Organossolo, Planossolo e Plintossolo.

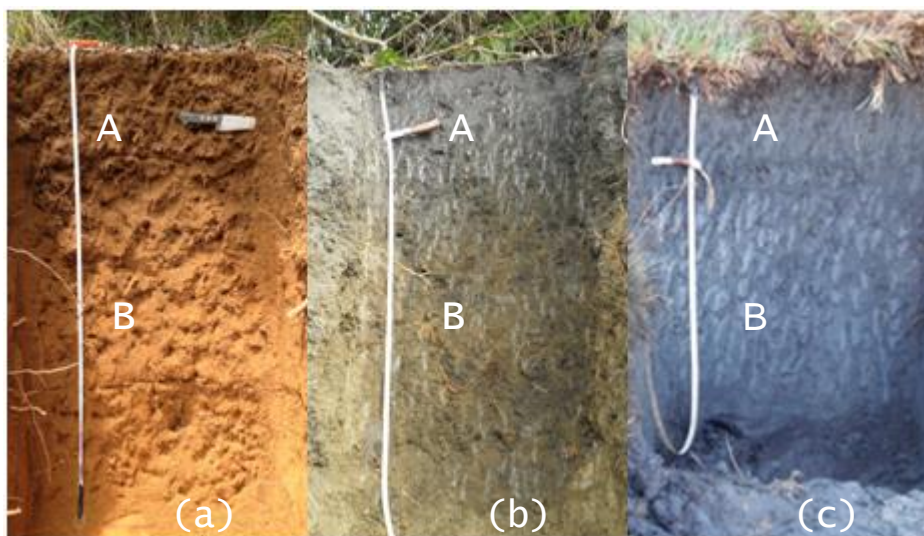


Figura 2.2. Perfis de alguns solos coletados: (a) Latossolo Vermelho-Amarelo (b) Chernossolo (c) Gleissolo.

Os horizontes A e B foram diferenciados basicamente pela variação da cor, perceptível visualmente. As amostras foram coletadas na profundidade média de 0-20 cm no horizonte A e 20-50 cm no horizonte B.

Após a coleta, as amostras foram devidamente acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais- IFNMG, Campus Almenara onde foram armazenadas a 4 °C, para preservação de sua integridade físico-química.

As amostras foram secas ao ar, na sombra, destorroadas e peneiradas em duas frações (< 2 mm e < 0,062 mm) em peneiras com malha de aço inoxidável A Bronzinox (Santo Amaro, Brasil) com o auxílio de peneirador Bertel (Caieiras, Brasil). Posteriormente, foram armazenadas em frascos de

polietileno devidamente identificados. Para as análises de caracterização dos solos foi utilizada a terra fina seca ao ar (TFSA) que corresponde a fração < 2 mm (EMBRAPA, 2011). Para as análises de determinação de Se foi utilizada a fração mais fina (< 0,062 mm).

2.3.3. Caracterização das Amostras de Solo

2.3.3.1. Determinação da Cor e da Mineralogia

A cor do solo foi determinada em amostras úmidas, da TFSA, utilizando a Carta de Munsell (Figura 2.3). A caracterização das cores foi definida pelos atributos do matiz (comprimento de onda da luz, cor fundamental), valor (brilho ou tonalidade) e croma (intensidade ou pureza da cor em relação ao cinza). Esses atributos foram anotados em forma de números e letras. O matiz é representado por um número seguido da letra R (vermelho) ou Y (amarelo) ou ainda YR, e o valor e o croma aparecem sob a forma de fração. Quanto menores forem os números do valor e do croma, mais escuro será o solo.

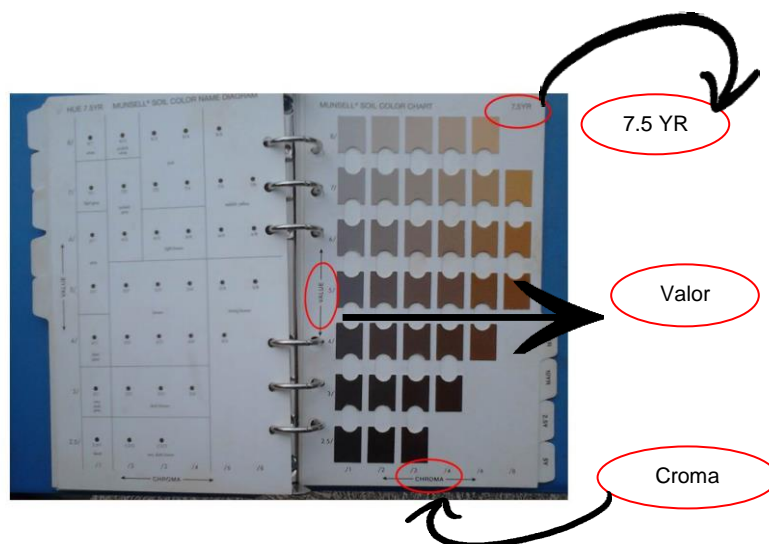


Figura 2.3. Carta de Munsell.

As análises da mineralogia, por difratometria de raio X (DRX), foram realizadas no Laboratório de Raios-X do Departamento de Química da UFMG. Amostras da fração TFSA dos horizontes A e B de cada perfil foram finamente

moídas em gral de ágata e montadas em lâminas em pó. Cada amostra foi colocada em um porta-amostra, uma lâmina de vidro com cavidade rasa (Figura 2.4 (a)) e pressionada suavemente para evitar possíveis orientações preferenciais.

Em um equipamento Shimadzu (Figura 2.4 (b)), modelo XRD-7000 X-Ray Diffractometer com tubo de radiação Cu-K α , com voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA, as amostras foram irradiadas no intervalo de 10 a 70° 2 θ , com velocidade de varredura de 4° 2 θ /minuto. Os difratogramas foram analisados com auxílio do programa Crystallographica Search-Match para identificação das fases dos minerais por meio da comparação com os padrões de difração do banco de dados PDF2 do ICDD – International Center for Diffraction Data/Joint Committee on Powder Diffraction Standards – JCPDS.

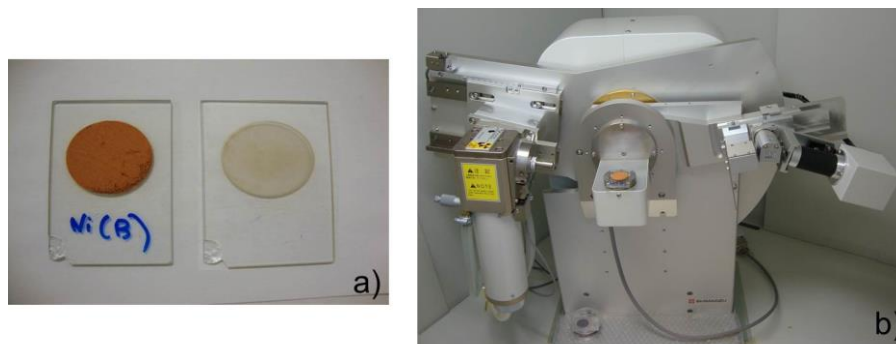


Figura 2.4. (a) Lâmina de vidro com cavidade rasa para amostra em pó.
(b) Difratorômetro de raios-X, Shimadzu.

2.3.3.2. Análises Físicas e Químicas

As análises físicas foram realizadas no Laboratório de Física dos Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa/MG) e as químicas no Laboratório de Análise Química de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante da UFV.

A caracterização do solo foi realizada de acordo com métodos propostos pela Embrapa (2011). Os parâmetros medidos foram: granulometria (Embrapa, 2011), pH em H₂O, capacidade de troca catiônica (CTC) (K⁺, Na⁺, Ca⁺², Mg⁺², Al⁺³), acidez potencial (H + Al) e carbono orgânico (método Walkley-Black). A matéria orgânica (MO) foi estimada com base no carbono orgânico (Embrapa,

2011). A soma de bases ($SB = K^+ + Na^+ + Ca^{+2} + Mg^{+2}$) e a capacidade de troca catiônica efetiva ($CTC_t = SB + Al$) foram calculados a partir dos resultados obtidos da CTC e acidez potencial.

A concentração total de cada elemento expresso como óxidos (SiO_2 , Al_2O_3 e Fe_2O_3) foi obtida por fluorescência de raios-X e pelo ataque sulfúrico (Vettori, 1969). Este último foi aplicado apenas nos horizontes B dos solos. Os resultados dos teores desses óxidos possibilitaram o cálculo dos índices de intemperismo: K_i (relação molar SiO_2/Al_2O_3 , pela fórmula $K_i = 1,7 \times [SiO_2 / Al_2O_3]$) e K_r (relação molar $SiO_2/(Al_2O_3 + Fe_2O_3)$ pela fórmula $K_r = 1,7 \times SiO_2 / [Al_2O_3 + (0,64 \times Fe_2O_3)]$) (Ghidin et al., 2006)

2.3.4. Determinação de Se Total

2.3.4.1. Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias, frascos e ponteiras utilizados foram previamente descontaminados em banhos contendo ácido nítrico (HNO_3 10% (v v⁻¹)) por 24 horas.

Os reagentes utilizados foram: ácido nítrico (HNO_3 - 65% (m m⁻¹)) (Merck, Darmstadt, Alemanha); ácido clorídrico (HCl - 37% (m m⁻¹)) (Merck, Darmstadt, Alemanha); tetrahidroborato de sódio - $NaBH_4$ (Sigma Aldrich, Brasil) e hidróxido de sódio - $NaOH$ (Vetec, Brasil). A curva analítica para a quantificação do Se foi preparada depois de adequada diluição de solução estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Se (SPEX CertiPrep, USA). As soluções foram preparadas com água deionizada obtida em um sistema de purificação de água Milli-Q, modelo Direct-Q 3, Water Purification System (Millipore, EUA) com resistividade 18,2 MΩ cm.

2.3.4.2. Instrumentação

Na determinação de selênio total foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo SpectrAA 220 (Varian, Mulgrave, Austrália), equipado com lâmpada de cátodo oco de Se, sistema de correção de fundo por lâmpada de deutério (Varian, Mulgrave, Austrália) e sistema de geração de hidretos, modelo VGA77 (Varian, Mulgrave, Austrália) (Figura 2.5) operando nas condições recomendadas pelo fabricante, descritas na Tabela 2.2.

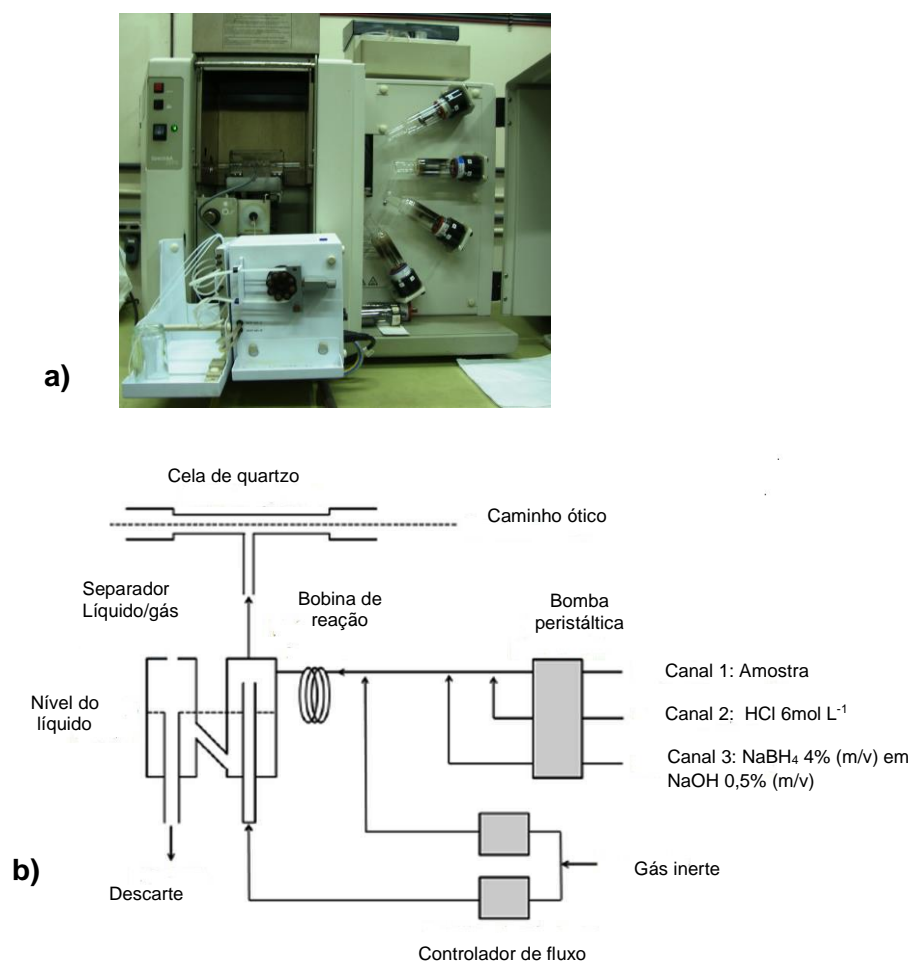


Figura 2.5. (a) Gerador de hidretos, modelo VGA77 acoplado ao espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo SpectrAA 220 (Varian, Mulgrave, Austrália) e (b) esquema geral do sistema usado para determinação de Se. Fonte: Adaptado de Teixeira, 2014.

Tabela 2.2. Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica com gerador de hidretos para determinação de Se.

Parâmetros	
Comprimento de onda da lâmpada de cátodo oco	196,0 nm
Corrente	10 mA
Abertura da fenda	0,5 nm
Vazão do acetileno	1,8 L min ⁻¹
Vazão do ar	12,9 L min ⁻¹
Temperatura da cela	900 °C
Agente redutor	NaBH ₄ 4% m v ⁻¹ em NaOH 0,5% m v ⁻¹
Solução carreadora	HCl 6 mol L ⁻¹
Fluxo do HCl 6 mol L ⁻¹ e NaBH ₄ 4% (m/v)	1,3 mL min ⁻¹
Fluxo da amostra	8,0 mL min ⁻¹

No procedimento de digestão das amostras foi utilizado forno de micro-ondas com cavidade, modelo ETHOS 1 - Advanced Microwave Digestion System (Milestone, Sorisole, Itália). Uma balança analítica com sensibilidade de 0,0001 g, modelo AX 200 (SHIMADZU do Brasil comércio LDTA, São Paulo, Brasil), foi empregada para as medidas de massa. Para a centrifugação dos extratos, após a digestão, foi utilizada uma centrífuga modelo 206-BL (FANEN, Guarulhos, Brasil).

2.3.4.3. Digestão das amostras de solos e do material de referência certificado (MRC).

O procedimento de digestão utilizado foi baseado no método 3051A da *Environmental Protection Agency – EPA* dos EUA (USEPA, 2007). Este método é recomendado pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por meio da Resolução Nº 420, de 28 de dezembro de 2013, (CONAMA, 2013).

Cerca de 300 mg de amostra seca e previamente pulverizada (fração < 0,062 mm) foram pesados diretamente nos frascos de PFA (perfluoroalcoxi), um material de alta resistência mecânica. Para a digestão das amostras foi utilizado água régia invertida. Adicionou-se 6,00 mL de HNO₃ concentrado e

deixou-se em repouso por cerca de 10 minutos. Em seguida, adicionou-se 2,00 mL de HCl concentrado e a mistura foi deixada em repouso por cerca de 15 minutos. Esse tempo é necessário para evitar o excesso de pressão e, assim, permitir que os gases emanados a partir da decomposição inicial da matéria orgânica e de carbonatos, principalmente, escapem antes de iniciar o processo de digestão.

A digestão foi efetuada em forno de micro-ondas com cavidade (Figura 2.6) e o programa de aquecimento utilizado está apresentado na Figura 2.7.

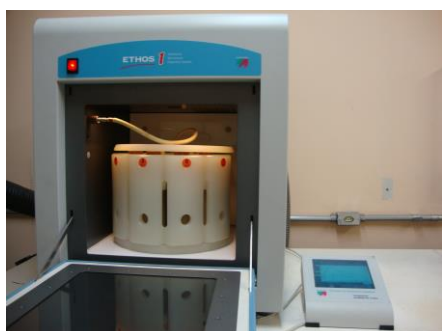


Figura 2.6. Digestor de micro-ondas, Ethos 1.

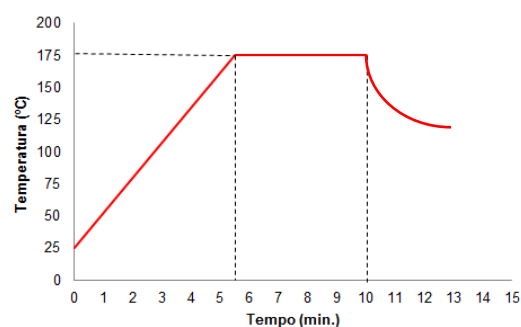


Figura 2.7. Programa de aquecimento.

Após o término do programa de digestão, antes de abrir os frascos esperou-se que o sistema atingisse a temperatura ambiente para evitar possíveis perdas de compostos voláteis de Se. Os frascos quando abertos, em capela com sistema para exaustão de gases, continham ainda resíduos sólidos. Esta mistura foi transferida quantitativamente para frascos de polietileno previamente descontaminados, e o volume final foi ajustado para 15 mL com água ultrapura ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

Os compostos silicatados (Vieira et al., 2005) não digeridos foram separados após centrifugação por 15 minutos a 2500 rpm. Os resíduos silicatados foram armazenados em refrigerador a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ até a análise por fluorescência de raios-X para garantir que havia apenas sílica neste resíduo.

A solução analisada por HG AAS foi obtida retirando-se uma alíquota de 1,50 mL do digerido e ajustando o volume final para 10,0 mL com solução de HCl obtendo-se uma concentração final de aproximadamente $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e $0,84 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 . Essa diluição foi necessária para reduzir o “background” (sinal de fundo) do sistema, causado pelo HNO_3 usado na

digestão. Durante este trabalho, foi efetuado um ensaio em branco para cada conjunto de amostras digeridas no mesmo dia.

A quantificação de Se nos digeridos das amostras foi realizada por HG AAS. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

2.3.4.4. Determinação de selênio total por HGAAS

As análises para determinação do Se foram realizadas no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA, Belo Horizonte/MG). O método utilizado foi baseado no método desenvolvido por Teixeira (2014). O hidreto de selênio (SeH_2) foi gerado utilizando-se soluções carreadora de HCl (6 mol L^{-1}) e redutora de NaBH_4 ($4 \% \text{ m v}^{-1}$) estabilizada em NaOH ($0,5\% \text{ m v}^{-1}$) e, posteriormente, foi transportado até a cela de atomização pelo argônio (White Martins, Brasil), gás inerte de transporte. As condições instrumentais de análise foram descritas na Tabela 2.2. O esquema geral do gerador de hidreto usado para a determinação de selênio foi apresentado na Figura 2.5.

A geração do hidreto foi realizada em sistema, onde a amostra e os reagentes foram bombeados por uma bomba peristáltica. A solução da amostra, preparada em HCl ($6,0 \text{ mol L}^{-1}$) para pré-redução do Se, foi introduzida no circuito pelo canal 1, onde foi carreada pela solução de HCl (6 mol L^{-1}) contida no canal 2. Ela foi misturada com o redutor NaBH_4 (canal 3) na bobina de reação para produzir o hidreto de selênio (SeH_2). A mistura seguiu para um separador gás-líquido, onde o hidreto foi retirado da solução aquosa com auxílio de um gás inerte (argônio). A mistura gasosa seguiu para cela de atomização. O líquido restante foi removido a partir do separador através da bomba peristáltica. Os pontos da curva analítica de calibração para o Se foram $0,0, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 15,0$ e $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se.

2.3.5. Figuras de mérito

2.3.5.1. Veracidade e precisão

A veracidade e a precisão do método foram avaliadas a partir da análise do material de referência certificado (MRC) 2711 *Montana Soil (Moderately elevated trace element concentrations)* certificado pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Foram realizadas cinco replicatas do MRC.

A precisão foi estimada em termos de repetitividade e determinada pelo desvio padrão relativo (DPR), de acordo com a Equação 2.1:

$$\text{DPR (\%)} = \frac{S \times 100}{\bar{C}} \quad (2.1)$$

Onde, S é o desvio padrão obtido a partir das replicatas de análises e \bar{C} é a concentração média.

A veracidade foi determinada em termos da recuperação do analito presente no material de referência certificado avaliado, de acordo com a equação 2.2 (INMETRO, 2011):

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor observado} \times 100}{\text{valor certificado}} \quad (2.2)$$

O teste “*t student*” foi utilizado para comparar a média dos resultados do método proposto com o valor de referência certificado (INMETRO, 2011), de acordo com a equação 2.3 (Miller & Miller, 1993):

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\mu - \bar{X}| \times \sqrt{n}}{s} \quad (2.3)$$

t_{exp} : valor de *t* experimental

μ : valor certificado

X: média dos valores medidos

n: tamanho da amostra

s: desvio-padrão dos valores medidos

2.3.5.2. Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados de acordo com guia do Inmetro (2011), a partir das medidas de 10 brancos analíticos e empregando-se as equações 2.4 e 2.5, respectivamente.

$$LD = X + t_{(n-1, 1-\alpha)} * S \quad (2.4)$$

$$LQ = X + 10 * S \quad (2.5)$$

Onde:

X = média dos valores dos brancos analisados;

t = valor da distribuição t de Student, dependente do tamanho da amostra (n) e do grau de confiança (α);

S = desvio-padrão dos valores dos brancos analisados

Os limites calculados a partir das equações 2.4 e 2.5 representam os limites da técnica analítica (HG AAS), e quando esses limites são multiplicados pela diluição referente à razão massa de amostra/volume final do extrato, obtêm-se os limites do método analítico (Digestão em forno de micro-ondas e detecção por HG AAS).

2.3.6 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada para avaliar a correlação entre as características físico-químicas dos solos e a concentração de Se. Para análises da PCA, HCA e coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado o programa STATISTICA 7.0. (StatSoft Inc., EUA). Os dados foram pré-processados por autoescalamento para PCA. Foi utilizada a distância euclidiana como medida de similaridade e o método hierárquico de Ward para ligar os casos entre si para HCA. A matriz de dados foi montada com 20 linhas (amostras) e 12 colunas (variáveis). Os resultados estão apresentados em representações gráficas.

O programa Microsoft Office Excel 2010 foi utilizado para produzir gráficos das concentrações dos parâmetros analisados.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Caracterização dos Solos

2.4.1.1. Características Morfológicas e Mineralógicas

A cor dos solos é uma das ferramentas mais utilizadas para caracterizar, classificar e diferenciá-los (Embrapa, 2006). Na Figura 2.8 estão apresentadas pequenas porções dos diferentes tipos de solos que foram estudados, onde se verifica a grande diversidade de cor encontrada.



Figura 2.8. Amostras dos diferentes tipos de solos coletados.

Os resultados obtidos das análises das cores dos solos encontram-se na Tabela 2.3. Pode-se verificar que as cores amareladas predominaram na maioria dos horizontes, apresentando matizes de 2,5 Y; 2,5 YR; 7,5 YR e 10 YR indicativas da presença de óxidos de ferro na forma de goethita.

O Nitossolo (perfil 9) apresentou matiz 10 R (vermelho) indicativo da presença de hematita e o Gleissolo (perfil 5) apresentou matiz Gley2 (cinza) (Figura 2.2 (c)), devido à redução e solubilização do ferro em ambientes úmidos.

A cor do horizonte B do solo é um atributo diferenciador na classificação de solos utilizada no Brasil. Por isso, esses resultados obtidos foram utilizados na classificação dos solos em estudo. Além disso, a cor do solo é indicativa do tipo e da quantidade de óxidos de ferro (Lepsch, 2011).

Tabela 2.3. Características da cor e minerais identificados na TFSA dos solos.

Perfil	Solos	Hor.	Cor úmida --Munsell--	Nomenclatura	Minerais da TFSA
1	PAd	A	7.5YR 4/3	Bruno	Ct, Fd, Qz
		B	7.5YR 4/4	Bruno	Ct, Fd, Qz
2	CXbd	A	2.5Y 2.5/1	Preto	Ct, Fd, Qz
		B	2.5Y 3/2	Bruno acinzentado muito escuro	Ct, Fd, Qz
3	MEo	A	7.5YR 4/3	Bruno	Ct, Gt, Qz
		B	7.5YR 4/3	Bruno	Ct, Gt, Qz
4	ESko	A	2.5YR 3/1	Cinzeno avermelhado escuro	Gt, Qz
		B	2.5YR 4/6	Vermelho	Ct, Gb, Gt, Hm, Qz
5	GXbe	A	Gley2 3/5PB	cinzeno azulado muito escuro	Fd, Qz
		B	Gley2 3/5PB	cinzeno azulado muito escuro	Ct, Fd, Qz
6	LVw	A	2.5YR 4/4	Bruno avermelhado	Ct, Gb, Gt, Hm, Qz
		B	2.5YR 5/6	Vermelho	Ct, Gb, Gt, Hm, Qz
7	LVAd	A	7.5YR 3/3	Bruno escuro	Ct, Gb, Gt, Hm, Qz
		B	5YR 5/8	Vermelho amarelado	Ct, Gb, Gt, Hm, Qz
8	TCo	A	7.5YR 2.5/1	Preto	Ct, Qz
		B	7.5YR 3/3	Bruno escuro	Ct, Qz
9	RYq	A1	7.5YR 5/4	Bruno	Ct, Fd, Qz
		A3	7.5YR 5/4	Bruno	Ct, Fd, Qz
10	NVe	A	10R 3/4	Vermelho escuro- acimentado	Ct, Qz
		B	10R 3/6	vermelho escuro	Ct, Qz
11	OX	A	10YR 2/1	Preto	Ct, Fd, Gt, Qz
		B	10YR 3/1	Cinzeno muito escuro	Ct, Fd, Gt, Qz
12	SXe	A	7.5YR 5/4	Bruno	Ct, Gt, Qz
		B	5YR 4/6	Vermelho amarelado	Ct, Gt, Hm, Qz
13	FXd	A	7.5YR 4/3	Bruno	Ct, Gt, Hm, Qz
		B	5YR 5/8	Vermelho amarelado	Ct, Gt, Hm, Qz

Ct = Caulinita, Fd = Feldspato, Gb = Gibbissita, Gt = Goethita, Hm = Hematita, Qz = Quartzo.

Os minerais identificados na TFSA são apresentados na Tabela 2.3. Para exemplificar, os difratogramas dos horizontes A e B do Latossolo Vermelho Amarelo (perfil 7) são mostrados nas Figuras 2.9 e 2.10, respectivamente, onde se observa que não há diferença entre os horizontes, isto é, apresentam os mesmos minerais.

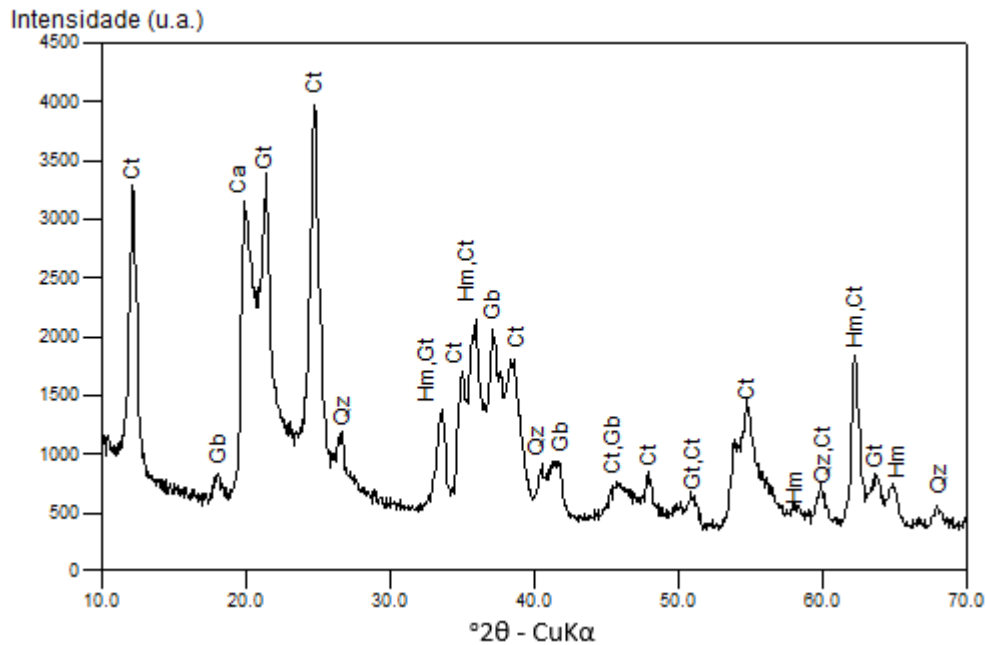


Figura 2.9. Difratograma do horizonte A do Latossolo Vermelho Amarelo (perfil 7).

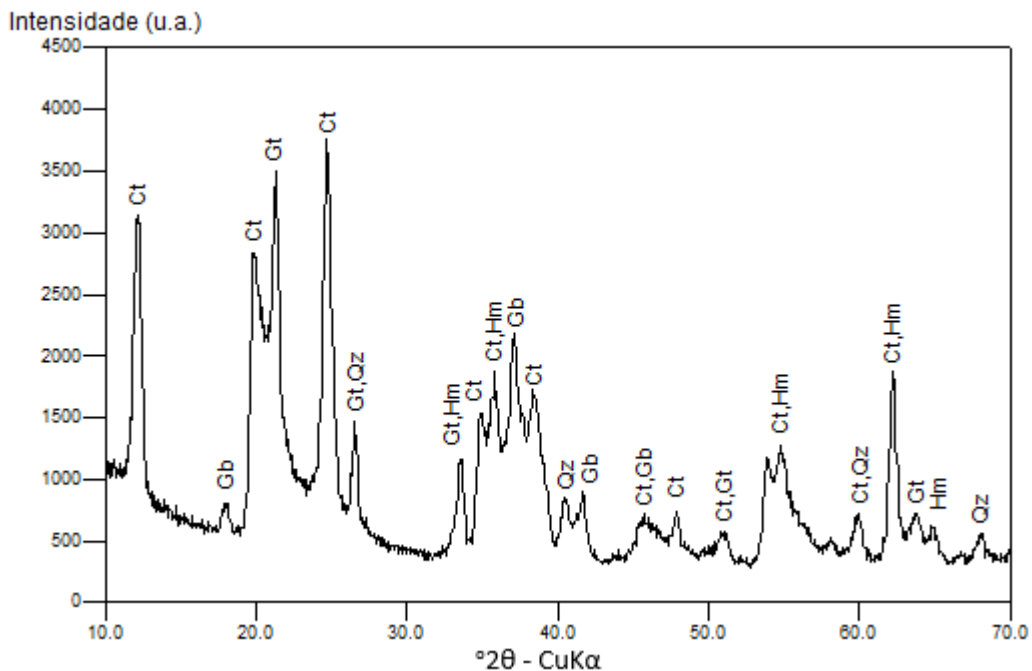


Figura 2.10. Difratograma do horizonte B do Latossolo Vermelho Amarelo (perfil 7).

Os minerais identificados na TFSA foram a caulinita, feldspato, gibbsita, goethita, hematita e quartzo, muito comuns em diversos tipos de solos. A caulinita, um dos argilominerais de mais ampla ocorrência em solos, sobretudo naqueles de domínio tropical, foi o mineral presente em todos os solos juntamente com o quartzo. Esta frequência de distribuição é atribuída à sua formação a partir de uma grande variedade de materiais de origem (Resende et al., 2005).

O quartzo apresentou o pico de maior intensidade para todos os solos, com exceção do Latossolo Vermelho Amarelo (perfil 7) e do Plintossolo (perfil 13). Os óxidos de ferro e gibbsita são identificados em solos mais evoluídos como os Latossolos (Corrêa et al., 2008) e foram observados nos perfis 6 e 7.

A dificuldade encontrada na identificação mineralógica pela DRX é a sobreposição de picos, quando se tem uma mistura que contém muitas fases em graus variáveis de cristalinidade. É relevante ressaltar que as amostras não passaram por nenhum tratamento químico e, portanto algumas fases podem não ter sido identificadas nos difratogramas.

O conhecimento da mineralogia dos solos é muito importante, uma vez que os solos intemperizados, com elevadas concentrações de óxidos de Fe e Al na fração argila, podem adsorver o selenito, o que reduz, conseqüentemente, sua disponibilidade para as plantas. O Se na forma de selenito pode sofrer adsorção específica com a hematita e a goethita e formar complexos de esfera-interna. O Se na forma de selenato é estável em ambiente oxidado, muito móvel no solo e está prontamente disponível para as plantas (Boldrin et al, 2012).

2.4.1.2. Características Físicas e Químicas dos Solos

Os resultados obtidos da caracterização físico-química dos solos estão apresentados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4. Características físico-químicas dos solos e as concentrações de Se

Perfil	Classes dos Solos	Hor. ⁽¹⁾	MO ⁽²⁾ g kg ⁻¹	pH H ₂ O	CTCt ⁽³⁾ cmol _e /dm ³	SiO ₂	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	Kt ⁽⁴⁾	Kr ⁽⁵⁾	areia	silte	argila	Se ⁽⁶⁾ mg kg ⁻¹
						----- (%) -----					----- (%) -----			
1	ARGISSOLO AMARELO Distrófico típico (PAd)	A	21,7	6,99	2,02	53,7	3,06	24,3			57,0	12,0	31,0	0,420 ± 0,020
		B	5,10	4,49	1,56	50,8	3,80	28,9	1,94	1,72	41,0	10,0	49,0	0,420 ± 0,030
2	CAMBISSOLO HÁPLICO Tb eutrófico (CXbd)	A	26,9	6,88	6,41	54,5	4,73	22,1			57,0	14,0	29,0	0,980 ± 0,010
		B	9,00	6,53	4,57	55,4	5,09	23,4	2,26	1,91	58,0	10,0	32,0	0,510 ± 0,010
3	CHERNOSSOLO EBÂNICO Órtico típico (MEo)	A	24,3	6,02	4,40	57,5	5,72	19,6			60,0	13,0	27,0	1,45 ± 0,10
		B	7,70	5,74	4,36	48,6	8,26	27,4	2,26	1,91	29,0	9,00	62,0	1,13 ± 0,02
4	ESPODOSSOLO FERRIHUMILÚVICO Órtico espessarênico (ESko)	A	56,3	3,94	3,31	64,0	0,190	1,08			89,0	3,00	8,00	0,310 ± 0,030
		B	15,4	5,13	0,21	14,6	49,2	17,9	0,95	0,32	58,0	5,00	37,0	5,97 ± 0,20 < LQ ⁽⁷⁾
5	GLEISSOLO HÁPLICO Tb eutrófico solódico (GXbe)	A	3,80	5,91	5,49	77,6	1,85	10,7			85,0	7,00	8,00	< LQ
		B	2,60	6,19	15,2	59,8	6,21	18,7	1,55	1,22	64,0	8,00	28,0	< LQ
6	LATOSSOLO VERMELHO Ácrico húmico (LVw)	A	19,2	4,97	0,910	28,4	20,7	24,0			78,0	5,00	17,0	2,81 ± 0,05
		B	15,4	5,29	0,300	19,4	25,9	30,9	0,59	0,36	55,0	5,00	40,0	3,14 ± 0,18
7	LATOSSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico húmico (LVAd)	A	61,4	4,90	2,60	33,8	11,2	30,5			33,0	6,00	61,0	1,32 ± 0,08
		B	12,8	5,12	0,890	35,8	12,3	34,3	1,79	1,39	29,0	2,00	69,0	1,11 ± 0,07
8	LUVISSOLO CRÔMICO Órtico típico (TCo)	A	24,3	6,63	5,34	61,1	6,29	13,9			82,0	4,00	14,0	1,15 ± 0,04
		B	7,70	6,48	11,7	50,7	11,2	22,5	2,76	1,97	46,0	3,00	51,0	1,37 ± 0,08

Tabela 2.4. (continuação)

Perfil	Classificação dos Solos	Hor. ⁽¹⁾	MO ⁽²⁾ g kg ⁻¹	pH H ₂ O	CTCt ⁽³⁾ cmol _c /dm ³	SiO ₂ ----- (%) -----	Fe ₂ O ₃ ----- (%) -----	Al ₂ O ₃ ----- (%) -----	Ki ⁽⁴⁾	Kr ⁽⁵⁾	areia ----- (%) -----	silte ----- (%) -----	argila ----- (%) -----	Se ⁽⁶⁾ mg kg ⁻¹
9	NEOSSOLO FLÚVICO Psamítico típico (RYq)	A1	5,10	6,35	1,57	78,9	2,96	9,74			93,0	4,00	3,00	< LQ
		A3	6,40	6,30	1,62	78,7	2,94	9,63	-	-	92,0	4,00	4,00	< LQ
10	NITOSSOLO VERMELHO Eutrófico típico (NVe)	A	19,2	5,36	3,28	72,4	5,17	13,0			34,0	31,0	35,0	0,330 ± 0,030
		B	11,5	5,89	3,56	68,0	6,19	16,3	2,34	1,75	28,0	28,0	44,0	0,410 ± 0,060
11	ORGANOSSOLO HÁPLICO solódico (OX)	A	89,6	5,63	32,0	-	-	-			49,0	24,0	27,0	0,900 ± 0,040
		B	21,7	5,39	19,4	63,7	5,01	13,2	3,30	2,28	60,0	17,0	23,0	1,11 ± 0,06
12	PLANOSSOLO HÁPLICO Eutrófico típico (SXe)	A	15,4	5,12	3,72	64,6	5,72	15,5			65,0	12,0	23,0	0,760 ± 0,030
		B	9,00	6,22	4,97	47,5	9,05	27,1	2,34	1,84	28,0	7,00	65,0	1,05 ± 0,06
13	PLINTOSSOLO HÁPLICO Distrófico típico (FXd)	A	34,5	4,51	2,22	40,3	7,43	32,4			22,0	7,00	71,0	1,60 ± 0,13
		B	2,60	4,81	1,10	39,9	11,0	32,7	1,76	1,38	30,0	12,0	58,0	1,79 ± 0,03

⁽¹⁾Hor.: Horizonte; ⁽²⁾MO: matéria orgânica ⁽³⁾CTCt: Capacidade de troca catiônica efetiva; índices de intemperismo: ⁽⁴⁾Ki (relação molar SiO₂/Al₂O₃, Ki = 1,7 x [SiO₂ /Al₂O₃]) e ⁽⁵⁾Kr (relação molar SiO₂/(Al₂O₃ + Fe₂O₃), Kr = 1,7 x SiO₂/ [Al₂O₃ + (0,64 x Fe₂O₃)], ⁽⁶⁾número de replicatas = 3 ⁽⁷⁾, < LQ: menor que o limite de quantificação (0,30 mg kg⁻¹).

Em todos os solos, o teor de MO diminuiu com a profundidade, variando de 3,80 a 89,6 g kg⁻¹ no horizonte A e 2,60 a 21,7 g kg⁻¹ no horizonte B (Tabela 2.4). Verificou-se (Figura 2.11, Figura 2.12), que o teor de MO é muito variável para os solos, principalmente no horizonte A.

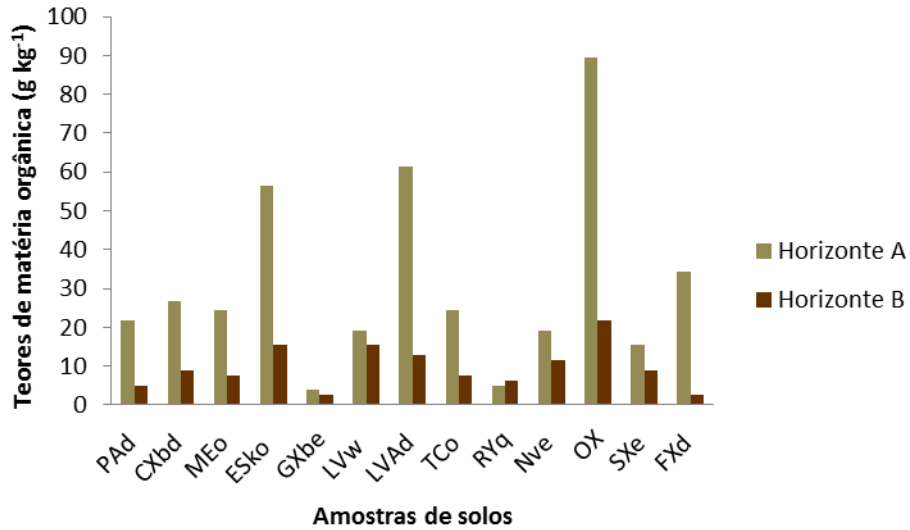


Figura 2.11. Comparação do teor de matéria orgânica nos horizontes A e B dos solos estudados.

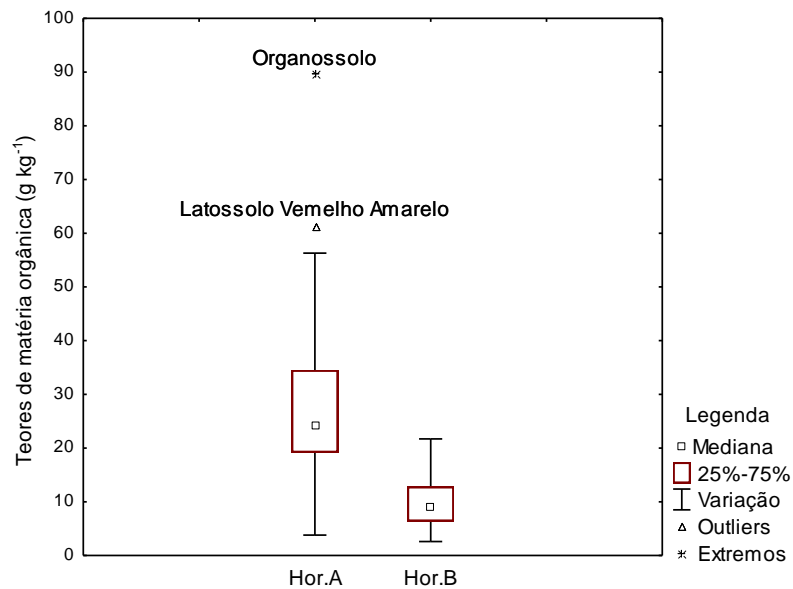


Figura 2.12. Boxplot para o teor de matéria orgânica nos horizontes A e B.

Os maiores teores de MO foram observados no horizonte A do Espodossolo (ESko), Latossolo Vermelho Amarelo (LVAd) (outlier) e do Organossolo (OX) (extremo), um solo orgânico, diferente dos demais, que são solos minerais.

São reconhecidos como valores altos de matéria orgânica nos solos, os teores maiores que $40,1 \text{ g kg}^{-1}$ (4,01%); como valores médios, de 20,1 a 40 g kg^{-1} (2,01% a 4,0%); e como valores baixos, aqueles com menos de 20 g kg^{-1} (2,0%) de MO (Meurer, 2012). De acordo com esta classificação, apenas três solos apresentaram alto teor de MO na camada superficial (A), e o restante, níveis médio ou baixo.

O teor de matéria orgânica exerce um papel fundamental entre os atributos físicos e químicos do solo, por influenciar a mobilidade do Se, reduzindo-a, através de processos de complexação (Fernández-Martínez & Charlet, 2009).

Todos os solos apresentaram características ácidas, com valores de pH na faixa de 3,94 a 6,99 no horizonte A e de 4,49 a 6,53 no horizonte B (Tabela 2.4). O horizonte A apresentou maior variação no pH, como pode ser observado nas Figuras 2.13 e 2.14.

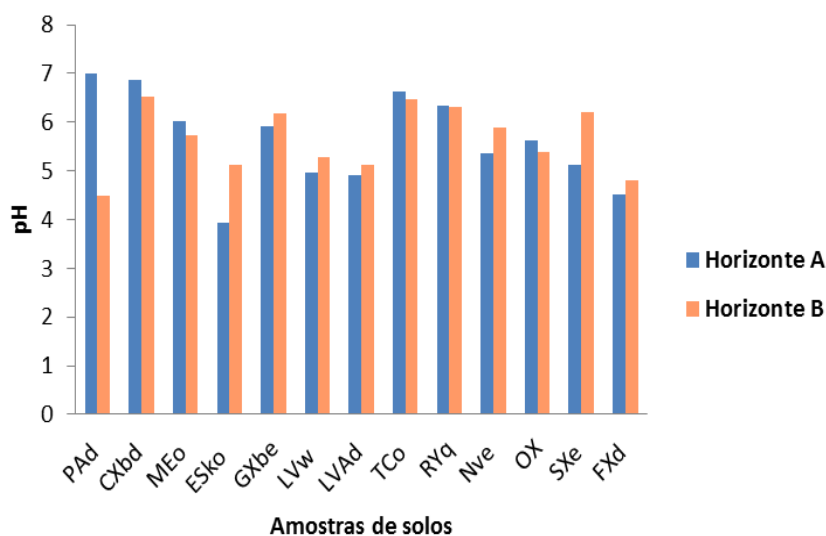


Figura 2.13. Comparação dos valores de pH nos horizontes A e B dos solos estudado.

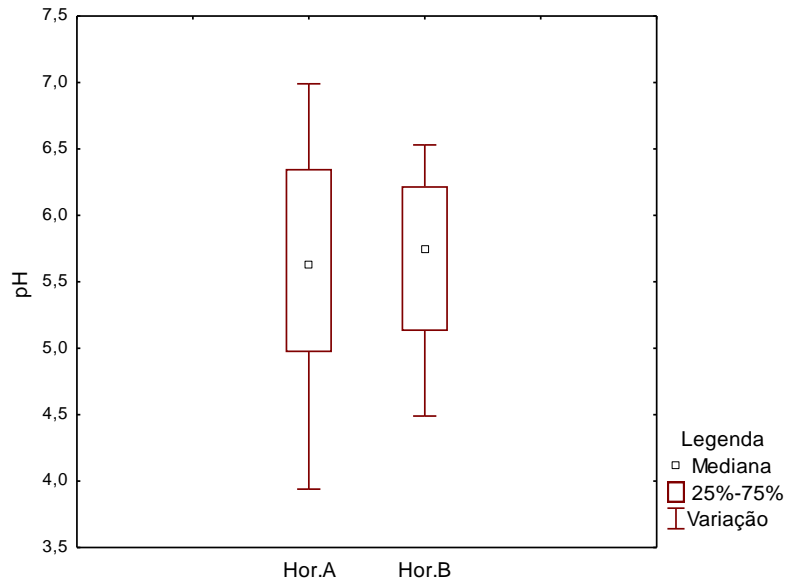


Figura 2.14. Boxplot para o pH nos horizontes A e B.

A média do pH dos horizontes foi de 5,65. Interessante observar o valor discrepante do pH no horizonte A do Espodossolo em relação ao seu horizonte B (Tabela 2.4). Isto pode ser devido à presença de MO mais intemperizada e por isso maior quantidade de ácidos húmicos. Esses ácidos atuam no intemperismo de minerais que são lixiviados para camadas inferiores.

Os solos brasileiros são naturalmente ácidos em sua grande maioria. A principal consequência dos baixos valores de pH é a baixa produtividade para a maioria das culturas. O valor de pH 5,5 é geralmente tomado como limite inferior, para o desenvolvimento adequado da maioria das plantas cultivadas (Veloso et al., 1992).

As causas da acidez do solo são: a lixiviação das bases do complexo de troca, pela água, deixando íons H^+ em seu lugar; a decomposição de minerais de argila, em pH baixo, pode ocasionar o aparecimento de Al trocável; a oxidação microbiana do N amoniacal, que conduz à liberação de íons H^+ ; a "troca" H^+ por cátions, pela raiz da planta, para manter o equilíbrio eletrostático e a liberação de íons H^+ pela matéria orgânica, através da dissociação dos seus grupos carboxílicos e fenólicos (Veloso et al., 1992).

A capacidade de troca catiônica efetiva (CTCt) apresentou teores mínimos de 0,91 e máximos 32,04 $cmol/dm^3$ no horizonte A, e variação de 0,21 a 19,40 $cmol/dm^3$ no horizonte B (Tabela 2.4). Ela representa a

quantidade total de cátions retidos à superfície em condição permutável, próximo ao seu pH natural (Lopes & Guilherme, 2004). De acordo com esses resultados, os solos apresentam diferentes disponibilidades de nutrientes.

O Organossolo (OX) foi o solo que apresentou os maiores valores de CTCt em seus horizontes. O Gleissolo (GXbe) e o Luvisolo (TCO) também apresentaram valores elevados de CTCt no horizonte B.

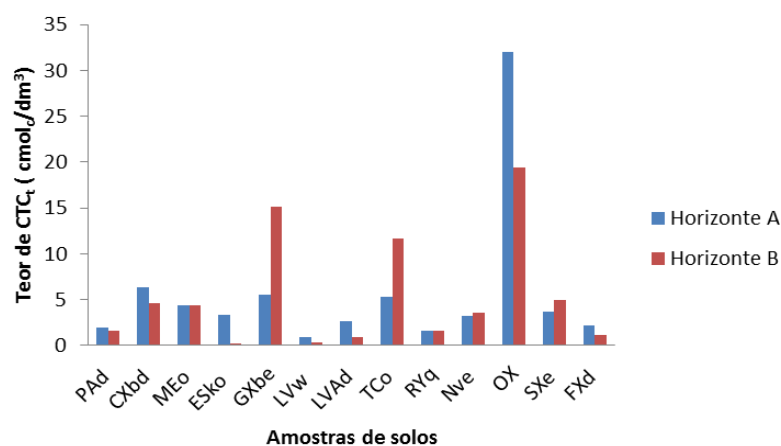


Figura 2.15. Comparação dos valores de CTCt nos horizontes A e B dos solos estudados.

As concentrações dos óxidos, SiO_2 , Al_2O_3 e Fe_2O_3 encontram-se na faixa de 14,58 a 78,87%, 1,08 a 34,29% e 0,19 a 49,15% respectivamente (Tabela 2.4). As Figuras 2.16 a 2.19 apresentam a comparação dos teores destes óxidos nos horizontes A e B dos solos estudados.

De acordo com os resultados, verifica-se que o SiO_2 foi o óxido com maior concentração nos solos, de maneira geral. Analisando o gráfico Boxplot (Figura 2.19), verificou-se que a maior variação no teor de SiO_2 foi no horizonte B, variando de 14,58 (%) para o Espodossolo (ESko) a 78,71 (%) para o Neossolo (RYq).

Para o Al_2O_3 , a maior variação foi no horizonte A (Figura 2.19). O Espodossolo apresentou concentração de 1,08 (%) e o Plintossolo (FXd) de 32,37 (%). As maiores concentrações de Fe_2O_3 foram observadas nos horizonte A (20,7 %) e horizonte B (25,9 %) do Latossolo Vermelho e horizonte B do Espodossolo (49,2 %).

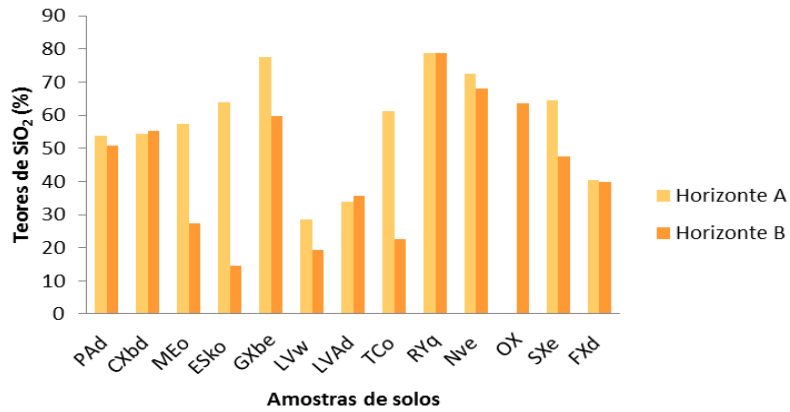


Figura 2.16. Comparação dos teores de SiO₂ nos horizontes A e B dos solos estudados.

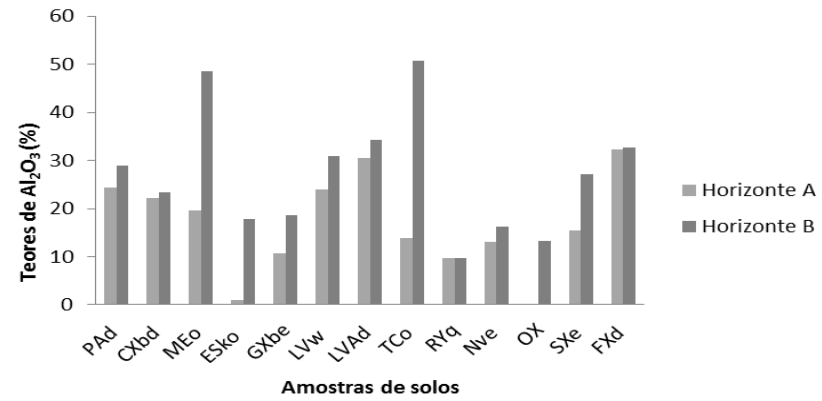


Figura 2.17. Comparação dos teores de Al₂O₃ nos horizontes A e B dos solos estudados.

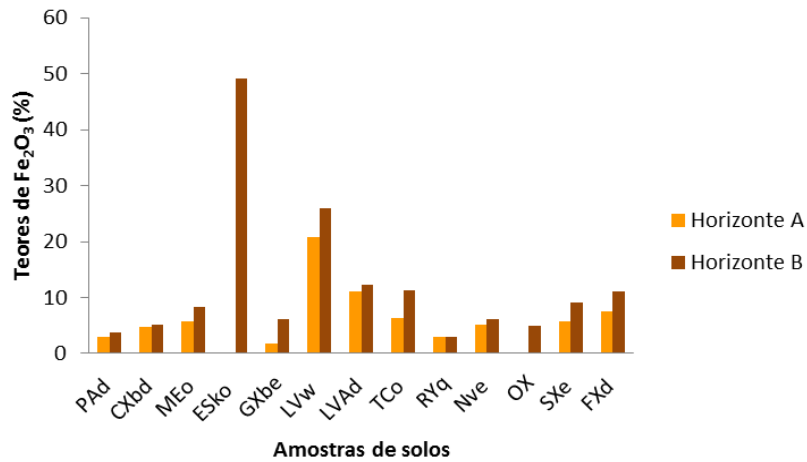


Figura 2.18. Comparação dos teores de Fe₂O₃ nos horizontes A e B dos solos estudados.

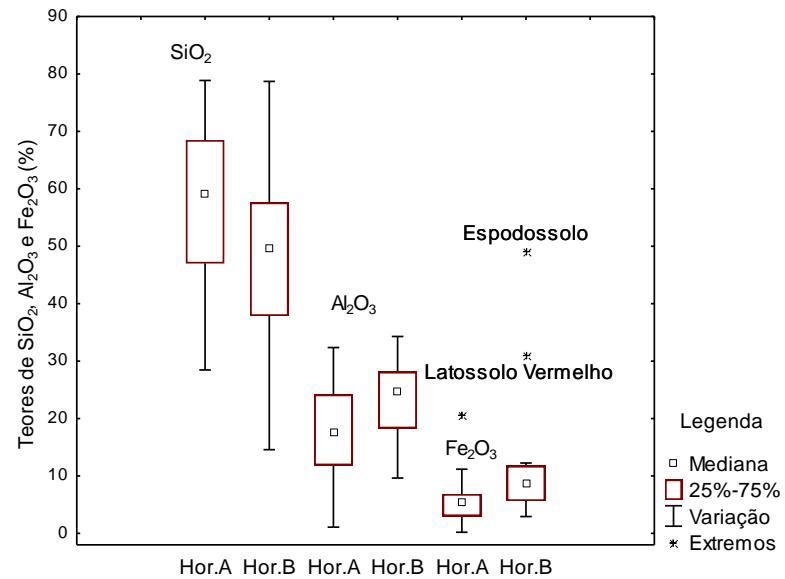


Figura 2.19. Boxplot para os teores de SiO₂, Al₂O₃ e Fe₂O₃ nos horizontes A e B.

Em relação ao estágio de intemperismo dos solos, os valores dos índices *Ki* e *Kr* foram obtidos a partir da relação molecular entre as concentrações dos óxidos de Si, Fe e Al. As concentrações desses óxidos foram obtidas pela análise do ataque sulfúrico (Tabela 2.5). O Neossolo (RYq - perfil 9), não foi analisado por não possuir o horizonte B.

Tabela 2.5. Teores de óxidos obtidos pelo ataque sulfúrico e índices de intemperização (*Ki* e *Kr*) dos solos analisados (horizonte B).

Perfil	Solos	Ataque Sulfúrico				
		%SiO ₂	%Al ₂ O ₃	%Fe ₂ O ₃	* <i>Ki</i>	* <i>Kr</i>
1	PAd	19,7	17,3	3,54	1,94	1,72
2	CXbd	13,4	10,1	2,84	2,26	1,91
3	MEo	23,4	18,3	7,37	2,26	1,91
4	ESko	4,72	8,48	26,0	0,95	0,32
5	GXbe	5,96	6,55	2,78	1,55	1,22
6	LVw	5,52	15,8	16,2	0,59	0,36
7	LVAAd	23,5	22,4	9,91	1,79	1,39
8	TCo	19,1	11,7	7,34	2,76	1,97
10	RYq	16,8	12,2	6,50	2,34	1,75
11	OX	9,14	4,70	3,28	3,30	2,28
12	SXe	24,1	17,5	7,39	2,34	1,84
13	FXd	20,0	19,3	8,29	1,76	1,38

*Índices de intemperismo: *Ki* (relação molar SiO₂/Al₂O₃, $Ki = 1,7 \times [SiO_2 / Al_2O_3]$) e *Kr* (relação molar SiO₂/(Al₂O₃ + Fe₂O₃), $Kr = 1,7 \times SiO_2 / [Al_2O_3 + (0,64 \times Fe_2O_3)]$).

Esses índices permitem a avaliação do estágio de intemperismo dos solos, indicando a composição quantitativa média dos principais constituintes dos minerais secundários da fração argila. Eles representam o quociente da divisão de um elemento de grande mobilidade – o silício (Si) – em relação a outros de baixa mobilidade (Fe e Al) (Lepsch, 2011).

Verificou-se que os solos apresentam diferentes graus de desenvolvimento, com índice *Ki* variando de 0,59 a 3,30 e *Kr* de 0,32 a 2,28.

Valores de K_i menores que 2,0 são indícios de avançados estágios de intemperismo. Esse valor é baseado no valor de K_i da caulinita, que é igual a 2,0. Quando $K_i < 2,0$ indica que parte do alumínio do solo encontra-se na forma livre de óxidos, como por exemplo, a gibbsita (Lepsch, 2011).

A maioria dos solos foi classificada como caulínítico não sesquioxídico, isto é, com valores de $K_i > 0,75$ e $K_r > 0,75$ (Resende & Santana, 1988). Os solos mais intemperizados segundo os índices K_i e K_r foram o Espodosolo, classificado como caulínítico sesquioxídico ($K_i > 0,75$ e $K_r \leq 0,75$) e o Latossolo Vermelho, classificado como gibbsítico sesquioxídico ($K_i \leq 0,75$ e $K_r \leq 0,75$).

Em relação às propriedades físicas, diferentes classes texturais foram obtidas a partir dos resultados da granulometria (Tabela 2.4). Foram observados solos arenosos (teor de argila de 0,0 - 16,0%), franco (médio) (teor de argila de 16,1 – 32,0%), argiloso (teor de argila de 32,1 - 60,0%) e muito argiloso (teor de argila > 60,0 %) (Ribeiro, 1999).

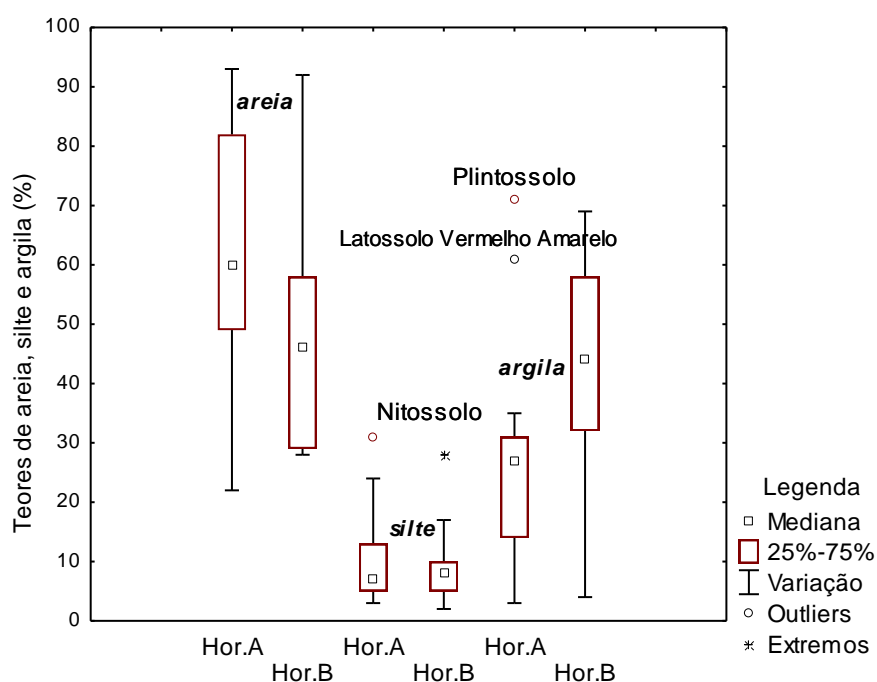


Figura 2.20. Boxplot para os teores de areia, silte e argila nos horizontes A e B.

De acordo com gráfico Boxplot (Figura 2.20), verificou-se que o horizonte A apresentou maior teor de areia, e variação maior que o horizonte B. Este, por sua vez, apresentou em média, maiores teores de argila.

A textura dos solos é uma das características que pode influenciar na disponibilidade dos micronutrientes para as plantas. Partículas mais grosseiras (areia) apresentam menor capacidade de retenção de água e reduzida atividade química. A fração coloidal (argila) tem grande influência nas propriedades do solo, por apresentar grande área superficial específica e densidade de carga elevada, conferindo a essa fração alta reatividade química (Lepsch, 2011).

2.4.2. Determinação de selênio total nos solos por HG AAS

A concentração de Se total nas amostras de solos em estudo, foi quantificada pela técnica de espectrometria atômica com geração de hidretos. A digestão das amostras em forno de micro-ondas com cavidade justifica-se por ser uma alternativa aos procedimentos em sistema aberto, como chapas de aquecimento e blocos digestores, uma vez que reduz o tempo de digestão e os problemas associados à perda dos componentes voláteis e contaminação.

Para se verificar a eficiência do método utilizado, algumas figuras de mérito foram determinadas e são apresentadas na Tabela 2.6.

A curva de calibração apresentou linearidade na faixa estudada, com coeficiente de determinação $> 0,999$.

Os limites de detecção e quantificação da técnica e do método foram calculados com base na análise dos brancos analíticos. O limite de detecção (LD) é a menor quantidade do analito presente na amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, enquanto que o limite de quantificação (LQ) é definido como a menor quantidade de analito que pode ser determinada com nível aceitável de exatidão e precisão.

Comparando os valores de LQ obtidos para o método com o valor de prevenção de 5 mg kg^{-1} de Se em solos estabelecido pelo CONAMA (2013), verifica-se que o método atende a legislação vigente.

Para avaliação da veracidade do método, o material de referência certificado (MRC) NIST 2711 Montana Soil foi analisado. O MRC deve apresentar uma matriz semelhante à amostra em estudo e ser adequado às

faixas de trabalho do método proposto. O MRC utilizado deve ser produzido por entidades de reconhecida credibilidade (Kane, 1992).

Segundo o guia de validação de controle de qualidade analítica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011), o método com faixa de 80 a 110% de recuperação pode ser classificado como exato. Nesse sentido, pode-se dizer que a taxa de recuperação obtida foi aceitável, de 89,6%, podendo considerar, portando, o método como confiável.

Não houve diferença significativa entre as médias, do valor do MRC e do valor determinado (Tabela 2.6). O valor de t experimental (1,94) foi menor que o t crítico (4,30) no nível de confiança de 95%, $n=3$, em uma distribuição de Student bicaudal.

Tabela 2.6. Figuras de mérito para determinação de Se por HG AAS.

Parâmetros	Valores
Equação de regressão	$Y = 0,0039x + 0,0008$
Coefficiente de determinação (R^2)	0,9994
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,0 - 20,0
Limite de Detecção - LD (técnica) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,08
Limite de Quantificação - LQ (técnica) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,92
Limite de Detecção - LD (método) (mg kg^{-1})	0,03
Limite de Quantificação - LQ (método) (mg kg^{-1})	0,30
Valor certificado (MRC) (mg kg^{-1})	$1,54 \pm 0,14$
Valor determinado (mg kg^{-1})	$1,35 \pm 0,17$
Recuperação (%)	89,56
t experimental	1,94
t tabelado	4,30
Desvio padrão relativo (%)	12,6

A precisão do método foi avaliada em termos de repetitividade, e expressa como desvio padrão relativo (% DPR), a partir das análises do MRC. A precisão obtida foi de 12,6%, sendo desta forma adequada para as análises em questão.

Os resultados das concentrações de Se total das amostras de solos são rerepresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7. Concentrações de Se total nas amostras de solos.

Perfil	Classes dos Solos	Hor. ⁽¹⁾	Se (mg kg ⁻¹) ($\bar{x} \pm SD$)
1	ARGISSOLO (PAd)	A	0,420 ± 0,020
		B	0,420 ± 0,030
2	CAMBISSOLO (CXbd)	A	0,980 ± 0,010
		B	0,510 ± 0,010
3	CHERNOSSOLO (MEo)	A	1,45 ± 0,10
		B	1,13 ± 0,02
4	ESPODOSSOLO (ESko)	A	0,310 ± 0,030
		B	5,97 ± 0,20
5	GLEISSOLO (GXbe)	A	< LQ
		B	< LQ
6	LATOSSOLO VERMELHO (LVw)	A	2,81 ± 0,05
		B	3,14 ± 0,18
7	LATOSSOLO VERMELHO AMARELO (LVAd)	A	1,32 ± 0,08
		B	1,11 ± 0,07
8	LUVISSOLO (TCo)	A	1,15 ± 0,04
		B	1,37 ± 0,08
9	NEOSSOLO (RYq)	A	< LQ
		B	< LQ
10	NITOSSOLO (NVe)	A	0,330 ± 0,030
		B	0,410 ± 0,060
11	ORGANOSSOLO (OX)	A	0,900 ± 0,040
		B	1,11 ± 0,06
12	PLANOSSOLO (SXe)	A	0,760 ± 0,030
		B	1,05 ± 0,06
13	PLINTOSSOLO (FXd)	A	1,60 ± 0,13
		B	1,79 ± 0,03

⁽¹⁾ Hor.: Horizonte.

Para as diferentes classes de solos analisados, verificou-se que a concentração do Se variou de 0,310 ± 0,030 a 5,97 ± 0,20 mg kg⁻¹, sendo que duas amostras apresentaram valores abaixo do LQ. Apenas o Espodossolo apresentou concentração superior ao valor máximo de orientação de 5 mg kg⁻¹, estabelecido pelo CONAMA (2013). Este valor se refere à presença natural de Se no solo.

O valor médio da concentração de selênio no horizonte A, considerando-se todos os solos, foi de $1,09 \pm 0,72 \text{ mg kg}^{-1}$ e no horizonte B de $1,20 \pm 0,81 \text{ mg kg}^{-1}$. Foi utilizado o teste t para comparação de médias, e verificou-se que não houve diferença significativa (95%) para as concentrações de Se nos horizontes A e B de um mesmo perfil, com exceção do Espodossolo (ESko) (Figura 2.21, Figura 2.22).

O Espodossolo apresentou a maior concentração de Se, entre todos os solos, em seu horizonte B, enquanto que no seu horizonte A a concentração foi próxima ao limite de quantificação ($0,30 \text{ mg kg}^{-1}$).

Uma possível explicação está no fato de que o horizonte B do Espodossolo é um horizonte *ortstein*, isto é, um horizonte formado pela acumulação de materiais lixiviados dos horizontes acima. Isto favorece a formação de complexos organometálicos, com fortes interações entre a matéria orgânica e óxidos e hidróxidos de Fe e Al (Catoni et al., 2014). Dessa forma, o Se poderia estar fortemente retido nesse complexo.

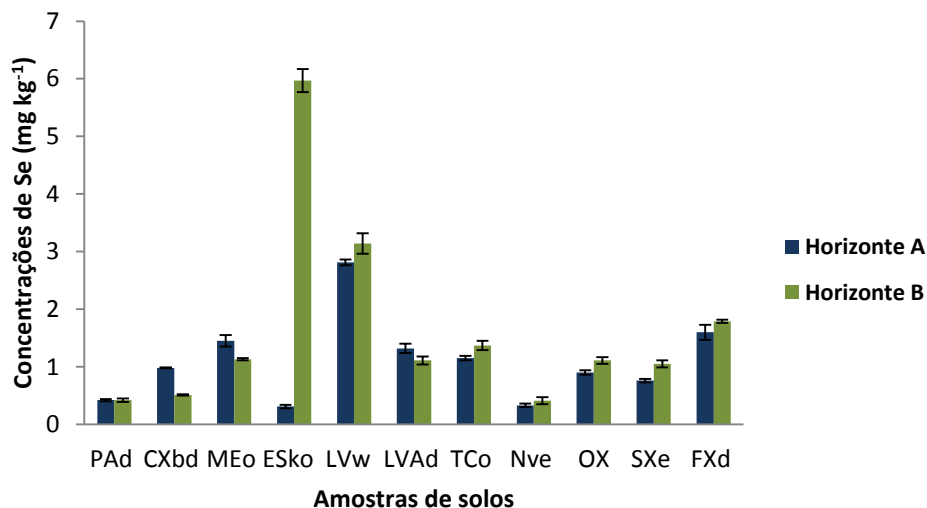


Figura 2.21. Comparação das concentrações de Se nos horizontes A e B dos solos estudados.

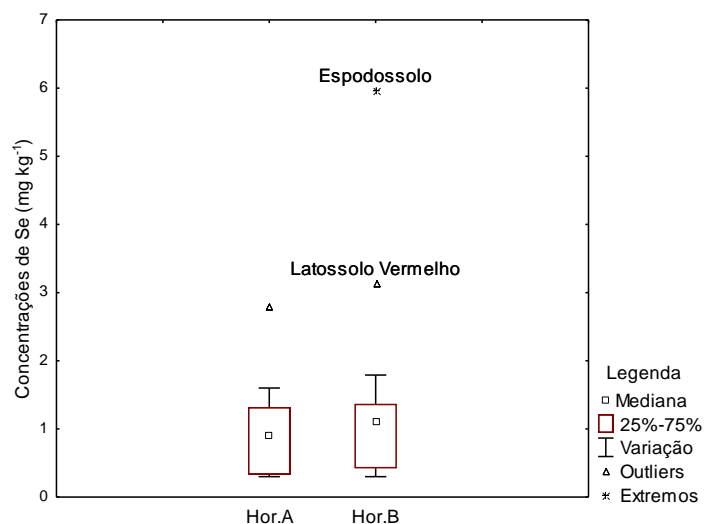


Figura 2.22. Boxplot para a concentração de Se nos horizontes A e B.

Os horizontes A e B do Espodossolo apresentam consideráveis diferenças nas concentrações da MO e dos óxidos de Al, Fe e Si. O horizonte A apresentou teores baixos de Al₂O₃ e Fe₂O₃ e altos teores SiO₂ e MO. O horizonte B apresentou características inversas, isto é, altos teores de Al₂O₃ e Fe₂O₃ e baixos teores de MO (Tabela 2.4). Essas características divergentes corroboram a diferença das concentrações de Se nos horizontes A e B deste solo.

O Espodossolo apresentou concentrações muito altas de Se em seu horizonte B. Observa-se pela Figura 2.21 que esse solo apresentou,

comparando-o com os outros, concentração mais baixa de Se no horizonte A e concentração muito mais alta que os demais no horizonte B. Estes dados sugerem que o Se no horizonte A está sendo lixiviado para profundidades maiores, ou seja, a fonte dessa concentração alta no horizonte B é pelo menos em parte proveniente da lixiviação do horizonte A e retenção no horizonte B. Vale ressaltar que esse Se está em uma camada muito profunda (1,2 m), não estando facilmente disponível às raízes de plantas com sistema radicular superficial. Essa classe de solo apresenta baixa fertilidade e não são indicados para a utilização agrícola (Carvalho et al., 2013).

O Latossolo Vermelho (LVw) não apresentou concentrações de Se significativamente diferentes entre os seus horizontes. Ele apresentou concentrações maiores que a média dos demais solos (Figura 2.22), possivelmente devido aos seus teores de óxido de Al e Fe (Tabela 2.5). De acordo com Abreu et. al., (2011), os solos que mais adsorveram Se em seus horizontes A e B foram o Latossolo Vermelho Amarelo, seguido pelos Latossolo Vermelho e Latossolo Amarelo. Isto foi relacionado com os teores de argila e óxidos de Al dos solos.

Faria (2009) estudou solos representativos do estado de São Paulo e verificou que Latossolo Vermelho e o Nitossolo continham as maiores concentração de Se ($197 \mu\text{g kg}^{-1}$).

É importante destacar que o Latossolo Vermelho encontra-se amplamente distribuído pelo território nacional. Ele é relevante para a agropecuária brasileira pois muitas culturas estão sobre estes solos, destacando-se pastagens, café, cana-de-açúcar, soja, trigo, milho, feijão entre outros (Ker, 1997).

Concentrações significativas de Se representam uma segurança para agricultores que manejam este solo de maneira sustentável. Lembrando que, a maior parte do Se ingerido por animais e humanos é proveniente do solo, onde são cultivadas plantas que podem absorver este elemento.

As concentrações de Se, para a maioria dos solos estudados, estão dentro da faixa mundial que é de 0,01 a 2 mg kg^{-1} (Fordyce, 2007). São também concordantes com os valores reportados na literatura para solos do

Brasil, que possuem concentrações variando de 0,0 a 2,14 mg kg⁻¹, conforme a Tabela 1.1.

A distribuição de Se nos solos é muito variada e dependente de características específicas do local. Em solos da China, foram encontradas concentrações de Se variando de 0,10 a 48,13 mg kg⁻¹ (Li et al., 2008) em áreas endêmicas de selenose. Ao passo que em áreas com relatos de doenças relacionadas a deficiência de Se foram obtidas concentrações de 58,7 µg kg⁻¹ (Wang et al., 2013). Em solos da Índia, concentrações de Se variaram de 2,3 a 11,6 mg kg⁻¹ (Bajaj et al., 2011). Na Escócia e Suécia (Shand et al., 2012) foram encontrados solos com concentrações médias de Se de 0,64 e 0,30 mg kg⁻¹, respectivamente.

As rochas são a fonte primária do selênio no sistema terrestre. No entanto, processos biogeoquímicos como intemperismo, interações água-rocha e atividade biológica podem controlar o transporte de selênio a partir de rochas para outros compartimentos. Além disso, compostos voláteis de Se podem retornar da atmosfera para o solo através da precipitação (Yu et al., 2014; Fernández-Martínez & Charlet, 2009).

Diante da variabilidade da concentração de Se nos solos analisados, torna-se necessária uma melhor compreensão da influência das propriedades físico-químicas dos solos na concentração de Se. Isto pode ser obtido com o uso de ferramentas estatísticas.

2.4.3. Correlação entre a concentração de Se total e as propriedades físico-químicas dos solos

Muitos fatores podem afetar a concentração total de selênio no solo, principalmente suas propriedades físico-químicas (PFQ) e a composição de seu material de origem. No entanto, com o progresso da formação do solo, o impacto do material de origem na concentração de selênio no solo diminui gradualmente, enquanto que o papel das propriedades físico-químicas do solo tende a aumentar (Wang et.al, 2013).

Os resultados da caracterização físico-química dos solos e da determinação de Se produziram grande quantidade de dados (Tabela 2.4), que

precisam ser analisados em conjunto. Coeficiente de correlação de Pearson, PCA e HCA foram utilizados para avaliar a existência de correlações entre as características determinadas e a concentração de Se nos solos estudados.

O Espodossolo (ESko) e o Latossolo Vermelho (LVw) apresentaram teores de Se maiores que a média dos outros solos (Figura 2.22). O Organossolo (OX) apresentou teores de MO (Figura 2.11) e CTC (Figura 2.15) muito superiores aos outros solos. Por isso, estes solos não foram incluídos nas análises estatísticas porque, possivelmente, poderiam causar alguma distorção na interpretação dos resultados.

Os coeficientes de correlação de Pearson (r) encontram-se na Tabela 2.9. A concentração de Se apresentou correlação significativa e positiva com Al_2O_3 ($r = 0,76$), Fe_2O_3 ($r = 0,57$) e argila ($r = 0,64$), e negativamente com SiO_2 ($r = - 0,76$) e areia ($r = - 0,54$). Não houve correlações significativas com MO ($r = 0,41$), pH ($r = - 0,32$) e silte ($r = - 0,22$) e CTCt ($r = -0,06$) (não apresentado na Tabela 2.8).

Tabela 2.8. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre a concentração de Se total e as propriedades físico-químicas dos solos (n= 20).

Variáveis	Se	MO	pH	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	Ki	Kr	Areia	Silte	Argila
Se	1,00	0,41	-0,32	-0,76**	0,76**	0,57**	0,43	0,40	-0,54*	-0,22	0,64*

Nota: As correlações significativas estão em negrito.

* Correlação significativa ($P < 0,05$); ** Correlação significativa ($P < 0,01$)

Quando a correlação é positiva, significa que quando uma variável aumenta a outra aumenta também, são diretamente proporcionais. A correlação negativa indica que as variáveis são inversamente proporcionais (Filho & Silva Júnior, 2009).

De acordo com Gabos et al. (2014), as concentrações de Se mostraram pouco correlacionadas com as características dos solos de São Paulo. A maior correlação observada foi de $r = 0,428$, para a CTC. Eles encontraram ligeira correlação positiva entre o teor de Se com MO, óxidos, argila e CTC no horizonte A. No horizonte B, foi encontrada correlação negativa para o pH e positiva para Al_2O_3 . Não foi observada correlação com o material de origem.

Na análise de componentes principais, os valores de *loadings* para as três PCs e suas respectivas variâncias são apresentados na Tabela 2.9. Eles mostram a contribuição de cada variável original para o modelo das PCs. Os resultados mostram uma variância acumulada de 77,13% até a terceira componente principal, com valores de variância para PC1, PC2 e PC3 de 45,28%, 17,46% e 14,39%, respectivamente. A PC1 e a PC2 descrevem a variação dos atributos satisfatoriamente, pois, juntas fornecem uma variância explicada acumulada de 62,74%.

Tabela 2.9. Valores de *loadings* para as três PCs e suas respectivas variâncias.

Variáveis	PC1	PC2	PC3
Se	-0,822	0,140	-0,146
MO	-0,428	0,153	0,123
pH	0,447	-0,388	-0,591
SiO ₂	0,905	-0,211	0,310
Al ₂ O ₃	-0,869	0,029	-0,293
Fe ₂ O ₃	-0,726	0,399	-0,164
CTCt	0,049	-0,503	-0,611
Ki	-0,642	-0,718	-0,073
Kr	-0,627	-0,726	-0,034
areia	0,818	0,115	-0,436
silte	0,071	-0,616	0,718
argila	-0,889	0,090	0,214
Autovalor	5,433	2,095	1,726
Variância explicada (%)	45,279	17,460	14,388
Variância explicada acumulada CV (%)	45,279	62,740	77,128

Nota: As maiores contribuições das variáveis originais em cada PC estão em negrito.

A primeira componente (PC1), com 45% da variabilidade dos dados, representa as frações areia e argila na granulometria dos solos. Os sinais contrários de seus *loadings* sugerem que o aumento do teor de uma leva à diminuição do teor da outra. Esta componente mostra forte associação do Se com a MO, Al₂O₃, Fe₂O₃, Ki e Kr que são, estes dois últimos, medidas do grau de intemperismo do solo. Isto sugere que quanto mais avançado o intemperismo maior o teor de MO, maior o teor de Se. Por outro lado, a fração areia está ligada ao teor de SiO₂ que representa não só o teor de quartzo como o teor de minerais detríticos como os feldspatos. Com certeza não é esta

fração que acumula Se, evidenciado não só pelos *loadings* mas também pelas características químicas como a baixa capacidade de sorção dos minerais que a compõem.

A segunda componente representa a fração silte, intimamente ligada a CTCt. Os índices de intemperismo *Ki* e *Kr* também têm *loadings* altos e com o mesmo sinal nesta componente. O avanço do intemperismo também significa aumento da formação desta fração granulométrica.

Os gráfico dos *loadings* e dos *escores* são apresentadas nas Figuras 2.23 e 2.24, respectivamente. O gráfico dos *loadings* mostra a relação entre as variáveis, isto é, as propriedades físico-químicas, e o gráfico dos *escores* mostra a similaridade e as diferenças entre as amostras.

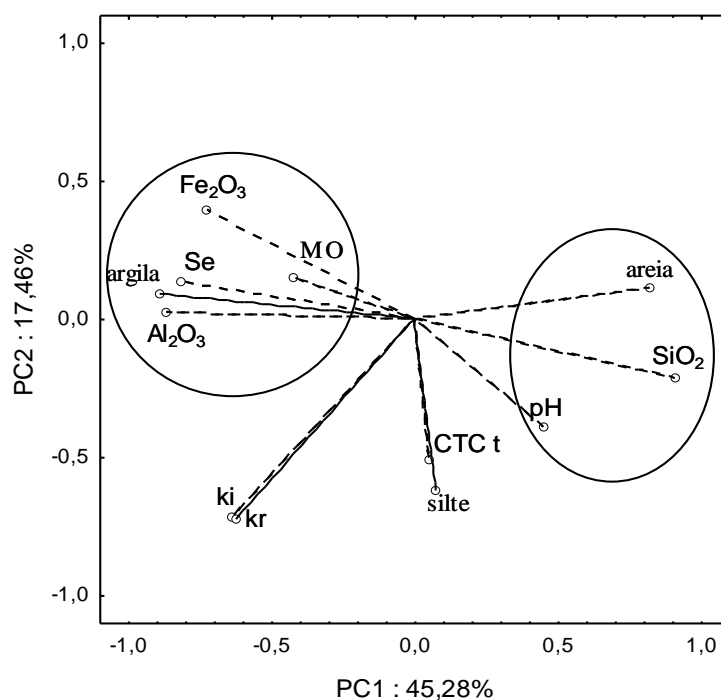


Figura 2.23. Gráfico de *loadings* PC1 x PC2.

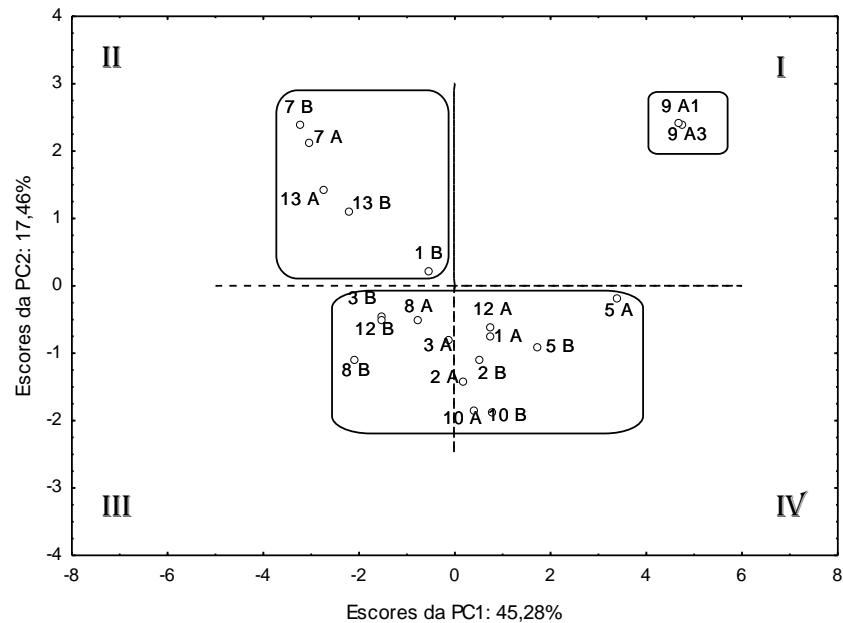


Figura 2.24. Gráfico dos *Escores* PC1 x PC2.

O gráfico dos *loadings* para PC1 e PC2 (Figura 2.23) apresentou dois agrupamentos. O primeiro é formado por Se, argila, Al_2O_3 , Fe_2O_3 e MO que representa o conjunto de atributos inter-relacionados.

Apesar da MO não ter aparecido com correlação significativa na matriz de correlação de Pearson, ela ficou próxima ao Se no gráfico de *loadings*, mostrando que há uma correlação entre eles.

O segundo grupamento é formado por areia, SiO_2 e pH que não foram correlacionados com Se. Silte, CTCt, *Ki* e *Kr* (razões de intemperismo), não foram correlacionados. Estes resultados estão de acordo com os demonstrados pelo coeficiente de correlação de Pearson, como apresentado anteriormente.

A fração argila foi um atributo fortemente correlacionado com Se, como verificado pelo coeficiente de correlação de Pearson e PCA. A fração argila de solos tropicais e subtropicais é dominada por minerais como a caulinita ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$) e sesquióxidos de Fe e Al.

Como observado anteriormente, os minerais que foram identificados na TFSA por DRX dos solos em estudo foram a caulinita, feldspato, gibbsita, goethita, hematita e quartzo. A caulinita foi mineral presente em todos os solos. Em termos quantitativos, o principal componente da fração argila da maioria dos solos tropicais e subtropicais, é a caulinita (Souza Júnior et al., 2007).

Óxidos de Fe e Al exercem um importante papel na adsorção de Se, principalmente por suas propriedades químicas de superfície. Esses óxidos ficam carregados positivamente em uma ampla faixa de pH. Além disso, possuem grandes áreas de superfície, e elevada densidade de grupos funcionais de superfície para reações de troca de ligantes (Peak, 2006). Assim, o selênio pode ser adsorvido com os óxidos de Fe e Al e formar complexos de esfera interna e externa.

No trabalho realizado por Abreu, et al., (2011), foram analisados solos do Cerrado no Brasil. Eles observaram que os solos mais intemperizados, com maior teor de argila e predomínio de óxidos de Al e Fe foram os que tiveram maior afinidade pelo Se. Os solos do Cerrado (Latosolos e Espodossolo) no Vale do Jequitinhonha confirmam essa relação.

No presente estudo, MO apresentou correlação com Se na PCA (Figura 2.23). Ela tem um papel fundamental entre os atributos físico-químicos do solo, por influenciar a mobilidade do Se através de processos de complexação (Fernández-Martínez & Charlet, 2009). Em solos da China, MO não estava diretamente correlacionada com a concentração de Se. No entanto, foi considerada a responsável pela imobilização do Se e pela baixa biodisponibilidade deste elemento (Wang & Gao, 2001).

Verificou-se que o pH não está correlacionado com as concentrações de Se no solos estudados de acordo com coeficiente de correlação de Pearson e PCA. Os solos caracterizados como ácidos, apresentaram ampla faixa de variação da concentração de Se, mas que não foi proporcional ao pH. O horizonte A do Espodossolo, apresentou o menor valor de pH de 3,94, e umas das concentrações mais baixas de Se, $0,31 \pm 0,03 \text{ mg kg}^{-1}$. No entanto, o horizonte A do Argissolo, que possui maior valor do pH de 6,99, também apresentou baixas concentrações de Se, $0,42 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$, em relação à concentração dos outros solos.

Na Índia, Dhillon & Dhillon, (1999) observaram que os solos ácidos absorvem mais Se que os solos alcalinos. As cargas negativas na superfície do solo aumentam com o aumento do pH, causando repulsão eletrostática das espécies aniônicas de Se e diminuindo sua adsorção (Goh & Lim, 2004).

A fração areia não foi correlacionada com Se na PCA, como observado também na correlação de Pearson. Esta fração possui baixa área de superfície específica e poucas cargas para retenção do Se (Kämpf et al., 2009). Os solos mais arenosos (Neossolo e Gleissolo) apresentaram concentrações de Se abaixo do limite de quantificação da HG AAS. O Gleissolo além de ser arenoso, é um solo hidromórfico, de ambiente reduzido. Na falta de oxigênio, o Se estaria predominantemente nas formas reduzidas de seleneto e selênio elementar. Essas espécies, se presentes, possivelmente não foram quantificadas por esta técnica.

No gráfico dos *scores* para PC1 e PC2 (Figura 2.24), verifica-se no primeiro quadrante (I), somente o solo mais arenoso, Neossolo (9 A1, 9 A3) (Tabela 2.4). No segundo quadrante (II), os solos foram agrupados, devido aos óxidos de Al e Fe, MO e Se. Estão presentes o Latossolo Vermelho Amarelo (7 A, 7 B), Plintossolo (13 A, 13 B) e o horizonte B do Argissolo (1B). Este último foi agrupado, principalmente, pelo teor de Al₂O₃. Os demais solos não apresentaram uma propriedade mais determinante, ficando próximos e distribuídos nos terceiro e quarto quadrantes.

Além de se verificar as correlações entre as amostras de solos pela PCA, procurou-se também verificar as similaridades entre as amostras, utilizando dendograma dos resultados da HCA (Figura 2.25). Verificou-se a proximidade dos horizontes A e B para a maioria dos solos, e a formação de 3 agrupamentos principais.

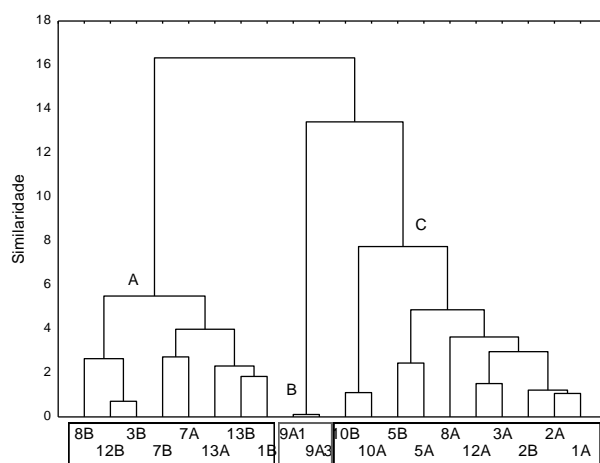


Figura 2.25. Dendograma obtido pelo HCA das amostras de solos estudados.

O *cluster A* é constituído pelos solos que apresentaram as maiores concentrações de Se (Tabela 2.7), com exceção do Argissolo B (1B). O agrupamento desses solos é devido aos seus teores de Al_2O_3 . O *cluster B* foi formado somente pelos horizontes A_1 e A_3 do Neossolo. Este solo arenoso, pouco evoluído, foi isolado. Ele apresenta características muito diferentes, com valores de seus atributos menores que os obtidos para os outros solos. O *cluster C* foi formado pelos solos que possuíam características físico-químicas similares. A concentração de Se nesses solos foi abaixo de $1,45 \text{ mg kg}^{-1}$. Estes resultados corroboram com os obtidos pelo gráfico de escores da PCA.

2.5. CONCLUSÃO

Entre os solos estudados, o Espodosolo se destacou dos demais por apresentar uma concentração de Se muito mais alta no horizonte B. No entanto, o Se está em uma camada muito profunda, não estando facilmente disponível para as plantas. Nos Latossolos (Vermelho e Vermelho-Amarelo), quantidades significativas de Se foram encontradas nas camadas superficiais, podendo estar disponíveis para as plantas. Esses solos são de grande importância para agricultura brasileira. Todavia, é importante considerar que solos intemperizados, com elevadas concentrações de óxidos de Fe e Al na fração argila podem adsorver selenito, reduzindo sua disponibilidade para as plantas. De maneira geral, no mesmo perfil não foi observada diferença significativa na concentração de Se entre os horizontes A e B, exceto para o Espodosolo.

A aplicação de ferramentas estatísticas possibilitou a identificação das principais correlações entre a concentração de Se e as características físico-químicas dos solos. Selênio está associado à fração argila do solo. Dentro dessa fração, Se está mais relacionado aos óxidos de Al do que aos óxidos de Fe. Apesar do pH não aparecer como fator correlacionado, acredita-se que o baixo valor de pH dos solos pode ter contribuído para adsorção dos ânions de selênio em alguns solos.

Assim, este trabalho contribuiu com informações da concentração natural de Se em diferentes classes de solos, indicando as principais correlações entre Se e as características físico-químicas dos solos e fornecendo um estudo de caso da distribuição de Se em solos, que pode auxiliar na elaboração de mapas da distribuição de Se nessas matrizes.

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, L. B., Carvalho, G. S., Curi, N., Guilherme, L. R. G.; Marques, J. J. G. S. M., 2011. Sorção de Selênio em Solos do Bioma Cerrado. *R. Bras. Ci. Solo.* 35, 1995-2003.

Bajaj, M., Eiche, E., Neumann, T., Winter, J., Gallert, C., 2011. Hazardous concentrations of selenium in soil and groundwater in North-West India. *Journal of Hazardous Materials.* 189, 640–646.

Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Guilherme, L. R. G., Bastos, C. E. A., Carvalho, G. S., Costa, E. T. S., 2012. Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. *Pesq. agropec. bras., Brasília*, 47, n.6, 831-837.

Campos, J. C. F.; Schaefer, C. E. R.; Ker, J. C.; Saadi, A.; Albuquerque Filho, M. R., 2013. Gênese e Micropedologia de Solos do Médio Jequitinhonha, de Turmalina a Pedra Azul, MG. *Geonomos.* 5, 41-53.

Carvalho, G. S., 2011. *Selênio e Mercúrio em Solos sob Cerrado Nativo*. Tese de Doutorado, UFLA- Lavras, 95p.

Carvalho, V. S., Ribeiro, M. R., Souza Júnior, V. S., Alves Brilhante, S.A. 2013. Caracterização de Espodosolos dos Estados da Paraíba e do Pernambuco, Nordeste do Brasil. *R. Bras. Ci. Solo*, 37,1454-1463.

Catoni, M., D'amico, M. E., Mittelmeijer-Hazeleger., M. C., Rothenberg, G., Bonifacio, E., 2014. *European Journal of Soil Science*, 65, 763–773.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, 2013. *Resolução Nº. 460, 2013*. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=702> Acesso em: julho/2015.

Corrêa, M. M., Ker, J. C., Barrón, V., Torrent, J., Fontes, M., P., F., Curi, N., 2008. Propriedades cristalógraficas de caulinitas de solos do ambiente tabuleiros costeiros, Amazônia e Recôncavo baiano. *R. Bras. Ci. Solo*, 32, 1856-1872.

Chodorowski, J., 2011. Ortstein, Physical Properties. In *Encyclopedia of Agrophysics*. Springer Netherlands, pp. 535-535.

Dhillon, K. S., Dhillon, S. K., 1999. Adsorption–desorption reactions of selenium in some soils of India. *Geoderma*. 93, 19–31.

Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 2011. *Manual de Métodos de Análise de Solos*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 230 p.

Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 2006. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília: Embrapa Produção de informação: Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 306p.

Faria, L. A., 2009. *Levantamento sobre selênio em solos e plantas do Estado de São Paulo e sua aplicação em plantas forrageiras*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. 57p.

Fávero, C., Monteiro, F. T., 2014. Disputas territoriais no Vale do Jequitinhonha: uma leitura pelas transformações nas paisagens. *Agriculturas*, 11, 7-15.

Fernández-Martínez, A., Charlet, L., 2009. Selenium environmental cycling and bioavailability: a structural chemist point of view. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 8, 81–110.

Fichtner, S. S., Paula, A. N., Jardim, E. C., Silva, E. C., Lopes, H. O. S., 1990. Estudo da composição mineral de solos, forragens e tecido animal de bovinos

do município de Rio Verde, Goiás. IV cobre, molibdênio, selênio. *Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária*. 20,1-6.

Fordyce, F.M. Selenium geochemistry and health., 2007. *Ambio.*, 36, 94–97.

Gabos, M. B., Alleoni, L. R. F., Abreu, C. A., 2014. Background levels of selenium in some selected Brazilian tropical soils. *Journal of Geochemical Exploration*. 145, 35–39.

Ghidin, A. A., Melo, V. F., Lima, V. C., Lima, J. M. J. C., 2006. Toposseqüências de Latossolos originados de rochas basálticas no Paraná. I – mineralogia da fração argila. *R. Bras. Ci. Solo*, 30, 293-306.

Goh, K. H., Lim, T. T., 2004. Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption. *Chemosphere*. 55, 849–859.

González-Nieto, J., López-Sánchez, J. F., Rubio, R., 2006. Comparison of chemical modifiers for selenium determination in soil aqua regia extracts by ZETAAS. *Talanta*, 69, 1118–1122.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1997. *Diagnóstico ambiental da bacia do rio Jequitinhonha*. Salvador: IBGE/DIGEO 1/NE, 64 p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. *Área Territorial Brasileira*. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/principal.shtm>. Acesso em: novembro/2016.

Inmetro. *Orientação sobre validação de métodos analíticos*. DOQ-CGCRE-008 Revisão 04. Jul. 2011. 19 p. Disponível em:

http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf. Acesso em: julho/2014.

Kämpf, N., Curi, N., Marques, J.J., 2009. *Óxidos de alumínio, silício, manganês e titânio*. In: Melo, V.F. & Alleoni, L.R.F., eds. *Química e mineralogia do solo*. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v.1, pp.573- 610.

Kane, J.S. Reference samples for use in analytical geochemistry: their availability, preparation, and appropriate use. *Journal of Geochemical Exploration*, v.44, p.37-63, 1992.

Ker, J. C., 1997. Latossolos do Brasil: uma Revisão. *Geonomos*, 5, 17-40.

Lepsch, I. F., 2011. *19 lições de pedologia*. 1ª edição, Ed. Oficina de Textos, São Paulo. pp. 251-254.

Li, Y., Wang, W., Luo, K., Li, H., 2008. Environmental behaviors of selenium in soil of typical selenosis area, China. *Journal of Environmental Science*, 20, 859–864.

Loffredo, N., Mounier, Y., Thiry, Y., Coppin, F., 2011. Sorption of selenate on soil and pure phases: kinetic parameters and stabilization. *J. Environ. Radioact.*, 102, 843–851.

Lopes, A. S. & Guilherme, L. R. G., 2004. *Interpretação da Análise do Solo - Conceitos e aplicações*. ANDA, São Paulo. Ed. atual. Boletim Técnico No 2. 51p.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários. – Brasília, 72 p.

Meurer, E.J. *Fundamentos de Química do Solo.*, 2012. 5ª edição. Porto Alegre: Evangraf, 280 p.

Miller, J. C. & Miller, J.N., 1993. *Estadística para Química Analítica*. 2 ed. Wilmington, Addison-Wesley Iberoamerican, 211p.

Ministério da Agricultura, 1970. *Levantamento de reconhecimento dos solos da Zona do Médio Jequitinhonha, Minas Gerais*. Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, Rio de Janeiro, 340p. (Boletim Técnico, 9).

Paiva Neto, J. E. & Gargantini, H., 1956. Dosagem de selênio no solo. *Bragantia*, 15, 13-16.

Peak, D., 2006. Adsorption mechanisms of selenium oxyanions at the aluminum oxide/water interface. *J. Colloid Interface Sci.*, 303, 337–345.

Peak, D. & Sparks, D.L., 2002. Mechanisms of selenate adsorption on iron oxides and hydroxides. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1460–1466.

Resende, M. & Santana, D. P., 1988. *Uso das relações K_i e K_r na estimativa da mineralogia para classificação dos Latossolos*. Reunião de Classificação, Correlação de Solos e Interpretação de Aptidão Agrícola, 3., Rio de Janeiro. Anais, Rio de Janeiro: SBCS, pp.225-232 (Documentos SNLCS, 12)

Resende, M., Curi, N., Ker, J. C., Rezende, S. B., 2005. *Mineralogia de solos brasileiros: interpretação e aplicações*. Lavras: editora UFLA, 192p.

Ribeiro, A. C., Guimarães, P. T. G., Alvarez, V. V. H., 1999. *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 359p.

Ruiz, H. A. R., 2005. Incremento da exatidão da análise granulométrica do solo por meio da coleta da suspensão (silte + argila). *Rev. Bras. Ci. Solo*, 29, 297-300.

Santos, R.D; Lemos, R. C; Santos, H.G; Ker, C.J.; Anjos, L.H.C.; Shimizu, S. H., 2013. *Manual de descrição e coleta de solo no campo*. 6ed. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência de solo, 100p.

Scolforo, J. R. S.; Carvalho, L. M. T.; Oliveira, A. D., 2008. *Zoneamento ecológico-econômico do Estado de Minas Gerais: componentes geofísico e biótico*. Lavras, Editora UFLA,161 p.

Shaltout, A. A., Castilho, I. N. B., Welz, B., Carasek, E., Martens, I.B. G., Martens, A., Cozzolino, S.M.F., 2011. Method development and optimization for the determination of selenium in bean and soil samples using hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 85, 1350–1356.

Shand, C. A., Eriksson, J., Dahlin, A. S., Lumsdon, D. G., 2012. Selenium concentrations in national inventory soils from Scotland and Sweden and their relationship with geochemical factors. *Journal of Geochemical Exploration*, 121, 4–14.

Silva, J., Brustoline, C. R., Ferreira, V. P., Junior, L. S., Mello, J. W. V., Filho, M. M., 2012. *Teor natural de selênio em solos do estado de Minas Gerais*. FERTIBIO. A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola, 4 p. Disponível em:
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/73195/1/0000000553-FERTBIO-Juscimar.pdf>. Acesso em: maio/ 2014.

Silva Jr., E. C., 2016. *Selênio na castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) e em solos da região Amazônica brasileira*. Tese de Doutorado, UFLA- Lavras, 82p.

Souza Júnior, I G., Costa, A.C.S., Sambatti, J.A., Peternele, W. S., Tormena, C.A., Montes, C.R., Clemente, C.A., 2007. Contribuição dos constituintes da

fração argila de solos subtropicais à área superficial específica e à capacidade de troca catiônica *R. Bras. Ci. Solo*, 31, 1355-1365.

Teixeira, L. S., 2014. *Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de micronutrientes e contaminantes em fertilizantes orgânicos*. Tese de doutorado, Belo Horizonte, 155p.

United States Environmental Protection Agency – USEPA, 2007. *Microwave assisted acid digestion of sediments sludge, soils, and oils*. EPA SW 846 3051^a, 30p. Disponível em:
<http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>.
Acesso em: dezembro/2013.

Veloso, C. A. C., Borges, A. L. Muniz, A. S., Veigas, I. A. de J. M., 1992. Efeito de diferentes materiais no pH do solo. *Scientia Agrícola*, 49, 123-128.

Vettori, L., 1969. *Métodos de análises de solo*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, 24p. (Boletim Técnico, 7).

Vieira, E. C.; Kamogawa, M. Y.; Lemos, S. G.; Nóbrega, J. A.; Nogueira, A.R.A., 2005. Decomposição de Amostras de Solos Assistida por Radiação Microondas: Estratégia para Evitar a Formação de Fluoretos Insolúveis. *R. Bras. Ci. Solo*, 29, 547-553.

Wang, J., Li, H., Li, Y., Yu, J., Yang, L., Feng, F., Chen, Z., 2013. Speciation, Distribution, and Bioavailability of Soil Selenium in the Tibetan Plateau Kashin–Beck Disease Area—A Case Study in Songpan County, Sichuan Province, China. *Biol Trace Elem Res.*, 156, 367–375.

Wang, Z., Gao, Y., 2001. Biogeochemical cycling of selenium in Chinese environments. *Applied Geochemistry.*, 16, 1345–1351.

Welz, B. & Sperling, M., 1999. *Atomic absorption spectrometry*. Third edition. Wiley-VCH Verlag, Weinheim (Federal Republic of Germany), 941p.

Yu, T., Yang, Z., Lv, Yaoyao., Hou, Q., Xia, X., Feng, H., Zhang, M. 2014. The origin and geochemical cycle of soil selenium in a Se-rich area of China. *Journal of Geochemical Exploration*, 139, 97–108.

CAPÍTULO 3

Avaliação da Biodisponibilidade de Selênio no Solo por Procedimentos de Extração e Fluorescência de Raios - X por Reflexão Total

CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE SELÊNIO NO SOLO POR PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO E FLUORESCÊNCIA DE RAIOS - X POR REFLEXÃO TOTAL

3.1. INTRODUÇÃO

A concentração total de Se é muito importante para a caracterização química de um solo, no entanto, não é um dado suficiente para avaliar sua mobilidade e absorção pelas plantas e animais, isto é, sua biodisponibilidade. A toxicidade e deficiência do Se são influenciadas pela sua biodisponibilidade no ambiente (Fernández-Martínez & Charlet, 2009).

A biodisponibilidade é um conceito biogeoquímico que relaciona a concentração de um elemento com sua disponibilidade para os organismos, e está relacionada com muitas variáveis ambientais (Fernández-Martínez & Charlet, 2009). Em geral, a biodisponibilidade é dependente das características do solo como pH, o teor de argila, teor de matéria orgânica (MO) e a composição iônica (por exemplo, Fe^{2+}/Fe^{3+} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , etc.) além da comunidade microbiana e dos fatores climáticos (por exemplo, umidade e evapotranspiração) (Winkel et al., 2015).

Os procedimentos de extração sequencial, baseados no método proposto por Tessier et al. (1979), têm sido amplamente aplicados com sucesso considerável para obter informações valiosas sobre a biodisponibilidade e biogeoquímica de elementos traço, como o Se, em frações de solo (por exemplo, frações solúveis em água, trocáveis, ligadas a matéria orgânica e residual) (Kulp & Pratt, 2004; Qin et al., 2012; Wang et al., 2013; Wang et al., 2012). Como consequência de seu caráter operacional, e de acordo com as recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (Templeton et al., 2000), este processo é definido como fracionamento.

Estes procedimentos utilizam reagentes específicos que são aplicados em sequência na amostra (Filgueiras et al., 2002). No entanto, apresentam algumas desvantagens, pois incluem de três a seis extrações sucessivas com passos de lavagem entre cada extração, conduzindo a um grande fator de

diluição e aumentando o risco de perda, contaminação e redistribuição das espécies de Se (Tessier et al., 1979; Tolu et al., 2011).

Como alternativa, os procedimentos de extrações paralelas simples têm sido usados (Alvarez et al., 2011; Tolu et al., 2011; Tolu et al., 2014; Zhang & Frankenberger, 2003). Esses procedimentos são mais rápidos e mais simples (Alvarez et al., 2011).

As técnicas mais utilizadas para a determinação de Se em soluções de extração são as técnicas espectroscópicas, incluindo a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) (Keskinen et al., 2009), a espectrometria de absorção atômica com gerador de hidreto (HG AAS) (Kulp & Pratt, 2004), a espectrometria de fluorescência atômica com gerador de hidreto (HG AFS) (Qin et al., 2013; Wang et al., 2012) e a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) (Eich-Greatorex et al., 2010, Tolu et al., 2014).

Embora essas técnicas apresentem sensibilidade suficiente para a determinação de Se em níveis traço, geralmente são encontradas interferências devido às matrizes complexas das amostras ambientais, como já comentado nos capítulos anteriores, que dificultam significativamente a análise (Marguí et al., 2010). Além disso, o procedimento de digestão antes da análise espectroscópica e uma etapa de pré-redução são necessários para a determinação das concentrações de Se pela técnica HG AAS.

A fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF) tem demonstrado potenciais aplicações na área ambiental, como mencionado no Capítulo 1. No entanto, essa técnica ainda não foi reportada em procedimentos de fracionamento para o estudo da biodisponibilidade de elementos traço.

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Geral

Avaliar a biodisponibilidade de Se em diferentes tipos de solos da região do Vale do Jequitinhonha no estado de Minas Gerais e correlacioná-la com as propriedades físico-químicas desses solos.

3.2.2. Específicos

- i. Determinar a concentração de Se total nas frações dos solos: frações solúvel em água, trocável e ligada à matéria orgânica, utilizando procedimentos de extração paralela simples e quantificação por TXRF;
- ii. Empregar o coeficiente de correlação de Pearson (r), para avaliar as correlações entre os teores de Se nas frações e as propriedades físico-químicas dos diferentes tipos de solos.

3.3. PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1. Amostras de solos

O estudo da biodisponibilidade de Se no solo foi realizado em amostras de nove classes de solos, representativos do Vale do Jequitinhonha-MG. As amostras estudadas foram apresentadas no Capítulo 2. Foram selecionados os solos em que o Se foi quantificado pela técnica HG AAS. Portanto, o Gleissolo (perfil 5) e Neossolo (perfil 9) não foram estudados. O Organossolo (perfil 11) também não foi avaliado, pois durante a extração com NaOH observou-se que o solo apresentou alteração em sua composição. Foram analisadas, portanto, 20 amostras.

3.3.2. Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias, frascos e ponteiras utilizados foram previamente descontaminados em banhos contendo ácido nítrico (HNO_3 10% (v v⁻¹)) por 24 horas.

No procedimento de extração de Se ligado à diferentes frações dos solos foram utilizados: fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4 – Neon, Brasil), hidróxido de sódio (NaOH – Vetec, Brasil) e ácido nítrico (HNO_3 65% m m⁻¹ - Merck, Alemanha). No procedimento de análise no TXRF foram utilizados, solução padrão 1000 mg L⁻¹ de Ga, Y e Se (Fluka Analytical) e triton X 114 – poli(oxietileno)-7,5-(p-tert-octilfenil) éter (Merck, Alemanha). Para limpeza e hidrofobização dos porta-amostras foram utilizados detergente não iônico RBS (Sigma-Aldrich, EUA), acetona pura - $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ PA (Cromato Produtos Químicos) e solução de silicone em isopropanol (Serva™, Alemanha). As soluções foram preparadas com água deionizada ultrapura obtida em um sistema de purificação de água Milli-Q, modelo Direct-Q 3, Water Purification System (Millipore, EUA) com resistividade 18,2 MΩ cm. A água deionizada ultrapura também foi utilizada como reagente extrator.

3.3.3. Instrumentação

As amostras foram pesadas em uma balança analítica modelo AX 200 (Shimadzu do Brasil comércio LDTA, São Paulo, Brasil) com precisão de 0,0001 g. A extração foi realizada em uma mesa agitadora - Incubadora TE-420 (Tecnal, São Paulo, Brasil) e os extratos foram centrifugados na centrífuga Sigma Laboratory Centrifuges 6-15 (Sigma, Alemanha). O Banho Maria Q226M2 (Quimis, São Paulo, Brasil) foi utilizado na etapa de extração. Agitador vortex modelo MA-162 (Marconi, São Paulo, Brasil) foi utilizado para homogeneizar as amostras. Estufa com circulação e renovação de ar modelo TE – 394/L (Tecnal, São Paulo, Brasil) foi utilizada na etapa de limpeza dos discos de quartzo.

Foram utilizadas micropipetas de volumes ajustáveis (1000-10000 µL, 1000-5000 µL e 10-100 µL) de várias marcas, tubos para centrífuga de polipropileno de 15 mL (Corning®, Brasil) e discos de quartzo com 30 mm de diâmetro e espessura de $3,0 \pm 0,1$ mm (Bruker Nano GmbH, Alemanha). Os discos são utilizados como porta amostras na TXRF.

As determinações das concentrações de Se nas frações foram realizadas utilizando um espectrômetro portátil de fluorescência de raios – X por reflexão total, S2 PICOFOX™ TXRF (Bruker Nano GmbH, Alemanha). O espectrômetro é equipado com tubo de Mo K α 17,5 keV e opera nas condições: 600 µA, 50 kV, 50 W. O espectrômetro possui um monocromador *multi-layer* e um detector *silicon drift detector* – SDD com uma área ativa de 10 mm². O feixe de radiação incide sobre a amostra em uma superfície retangular de cerca de 7 x 0,1 mm². A resolução do detector é melhor que 160 eV a 10 kpcs (Mn K α).

3.3.4. Determinação de Se total nas frações dos solos por TXRF

3.3.4.1. Procedimento de extração paralela simples

O procedimento de extração para o fracionamento de Se foi adaptado do método de extração sequencial descrito por Wang et al. (2013). Foram aplicadas três extrações paralelas simples (Tolu et al., 2014). Foram

determinadas as frações de Se solúvel em água, Se- trocável e Se ligado à MO (ácido fúlvico (AF) e ácido húmico (AH)), utilizando água deionizada ultrapura, tampão fosfato (pH = 7,0) e NaOH, respectivamente. Cada extração foi realizada em triplicata, e os procedimentos estão descritos a seguir:

(1) Se-solúvel em água: foram adicionados 5,0 mL de água deionizada ultrapura em 0,5000 g do solo (fração < 63 µm), em tubos para centrífuga (Corning®) de 15 mL. A mistura foi agitada em mesa agitadora horizontal a 220 rpm durante 1 hora e posteriormente foi centrifugada na rotação de 5000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi separado do resíduo e guardado na geladeira a 4 °C para análise.

(2) Se trocável: foram adicionados 5,0 mL de solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (KH₂PO₄/NaOH (pH = 7)) em 0,5000 g do solo. A mistura foi agitada em mesa agitadora horizontal a 220 rpm durante 2 horas e posteriormente foi centrifugada na rotação de 5000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi separado do resíduo e guardado na geladeira a 4 °C para análise.

(3) Se ligado à MO (AF e AH): foram adicionados 10,0 mL de solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em 1,0000 g do solo. A mistura foi agitada em mesa agitadora horizontal a 220 rpm durante 30 minutos, aquecida em banho maria (90 °C) por 2 horas com agitação intermitente, e centrifugada na rotação de 5000 rpm por 30 min. O sobrenadante foi separado do resíduo e dividido em duas partes. Uma parte foi guardada na geladeira a 4 °C para análise (AF + AH). Para separar o AF e AH, 5,0 mL do sobrenadante foram transferidos para um novo tubo e acidificados para pH 1 com HNO₃ concentrado. Após 1 hora, a fração solúvel no ácido (AF) foi separada da fração precipitada (AH) por centrifugação na rotação de 5000 rpm por 30 min.

3.3.4.2. Determinação de Se nas frações por TXRF

Para a análise direta das frações por TXRF, soluções padrão de Y e Ga 1000 mg L⁻¹ foram avaliadas como padrões internos (PI). Os resultados obtidos com Ga apresentaram maior precisão e este PI foi escolhido para a análise por TXRF. Utilizou-se uma solução de Ga 100,0 mg L⁻¹ para se obter uma concentração final de Ga 1,0 mg L⁻¹ nos extratos do solo.

Após homogeneização (vortex), uma alíquota de 10,0 μL da mistura extrato + PI foi transferida para um porta-amostra de quartzo, e deixou-se secar à temperatura ambiente, antes da análise por TXRF. As amostras finais formaram filmes finos e circulares sobre o porta-amostra. Foram utilizados dois extratos e preparados dois discos de leitura de cada extrato, totalizando 4 leituras por fração de amostra.

Como não existem materiais de referência certificados para estudos de fracionamento de solos, a avaliação da veracidade dos resultados foi realizada por meio de estudos de adição e recuperação. Os extratos de 3 diferentes solos (escolhidos de forma a se ter amostras com características bem distintas) foram fortificados com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se. Esse estudo foi realizado em triplicatas.

O tempo de aquisição dos dados foi de 1000 s por amostra. O processamento dos espectros de raios X e a contabilização dos picos de fluorescência foram realizados utilizando o software SPECTRA versão 7.0 (Bruker Nano GmbH, Karlsruhe, Alemanha).

3.3.5. Análise Estatística

O processamento de dados foi feito utilizando o programa Microsoft Office Excel 2010. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado usando STATISTICA 7.0.(StatSoft Inc., EUA).

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Determinação das concentrações de Se nas frações dos solos por TXRF

3.4.1.1. Figuras de mérito

A concentração de Se nas frações das amostras de solo foi determinada por TXRF.

Para avaliação da veracidade do método, foram escolhidos os extratos do horizonte B do Argissolo (PAd), o horizonte B do Espodossolo (ESko) e o horizonte A do Latossolo Vermelho Amarelo (LVAd) (Tabela 3.1). Esses solos foram escolhidos por apresentarem características bem distintas, conforme apresentado na Tabela 2.4 do Capítulo 2. Analisando as soluções de extração fortificadas, foi obtida uma recuperação com média 102%.

Tabela 3.1. Figuras de mérito para determinação de Se nas frações de solos por TXRF.

Perfil	Solos	Hor. ⁽¹⁾	Se - Solúvel em água		Se - trocável		Se - MO		Se- AF	
			Rec. ⁽²⁾ (%)	DPR ⁽³⁾ (%)	Rec. (%)	DPR (%)	Rec. (%)	DPR (%)	Rec. (%)	DPR (%)
1	PAd	B	100	1,00	102	0,98	107	0,93	101	0,97
4	ESko	B	106	0,94	99,0	1,00	100	2,00	102	0,98
7	LVAd	A	102	0,98	104	0,96	98	1,00	101	1,00

⁽¹⁾Hor.: Horizonte; ⁽²⁾Rec.: Recuperação; ⁽³⁾DRP: Desvio Padrão Relativo

A precisão do método foi avaliada em termos de repetitividade, e expressa como desvio padrão relativo (% DPR), a partir das análises dos extratos fortificados. A precisão apresentou um DPR com valor médio 1,06%, sendo desta forma adequada para as análises em questão.

Os espectros da TXRF obtidos na análise das frações, da amostra de solo do horizonte A do Latossolo Vermelho-Amarelo (LVAd), estão apresentados na Figura 3.1.

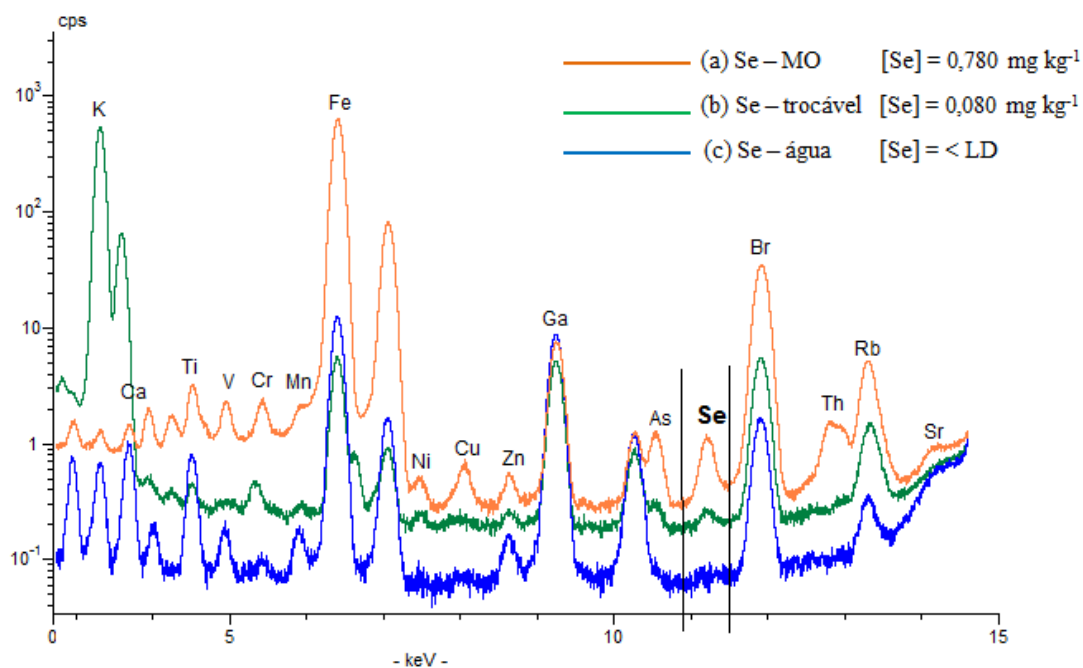


Figura 3.1. Espectros da TXRF obtidos a partir da análise das frações da amostra LVAd (A): (a) Se ligado à matéria orgânica, (b) Se - trocável, (c) Se - solúvel em água.

Verifica-se pela Figura 3.1 que o método apresenta seletividade adequada, pois não há sobreposição espectral. Observa-se também a boa definição do sinal analítico do Se nos extratos onde foi possível realizar a quantificação.

Os valores dos limites de detecção e quantificação para Se obtidos para cada solução de extração utilizando 10 µL de amostra e 1000 s como tempo de medição e o fator de diluição de 10 vezes foram baixos e satisfatórios para esse estudo (Tabela 3.2).

Tabela 3.2. Concentrações de Se nas frações dos solos por TXRF e Se total por HGAAS

Frações de Se (mg kg ⁻¹) (n = 4, $\bar{x} \pm SD$)									
Perfil	Classes dos solos	Hor.	Se - Solúvel em água	Se - trocável	Se ligado à material orgânica			Residual ⁽²⁾	Se Total (HG AAS)
					Total	Ácido fúlvico	Ácido húmico		
1	ARGISSOLO AMARELO Distrófico típico (PAd)	A	0,010 ± 0,001	0,052 ± 0,010	0,117 ± 0,006	0,063 ± 0,006	0,053 ± 0,006	0,152	0,42 ± 0,02
		B	< LD ⁽¹⁾	0,047 ± 0,010	0,110 ± 0,008	0,070 ± 0,001	0,040 ± 0,008	0,263	0,42 ± 0,03
2	CAMBISSOLO HÁPLICO Tb eutrófico (CXbd)	A	0,032 ± 0,005	0,102 ± 0,006	0,266 ± 0,010	0,139 ± 0,012	0,127 ± 0,012	0,579	0,98 ± 0,01
		B	< LD	0,046 ± 0,006	0,170 ± 0,001	0,085 ± 0,007	0,085 ± 0,006	0,287	0,51 ± 0,01
3	CHERNOSSOLO EBÂNICO Órtico típico (MEo)	A	0,020 ± 0,001	0,117 ± 0,010	0,968 ± 0,015	0,626 ± 0,016	0,346 ± 0,011	0,345	1,45 ± 0,10
		B	0,010 ± 0,001	0,130 ± 0,018	0,482 ± 0,037	0,439 ± 0,036	0,043 ± 0,006	0,508	1,13 ± 0,02
4	ESPODOSSOLO FERRIHUMILÚVICO Órtico esessarênico (ESko)	A	0,022 ± 0,009	0,025 ± 0,006	0,047 ± 0,005	0,025 ± 0,006	0,022 ± 0,005	0,216	0,31 ± 0,03
		B	< LD	0,085 ± 0,013	3,014 ± 0,092	1,116 ± 0,060	1,898 ± 0,049	2,871	5,97 ± 0,20
6	LATOSSOLO VERMELHO Ácrico húmico (LVw)	A	< LD	0,165 ± 0,007	0,959 ± 0,015	0,250 ± 0,014	0,709 ± 0,001	1,576	2,81 ± 0,05
		B	< LD	0,185 ± 0,007	3,084 ± 0,014	1,063 ± 0,015	2,021 ± 0,019	0,046	3,14 ± 0,18
7	LATOSSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico húmico (LVAd)	A	< LD	0,083 ± 0,006	0,780 ± 0,010	0,173 ± 0,012	0,605 ± 0,017	0,457	1,32 ± 0,08
		B	< LD	0,145 ± 0,019	0,644 ± 0,006	0,606 ± 0,030	0,060 ± 0,014	0,321	1,11 ± 0,07
8	LUVISSOLO CRÔMICO Órtico típico (TCo)	A	0,032 ± 0,005	0,107 ± 0,005	0,846 ± 0,010	0,511 ± 0,006	0,338 ± 0,011	0,164	1,15 ± 0,04
		B	0,010 ± 0,001	0,087 ± 0,010	0,723 ± 0,028	0,418 ± 0,016	0,305 ± 0,014	0,290	1,11 ± 0,07

Tabela 3.2. (continuação)

Frações de Se (mg kg ⁻¹) (n = 4)									
Perfil	Classes dos solos	Hor.	Se - Solúvel em água	Se - trocável	Se ligado à material orgânica			Residual	Se Total (HG AAS)
					Total	Ácido fúlvico	Ácido húmico		
10	NITOSSOLO VERMELHO Eutrófico típico (NVe)	A	< LD	0,020 ± 0,008	0,165 ± 0,006	0,087 ± 0,005	0,077 ± 0,010	0,145	0,33 ± 0,03
		B	< LD	0,035 ± 0,006	0,223 ± 0,006	0,140 ± 0,010	0,083 ± 0,012	0,152	0,41 ± 0,06
12	PLANOSSOLO HÁPLICO Eutrófico típico (SXe)	A	0,010 ± 0,001	0,114 ± 0,012	0,268 ± 0,001	0,046 ± 0,006	0,222 ± 0,006	0,368	0,76 ± 0,03
		B	0,010 ± 0,001	0,204 ± 0,013	0,246 ± 0,006	0,057 ± 0,006	0,190 ± 0,001	0,599	1,05 ± 0,06
13	PLINTOSSOLO HÁPLICO Distrófico típico (FXd)	A	< LD	0,117 ± 0,010	0,915 ± 0,006	0,322 ± 0,010	0,593 ± 0,012	0,568	1,60 ± 0,13
		B	< LD	0,040 ± 0,001	0,350 ± 0,026	0,323 ± 0,006	0,027 ± 0,035	1,40	1,79 ± 0,03
		LD (mg kg ⁻¹)	0,010	0,020	0,020	0,020			
		LQ ⁽³⁾ (mg kg ⁻¹)	0,033	0,066	0,066	0,066			

⁽¹⁾ < LD: menor que o limite de detecção

⁽²⁾ Residual: Concentração Total (HG AAS) - Σ da [] das frações.

⁽³⁾ LQ: limite de quantificação (LQ= 3,3 x LD)

Na determinação dos limites de detecção (LD) por TXRF, os elementos são identificados e quantificados através de seus picos de fluorescência. O LD baseia-se numa inspeção estatística da área do pico e a radiação de fundo (*background*) subjacente a este pico. Assim, um elemento *i* é considerado detectado se a área do pico for três vezes maior que a da radiação de fundo. Esse procedimento é conhecido como o critério 3-sigma e é mostrado na equação 3.1 (Bruker, 2012; Kump, 1997; Resende, 2016).

$$LD_i = \frac{3 \cdot C_i \sqrt{I_{BG}}}{I_i} \quad (3.1)$$

Onde:

LD_i é o limite de detecção (mg L^{-1} ou mg kg^{-1}) do analito *i*;

C_i é a concentração (mg L^{-1} ou mg kg^{-1}) do analito *i* na solução analisada;

I_{BG} é a intensidade (cps) do background abaixo do pico do analito *i*;

I_i é a intensidade (cps) da linha característica $K\alpha$ ou $L\alpha$ emitida;

Desta forma, os limites de detecção para as soluções de extração foram calculados pelo software SPECTRA7.5.3 (Bruker), fornecido com o equipamento (S2 PICOFOX™), utilizando a equação 3.1.

3.4.1.2. Concentrações de Se nas frações solúvel em água e trocável

As concentrações de Se total nas diferentes frações dos solos estudados estão apresentadas na Tabela 3.2. A concentração de Se solúvel em água no solo variou de $< LD$ ($0,010 \text{ mg kg}^{-1}$) a $0,032 \pm 0,005 \text{ mg kg}^{-1}$. A fração solúvel em água é a primeira a ser extraída. Os elementos extraídos por H_2O são relativamente lábeis e, portanto, potencialmente biodisponíveis (Filgueiras et al., 2002). O Se solúvel em água é a fração disponível mais facilmente absorvida pelas plantas (Wang et al., 2013). A Figura. 3.2 apresenta as frações de Se em porcentagens. Uma pequena porcentagem de Se total foi extraída pela água, variando de 0,9% (TCo (B)) a 7,1% (ESko (A)) (com média

de 2,2%). Os horizontes A apresentaram concentrações de Se solúvel em água superior ao horizonte B, na amostra de solo correspondente. Selênio não foi detectado nesta fração na metade das amostras.

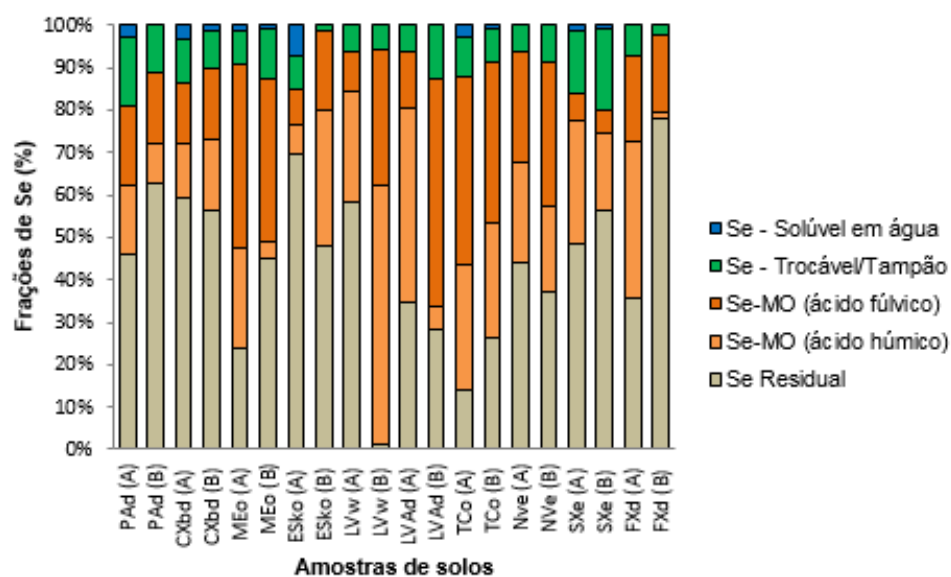


Figura 3.2. Porcentagens de Se nas diferentes frações do solo.

A concentração de Se trocável no solo variou de $0,020 \pm 0,008 \text{ mg kg}^{-1}$ (Nve (A)) a $0,204 \pm 0,013 \text{ mg kg}^{-1}$ (SXe (B)). Esta fração inclui elementos fracamente adsorvidos retidos na superfície sólida por interação eletrostática relativamente fraca, elementos que podem ser liberados por processos de troca iônica e elementos que podem ser coprecipitados com carbonatos presentes no solo (Filgueiras et al., 2002).

A porcentagem de Se na fração trocável é maior e mais variável (1,4% (ESko (B)) - 19,4% (SXe (B)) do que as solúveis em água (Figura 3.2), com média de 8,9%. Se extraído com água e tampão fosfato representa as principais formas de Se que são biodisponíveis para a absorção de plantas (Kulp & Pratt, 2004; Qin et al., 2012). Neste estudo, a porcentagem da fração biodisponível (soma da fração Se - solúvel em água e Se trocável) apresentou grande variação (1,4 a 20,4%, com média de 10,1%), o que indica níveis diferentes de Se biodisponível.

A amostra de solo do horizonte do Planossolo (Sxe) apresentou maior biodisponibilidade de Se (20,4%) e a fração de Se trocável (19,4%) teve maior

contribuição. Este horizonte é ligeiramente ácido, rico em teor de argila e baixo teor de MO (Tabela 2.4 do Capítulo 2).

O total de Se na amostra de solo do horizonte B do Espodosolo (Esko) é relativamente alto. Esta amostra apresenta concentração maior do que o valor de referência máximo de 5 mg kg^{-1} , estabelecido pelo CONAMA (2013), mas o Se biodisponível (1,4%) é baixo. O maior teor de Fe_2O_3 neste solo pode ser a justificativa para esse resultado.

Os óxidos de Fe e Al desempenham um papel importante na adsorção de Se, principalmente devido às suas propriedades químicas de superfície. Estes óxidos são carregados positivamente numa ampla faixa de pH. Além disso, têm áreas superficiais relativamente elevadas e uma elevada densidade de grupos funcionais de superfície para reações de troca de ligantes (Peak, 2006). Assim, o Se pode ser adsorvido em óxidos de Fe e Al e formar complexos de superfície de esfera interna e externa, ficando indisponíveis para as plantas.

Os resultados das frações de Se solúveis em água e trocáveis estão compreendidos entre os valores relatados na literatura. Tolu et al. (2014), utilizando o método de extração simples em paralelo, mostraram que o Se solúvel em água representava de 2,5% a 8,0% do total de Se do solo, e o Se trocável apresentou de 6,0% a 48%, nos solos da França. Qin et al. (2013) obtiveram porcentagem de Se solúvel em água variando de 1,58% a 5,62% e Se trocável representando 4,22% a 10,4% em áreas com alta concentração de Se, na China.

Também no solo da China (Wang et al., 2012), o Se solúvel representou menos de 0,3% (com uma faixa de 0,04% a 0,27%) e as concentrações de Se trocável representou apenas de 0,42% a 1,06% do Se total, que variou de 5,11 mg kg^{-1} a 33,1 mg kg^{-1} nos solos chineses estudados por esse autor. O Se ligado aos óxidos de Fe/Mn foi a fração dominante (31% a 91%) nesses solos. Estes solos apresentam textura franco arenosa (teor de areia de 20% a 30%) e teor de matéria orgânica de 1,5 a 2,0%.

3.4.1.3. Concentrações de Se nas frações ligadas à matéria orgânica

Como mostrado na Figura 3.2, com exceção do Se residual, as frações de Se ligadas à matéria orgânica (MO-Se) [Se- AF e Se- AH] são as frações de Se dominantes, e mais variáveis, representando para Se-MO de 15,2% (P- 4 (A)) a 98,2% (P-5 (B)), (com uma média de 47,3%) de Se total. Esses resultados estão de acordo com os valores da literatura, que reportam variações de 4 a 100% (Qin et al., 2013; Tolu et al., 2011; Tolu et al., 2014; Wang et al., 2012).

A retenção de Se pela MO é discutida em torno de três hipóteses: (i) A MO aumenta os locais de sorção, o que facilita a complexação direta com Se (ii) complexação via complexos MO-metal; ou (iii) redução microbiana e incorporação do Se em aminoácidos, proteínas e matéria orgânica natural (Winkel et al., 2015).

Os resultados obtidos demonstram que um alto teor de matéria orgânica no solo não é o suficiente para se obter altas concentrações de Se ligadas a essa fração. Se-MO representou apenas 15% na amostra de solo Esko (A), rica em teor de MO (56,3 mg kg⁻¹). A retenção de Se-MO é controlada tanto pela quantidade quanto pela qualidade da MO (Coppin et al., 2006). Esta fração é distribuída principalmente nos AF e AH do húmus do solo (Wang et al., 2012), sendo importante determinar Se ligado aos AF e AH separadamente. Neste estudo, a fração de Se-AH representou de 5,4% a 54,6% (com uma média de 25%) de Se-MO. A fração de Se-AF apresentou média de 22,3% de Se-MO, e grande variação (1,5% a 64,4%) (Figura 3.2).

A fração de Se-AF pode ser facilmente decomposta em Se inorgânico e compostos de Se orgânicos de baixo peso molecular em condições alcalinas, e pode ser potencialmente utilizada por plantas. A Fração de Se-AH não pode ser absorvido e utilizado pelas plantas, devido à estrutura estável do AH (Wang et al., 2012).

Qin et al. (2012) quantificaram Se-MO em carvão de pedra rico em Se e solos de áreas de selenose endêmica na China. Esta fração apresentou média de 43,7% de Se total (variação de 31,8% a 51,3%). A fração Se-AF foi a forma predominante da fração Se-MO.

Solos com elevado teor de AF podem aumentar a biodisponibilidade de Se, agindo como uma fonte deste elemento. Em solo tropical, geralmente, o teor de AF é maior do que o AH. Em geral, o baixo teor de cátions permutáveis nos solos mais degradados diminui a intensidade do processo de humificação da MO (condensação e síntese) (Canellas et al., 2003).

Portanto, a combinação da fração Se-AF com Se solúvel em água e trocável pode ser considerada como um indicador de biodisponibilidade de Se para plantas, em determinadas condições de cultivo, como em solos mais alcalinos. A soma dessas três frações de Se variou de 3,70 a 70,3% (com média de 32,3%) do total de Se do solo, aumentando a fração biodisponível de Se. O Latossolo Vermelho é um solo intemperizado com altas concentrações de óxidos de Fe e Al na fração argila, o que poderia reduzir a disponibilidade de Se para as plantas. No entanto, esta amostra (LVw (B)) apresentou maior biodisponibilidade de Se (70,3% de $3,14 \pm 0,18 \text{ mg kg}^{-1}$), e a fração Se-AF apresentou maior contribuição (64,4%). Este solo está amplamente distribuído em todo o Brasil, e é frequentemente utilizado na agricultura.

Wang et al. (2012) reportaram que as concentrações de Se nos tecidos do milho se correlacionaram significativamente com o Se ligado a MO do solo. Wang et al. (2013) relataram que o teor de Se nas culturas (grãos, legumes, etc.) aumenta com o aumento do teor de Se das frações solúveis em água, trocáveis e Se-AF.

A fração de Se residual variou de 1,50 a 78,2% (com uma média de 43,1%) de Se total. A maioria das amostras de solo apresentou fração residual de Se menor que 50% (Figura 3.2). Esta fração inclui Se ligado a sulfeto e silicato e é a menos susceptível de ser absorvida pelas plantas (Wang, 2013). O resultado dessa fração foi obtido pela diferença entre a concentração total de Se (determinada por HG AAS) e a soma das frações.

3.4.2. Correlação entre as frações de Se nos solos e suas características físico-químicas

As correlações de Pearson foram empregadas para entender a relação entre a distribuição de Se em diferentes frações do solo e algumas propriedades físico-químicas. Observou-se que o Se solúvel em água está positivamente correlacionado com o pH ($r = 0,49$) e areia ($r = 0,57$), e negativamente com Al_2O_3 ($r = - 0,50$) (Tabela 3.3). Estes dados sugerem que o pH elevado é propício para a conversão de Se para os seus estados solúveis e os solos arenosos têm baixa capacidade de retenção de Se, tornando-o mais disponível. Por outro lado, os óxidos de Al podem adsorver Se e formar complexos de superfície de esfera interna e externa e reduzir sua disponibilidade.

Não houve correlação significativa entre a concentração de Se trocável e as propriedades físico-químicas do solo (Tabela 3.3). Observou-se que a fração Se-AF está fortemente e positivamente correlacionada com a concentração total de Se ($r = 0,87$) e Fe_2O_3 ($r = 0,86$). A correlação entre Se-AF e Fe_2O_3 pode ser explicada pelo fato de que os ácidos fúlvicos formam complexos estáveis com óxidos de Fe (Fernández-Martínez & Charlet, 2009). Esta mesma correlação foi observada para as frações Se-AH e Se residual.

Não houve correlação significativa entre a concentração de Se-MO, as propriedades físico-químicas do solo e a concentração total de Se (Tabela 3.3). Isto sugere que apenas o conteúdo de MO não é um bom indicativo dos níveis de Se-MO (Martens & Suarez, 1997). Desta forma, as frações Se-AF e Se-AH devem ser consideradas no estudo de Se-MO.

Tabela 3.3. Matriz de correlação de Pearson entre as frações de Se, Se total e características físico-químicas dos solos ($n = 20$).

	Se-S ⁽¹⁾	Se-T ⁽²⁾	AF-Se ⁽³⁾	AH-Se ⁽⁴⁾	Res- Se ⁽⁵⁾	Se _{Total}	pH	MO ⁽⁶⁾	Fe ₂ O ₃	Al ₂ O ₃	areia	silte	argila
Se - S ⁽¹⁾	1,00												
Se -T ⁽²⁾	0,02	1,00											
Se - AF ⁽³⁾	-0,28	0,40	1,00										
Se - AH ⁽⁴⁾	-0,13	0,40	0,80*	1,00									
Se - Res ⁽⁵⁾	-0,26	0,09	0,48*	0,42	1,00								
Se _{Total}	-0,28	0,35	0,87*	0,80*	0,83*	1,00							
pH	0,49*	0,10	-0,18	-0,04	-0,23	-0,19	1,00						
MO	0,25	-0,14	0,06	-0,17	-0,13	-0,08	-0,31	1,00					
Fe ₂ O ₃	-0,39	0,31	0,86*	0,78*	0,79*	0,97*	-0,17	-0,16	1,00				
Al ₂ O ₃	-0,50*	0,42	0,13	0,21	0,07	0,15	-0,02	-0,31	0,16	1,00			
Areia	0,57*	-0,03	0,16	0,05	0,07	0,13	0,07	0,29	0,05	-0,64*	1,00		
Silte	-0,14	-0,41	-0,32	-0,37	-0,22	-0,36	0,17	-0,19	-0,30	-0,26	-0,31	1,00	
Argila	-0,54*	0,23	-0,04	0,09	0,01	0,01	-0,14	-0,23	0,06	0,77*	-0,92*	-0,07	1,00

⁽¹⁾ Se-S, Se solúvel em água; ⁽²⁾ Se-T: Se trocável; ⁽³⁾ Se-AF: Se – ácido fúlvico; ⁽⁴⁾ Se-AH: Se-ácido húmico; ⁽⁵⁾ Se-Res: Se- Residual; ⁽⁶⁾ MO: matéria orgânica; * Correlação significativa (P < 0,05)

3.5. CONCLUSÃO

A biodisponibilidade de Se nas frações de solo foi avaliada por procedimentos de extração paralela simples e TXRF. Este método utiliza a simples preparação de amostras, é rápido, consome poucos reagentes, o que torna muito atraente e útil. Diferentes níveis de biodisponibilidade foram obtidos nas amostras de solo estudadas. Em todas as amostras, Se-MO foi a fração dominante e Se-AH foi a forma predominante de Se-MO. A combinação de frações de Se solúvel em água, Se trocável e Se-AF é um indicador de biodisponibilidade de Se para as plantas. Os resultados sugerem que há muitos fatores que interferem na biodisponibilidade de Se para cada classe de solo. No entanto, a correlação entre essas frações e as propriedades físico-químicas do solo foi obtida, principalmente para a fração de Se solúvel em água. A correlação de Fe_2O_3 com Se-AH, Se residual (frações geralmente consideradas não disponíveis para plantas), Se-AF e Se total tem implicações significativas para a biodisponibilidade de Se para solos tropicais que apresentam alta acidez e altos teores de Al_2O_3 e Fe_2O_3 . Esse estudo reforça a necessidade de se determinar a concentração do teor de Se em diferentes frações do solo e não somente o teor de Se total, principalmente para avaliar a fertilidade dos solos brasileiros em relação a esse elemento.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez, M. B., Domini, C. E., Garrido, M., Lista, A. G., Fernández-Band, B. S., 2011. Single-step chemical extraction procedures and chemometrics for assessment of heavy metal behaviour in sediment samples from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *J Soils Sediments*, 11, 657–666.

Bilo, F., Borgese, L., Cazzago, D., Zacco, A., Bontempi, E., Guarneri, R., Bernardello, M., Silvia Attuati, S., Lazo, P., Depero, L., E., 2014. TXRF analysis of soils and sediments to assess environmental contamination. *Environ Sci. Pollut Res.*, 21, 3208–3214.

Bruker, S2 Picofox. 2012. *User Manual*, Bruker, Berlin, p. 118.

Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, 2013. *Resolução Nº. 460, 2013*. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=702> Acesso em: julho/2015.

Coppin, F., Chabroullet, C., Martin-Garin, A., Balesdent, J., Gaudet, J. P., 2006. Methodological approach to assess the effect of soil ageing on selenium behaviour: first results concerning mobility and solid fractionation of selenium. *Biol. Fert. Soils*. 42, 379–386.

Eich-Greatorex, S., Sogn. T. A., Øgaard, A.F., Aasen, I., 2007. Plant availability of inorganic and organic selenium fertilizer as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutr Cycl Agroecosyst*, 79, 221–231.

Fernández-Martínez, A., Charlet, L., 2009. Selenium environmental cycling and bioavailability: a structural chemist point of view. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 8, 81–110.

Filgueiras, A. V., Lavilla, I., Bendicho, C., 2002. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *J. Environ. Monit.*, 4, 823–857.

Floor, G. H., Eva Marguí, E., Hidalgo, M., Queralt, I., Kregsamer, P., Strelí, C., Román-Ross, G., 2013. Study of selenium sorption processes in volcanic ash using Total Reflection X-ray Fluorescence (TXRF). *Chemical Geology*, 352, 19–26.

Keskinen, R., Ekholm, P., Yli-Halla, M., Hartikainen, H., 2009. Efficiency of different methods in extracting selenium from agricultural soils of Finland. *Geoderma*, 153, 87–93.

Kulp, T.R. & Pratt, L.M., 2004. Speciation and weathering of selenium in Upper Cretaceous chalk and shale from South Dakota and Wyoming, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68, 3687–3701.

Marguí, E., Floor, G. H., Hidalgo, M., Kregsamer, P., Roman-Ross, G., C. Strelí, C., I. Queralt, I., 2010. Applicability of direct total reflection X-ray fluorescence analysis for selenium determination in solutions related to environmental and geochemical studies. *Spectrochimica Acta Part B*, 65, 1002–1007.

Qin, H., Zhu, J., Su H., 2012. Selenium fractions in organic matter from Se-rich soils and weathered stone coal in selenosis areas of China. *Chemosphere*, 86, 626–633.

Resende, L. V., 2016. *Desenvolvimento de métodos para análise de tortas de oleaginosas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e fluorescência de raios X por reflexão total*. Tese de Doutorado, UFMG – Belo Horizonte, 141p.

Templeton, D. M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.-G., Muntau, H., Van Leeuwen, H.P., Lobinski, R., 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Appl. Chem.*, 72, 1453–1479.

Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M., 1979. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry*, 51, 844–850.

Tolu, J., Hecho, I. L., Buena, M., Thiry, Y., Potin-Gautiera, M., 2011. Selenium speciation analysis at trace level in soils. *Analytica Chimica Acta*, 684, 126–133.

Tolu, J., Thiry, Y., Bueno, M., Jolivet, C., Potin-Gautier, M., Hécho, I, L., 2014. Distribution and speciation of ambient selenium in contrasted soils, from mineral to organic rich. *Science of the Total Environment*, 479–480, 93–101.

Towett, E. K., Shepherd, K. D., Cadisch. G., 2013. Quantification of total element concentrations in soils using total X-ray fluorescence spectroscopy (TXRF). *Science of the Total Environment*, 463–464, 374–388.

Wang, J., Li, H., Li, Y., Yu, J., Yang, L., Feng, F., Chen, Z., 2013. Speciation, Distribution, and Bioavailability of Soil Selenium in the Tibetan Plateau Kashin–Beck Disease Area—A Case Study in Songpan County, Sichuan Province, China. *Biol Trace Elem Res.*, 156, 367–375.

Wang, S., Liang, D., Wang, D., Wei, W., Fu, D., Lin, Z., 2012. Selenium fractionation and speciation in agriculture soils and accumulation in corn (*Zea mays* L.) under field conditions in Shaanxi Province, China. *Science of the Total Environment*, 427-428, 159–164.

Winkel, L. H. E., Vriens, B., Jones, G. D., Schneider, L. S., Pilon-Smits, E., Bañuelos, G. S., 2015. Selenium Cycling Across Soil-Plant-Atmosphere Interfaces: A Critical Review. *Nutrients*, 7, 4199-4239.

Wobrauschek, P., 2007. Total reflection x-ray fluorescence analysis—a review. *X-Ray Spectrom.*, 36, 289–300.

Zhang, Y., Frankenberger Jr., W. T., 2003. Determination of Selenium Fractionation and Speciation in Wetland Sediments by Parallel extraction. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 83, 315-326.

CAPÍTULO 4

Considerações Finais

CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

4.1. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este capítulo apresenta as contribuições desta tese e as perspectivas de trabalhos futuros que podem dar continuidade à pesquisa nela apresentada.

Nesta tese foi realizado o estudo de um micronutriente muito singular, o selênio. Sua concentração total e biodisponibilidade nos solos foram determinadas utilizando as técnicas (HG AAS e TXRF) propostas.

Utilizando as ferramentas estatísticas, correlação de Pearson (r), PCA e HCA foi possível identificar os principais fatores que podem interferir na concentração total desse elemento em diferentes classes de solos brasileiros com propriedades bem distintas.

Este trabalho contribui com informações que podem auxiliar no estabelecimento da faixa de concentração de Se nos solos do Brasil, que ainda não foi estabelecida, porque as informações de pesquisas sobre o Se em solos brasileiros ainda não são suficientes.

O estudo da biodisponibilidade do Se é muito importante, pois é a fração biodisponível que poderá ser absorvida pelas plantas, ou até contaminar a água e o solo, se estiver em alta concentração. Os resultados mostraram que apesar de alguns solos apresentarem concentrações de Se maiores que a média nacional, a biodisponibilidade de Se nessas amostras não é alta.

Os resultados da caracterização das 12 classes de solos, na região do médio e baixo Jequitinhonha, serão utilizados nas aulas do curso de Engenharia Agrônômica do IFNMG. Os dados gerados possibilitarão a melhor compreensão das características dos solos da região.

Como perspectivas futuras, seria interessante se determinar a concentração de Se em gêneros alimentícios, cultivados nos solos que apresentaram maiores teores totais e biodisponíveis de Se. Obtendo-se concentrações consideráveis nessas amostras, a pesquisa poderia se estender para a determinação dos níveis de Se na população da região estudada.