

Determinación de selenio, sodio y potasio en suplementos vitamínicos a base de selenio

Maigualida Hernández¹, Neudis Subero², Ana Cáceres³, Jean Belandria⁴,
Bélgica Bravo⁵, Gerson Chávez⁵, Fredy Ysambert⁵ y Nelson Márquez⁵

¹Dpto. de Química, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia.

²Departamento de Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo.

³Laboratorio de Desarrollo de Métodos de Análisis, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. ⁴Laboratorio de Servicios e Investigación de Agua y Alimentos, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).

⁵Laboratorio de Petroquímica y Surfactantes, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.

Recibido: 25-05-09 Aceptado: 22-03-11

Resumen

Hoy en día, es común el consumo de suplementos nutricionales para mejorar la salud, sin embargo, éstos algunas veces no tienen la completa descripción de su composición, pudiendo causar alteraciones secundarias en la salud. En este trabajo se presenta la determinación de Se, Na y K en suplementos vitamínicos de diferentes marcas a base de levadura enriquecida con selenio empleando la espectrometría de emisión atómica con plasma de inducción (ICP-OES). Se analizaron 7 suplementos, los cuales se digirieron empleando microondas doméstico y de laboratorio así como un bloque de digestión. La digestión con el bloque resultó más eficiente que la de microondas. Los niveles de Se encontrados en los suplementos resultaron menores que los reportados por el fabricante, además, se evidenció la presencia de Na y K. Los límites de detección encontrados para Se, Na y K fueron: 19, 13 y 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. La precisión expresada como desviación estándar relativa fue menor al 5% (3,41). Este método resultó simple, rápido y con buena exactitud. De acuerdo a los resultados obtenidos para el Na, es necesaria una mayor atención al ingerir este tipo de suplementos en especial para personas con hipertensión.

Palabras clave: digestión, espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado de inducción, selenio, suplementos vitamínicos.

Selenium, sodium and potassium determination in selenium-based vitamin supplements

Abstract

Nowadays, it is common to ingest some nutritional supplements in order to improve health; however sometime these supplements do not have its complete composition and some of these unknown components may cause second alteration in human health. In this work a determination of Se, Na, and K in selenium supplements is shown. The analytical technique used was ICP-OES. The analytical method was applied to seven selenious yeast tablets from different

* Autor para la correspondencia: anacaceres7@gmail.com

brand. Domestic and laboratory microwaves ovens as well as a block of digestion were used. Block digestion was more efficient than the microwaves one. Selenium levels for all analyzed supplements were lower than the reported by the fabricant; moreover they were found high levels of Na and K, which are not reported. Detection limit for Se, Na and K were 19, 13 and 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. Precision as relative standard deviation (RSD) was lower than 5% (3.41). This method resulted simple, with high precision and accuracy. The analysis of this samples shown that special attention should be taken when this supplements are ingested because the high level of Na found, especially when there are hypertension problem.

Key words: digestion, inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, selenium, vitaminics supplements.

Introducción

Existen en la naturaleza elementos tales como el selenio (Se), sodio (Na) y potasio (K), los cuales juegan un rol importante en algunas funciones del organismo humano. El selenio es un elemento esencial, es un constituyente de las selenoproteínas (1-5), tiene roles estructurales y enzimáticos, es indispensable para una adecuada función del sistema inmune (6), para el crecimiento fetal (7), además puede reducir el riesgo de abortos (7) y cáncer (1,8). Es por ello, que el Se es considerado un antioxidante (9) al igual que la vitamina E, su comportamiento bioquímico, biodisponibilidad nutricional y toxicidad dependen de las especies químicas presentes (3,10).

La deficiencia de Se origina problemas de salud tales como: la enfermedad de Keshan, la osteoartropatía endémica (11), adelgazamiento (1) y alteración del sistema inmunológico (7). Las altas concentraciones de selenio en el organismo se les conocen como selenosis, la cual está relacionada con la exposición ocupacional, debido a la inhalación de compuestos que contienen este elemento. Se caracteriza por la pérdida del cabello y uñas, algunas lesiones en la piel, hepatomegalia, dolor en las extremidades, convulsiones, parálisis parcial, debilidad motora, hemiplejía, vómito, hipotensión, shock sistémico con edema pulmonar (2), diarrea (12) y un aliento con un olor característico a ajo (2).

Por su parte el Na y el K cumplen funciones vitales en el organismo humano formando parte de la conocida bomba sodio/potasio de las células (5). El K se encuentra concentrado en el interior de la célula y el Na permanece fuera de ella, ambos regulan el balance hídrico en el cuerpo y su equilibrio es capaz de estimular el impulso nervioso para el corazón y la contracción muscular (13). Los humanos son propensos a un bajo consumo de potasio y a una elevada ingesta de sodio mediante el uso de la sal común (NaCl), este desbalance electrolítico es la causa de patologías cardiovasculares y daños renales, lo que conlleva a una hipertensión y daños severos en el sistema nervioso (14).

En los últimos años se ha incrementado el consumo de suplementos vitamínicos a base de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) enriquecidas con selenio. Las levaduras son hongos unicelulares, usadas como suplementos de proteínas, energizantes, para fortalecer el sistema inmune u otro vehículo donde otros compuestos pueden ser incluidos o insertados para crear un producto comercial para la salud en la medicina preventiva. Las levaduras selenizadas se pueden considerar una fuente segura complementaria de Se, debido a la importancia que tiene este elemento para el buen funcionamiento del organismo humano (15). La ingesta de Se o antioxidantes está asociada a mejorar las defensas del organismo y prevenir enfermedades asociadas a la formación de radicales libres (9).

Debido a la importancia clínica del Se, Na y K y a la fácil adquisición de los suplementos vitamínicos por la venta sin prescripción médica y descontrolada, existe gran interés en la determinación de estos elementos en este tipo de muestras, empleando técnicas analíticas capaces de detectar concentraciones trazas de estos elementos de manera confiable, reproducible y con pocas interferencias. En la actualidad, se cuenta con numerosas técnicas analíticas capaces de solventar este problema, constituyéndose en una de ellas, la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), debido a que es una técnica multielemental y rápida, convirtiéndose así en una aliada segura para obtener resultados en un corto período de tiempo (16-18).

En este trabajo se determinó la cantidad de selenio, potasio y sodio en suplementos vitamínicos a base de levadura de selenio empleando la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado de inducción (ICP-OES).

Parte experimental

Materiales y métodos

Reactivos

Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico. Las soluciones patrones de 1000 mg L⁻¹ de selenio, sodio y potasio se prepararon a partir de patrones concentrados o titrisoles (marca Merck). Para la digestión de los suplementos vitamínicos se empleó ácido nítrico y peróxido de hidrógeno concentrados (marca Merck). La curva de calibración se preparó diariamente en matriz ácida. Las curvas de calibración fueron de: 1, 2, 4 y 8 mg L⁻¹ para selenio y 5, 10, 20 y 40 mg L⁻¹ para sodio y potasio, respectivamente.

Equipos

Para la determinación analítica de selenio, sodio y potasio se empleó un espectrómetro de emisión óptica secuencial con

Tabla 1
Parámetros instrumentales empleados en el ICP-OES para determinar selenio, sodio y potasio en los suplementos vitamínicos a base de levadura de selenio

Línea de emisión (nm): Se	196,026
Na	589,592
K	766,490
Potencia (Kw)	1,20
Flujo de plasma (L min ⁻¹)	15,0
Flujo auxiliar (L min ⁻¹)	1,50
Presión del nebulizador (Kpa)	200
Tiempo de lectura réplica (s)	1,00
Retraso estabilización instrumento (s)	15
Voltaje (v)	650
Parámetros de introducción de muestra	
Retraso toma de muestra (s)	30
Velocidad de la bomba (rpm)	15
Tiempo de lavado (s)	10

plasma de inducción (ICP-OES, marca Varian LIBERTY AX Sequential). Las condiciones instrumentales de trabajo se muestran en la tabla 1. Para la mineralización de las muestras se empleó un bloque de digestión de 40 puestos (marca Quimis) con control digital de temperatura, un microondas de investigación 81 D (marca CEM) y un microondas doméstico.

Muestras

Se analizaron suplementos vitamínicos a base de selenio (n= 7) de diferentes marcas comerciales con cantidades variables del elemento entre 50 a 200 µg Se/pastilla, los cuales fueron identificados con letras desde la A hasta la G, para evitar el uso de los nombres comerciales de las mismas. La selección de los suplementos se realizó aleatoriamente. Estas muestras fueron adquiridas en diferentes establecimientos comerciales.

Procedimientos

Debido a los bajos límites de detección de las técnicas espectrométricas atómicas y para evitar problemas de contaminación fue imprescindible realizar una adecuada limpieza de todo el material empleado. Previo al análisis espectrométrico fue necesario la mineralización de las muestras de suplementos vitamínicos, para este tratamiento se emplearon tres tipos de digestión:

Digestión por microondas de investigación: Las pastillas se pesaron por pentaplicado y se colocaron en los recipientes con válvulas liberadoras de presión, se trituraron y se adicionó 4 mL de ácido nítrico. Los recipientes se introdujeron en la base giratoria del microondas y se sometieron a dos etapas de digestión de 2 minutos cada una al 100% de potencia.

Digestión con microondas doméstico: De igual manera se pesaron las muestras (A y C) en los recipientes de vidrio de digestión, se trituraron y se les adicionó 2 mL de agua desionizada y se dejó en reposo por 30 minutos. Luego se agregó 4 mL de ácido nítrico concentrado y se sometió cada recipiente en forma consecutiva a varias etapas de digestión (total 18) al 80% de potencia del microondas, con un tiempo de 10-15 segundos, con 5 minutos de reposo. En la última etapa se adicionó 4 mL de peróxido de hidrógeno, posteriormente se dejaron enfriar y se llevó a un volumen de 25 mL con agua desionizada.

Digestión por bloque: Se pesó la pastilla completa (0,3-0,8 g) por pentaplicado de cada tipo de suplemento, estas fueron colocadas en los tubos de digestión, adicionando a cada uno tres perlas de digestión (para garantizar una ebullición homogénea y constante) y 4 mL de ácido nítrico concentrado, luego se colocaron en el bloque de digestión a una temperatura de 120°C por una hora. Posteriormente, se dejaron enfriar y se les adicionó 4 mL de peróxido de hidrógeno, para una segunda etapa de digestión de una hora (19), luego se dejaron enfriar y se afioron a un volumen de 25 mL con agua desio-

nizada. Para todos los tratamientos se preparó el blanco analítico. Tanto las muestras como el blanco se refrigeraron a 4°C hasta el análisis espectrométrico.

Determinación analítica de potasio, sodio y selenio

Los suplementos vitamínicos mineralizados se analizaron y se les determinó la cantidad de *de selenio, sodio y potasio* empleando la técnica de la espectrometría de emisión atómica con plasma de inducción (ICP-OES).

Evaluación de los parámetros analíticos

Precisión: Este estudio se realizó en la corrida y entre corrida en una muestra de suplementos vitamínicos preparada por pentaplicado, empleando para su evaluación la media, desviación estándar y desviación estándar relativa.

Exactitud: La exactitud de la metodología desarrollada se valuó comparando los resultados obtenidos por este método con un método previamente reportado (19).

Límite de detección (L_D): Se calculó el límite de detección en μgL^{-1} como 3 veces la desviación estándar del blanco para el Se, Na y K, respectivamente.

Límite de cuantificación (L_C): Se calculó como diez veces la desviación estándar del blanco en μgL^{-1} para el Se, Na y K, respectivamente.

Análisis estadístico

Todos los datos se evaluaron mediante programas estadísticos comerciales (e.g., Statistical, prueba de medias de tukey, prueba de dunnet, entre otros) y las diferencias se consideraron significativas a $p < 0,05$.

Resultados y discusión

Procedimiento de digestión

Digestión por microondas de investigación: mediante este procedimiento no se mineralizaron completamente las muestras,

debido a que el peso de las pastillas es superior al que soportan los recipientes con válvulas liberadoras de presión, causando pérdidas de las muestras durante la digestión e interfiriendo en la reproducibilidad de los resultados, además, no se pudo disminuir el peso de la muestra debido a las bajas concentraciones del selenio en las mismas lo cual afecta en la detectabilidad del elemento por la metodología empleada.

Digestión por microondas doméstico: este tipo de digestión tampoco fue efectivo, no se logró la completa mineralización de las muestras, quedando gran parte del sólido de los suplementos vitamínicos sin disolver y al analizar la muestra se observó un alto porcentaje de pérdida, lo que ratifica que dentro del sólido suspendido se encuentra parte del selenio sin disolver. Además, requiere mayor tiempo para el análisis, lo cual no es recomendable para una jornada diaria de trabajo.

Digestión por bloque: Los experimentos iniciales se realizaron con 4 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado, sin embargo tampoco se logró la completa destrucción de la materia orgánica, por ello, se empleó una segunda etapa adicionándole 4 mL de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), obteniéndose de esta manera la digestión completa de las muestras. En general, la digestión por bloque permitió la mineralización completa de las muestras de manera rápida y eficaz, permitiendo realizar un análisis efectivo de las mismas en corto tiempo en una jornada diaria de trabajo.

Determinación de Se, Na y K

En la tabla 2 se muestran los resultados del análisis de las muestras de suplementos vitamínicos, en la cual se puede observar que la cantidad de Se encontrada en la mayoría de las muestras analizadas (A, B, C, F y G) está por debajo de la reportada por

Tabla 2
Contenido de selenio, sodio y potasio en suplementos vitamínicos a base de levadura de selenio

Muestra	Cantidad de Se (µg/tableta)	Cantidad de Na (µg/tableta)	Cantidad de K (µg/tableta)
A (50 µg)*	48 ± 0,7 1,5%**	275 ± 4,0 1,5%	1350 ± 15,0 1,1%
B (50 µg)	47 ± 0,2 0,4%	731 ± 5,2 0,7%	2002 ± 47,7 1,6%
C (50 µg)	17 ± 0,6 3,8%	329 ± 4,2 1,3%	6,29 ± 0,3 2,4%
D (50 µg)	60 ± 1,9 3,0%	1069 ± 49,5 4,63%	375,73 ± 13,9 3,7%
E (100 µg)	104,28 ± 1,9 1,8%	374,45 ± 1,9 0,5%	19555 ± 303 1,6%
F (200 µg)	141,17 ± 0,6 0,4%	72,66 ± 1,3 1,8%	99 ± 3 2,9%
G (200 µg)	153 ± 1,8 1,2%	1549 ± 17 1,1%	3950 ± 6,3 0,2%

*Valor entre paréntesis corresponde a la cantidad de Se reportada por el fabricante.

**Valor corresponde a la desviación estándar relativa.

µg/g= microgramo/gramo.

el fabricante, a excepción de los suplementos D y E, los cuales contienen una cantidad de selenio ligeramente mayor que la reportada por el fabricante, además, estos resultados están en concordancia con los reportados por Davidowski (18) en el 2005, quien hizo un estudio de elementos esenciales en suplementos vitamínicos, entre los que se encontraba el selenio encontrando que los niveles del mismo estaban por debajo de lo reportado por el fabricante. Sin embargo, el Instituto Nacional de Nutrición (INN) (20) establece una ingesta dietaria de 65 $\mu\text{g}/\text{día}$ de Se como valor de referencia para la población venezolana, en consecuencia las muestras (A, B, C, F y G) presentan valores muy por debajo de lo establecido por esta normativa, de esta manera no cumplen con su función primordial como suplementos vitamínicos, no así los suplementos D y E, los cuales tienen cantidades de Se superiores a lo establecido, pudiendo con ello causar algún daño en el organismo humano al ser consumidos en exceso, ya que se conoce que el umbral entre un valor benéfico y el nocivo para la salud es muy estrecho, así que una cantidad de selenio por encima del permitido podría causar diferentes alteraciones en el ser humano (1-7).

Debido al alto consumo de estos suplementos, su fácil adquisición y escaso control de la venta y prescripción de los mismos, se consideró importante evaluar otros elementos tales como el sodio y el potasio, y así verificar su presencia y determinar su concentración, ya que los mismos son electrolitos intra- (K) y extra- (Na) celular, además, el sodio está relacionado con enfermedades cardiovasculares, y en las normativas vенеzo-

lanas de nutrición no hay un valor referencial establecido para el consumo de estos elementos, sin embargo, Whelton PK y colaboradores (21) reportaron un intervalo de consumo de K de 4,7 g y de Na entre 1,3-1,6 g/día. En esta investigación, se encontró que la cantidad de ambos elementos está muy por debajo de lo establecido por ambas instituciones internacionales, estos resultados se pueden observar en la tabla 2. Además, la mayoría de los suplementos analizados no sólo poseen en su composición selenio sino que están presentes el Na y el K, que aunque estén en concentraciones bajas pudieran estar contraindicados a personas con enfermedades cardiovasculares.

Evaluación de los parámetros analíticos

Precisión: en la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en la corrida y entre corrida para una muestra real preparada por pentaplicado y leída por triplicado, donde los resultados se expresan como DER o porcentaje de error, obteniéndose un error de 3,41%, menor al 5%, lo cual se considera adecuado y dentro de lo establecido internacionalmente para este tipo de análisis.

Exactitud: en la tabla 4 se muestra el estudio de exactitud, el cual se realizó por comparación de los resultados obtenidos por el método desarrollado con un método espectrocinético (22), obteniéndose un error de 2% entre métodos, lo cual indica la adecuada exactitud de la metodología desarrollada.

Límite de detección (L_D): Los límites de detección obtenidos fueron 19, 13 y 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Se, Na y K, respectivamente.

Tabla 3
Estudio de precisión de la metodología empleada en los suplementos vitamínicos a base de levadura de selenio

Muestra	Cantidad de selenio ($\mu\text{g}/\text{g}$)	En la corrida		Entre corrida	
		DE	DER	DE	DER
E	100	0,13	2,96	0,04	3,41

DE: Desviación estándar. DER: Desviación estándar relativa.

Tabla 4
Estudio de exactitud de la metodología empleada en los suplementos
vitamínicos a base de levadura de selenio

Muestra	*Cantidad de selenio	Método Propuesto	Método Reportado ²²
A	50	47,80 ± 0,73	48,8 ± 0,6

*Cantidad de Se (µg/tableta) reportada por el fabricante.

Límite de cuantificación (L_C): Los límites de cuantificación obtenidos en esta investigación fueron 63,3; 43,3 y 150 µg L⁻¹ para el Se, Na y K, respectivamente.

Conclusiones

La digestión por bloque resultó el procedimiento más efectivo que la digestión ácida en recipientes cerrados por microondas de investigación, para la mineralización de los suplementos vitamínicos, debido a la complejidad de la matriz de la muestra.

La mayoría de los suplementos vitamínicos analizados poseen menor cantidad de selenio que la reportada por el fabricante, por lo que es indispensable que se realice un estricto control de calidad de estas muestras antes de salir al mercado.

La técnica de ICP-OES resultó precisa y rápida, debido a su característica de multielemental. Además, presenta bajos límites de detección y permitió analizar aproximadamente 107 muestras por hora, obteniéndose resultados confiables.

Agradecimientos

Se agradece el co-financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) a través del Proyecto N° 0807-05 y el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT).

Referencias bibliográficas

1. RAYMAN M.P. *Lancet* 356: 233-240, 2000.
2. COMBS JR. G.F. *British J Nutri* 85: 517-547, 2001.
3. COOPES Z. *Revista de la Asociación de Química Pura y Farmacia* 24: 1-14, 1999.
4. WANG H., ZHANG J., YU H. *Free Radic Biol Med* 42:1524-1533, 2007.
5. LAVON J. D. *Nutrition Almanac*. 5th Edition, Section I, McGraw-Hill. Blacklick. USA . pp 16-18, 2001.
6. MCKENZIE R.C., RAFFERTY T.S., BECKETT G. J. *Trends Inmun Today* 19(8): 342-345, 1998.
7. KLAPECT., CAVAR S., KASAC Z., RUSEVIC S., POPINJAC A. *J Trace Elem Med Biol*: 22: 54-58, 2008.
8. ALAYI G.O. *Trace elem Electrol* 21(1): 1-3, 2004
9. ACTIS-GORETTA L., CARRASQUEDO F., FRAGA C. *Clín Chim Acta* 349: 97-103, 2004.
10. PEDRERO Z., MADRID Y. *Anal Chim Acta* 634:135-152,2009.
11. TAN J., ZHU W., WANG W., LI R., HOU S. WANG D., YANG L. *The Sci Total Environ* 284: 227-235, 2002.
12. SPILLER H.A, PFIEFERE. *Forensic Sci Int* 171: 67-72, 2007.
13. MACDONALD J.E., STRUTHERS A.D. *JACC* 43(2): 155-161, 2004.
14. EMAN N. A., SUAD M.B., GORDON A.F. *Med Sci Monit* 9(1):RA9-18, 2003.
15. KAUR T., BANSAL M.P.. *Nutr Hosp* 21(6): 704-708, 2006.
16. POHL P., ZYRCICKI W. *Anal Chim Acta* 468: 71-79, 2002.
17. DOS SANTOS E.J., HERRMANN A.B., DE CAIRES A. K., AZZOLINI F.V.L CURTIS A. J.

- Spectrochim Acta parte B:** 64(6):549-553, 2009.
18. DAVIDOWSKI L.J. **PerkinElmer Life and Analytical Sciences**, 1-4, 2005.
 19. WOLF B.; BENTON J. MILLS H. **Plant Analysis Handbook** Micro-Macro Publishing Inc. Georgia. USA, 1991.
 20. **Valores de Referencia de Energía y Nutrientes para la Población Venezolana.** Instituto Nacional de Nutrición (INN). Fundación Cavendes. N° 53. Serie de Cuadernos Azules. Caracas, Venezuela, 66 pp, 2000.
 21. WHELTON PK, HE J, APPEL LJ. **JAMA:** 288, 1882-88. 2002.
 22. BELANDRIA, J.C. Desarrollo de un método cinético para la determinación espectrofotométrica de selenito. Trabajo Especial de Grado, Licenciatura en Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. pp. 54, 2005.