



**XII ENCI - ENCONTRO NACIONAL SOBRE
CONTAMINANTES INORGÂNICOS**

**VII SIMPÓSIO SOBRE ESSENCIALIDADE
DE ELEMENTOS NA NUTRIÇÃO HUMANA**

**8 a 10 de junho
CRQ-IV Rua Oscar Freire, 2.039
Pinheiros São Paulo-SP**

(O-5) DESENVOLVIMENTO DE UM MATERIAL DE REFERÊNCIA DE PEIXE PARA ESTUDOS NUTRICIONAIS E AMBIENTAIS

Maihara, Vera Akiko¹, Moreira, Edson Gonçalves¹, Clain, Almir Faria², Fonseca,
Adelaide Gondim², Bragança, Maura Júlia Câmara da Silva²

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP

Av. Prof. Lineu Prestes 2242, CEP: 05508-000, Butantã, São Paulo, Brasil

²Instituto de Radioproteção e Dosimetria – IRD-CNEN/RJ

Av. Salvador Allende s/n, CEP: 2278-160, Recreio, Rio de Janeiro, RJ

ymaihara@ipen.br

Palavras-chave: material de referência certificado, peixe, contaminantes, corvina

1- INTRODUÇÃO

A segurança alimentar é uma das maiores preocupações em todo o mundo. Durante as últimas décadas, o aumento da demanda por segurança alimentar tem estimulado pesquisas sobre o risco associado ao consumo de alimentos contaminados por pesticidas, elementos tóxicos e/ou toxinas. A implantação de sistemas de garantia da qualidade para o gerenciamento de laboratórios analíticos não é suficiente para demonstrar a qualidade de resultados analíticos. Para provar a qualidade e comparabilidade de resultados, é necessário que os laboratórios demonstrem seu comprometimento com todos os requisitos técnicos de qualidade. Em geral, a comprovação é realizada pela participação em testes de proficiência e pelo uso de materiais de referência certificados, MRC [1].

O uso de MRCs é a forma mais fácil de demonstrar a exatidão da metodologia e verificar o desempenho de um laboratório. Materiais de referência certificados ainda não estão amplamente em uso no Brasil e em outros países da América Latina. A principal razão é o alto custo destes materiais, uma vez que são importados. A Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) tem dado apoio a diversos projetos com o objetivo de melhorar a capacitação dos laboratórios da América Latina. Neste contexto, o projeto da AIEA denominado ARCAL RLA 0214 e com título “Melhoria da qualidade analítica por testes de proficiência e certificação de materiais de referência de matriz, utilizando-se técnicas analíticas nucleares e correlatas na Rede de Técnicas Analíticas Nucleares da América Latina” teve início em 2009. Neste projeto, O Laboratório de Ativação Neutrônica (LAN) do IPEN – CNEN/SP é responsável pelo

preparo de um material de referência de peixe. Pretende-se que o material seja utilizado em programas interlaboratoriais e/ou testes de proficiência, e também para a calibração de instrumentos analíticos e validação de métodos analíticos para a determinação nutricional e ambiental de elementos traço.

Peixes são amplamente consumidos em muitas partes do mundo devido ao seu alto valor nutricional, como alto conteúdo de proteínas, baixos teores de gorduras saturadas e presença de ácidos graxos ricos em ômega 3. No entanto, a poluição das águas tem levado à contaminação dos peixes por elementos tóxicos, de muitas origens, tais como descargas industriais e domésticas. A análise de peixes com respeito a tais contaminantes é muito importante quando se considera a saúde pública e fatores econômicos [2].

Para a escolha da espécie de peixe para este trabalho contou-se com a assistência do Laboratório de Referência em Tecnologia do Pescado do Instituto de Pesca do Estado de São Paulo, Brasil. A corvina, *Micropogonias furnieri*, denominada de *whitemouth croake* em inglês, foi escolhida porque representa o segundo peixe em escala de produção no Brasil, sendo amplamente distribuído e consumido nos países da América Latina.

Para a produção de um MR, as seguintes etapas devem em geral ser seguidas: a) planejamento; b) seleção do material; c) estudo de viabilidade (coleta, processamento, caracterização); d) coleta do material; e) transporte e armazenamento; f) processamento do material; g) armazenamento; h) estudo de homogeneidade; i) estudo de estabilidade; j) caracterização química; k) definição dos valores certificados (designação de valores); l) distribuição e uso do MR; m) monitoramento da estabilidade do MR [3, 4].

As várias etapas foram definidas de acordo com a experiência da AIEA e de alguns países latinoamericanos que possuem experiência no preparo de materiais de referência. Todas as etapas irão atender às recomendações internacionais para o preparo, caracterização e certificação de MRCs [5-7].

2- OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é descrever as etapas já realizadas do preparo do material de referência de corvina e verificar a viabilidade de seu uso como material de referência.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- COLETA E PREPARAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

Cerca de 300 kg de peixe congelado da espécie *Micropogonias furnieri* foram adquiridos de uma empresa de pescada. Cada peixe, sem cabeça e vísceras, pesou aproximadamente 900 g. O peixe foi pescado no estado de Santa Catarina, região Sul do Brasil. Após a limpeza do peixe, com a retirada de escamas e espinhos, a parte comestível foi homogeneizada e congelada. Posteriormente, a parte comestível (120 kg) foi liofilizada em uma empresa de alimentos liofilizados. A seguir, o candidato a MR será moído, peneirado e homogeneizado em um misturador em Y apropriado e envasado em frascos de vidro com 50 g de MR cada. A umidade residual do material será determinada em balança determinadora de umidade e, caso necessário, o MR será sujeito novamente ao processo de liofilização até que a umidade seja inferior a 3-4 % (m/m). Os frascos serão irradiados com radiação gama no Irradiador de ^{60}Co do IPEN-CNEN/SP de forma a aumentar a estabilidade.

A homogeneidade será avaliada com relação à homogeneidade dentro do frasco e entre frascos, por meio de análise de variância de um fator, ANOVA [7]. A estabilidade do material será verificada a diferentes temperaturas, utilizando-se desenho experimental estabelecido previamente, para definir as melhores condições de transporte e armazenamento [7]; O teor dos elementos de interesse no candidato a MR será determinado por laboratórios nacionais e internacionais em um programa interlaboratorial, utilizando-se vários métodos analíticos validados. A certificação do teor dos elementos será estabelecida aplicando-se tratamentos estatísticos aos resultados do programa interlaboratorial, de forma a se designar os valores certificados e suas incertezas associadas.

3.2- ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS INSTRUMENTAL (INAA)

Após o processo de liofilização, uma porção da amostra de peixe foi homogeneizada em um processador doméstico adaptado com lâminas de Ti e passada em uma peneira plástica. Cerca de 0,200 g de amostra foi pesada em saquinho de polietileno e irradiada juntamente com padrões dos elementos de interesse no reator nuclear de pesquisa IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP por 8 horas em fluxos de $3.5 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$. As taxas de contagem dos radionuclídeos formados na amostras e nos padrões foram medidas em espectrômetro de raios gama com detectores de Germânio Hiperpuro da EG&G ORTEC. Os elementos As, Fe, K, Na e Zn foram determinados.

3.3- ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Aproximadamente 0.2 g de amostra de peixe liofilizado foram digeridos com 4 mL HNO₃ conc. (Merck) e 1 mL de H₂O₂ 30% em tubos de Teflon (Savillex, USA) por 3 horas a 90°C em bloco digestor (Tecnal, Brazil). As soluções das amostras digeridas foram resfriadas e o volume foi completado com água MilliQ até o volume de 25 mL [8]. Cádmio foi determinado por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ET AAS), utilizando o espectrômetro Perkin Elmer A Analyst 800 com correção de background Zeeman e Hg foi determinado por Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (CV ASS), utilizando um analisador de Hg da Perkin Elmer (FIMS).

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma avaliação preliminar dos teores de elementos traços no tecido de peixe foi realizada. Na Tabela 1 são apresentados intervalos de concentração desses elementos em subamostras do candidato a material de referência de peixe.

Os intervalos de concentração encontrados nesta fase preliminar são compatíveis com valores de concentração obtidos por outros pesquisadores que analisaram várias espécies de peixes brasileiros, para a maioria dos elementos determinados [9-10].

Tabela 1: Faixas de concentração dos elementos determinados no material de peixe.

Elemento	Faixa de concentração, mg/kg
As	2,0 – 10,0
Cd	0,010 – 0,020
Fe	10 - 20
Hg	0,200 – 0,300
K	10000 -12000
Na	6000- 8000
Zn	10 - 30

Morgano e col. [9] analisaram peixes comercializados em São Paulo e encontraram valores variando de 7,97 a 8,08 mg/kg para As; 0,010 a 0,021 mg/kg para Cd e 0,15 a 0,17 mg/kg para Hg. Curcho e col. [10] analisaram corvina coletada em Cananéia, SP, e determinaram os teores, em mg/kg, de Ca (541-2511), Fe (3,9 a 13,8), K (2364 a 4412), Na (872 a 1450), Se (0,4441 a 1,066) e Zn (3,8 a 6,6).

5- CONCLUSÃO

A partir dos resultados preliminares apresentados, concluiu-se que é viável a produção e certificação de um material de referência brasileiro de peixe, em faixas de concentrações compatíveis com os obtidos no pescado nacional. O material será de

grande importância para a melhoria da confiança em resultados analíticos obtidos por laboratórios latinoamericanos. Também é importante destacar que a certificação do candidato a material de referência somente será possível com a colaboração de outros laboratórios, uma vez que os valores de concentração serão definidos a partir do consenso entre os resultados obtidos em programas interlaboratoriais.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ZSCHUNKE, A. (ed.), 2000, **Reference materials in analytical chemistry – a guide for selection and use**. Springer, Berlin, Germany, 224p.
- [2] STORELLI, M.M., BARONE, G., CUTTINE, G., GIUNGATO, D., GAROFALO, R. Occurrence of toxic metals (Hg, Cd and Pb) in fish and canned tuna: Public health implications. **Food Chem. Toxicol.**, v.48, n.11, p. 3167-70, 2010.
- [3] KRAMER, J. M., KRAMER, G. N. & MUNTAU, H., 2001, **Practical manual for the production of laboratory reference materials**, Mermayde, Bergen, Netherlands, 116p.
- [4] MOREIRA, E.G., VASCONCELLOS, M.B.A.; MAIHARA, V.A.; CATHARINO, M.G.; SAIKI, M. Mussel Reference Material Preparation Proposal as a Quality Assurance Tool for Brazilian Seashore Biomonitoring. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, n. 1, p: 61-65, 2007.
- [5] ABNT, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Utilização de materiais de referência certificados**. 1 ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2002 (ABNT ISO Guia 33).
- [6] ABNT, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Requisitos gerais para a competência de produtores de matérias de referência**. 1 ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2004 (ABNT ISO Guia 34).
- [7] ISO, INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2006, **Reference materials – General and statistical principles for certification (ISO Guide 35)**. 3. ed. Genève, Switzerland.
- [8] MOREIRA, E.G. **Preparo e caracterização de um material de referência de mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758)**. Tese de Doutorado, IPEN-USP, São Paulo, 2010, 275p.
- [9] MORGANO, M.A., RABONATO, L.C., MILANI, R.F., MIYAGUSHI, L., BALIANS, C. Assessment of trace elements in fishes of Japanese food marked in São Paulo, Brazil. **Food Contr.**, v.22, p.778-785, 2011.
- [10] CURCHO, M.R.S.M., FARIAS, L.A., BAGGIO, S.R., NASCIMENTO, S.M., BORTOLI, M.C., BRAG A, E.S., FÁVARO, D.I.T. Mercury and methylmercury content, fatty acids profile, and proximate composition of consumed fish in Cananéia, SP, Brazil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.68, n.3, p.442-50, 2009.