

DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E TÓXICOS EM CORVINA (*Micropogonias furnieri*) CONSUMIDA NA CIDADE DE SÃO PAULO POR ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Karen C. Fabiano¹, Edson G. Moreira¹, Marina B. A. Vasconcellos¹, Ana P. S. Lima¹.

¹ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN – SP)
Av. Professor Lineu Prestes, 2242
05508-000 São Paulo, SP
karen.fabiano@usp.br
emoreira@ipen.br
mbvascon@ipen.br
anapaulalima07@gmail.com

RESUMO

O consumo de peixes no Brasil ainda é pouco expressivo em algumas regiões, porém, nos últimos anos, tem-se observado uma mudança no perfil nutricional da população brasileira tendendo para o consumo de pescado por ser considerado um alimento nutritivo. Assim, o controle da qualidade do pescado por parte das autoridades sanitárias brasileiras tende a se intensificar, tendo como maior preocupação a presença de contaminantes inorgânicos com teores considerados acima dos limites permitidos para consumo. Dentro deste contexto, o Laboratório de Ativação com Nêutrons do IPEN-CNEN/SP tem participado de projeto de cooperação técnica da Agência Internacional de Energia Atômica voltado para a América Latina (IAEA ARCAL CIII) visando à garantia da qualidade alimentar por biomonitoramento de contaminantes em moluscos e peixes. Nesta etapa do projeto, o objetivo foi utilizar a técnica de Análise por Ativação com Nêutrons (INAA) para avaliar os teores de elementos essenciais e tóxicos (As, Br, Co, Cs, Na, Rb, Se e Zn) em amostras de corvina (*Micropogonias furnieri*) consumida na cidade de São Paulo. Esta espécie foi escolhida por ser um dos peixes mais consumidos no Brasil devido a seu baixo custo. Dez espécimes de corvina foram adquiridos na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), principal centro de abastecimento à população da região metropolitana de São Paulo. Depois de eviscerado e limpo, o tecido comestível foi liofilizado, moído e peneirado. A determinação dos elementos foi realizada com utilização de espectrômetro de germânio hiperpuro após irradiação no reator nuclear de pesquisa IEA-R1.

1. INTRODUÇÃO

O consumo de pescados no Brasil vem aumentando nos últimos anos. Em 2010, foi divulgado pelo Ministro da Pesca e Agricultura que o consumo anual por habitante em 2003 era de 6,43 kg, aumentando para 9,03 kg em 2009. Esse dado mostra que, apesar do consumo ainda ser inferior ao recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a tendência é o consumo de pescados no Brasil aumentar [1].

Esse aumento no consumo de pescado se deve ao fato do mesmo ser considerado um alimento altamente saudável sendo fonte de proteína (aminoácidos); ácidos graxos poliinsaturados como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosaexaenóico (DHA) e micronutrientes, como vitaminas e minerais. O consumo de peixe auxilia na prevenção da doença cardíaca coronariana, e por ser rico em DHA e iodo, auxilia no desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso em seus estágios iniciais [2].

Por estes motivos, o controle da qualidade dos pescados pelas autoridades sanitárias brasileiras aumentou nos últimos anos, tendo como maior preocupação a presença de

contaminantes inorgânicos com teores considerados acima dos limites permitidos para consumo, já que um pescado de baixa qualidade pode causar danos à saúde do consumidor como infecções ou intoxicações [3].

Dentro deste contexto, o Laboratório de Ativação com Nêutrons do IPEN-CNEN/SP tem participado de projeto de cooperação técnica da Agência Internacional de Energia Atômica voltado para a América Latina (IAEA ARCAL CIII) visando à garantia da qualidade alimentar por biomonitoramento de contaminantes em frutos do mar. Esse projeto tem por objetivo avaliar a concentração de elementos essenciais e tóxicos em amostras de peixes mais consumidas na cidade de São Paulo. Por este motivo o projeto iniciou-se com análise em amostras de corvina (*Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823)).

A corvina pode atingir de 40 a 50 cm de comprimento e em alguns casos chegar a 60 cm. Costuma ser encontrada desde as Antilhas, sul do Caribe até o Golfo de San Matias na Argentina, em estuários, baías ou ao longo da costa, em profundidades menores que 60 m, tendo preferência por ambientes com fundo de areia, lodo ou cascalho. Os indivíduos jovens alimentam-se de crustáceos bentônicos, misidáceos, moluscos e poliquetos, enquanto que os indivíduos adultos comem pequenos peixes, crustáceos e poliquetos [4]. Na Figura 1 é apresentada a distribuição geográfica da corvina [5]. Devido a sua distribuição e baixo preço ao consumidor final, é pescado de interesse econômico para grande parte dos países latinoamericanos.

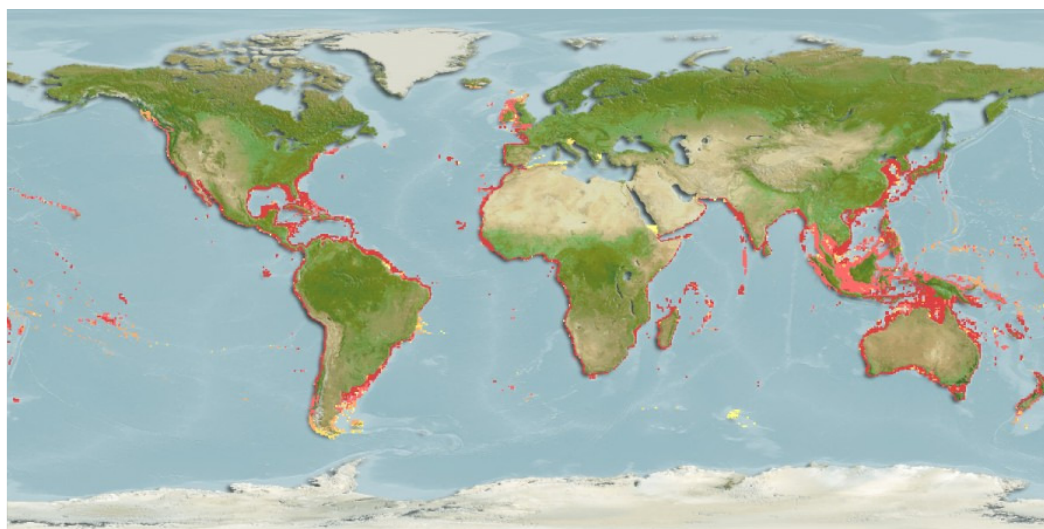


Figura 1. Distribuição geográfica da corvina (*Micropogonias furnieri*) [5]

Neste trabalho foram determinadas as concentrações de As, Br, Co, Cs, Na, Rb, Se e Zn em 10 espécimes de corvina (*Micropogonias furnieri*) utilizando-se a técnica de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA). Esses espécimes foram coletados na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Obtenção e Pré-tratamento das Amostras

As amostras de corvina (*Micropogonias furnieri*) foram obtidas através da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). Este centro comercial é considerado o maior centro de distribuição de gêneros alimentícios da América Latina, sendo o Entrepósito Terminal de São Paulo da CEAGESP um ponto de referência na venda de pesados. Segundo a transportadora de fornecimento do pescado ao CEAGESP as amostras de corvina têm procedência de Itajaí em Santa Catarina.

Após a coleta, as amostras foram lavadas com água destilada e limpas. As vísceras foram separadas da parte comestível com uma faca de cerâmica para que não houvesse contaminação. A parte comestível foi triturada com o auxílio da faca de cerâmica, armazenada em frascos plásticos e congelada para a liofilização.

2.2. Preparo das Amostras

Para a realização do método de INAA as amostras devem estar secas, para isso foi utilizado o método de liofilização, pois o risco de volatilização de elementos é menor. As amostras foram liofilizadas à aproximadamente $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $49\text{ }\mu\text{bar}$ sendo pesadas antes e depois da liofilização para o cálculo do teor de umidade.

Após o processo de liofilização, a amostra foi moída num liquidificador com lâmina de titânio para que não houvesse contaminação e peneiradas em peneiras de plásticos comuns de uso doméstico para garantir uma amostra mais homogênea.

2.3. Determinação de Elementos por Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

O método utilizado neste trabalho foi o de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA) para a determinação de As, Br, Co, Cs, Na, Rb, Se e Zn nas amostras de corvina. Para isso, sub-amostras do material foram irradiadas juntamente com padrões dos elementos de interesse.

2.3.1. Preparo de amostras e padrões para irradiação

Foram pesadas em balança analítica (Shimadzu AEM-5200) sub-amostras de 200 mg do peixe e de 150 mg do material de referência certificado DORM-2, em invólucros de polietileno lavados com HNO_3 diluído e água ultra pura (Milli-Q).

Os padrões elementares foram preparados pipetando-se alíquotas de soluções padrão certificadas em tiras de papel de filtro Whatman nº 40, utilizando-se pipetadores automáticos, com volume nominal previamente verificado. Em alguns casos, as soluções foram diluídas antes de serem pipetadas. Após secagem à temperatura ambiente e em capela de fluxo laminar, as tiras de papel de filtro foram dobradas e colocadas em invólucros de polietileno, de modo a se obter a mesma geometria dos invólucros das amostras.

2.3.2. Irradiação e medição das radiações induzidas

As sub-amostras, o material de referência e os padrões sintéticos foram envoltos em folhas de alumínio. O conjunto formado pelas sub-amostras, o material de referência e os padrões sintéticos foram colocados em um recipiente também de alumínio chamado “coelho” que foi irradiado pelo período de 8 horas, sob fluxo de nêutrons térmicos de cerca de 10^{12} n cm⁻² s⁻¹ no reator IEA-R1 do IPEN – CNEN/SP.

Para validação do método utilizado foi analisado, juntamente com as sub-amostras, o material de referência certificado de músculo de cação (“*Dogfish muscle certified reference material for trace metals*” - NRCC DORM-2).

As medições foram realizadas em detector semiconductor de germânio hiperpuro modelo Canberra GC2018 HP Ge, acoplado a um analisador multicanal Canberra DAS-1000. Os espectros de raios gama foram coletados e processados utilizando-se o programa Genie 2000, versão 3.1 (Canberra).

Após sete dias de decaimento foi feita medição das atividades gama induzidas dos radionuclídeos ²⁴Na, ⁷⁶As e ⁸²Br, por um período de 5400 segundos, enquanto que a medição dos radionuclídeos ⁶⁵Zn, ⁸⁶Rb, ⁶⁰Co, ⁷⁵Se e ¹³⁴Cs foi feita por período de 36000 segundos após 20 dias de decaimento.

Na Tabela 1 tem-se os radionuclídeos medidos, bem como seus tempos de meia-vida e energias utilizadas na análise [6].

Tabela 1. Radionuclídeos, energias utilizadas e meias vidas [6]

Radionuclídeo	Energia utilizada, keV	Meia vida
⁷⁶ As	559,10	26,32 horas
⁸² Br	776,52	35,3 horas
⁶⁰ Co	1173,24	5,27 anos
¹³⁴ Cs	795,85	2,06 anos
²⁴ Na	1368,55	14,96 horas
⁸⁶ Rb	1076,6	18,66 dias
⁷⁵ Se	264,66	119,77 dias
⁶⁵ Zn	1115,55	243,9 dias

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise do Material de Referência

A validação do método de INAA foi feita a partir da análise do material de referência certificado de músculo de cação (“*Dogfish muscle certified reference material for trace metals*” - NRCC DORM-2) apresentado na Tabela 2. Calculou-se também o escore *En* a partir da Equação 1 [7].

$$E_n = \frac{w_{lab} - w_{ref}}{\sqrt{(u_{lab}^2 + u_{ref}^2)}} \quad (1)$$

Onde w_{lab} e u_{lab} são respectivamente o valor obtido experimentalmente para as concentrações no material de referência certificado e sua incerteza; w_{ref} e u_{ref} representam o valor certificado e sua incerteza.

Tabela 2. Concentração dos elementos, em mg/kg, no material de referência certificado NRCC DORM-2

Elemento	INAA ^a	Valor certificado [8]	Erro relativo (%)	Escore E_n
As	16,3 ± 1,2	18,0 ± 1,1	-9,4	-1,0
Br	28,4 ± 2,8	---	---	---
Co	0,176 ± 0,033	0,182 ± 0,031	-3,3	-0,13
Cs	0,243 ± 0,035	---	---	---
Na	4158 ± 836	---	---	---
Rb	5,04 ± 0,76	---	---	---
Se	1,35 ± 0,28	1,40 ± 0,09	-3,7	0,59
Zn	21,7 ± 1,6	25,6 ± 2,3	-15	0,49

^a média e intervalo de confiança à 95% para $n = 4$ [9]

Somente os elementos As, Co, Se e Zn apresentam valores certificados no material de referência, permitindo a comparação dos resultados. Com exceção do Zn, os valores de erro relativo foram inferiores a 10 % para todos os elementos. Foi observado que os valores de escore E_n estão dentro do intervalo $|E_n| \leq 1$, mesmo para o Zn, sendo demonstração de que o método de INAA utilizado é exato para a determinação desses elementos em corvina [7]. O valor mais elevado do erro relativo para o Zn foi obtido, pois este parâmetro não leva em consideração as incertezas, tanto da amostra quanto do valor certificado, e, portanto, o parâmetro pode apresentar valores elevados.

3.2. Resultados Obtidos para a Corvina (*Micropogonias furnieri*)

Para avaliar a precisão do método, nove sub-amostras de um dos espécimes de corvina foram analisadas, conforme apresentado na Tabela 3, com valores médios, de desvio padrão (DP) e de desvio padrão relativo percentual (DPR, %).

Posteriormente, a determinação da concentração dos elementos foi realizada em 10 espécimes de corvina, que são apresentados na Tabela 4.

Tabela 3. Resultados em mg/kg, em peso seco, obtidos para um espécime de corvina por INAA

Amostra	Elemento							
	As	Br	Co	Cs	Na	Rb	Se	Zn
C10-1	10,11	20,39	0,0427	0,0521	3528	3,17	3,05	16,01
C10-2	n.d.	n.d.	0,0419	0,0511	n.d.	3,04	3,03	16,50
C10-3	10,95	21,87	0,0454	0,0531	3698	3,22	3,17	16,45
C10-4	10,16	20,63	0,0419	0,0482	3480	3,06	2,97	15,93
C10-5	9,30	20,18	0,0462	0,0524	3476	3,06	3,31	17,76
C10-6	9,22	19,98	0,0506	0,0570	3535	3,07	3,28	17,59
C10-7	9,41	20,46	0,0476	0,0554	3491	3,09	3,26	18,63
C10-8	9,31	19,78	0,0499	0,0529	3463	2,86	3,25	17,46
C10-9	8,98	19,71	0,0453	0,0473	3351	3,06	3,31	17,76
Média	9,68	20,37	0,0457	0,0522	3503	3,06	3,18	17,12
DP	0,66	0,68	0,0032	0,0031	97	0,10	0,13	0,93
DPR, %	6,9	3,4	7,1	5,9	2,8	3,4	4,1	5,4

n.d. = não determinado.

Tabela 4: Resultados em mg/kg, em peso seco, obtidos para 10 espécimes de corvina por INAA

Amostra	Elemento							
	As	Br	Co	Cs	Na	Rb	Se	Zn
C1	10,2	19,0	n.d	0,0422	2293	2,84	3,64	11,8
C2	10,5	18,0	0,0580	0,0465	2341	3,10	3,69	12,4
C3	10,8	20,0	0,0501	0,0449	2420	3,13	3,90	12,5
C4	16,8	21,8	0,0432	0,0421	2935	2,74	3,99	12,6
C5	19,0	22,9	0,0489	0,0510	3146	2,76	3,60	13,3
C6	11,0	23,8	0,0576	0,0475	3461	2,79	3,28	14,5
C7	18,2	15,4	0,0259	0,0627	2686	2,73	3,83	14,6
C8	12,4	18,5	0,0420	0,0584	3269	2,73	3,11	16,4
C9	n.d.	18,6	0,0499	0,0490	3150	2,61	2,73	14,9
C10	10,1	20,4	0,0416	0,0478	3429	2,78	3,00	17,7
Média	13,2	19,9	0,0446	0,0492	2913	2,82	3,48	14,1
DP	3,7	2,5	0,0098	0,0067	449	0,17	0,42	1,9
DPR, %	28	12	21	14	15	5,9	12	14

n.d. = não determinado.

De acordo com o apresentado na Tabela 3, os resultados de desvio padrão relativo ficaram abaixo de 7 % para todos os elementos. Este resultado é compatível com a incerteza esperada para o método de INAA aplicado a amostras biológicas e para o uso pretendido em estudos da área de saúde alimentar [10]. Além disso, os valores baixos de desvio padrão encontrados também podem ser consequência do procedimento adequado de homogeneização do material antes da tomada das sub-amostras para irradiação.

Os resultados de desvio padrão relativo para as análises efetuadas com os diferentes espécimes, apresentados na Tabela 4, foram mais elevados para todos os elementos se comparados com os valores da Tabela 3. Isso reflete diferenças entre os indivíduos dentro da mesma espécie. Com exceção do Zn, não há diferenças entre as médias obtidas para as concentrações dos elementos nas Tabelas 3 e 4, considerando-se a dispersão dos resultados representadas pelos desvios padrão.

A partir da perda de água durante o processo de liofilização, que foi de cerca de 57 %, calculou-se o a concentração dos elementos em peso úmido e foi feita a comparação com a legislação brasileira para As e Zn, que são os elementos para os quais há limites para consumo humano, definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme apresentado na Tabela 5 [11].

Tabela 5. Concentração em mg/kg, em peso úmido, obtidos para 10 espécimes de corvina

Elemento	Concentração (mg/kg) ¹	Limite da legislação (mg/kg) [11]
As	6,86 ± 0,80	1,0
Br	11,1 ± 0,43	---
Co	0,0259 ± 0,0018	---
Cs	0,0294 ± 0,0023	---
Na	1624 ± 79	---
Rb	1,573 ± 0,031	---
Se	1,939 ± 0,075	---
Zn	7,85 ± 0,34	50

¹média e intervalo de confiança à 95% para $n=10$ [9].

De acordo com a legislação, a concentração permitida de As é de 1,0 mg/kg. Neste experimento obteve-se uma média de 6,86 mg/kg. É um valor acima do permitido pela ANVISA, mas isto pode ser justificado já que a presença do arsênio em estuários é muito comum. A introdução do As em meio aquático pode ser de origem natural, a partir de minerais e rochas que contêm este elemento e dos solos e sedimentos formados dessas rochas, ou de origem antropogênica, com a utilização de pesticidas, rejeitos provenientes da mineração e outros produtos utilizados contendo As [12]. Além disso, há estudos que mostram que a maior parte desse arsênio está na forma orgânica, principalmente como arsenobetaina, que não é tóxica [13].

Já o zinco apresentou teores muito inferiores ao recomendado pela ANVISA, já que esta recomenda uma quantidade de 50 mg/kg de Zn e a média obtida no experimento foi de 7,85 mg/kg.

3. CONCLUSÃO

A análise do material de referência certificado mostrou que o método de INAA é adequado e produz resultados com exatidão aceitável para o tipo de estudo em andamento. Após a análise dos resultados obtidos para a corvina, pôde-se concluir que as amostras analisadas não apresentam risco à saúde humana no que se refere aos teores de Zn. No caso do As, as espécies presentes na amostra devem ser investigadas para que seja possível concluir sobre a segurança alimentar desse elemento em corvina. Este trabalho apresenta resultados preliminares e em etapas subsequentes pretende-se analisar outros materiais de referência com matriz apropriada para os elementos que não estão certificados no material de cação. Também serão analisados outros elementos tais como cádmio, mercúrio e chumbo em corvina e em outras espécies importantes de pescado do ponto de vista alimentar.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao CNPq e à FAPESP pelo auxílio financeiro em projetos de pesquisa, e ao programa PIBIC/CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida.

REFERÊNCIAS

1. “Aumenta o consumo de pescados por brasileiros”, <http://www.lear dini.com.br/web/index.php/novidades/aumenta-o-consumo-de+pescado-por-brasileiros> (2010).
2. “Algunos problemas de la pesca y la agricultura,” <http://www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s02.pdf> (2010).
3. A. M. A. Silva, “A legislação é importante, mas a ação é muito mais e deve ser integrada em todos os níveis”, *Higiene Alimentar*, São Paulo, 1994, Apresentado no 1º Seminário de Vigilância Sanitária Pesqueira: Qualidade dos Pescados.
4. A. F. de Oliveira, M. A. Bemvenuti, “O Ciclo de Vida de Alguns Peixes, RS, Informações para o Ensino Fundamental e Médio”, *Cadernos de Ecologia Aquática*, **1**, pp. 21-22 (2006).
5. “*Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823)”, <http://www.fishbase.org/summary/Micropogonias-furnieri.html#> (2010).
6. IAEA, International Atomic Energy Agency, *Practical Aspects of Operating a Neutron Activation Analysis Laboratory*, TEC-DOC-564, IAEA, Vienna, Austria (1990).
7. P. Kinieczka, J. Namiesnik, “*Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory – A Practical Approach*”, CRC, Boca Raton, USA (2009).
8. NRCC, National Research Council of Canada, Certificate of analysis, DORM-2, Dogfish muscle certified reference material for trace metals (1999).
9. M. F. Triola, “*Introdução à estatística*”, LCT, Rio de Janeiro, Brasil (1999).
10. E. G. Moreira, M. B. A. Vasconcellos, M. Saiki, “Uncertainty assessment in instrumental neutron activation analysis of biological materials” *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **269** (2), pp. 377-382 (2006).
11. ANVISA, “Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998 fixa limites máximos de tolerância de contaminantes químicos em alimentos.”, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 24 de setembro de 1998, Seção 1, parte 1, pp. 28-29 (1998).
12. L. C. M. Pataca, G. G. Bortoleto, M. I. M. S. Bueno, “Determinação de Arsênio em águas contaminadas usando fluorescência de raios X por energia dispersiva”, *Quím. Nova*, **28**, pp.579 – 582 (2005).

13. FAO/WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization, “Working document for information and use in discussions on the GSCTF (CX/FAC 06/38/18)”. *Joint FAO/WHO food standards programme, codex committee on food additives and contaminants*, 38th Session, The Hague, the Netherlands, 24 – 28 April 2006. ftp://ftp.fao.org/codex/ccfac38/fa38_18e.pdf. (2006).