



Estudo para produção de amostras de tecido muscular de peixe fortificadas com chumbo para ensaios de proficiência

JARMENDIA, E. S.¹; SARKIS J.E.S.¹; SANTANA L.V.¹; HORTELLANI, M. ¹.

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Avenida Lineu Prestes, 2.242, CEP 05508-000, Cidade Universitária, SP, Brasil; *email: jarmendinha@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo para produção de amostras de ensaio de proficiência, de tecido muscular de peixe fortificado com chumbo na concentração de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$. Foram utilizados 410 g de tecido muscular da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), limpos e triturados. As amostras foram fortificadas com solução aquosa contendo 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo, posteriormente foram secas e moídas. O mensurando foi determinado por espectrometria de absorção atômica em chama. Os resultados foram submetidos à análise de variância e pelo teste de comparação de médias de Levene para k amostras ($P < 0,05$). Os valores obtidos demonstraram que houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de permanência da amostra de tecido de peixe na solução. A recuperação obtida na determinação do padrão fortificado foi de 96,8 %, enquanto que o valor apresentado para as amostras fortificadas foi de 106,8 %, deste modo observamos que os protocolos de preparo de amostras que estão sendo desenvolvidos são promissores e adequados para produção de amostras fortificadas para utilização em ensaios de proficiência.

Palavra-chave: ensaios de proficiência, chumbo, fortificação, acreditação de laboratórios, ensaios interlaboratoriais.

ABSTRACT

The objective of this work was to study for production of proficiency testing samples of muscle tissue from fish spiked with lead concentration of 50 $\mu\text{g g}^{-1}$. 410 g of muscle tissue of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), cleaned and crushed. The samples were spiked with an aqueous solution containing 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ of lead, and after were dried and milled. The measuring was determined by atomic absorption spectrometry in flames. The results were submitted to analysis of variance and mean comparison by Levene for k samples ($P < 0.05$). The values obtained showed a statistically significant difference between the



residence times of the sample of fish tissue in the solution. The recovery obtained in the determination of the fortified standard was 96,8 % while the value given for the spiked samples was 106,8 % thus observed that the sample preparation protocols that are promising and are being developed suitable for production spiked samples for use in proficiency testing.

Key-words: proficiency testing, lead, fortification, accreditation, *Oreochromis niloticus*

INTRODUÇÃO

O chumbo é considerado um metal potencialmente tóxico, pois pertence a um grupo de elementos que não possui características benéficas e nem essenciais para o organismo vivo, produzindo efeitos danosos para as funções metabólicas normais, mesmo quando presentes em quantidades traços (SANTOS, 2009). Uma vez assimilado pelo organismo, através de contaminação exógena, pode ser transportado para vários sítios e interagir com as células gerando diversos efeitos toxicológicos (SANTOS, 2009).

Os efeitos nocivos do Pb são conhecidos desde os tempos antigos, o metal afeta praticamente todos os órgãos e sistemas do corpo humano. Os primeiros efeitos adversos são vistos no sistema nervoso central e, ocasionalmente, na medula óssea, que são os órgãos críticos para este metal (SANÍN et al, 1994).

No homem, a ingestão de alimentos e o ar inalado são as principais fontes de chumbo no organismo humano, assim as vias digestivas e respiratórias são geralmente as rotas de absorção no organismo humano (SANÍN et al, 1994).

Por esta razão o comércio nacional e internacional de peixe possui rigorosos padrões de qualidade sanitários para exportação e importação de alimentos. No Brasil, o nível de chumbo em tecido peixe é regulamentado pela Resolução n ° 685/1998 (ANVISA), Agência Nacional de Vigilância Sanitária e o limite permitido é de 2,0 mg g⁻¹.

Logo, a fim de dar cumprimento a presente regulamentação, vários laboratórios privados, bem como, as Agências Reguladoras Nacionais, busca cada vez mais incentivar a acreditação de laboratórios segundo os requisitos da norma ABNT NBR ISO / IEC 17025. Neste cenário, um dos principais



requisitos é demonstrar a capacidade técnica de laboratório através da participação regular em ensaios de proficiência (SANTANA et al, 2013).

Os ensaios de proficiência são exercícios interlaboratório onde os resultados de um laboratório são contrastados com um valor de referência, ou até mesmo os resultados obtidos por outros laboratórios semelhantes. Para a execução destes ensaios é necessário um item de teste que pode ser: uma amostra, um dispositivo, um material de referência, um equipamento, ou até mesmo um conjunto padrão de dados ou outras informações (SANTANA et al, 2013).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi estudar o preparo de uma amostra de tecido muscular de peixe fortificada com $50 \mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo para ser utilizada em ensaios de proficiência.

MATERIAL E MÉTODOS

Os filés de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) frescos com peso médio de $109 \pm 5,8$ g, foram obtidos diretamente de um Hipermercado da região norte de São Paulo.

O preparo das amostras foi conduzido no Laboratório de Caracterização Química e Isotópica do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP) em sala limpa, com os devidos parâmetros de controle higiênico sanitário, os filés foram triturados e imersos em solução aquosa (Água Milli-Q) de chumbo na concentração de $50 \mu\text{g g}^{-1}$ e foram separadas 4 amostras em frascos plásticos. Essas amostras foram homogeneizadas durante 3 horas em um agitador mecânico. A seguir as amostras permaneceram em solução por 12, 24, 36 e 48 horas. Após cada período a solução aquosa foi escorrida em papel de filtro. O tecido de peixe foi colocado em placas de petri e secos em estufa a $43 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 3 dias. O material seco foi moído e acondicionado em frascos plásticos até digestão para análise.

Pesou-se 0,1 g do material em triplicata em um béquer de teflon de 50mL. O material foi submetido à digestão ácida, adicionando-se 4 ml de ácido nítrico no béquer de teflon, este foi fechado com uma tampa de teflon envolta com fita de politetrafluoretileno. A mistura foi colocada em uma chapa aquecedora a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora e 10 minutos. Após resfriamento o material foi diluído com água Milli-Q até 10 g.



A concentração de Chumbo presente no material foi determinada por espectrometria de absorção atômica em chama (AAS-F) de ar/acetileno (AA-220 Varian FS) operando de acordo com as recomendações do fabricante.

Foi utilizado para verificação da recuperação da metodologia analítica apresentadas amostras de padrão analítico fortificadas com concentrações de 0,2, 0,5 e 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ de chumbo.

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias de Levene a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste estatístico foi aplicado no conjunto de dados obtidos nos tempos de 12 a 48 horas, após a comprovação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk para o nível de significância de 5% os resultados foram submetidos à análise de variâncias, onde se verificou que as quatro amostras estudadas apresentaram diferença de concentração estatisticamente significativa ($P < 0,05$), entre os tempos avaliados, demonstrando que 24 horas foi o tempo de permanência adequado ao uso pretendido (Tabelas 1). A concentração de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ foi escolhida, em virtude de problemas técnicos analíticos na determinação das concentrações estipuladas pela ANVISA. Deste modo, a verificação da metodologia pela adição de chumbo aos padrões (Tabela 2), foi o método mais robusto encontrado para avaliar a recuperação do mensurando na amostra, já que não há material de referência certificado para a matriz peixe neste nível de concentração para determinação por AAS-chama.

Tabela 1. Média, desvio e recuperação padrão das amostras de Tilápia fortificadas com chumbo em $\mu\text{g g}^{-1}$

Amostra	12 ^a	24 ^b	36 ^a	48 ^b
1	52,71±0,28	56,97±0,40	51,02±0,83	54,96±1,66
2	51,94±0,50	57,01±0,30	50,36±1,72	54,27±1,78
3	52,66±0,17	56,64±0,95	48,70±0,49	53,83±0,42
% Recuperação	104,87	113,74	100,04	108,70

^{ab} Pares de amostras com diferença estatística significativa por Levene ($P < 0,05$)



Tabela 2. Média, recuperação e coeficiente de variação para o padrão analítico preparado com adição de chumbo

Padrão	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	% Recuperação
0,2	0,219	105,5
0,5	0,428	84
1,0	1,013	101

CONCLUSÕES

Foram detectadas diferenças significativas entre os tempos de permanência das amostras na solução de fortificação, evidenciando o tempo de 24 horas se mostrou mais adequado ao preparo de amostras fortificadas para ensaios de proficiência. Em vista, dos resultados satisfatórios obtidos no desenvolvimento deste protocolo, estão sendo desenvolvidos estudos com concentrações dentro do limite da legislação da ANVISA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- BRASIL. Leis, decretos, etc. ANVISA Portaria n° 685/98, republicada no Diário Oficial da União, Brasília. seq. 1, pt.1, p. 1415-1437, 24 set (1998).
- SANÍN, et al. Biological Monitoring of Metals, Environmental Epidemiology - Office of Global and Integrated Environmental Health - World Health Organization: Geneva, 1994.
- SANTOS, et al. Avaliação da exposição de crianças ao chumbo e o cádmio em área de contaminação química ambiental na Baía de Todos os Santos, Salvador- Ba. *In*: Congresso Brasileiro de Toxicologia Anais Digitais, 2007.
- SANTANA et al. Development of reference material for proficiency test: Arsenic in fish tissue. In International Nuclear Atlantic Conference, ISBN: 978-85-99141-05-2, 2013.