



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química

Dissertação

Determinação de metais em peixes por MIP OES com sistema
MSIS

Sandy Araujo Silva

Pelotas, março de 2018.

Sandy Araujo Silva

**Determinação de metais em peixes por MIP OES com sistema
*MSIS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química (ênfase em Química Analítica).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Pelotas, março de 2018.

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada “Determinação de metais em peixes por MIP OES com sistema MS/S”, de autoria de Sandy Araujo Silva.

Data da Defesa: 06 de março de 2018.

Banca examinadora:

.....
Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira (Orientadora - UFPel)

.....
Dr. Eliezer Quadro Oreste

.....
Dra. Meibel Teixeira Lisboa (Pos-Doc CAPES/UFPel)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente em minha vida e me iluminar em todos meus caminhos.

Aos meus pais, pelo incentivo e indispensável apoio em todas etapas da minha vida.

Ao meu companheiro Álvaro, pelo incentivo, paciência e carinho durante esta etapa.

À minha orientadora Mariana Vieira, pelos ensinamentos, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela paciência, carinho e apoio nos momentos difíceis em que pensei desistir.

Ao professor Anderson Ribeiro, pela paciência e ensinamentos compartilhados.

Aos colegas do LabMeQui, pelos ensinamentos compartilhados e que de uma forma ou outra contribuíram para realização deste trabalho.

Às colegas Lizi, Daiane, Jana, Meibel, Manu e Ane, pelos bons momentos de descontração e amizade.

À colega Josi, pela colaboração na parte experimental deste trabalho.

À minha família, pela compreensão da minha ausência em alguns momentos e pela paciência.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

SILVA, Sandy Araujo. **Determinação de metais em peixes por MIP OES com sistema *MSIS***. 2018. 75f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Considerado uma excelente fonte de proteínas, vitaminas e ácidos graxos, os peixes estão cada vez mais inseridos em uma dieta equilibrada por serem benéficos para a saúde. Dentro da cadeia alimentar aquática, os peixes estão no nível superior e isso faz com que eles possam acumular metais potencialmente tóxicos, causando riscos à saúde do consumidor. No presente trabalho foram analisadas cinco amostras de peixes (Bagre, Tainha, Traíra Pintado e Corvina) para determinar as concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn utilizando a técnica de MIP OES com sistema de introdução de amostra multimodal (*MSIS*). As amostras foram preparadas usando a decomposição ácida com o sistema de refluxo. Para se obter as melhores condições de análise utilizando o sistema *MSIS*, alguns parâmetros como a concentração de HCl e do agente redutor NaBH_4 foram otimizadas. As melhores condições estabelecidas foram HCl 2 % (v/v), NaBH_4 0,5 % (m/v) estabilizado com NaOH 0,5 % (m/v). A exatidão foi avaliada através de análises de materiais de referência certificados e de testes de adição de analito. As recuperações obtidas em ambos métodos ficaram na faixa de 80 a 115,72 %, indicando a boa exatidão. Também, foi realizada uma comparação do sistema *MSIS* com o método de introdução de amostras por nebulização convencional e foi observado uma melhora na sensibilidade de alguns analitos. Após análise das amostras, concentrações de 6,43 a 24,7 mg kg^{-1} para Al, 168,2 a 211,25 mg kg^{-1} para Mg e 23,1 mg kg^{-1} para Zn foram encontradas e estão dentro dos limites permitidos pela legislação vigente para pescados. Para os demais elementos as concentrações ficaram abaixo dos limites de detecção e quantificação.

Palavras-chave: peixes; metais; MIP OES; sistema *MSIS*; Lagoa dos Patos.

ABSTRACT

SILVA, Sandy Araujo. **Determination of metals in fish by MIP OES with MSIS system.** 2018. 74f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Considered an excellent source of protein, vitamins and fatty acids, fish are increasingly inserted into a balanced diet because they are beneficial to health. Within the aquatic food chain, the fish are at the superior level and they can accumulate potentially toxic metals, causing health risks to the consumer. In the present work, five fish samples were analyzed (Bagre, Tainha, Traíra Pintado e Corvina) to determine the concentrations of Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb and Zn using the MIP OES technique with multimode sample introduction system (MSIS). Samples were prepared using the acid decomposition with the reflux system. In order to obtain the best analysis conditions using the MSIS system, some parameters such as the concentration of HCl and the reducing agent NaBH₄ were optimized. The best conditions established were HCl 2% (v/v); NaBH₄ 0.5% (m/v) stabilized with 0.5% (m/v) NaOH. The accuracy was evaluated through analyzes of certified reference materials and analyte addition tests. The recoveries obtained in both methods were in the range of 80 to 115.72%, indicating good accuracy. Also, a comparison of the MSIS system with the conventional nebulization system was performed and an improvement in the sensitivity of some analytes was observed. After analysis of the samples, concentrations of 6.43 to 24.7 mg kg⁻¹ for Al, 168.2 to 211.25 mg kg⁻¹ for Mg and 23.1 mg kg⁻¹ for Zn were found and are within the limits allowed by the legislation for fish. For the other elements, the concentrations were below the limits of detection and quantification.

Keywords: fish; metals; MIP OES; *MSIS*; Patos Lagoon.

Lista de Figuras

Figura 1	Lagoa dos Patos-RS e suas principais unidades biológicas.....	3
Figura 2	Netuma barba (Bagre).....	5
Figura 3	Mugil platanus (Tainha).....	6
Figura 4	Pimelodus maculatos (Pintado).....	6
Figura 5	Hoplias malabaricus (Traíra).....	7
Figura 6	Micropogonias furnieri (Corvina).....	8
Figura 7	Desenho esquemático do dedo frio.....	20
Figura 8	Diagrama esquemático do sistema de refluxo (dedo frio) acoplado ao tubos digestor.....	21
Figura 9	Sistema de nebulização convencional e sistema <i>MSIS</i>	24
Figura 10	Efeito da concentração de HCl para Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn usando o sistema <i>MSIS</i>	32
Figura 11	Efeito da concentração de NaBH ₄ para Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn usando o sistema <i>MSIS</i>	34

Lista de Tabelas

Tabela 1	Condições operacionais do MIP OES.....	25
Tabela 2	Condições operacionais do MIP OES.....	25
Tabela 3	Parâmetros de mérito obtidos pelo sistema <i>MS/S</i>	35
Tabela 4	Parâmetros de mérito obtidos pela nebulização convencional.....	36
Tabela 5	Resultados de concentração obtidos de Al, Cd, Cu, Mg e Zn nos materiais de referência certificados (CRMs) (n=3)	38
Tabela 6	Concentrações obtidas de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn por MIP OES utilizando o sistema <i>MS/S</i> após diferentes adições (n=3).....	40
Tabela 7	Concentrações obtidas de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn por MIP OES utilizando o sistema de nebulização convencional após diferentes adições (n=3)	41
Tabela 8	Concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em peixes por MIP OES com sistema <i>MS/S</i> . Valores em mg kg^{-1} , \pm SD.....	43
Tabela 9	Concentrações de Al, Cd, Cu, Mg, Sb e Zn em peixes por MIP OES com sistema de nebulização convencional.....	46

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Associação de Químicos Analíticos Oficiais (do inglês “ <i>Association of Official Analytical Chemists</i> ”)
CF	Fluxo contínuo (do inglês “ <i>continuous flow</i> ”)
CRM	Material de referência certificado (do inglês “ <i>Certified Reference Material</i> ”)
CVG	Geração química de vapor (do inglês “ <i>chemical vapor generation</i> ”)
DRIs	Consumo Dietético de Referência (do inglês “ <i>Dietary Reference Intakes</i> ”)
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês “ <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)
FI	Injeção em fluxo (do inglês “ <i>Flow injection</i> ”)
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (do inglês “ <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> ”)
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês “ <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> ”)
HG	Geração de hidreto (do inglês “ <i>Hydride generation</i> ”)
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (do inglês “ <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> ”)
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês “ <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> ”)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MIP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (do inglês “ <i>Microwave-induced plasma optical emission spectrometry</i> ”)
MSIS	Sistema de introdução de amostras multimodal (do inglês “ <i>Multimode sample introduction system</i> ”)

OMS	Organização Mundial de Saúde
R	Coefficiente de correlação linear
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês " <i>Relative Deviation Standard</i> ")

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 O estuário Lagoa dos Patos.....	3
2.2 Espécies de peixes em estudo.....	4
2.3 Metais na Lagoa dos Patos.....	8
2.3.1 Cobre, Magnésio e Zinco.....	9
2.3.2 Alumínio, Cádmio, Mercúrio e Antimônio.....	10
2.4 Determinação de metais em peixes	11
2.5 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).....	13
2.5.1.1 Sistema de introdução de amostras <i>multimode (MSIS)</i>	15
2.6 Geração química de vapor (CVG).....	16
2.6.1 Geração de hidretos	17
2.7 Preparo de Amostra: decomposição ácida com sistema de refluxo	19
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 Instrumentação	24
4.2 Materiais e Reagentes	26
4.3 Amostras	27
4.4 Método para o preparo de amostra.....	27
4.5 Validação analítica	28
4.5.1 Faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação.....	28
4.5.2 Linearidade.....	29

4.5.3	Precisão e Exatidão.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1	Otimizações dos parâmetros operacionais para o sistema <i>multimode (MSIS)</i>	31
5.2	Parâmetros de mérito.....	35
5.2.1	Avaliação da Exatidão	37
5.2.1.2	Análise de materiais de referência certificados.....	37
5.2.1.3	Teste de adição de analito.....	39
5.3	Determinação de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em amostras de peixes por MIP OES com sistema <i>MSIS</i>	42
5.3.1	Comparação das concentrações das amostras utilizando o sistema de nebulização convencional.....	45
6	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

Reconhecido como um alimento fundamental em uma dieta equilibrada, os peixes são uma excelente fonte de proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais, sendo estes benéficos para a saúde (OLMEDO et.al, 2013). Dentre os benefícios associados ao consumo de peixes, destaca-se a redução do risco de doenças cardiovasculares e o auxílio no desenvolvimento neurológico em crianças (OLMEDO et. al, 2013; MOZAFFARIAN, 2006).

Tanto a produção quanto o consumo de pescados no Brasil vem crescendo a cada ano. De acordo com o Ministério da Agricultura, o consumo de pescados no Brasil é de 14,4 kg por habitante/ano, superando o recomendado pela Organização Mundial da Saúde, que é de 12 kg por habitante/ano. E projeções apontam um incremento no setor. De acordo com o Relatório da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), divulgado em 2016, estima-se que o País deve registrar crescimento de 104% na pesca e aquicultura até 2025 (PORTAL BRASIL, 2017).

No entanto, dentro da cadeia alimentar aquática, os peixes são consumidores e pertencem ao nível superior, fazendo com que eles acumulem metais potencialmente tóxicos que podem causar riscos à saúde do consumidor (KARADEDE et.al, 2004). Esses metais podem ser originários de fontes naturais ou principalmente de fontes antropogênicas causadas por atividades industriais, agrícolas e domésticas (KARADEDE et. al, 2004; MANSOUR, 2002).

Uma das características dos metais é a falta da biodegradabilidade. Quando inseridos no ambiente aquático são redistribuídos em toda coluna de água, sendo depositados ou acumulados em sedimentos e consumidos pela biota. Logo, os peixes são considerados bons indicadores de poluição aquática (MAKEDONSKI, 2015).

Os estuários, como por exemplo o da Lagoa dos Patos e as regiões costeiras, vem sendo cada vez mais utilizados para a disposição de efluentes urbanos e industriais. A ocupação urbana desordenada e os fortes impactos ambientais vinculados a atividades humanas e industriais desenvolvidas às margens dos estuários acarreta na contaminação das águas e dos organismos aquáticos por diversos poluentes, dentre eles os metais potencialmente tóxicos (FILHO et.al, 2013; PAIVA et.al, 2009).

Para isto, o desenvolvimento de métodos analíticos com alta sensibilidade e seletividade são necessários para o controle desses metais neste tipo de amostra. A técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) com sistema *multimode* (MSIS) para introdução da amostra, permite a realização de uma análise multielementar e com baixo custo operacional. Essa técnica permite uma melhora no transporte de amostra para determinação de alguns analitos, devido a possibilidade de promover a geração química de vapor simultaneamente com o sistema de introdução da amostra de modo convencional por nebulização, tornando a técnica mais sensível e adequada para determinações de elementos como Hg, As, etc. (CORRÊA, 2017).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O estuário Lagoa dos Patos

Considerada a maior lagoa costeira do Brasil, a Lagoa dos Patos localiza-se na planície costeira do Rio Grande do Sul e se conecta com o oceano nos municípios de Rio Grande e São José do Norte (Figura 1). A Lagoa possui uma superfície de 10.227 Km² e recebe água de uma bacia de drenagem, a partir das águas dos rios da bacia do Sudeste e da área de drenagem da lagoa Mirim, através do Canal São Gonçalo, formando uma área estuarina (SCHWOCHOW et. al, 2007; MOLLER et. al, 2010).

O estuário da Lagoa dos Patos ocupa uma área de 693,8 Km², apresentando um volume de 1,67x10⁹ m³, sendo considerado um ambiente raso, com profundidade média de 1,74 m (SCHWOCHOW et. al, 2007).

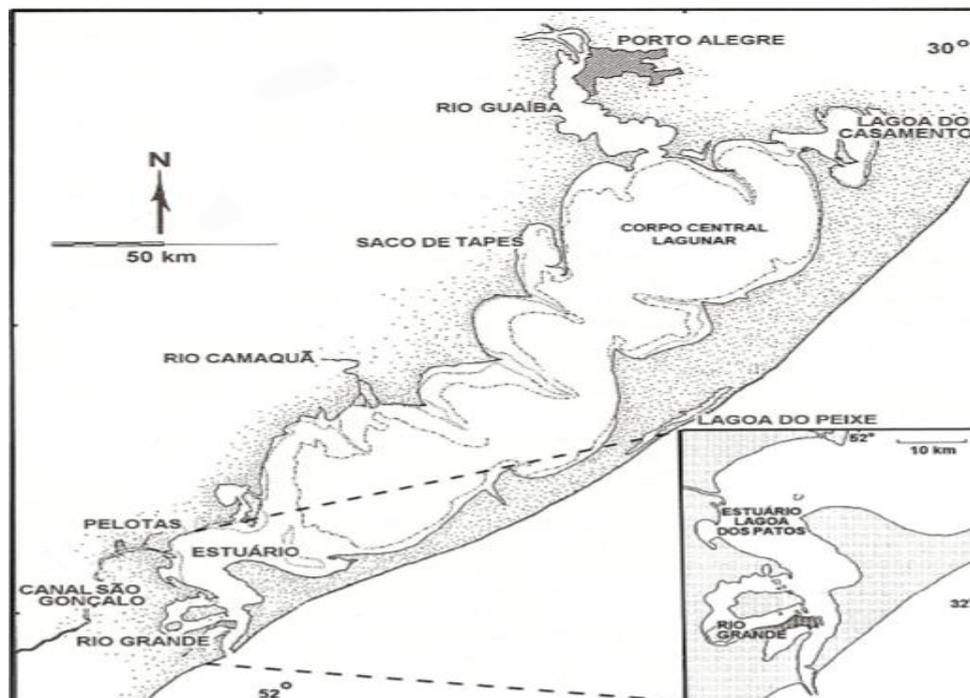


Figura 1. Lagoa dos Patos-RS e suas principais unidades biológicas.

Fonte: SCHWOCHOW, ZANBONI, 2007, p.14.

As trocas das águas da lagoa com o mar são responsáveis pela hidrodinâmica, a dinâmica dos sedimentos e das comunidades de plâncton, nécton, e bentos, e as condições físico-químicas da água. As modificações no regime hidrológico e nos processos ecológicos do estuário são causadas por eventos meteorológicos como o El Niño e a La Niña, os quais influenciam também no transporte e na migração de organismos (SEELIGER, 2010).

A hidrodinâmica da lagoa depende principalmente das relações entre a descarga fluvial e a ação dos ventos. Os ventos de direção nordeste, diminuem o nível do mar, o que leva ao escoamento das águas da lagoa em direção ao oceano. Tal fenômeno é chamado de regime vazante. Já os ventos de sudoeste e sudeste, elevam o nível do mar e provocam uma corrente para o interior da lagoa, fazendo com que aumente os níveis de salinidade e o ingresso de diversos organismos para o estuário. Tal fenômeno é chamado de regime de enchente (WOTTER, 2016; MOLLER et.al, 2010).

A área estuarina da Lagoa dos Patos é de grande importância pois além de abrigar milhares de espécies aquáticas, utiliza-se suas águas para a agricultura, indústria, navegação, consumo interno e lazer (FILHO et.al, 2013; ZANOTTA et.al, 2009).

2.2 Espécies de peixes em estudo

Todos os peixes que foram analisados neste trabalho são encontrados em grandes quantidades no estuário da Lagoa dos Patos.

O *Netuma barba* (Bagre) possui um corpo robusto, fusiforme e sem escamas, sendo o maior bagre do litoral brasileiro, podendo medir até 90 cm e pesar até 30 kg (Figura 2). Alimenta-se de apêndices de siri *Callinectes*,

fragmentos de peixes, detritos e grãos de soja, devido à exportação de grãos da área portuária (BENTO, BENVENUTI, 2008). O Bagre é um peixe demersal, ocorrendo em ambientes marinhos e estuarinos. Penetra no estuário da Lagoa dos Patos, a fim de reproduzir-se em águas menos salinas, onde os juvenis se desenvolvem, retornando ao mar quando adultos. (OLIVEIRA, 2006).



Figura 2. *Netuma barba* (Bagre).

Fonte: Peixes da Lagoa.

A *Mugil platanus* (Tainha) possui um corpo robusto, fusiforme e com escamas grandes, podendo atingir até 50 cm de comprimento e pesar entre 6 a 8 kg (Figura 3). Alimenta-se de detritos, microrganismos bentônicos, bactérias e vegetais em decomposição, associadas ao sedimento inorgânico (BENTO, BENVENUTI, 2008). Migra para o mar aberto para desovar, entre a costa norte do Rio Grande do Sul e o norte de Santa Catarina. Os jovens procuram águas costeiras, penetrando em estuários onde se desenvolvem e à medida que crescem, migram para o mar (OLIVEIRA, 2006).



Figura 3. *Mugil platanus* (Tainha).

Fonte: Peixes da Lagoa

O *Pimelodus maculatos* (Pintado) é um peixe de água doce. Habita remansos das margens dos rios, locais com areia e cascalho no fundo. Prefere desovar em pequenos afluentes (OLIVEIRA). Possui boca larga e inferior, nadadeira dorsal com acúleo forte e base da nadadeira adiposa maior que a base da nadadeira anal, podendo atingir até 50 cm de comprimento e pesar até 2,5 kg (Figura 4). É um peixe onívoro e alimenta-se principalmente de insetos e restos vegetais (FISCHER et. al, 2011)



Figura 4. *Pimelodus maculatos* (Pintado).

Fonte: Peixes da Lagoa

A *Hoplias malabaricus* (Traíra) habita águas paradas de lagos, represas, remansos e rios. Possui um corpo cilíndrico, com escamas, nadadeiras arredondadas e dentes afiados, podendo atingir 60 cm de comprimento e pesar até 4 kg (Figura 5). É um peixe carnívoro, alimentando-se de insetos, rãs e pequenos peixes (OLIVEIRA).



Figura 5. *Hoplias malabaricus* (Traíra).

Fonte: Traíra, Wikipédia.

A *Micropogonias furnieri* (Corvina) entra no estuário na forma de ovos e larvas, vindas do ambiente marinho adjacente. Crescem, aumentam em peso de outubro a abril, maturam e saem para o oceano onde, geralmente, ocorre a primeira reprodução (OLIVEIRA 2006). Possui corpo prateado a dourado, boca inferior com dentes viliformes, estrias oblíquas escuras no dorso e nas laterais, podendo atingir até 75 cm e pesar até 4,5 kg (Figura 6). A corvina alimenta-se de algas, poliquetas, pequenos peixes, crustáceos e moluscos. (FISCHER et. al, 2011).



Figura 6. *Micropogonias furnieri* (Corvina).

Fonte: Pesca.Tur.Br

2.3 Metais na Lagoa dos Patos

Os principais fatores que causam a contaminação das águas e da vida marinha através de diversos poluentes nas regiões costeiras e nos estuários são a disposição de efluentes urbanos, industriais e as atividades agrícolas nestas regiões (FILHO, 2013).

Os metais estão distribuídos na fase aquosa através da coluna d'água e pela água intersticial, na fase sólida por partículas suspensas e no sedimento, e nos organismos aquáticos, sendo dinâmica essa troca de fases entre os ecossistemas (CONCEIÇÃO, 2004). Mais de 90% da carga de metais em ambientes aquáticos está ligada a partículas em suspensão e sedimentos (ZHENG et.al, 2008).

Uma característica fundamental dos metais é a falta de biodegradabilidade. Uma vez introduzidos no ambiente aquático, os metais são redistribuídos em toda a coluna de água, depositados ou acumulados em sedimentos e consumidos pela biota (MAKEDONSKI, 2015).

A presença de um metal em um corpo d'água pode afetar os seres que ali habitam, podendo ser potencialmente tóxico ao organismo ou podendo ser

bioacumulado e ter seu efeito potencializado ao longo da cadeia alimentar. Alguns metais, em quantidades mínimas, desempenham funções importantes no metabolismo dos seres vivos, sendo estes chamados de metais essenciais como Mg, Cu, Zn, etc. Outros, não apresentam função biológica relevante, podendo causar danos ao metabolismo, sendo estes chamados de metais não essenciais como Al, Cd, Hg, Sb, etc. (CAMPOS, 2011; LIMA, MERÇON, 2011).

2.3.1 Cobre, Magnésio e Zinco

Classificados como metais essenciais o Cu, Zn e Mg atuam como cofatores de enzimas responsáveis tanto pelas diversas atividades metabólicas como na resposta imune inata e adquirida (MACÊDO, 2010).

O Cu é um elemento que possui um papel fundamental no equilíbrio metabólico devido à incorporação e especificidade em proteínas enzimáticas e estruturais. É importante para homeostasia de funções fisiológicas como a síntese de melanina e respiração celular (DELGADINHO, 2014). O excesso deste metal pode causar alterações da membrana, alterações funcionais e danos celulares (BARCELOS, 2008). O limite máximo de tolerância para Cu em alimentos é de 30 mg kg⁻¹ (BRASIL, 1995).

O Mg exerce um papel indispensável no metabolismo da glicose, na homeostase insulínica, na síntese de proteínas e ácidos nucleicos, pois atua como cofator em mais de 300 reações metabólicas. Atua também na estabilidade da membrana neuromuscular e cardiovascular, e como regulador fisiológico da função hormonal e imunológica. As recomendações da ingestão de Mg pela Dietary Reference Intakes (DRIs) é de 310 a 320 mg por dia para mulheres e 410 a 420 mg por dia para homens (SEVERO et.al, 2015). Assim

como qualquer nutriente, o excesso de Mg pode causar sérios problemas de saúde, como náusea, diarreia, paralisia respiratória, etc. (EHRlich, 2015).

O Zn possui um papel importante no crescimento, na resposta imune do organismo, na função neurológica e na reprodução. Várias enzimas dependem deste metal para realizar reações químicas vitais. No entanto, o seu excesso pode ser prejudicial ao organismo, acarretando dores de cabeça, vômitos, diarreia, etc. (MILNER, 2015; ZINCO, 2008). O limite máximo de tolerância para Zn em alimentos é de 50 mg kg⁻¹ (BRASIL, 1995).

2.3.2 Alumínio, Cádmio, Mercúrio e Antimônio

Metais como Al, Cd, Hg e Sb são classificados como metais não essenciais, sendo estes geralmente tóxicos, pois não desempenham nenhuma função biológica conhecida (LAVRADAS, 2012).

O Al é considerado prejudicial para humanos, animais e plantas, segundo pesquisas sobre toxicologia ambiental pode causar diversas doenças. Ele é um elemento não essencial, ou seja, não possui nenhum papel biológico conhecido, sendo prejudicial as células nervosas, ósseas e hemopoiéticas. As maiores complicações da toxicidade do Al são efeitos de neurotoxicidade (JAISHANKAR et. al, 2014). De acordo com a FAO o limite máximo provisório para a ingestão semanal de Al é de 7 mg de Al por Kg de massa corporal (DANTAS, 2007).

O Cd pode ser encontrado na crosta terrestre e a sua presença no ambiente é devido a realização de atividades industriais e agrícolas. Estas atividades podem lança-lo para água, solo e ar, fazendo com que esse elemento seja acumulado por organismos aquáticos (SILVA, 2014). É um

elemento bioacumulativo em toda cadeia alimentar podendo causar intoxicações ao seres humanos quando é ingerido alimentos como moluscos, crustáceos e vísceras de mamíferos marinhos, sendo estas as principais fontes de exposição ao Cd. (SILVA, 2014; CAMPOS, 2011). Os problemas ligados a ingestão de Cd são efeitos tóxicos nos rins, pulmões e sistema reprodutor, desenvolvimento de hipertensão e doenças do coração (FERNANDES, MAINIER, 2014). Em relação aos valores de referência, a OMS/FAO, definiu o valor da ingestão diária admissível de $1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Cd (MAGNA et. al, 2014).

Dentre os metais que estão presentes no meio ambiente o Hg é considerado o de maior potencial tóxico (MATINIANO, 2008). Assim como o Cd, sua presença no ambiente é devido à realização de atividades industriais, agrícolas e fontes geológicas (MALAGRINO, 2003). Quando exposto em concentrações tóxicas pode causar distúrbios neurológicos, gastrointestinais, renais, dermatológicos, cardiovasculares e imunitários (JUNIOR, SILVA). O limite máximo de tolerância de Hg em peixes e crustáceos é de $0,5 \text{ mg Kg}^{-1}$ (BRASIL, 1995).

O Sb é um elemento potencialmente tóxico cumulativo que possui propriedades químicas e toxicológicas semelhantes ao arsênio (BIATA et. al, 2017). A exposição ao Sb pode causar efeitos respiratórios, cardiovasculares, gastrointestinais, entre outros (SUNDAR, 2012). O limite máximo de tolerância de Sb em alimentos é de 2 mg Kg^{-1} (BRASIL, 1995).

2.4 Determinação de metais em peixes

Sabe-se que é de suma importância a quantificação de metais em peixes afim de avaliar possíveis riscos no seu consumo para a saúde humana

(KARADEDE et. al, 2004). Para isto, faz-se necessário a utilização de métodos analíticos confiáveis.

Diversos trabalhos vêm sendo relatados na literatura sobre a determinação de metais em peixes, utilizando diferentes técnicas analíticas, principalmente as de espectrometria atômica. Alguns destes trabalhos serão reportados a seguir.

SILVA et. al (2016) determinaram as concentrações de (As, Cd, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb e Se) em diferentes espécies de peixes, utilizando a técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). OLMEDO et. al (2013) determinaram as concentrações de Cd, Pb e Sn peixes utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). LI et. al (2017) determinaram as concentrações de Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Pb e U em 38 espécies de peixes por ICP-MS. YI et. al (2017) determinaram as concentrações de As, Cr, Cd, Cu, Pb, Zn, Hg e Fe em peixes por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP AES). KARADEDE et. al (2004) avaliaram as concentrações de Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn em peixes utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). TURKMEN et. al (2017) determinaram as concentrações de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn em músculos de peixes por ICP AES. ALVES et. al (2018) avaliaram as concentrações de Cu e Zn utilizando por F AAS e Pb e Cr por GF AAS em diferentes espécies de peixes. MAKEDONSKI et. al (2017) avaliaram as concentrações de Cd, As, Pb, Zn e Cu em peixes utilizando a técnica de GF AAS. ABARSHI et. al (2017) também utilizaram a técnica de GF AAS para determinar Cu, Zn, Ni, Pb, Mn, Fe e Cd em músculos de peixes. SILVA et. al

(2016) determinaram as concentrações de As, Cd e Pb em peixes utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

Apesar de existir diversos trabalhos reportados na literatura sobre a determinação de metais em peixes utilizando diversas técnicas analíticas, até o presente estudo não foi reportado na literatura nenhuma utilização da técnica de MIP OES para quantificação de metais em peixes.

2.5 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES)

Na técnica de espectrometria de emissão óptica, os átomos dos analitos de interesse são excitados por uma fonte externa de energia na forma de calor ou energia elétrica. Essa energia é suprida por um plasma, uma chama, uma descarga a baixa pressão ou um laser de potência. Antes da aplicação da fonte de energia os átomos estão normalmente no seu estado fundamental, a energia aplicada leva momentaneamente os átomos a um estado de energia mais alto ou estado de excitação. Após alguns nanosegundos, os átomos excitados relaxam para o estado fundamental, fornecendo suas energias como fótons de radiação visível ou ultravioleta (SKOOG, 2007).

Na técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), um plasma de (N_2 , Ar ou He) estável é produzido utilizando a energia de micro-ondas (ZHAO et. al, 2015). Esta energia utilizada como fonte de excitação é produzida por um magnetron que opera a 2,45 GHz de potência (CORRÊA, 2017; ZHAO et. al, 2015).

Essa técnica possui algumas vantagens em relação às técnicas de absorção atômica, como por exemplo, o MIP OES não necessita de gases inflamáveis e caros (Ar, He...) para a manutenção do plasma, o que torna a técnica mais segura e com baixo custo operacional. Outro exemplo é o alto desempenho que a técnica fornece, a fonte de plasma de micro-ondas fornece melhores limites de detecção e quantificação comparado a técnica de absorção atômica com chama (F AAS), além de ser uma técnica multielementar (AGILENT, 2014; OZBEK et. al, 2016).

A utilização do MIP OES que opera com o plasma de nitrogênio é de ampla vantagem para muitos campos da química analítica, pois o custo operacional é significativamente baixo (RÍOS et. al, 2017). O uso do gerador de nitrogênio faz com que o nitrogênio seja retirado do ar atmosférico, fazendo com que supra de modo contínuo a operação do plasma (AGILENT, 2014).

Suas primeiras aplicações surgiram na década de 1960, e sua comercialização a partir de 2011 (CORRÊA, 2017). Desde então, a utilização do MIP OES tem tido bastante êxito para quantificação de vários elementos em diversas matrizes como, por exemplo, em vinagres (OZBEK et. al, 2016), sementes (HEREDIA, 2016), material biológico (MATUSIEWICZ, ŚLACHCIŃSKI, 2015; MATUSIEWICZ, ŚLACHCIŃSKI, 2016), etanol (DONATI et. al, 2013), fertilizantes (LI et. al, 2013), entre outras amostras.

Ainda assim, diversos estudos vem sendo desenvolvidos com essa técnica, com o objetivo de melhorar suas características analíticas e operacionais. Um dos campos mais importantes destes estudos trata-se dos sistemas de introdução de amostras no plasma. Grande parte dos equipamentos faz uso de sistemas convencionais de introdução de amostras líquidas através de

nebulizadores pneumáticos. No entanto, geralmente a eficiência desses nebulizadores é de cerca de 1 a 5%. A fim de melhorar a eficiência de transporte, uma grande variedade de nebulizadores foram relatados na literatura, como a utilização de nebulizador ultrassônico, nebulização de alta pressão, injeção em fluxo, geração química de vapor, entre outros (MATUSIEWICZ, ŚLACHCIŃSKI, 2017; GINÉ, 1988).

2.5.1.1 Sistema de introdução de amostras *multimode* (MSIS)

O sistema de introdução de amostras *multimode* (MSIS) (do inglês Multimode Sample Introduction System) constitui-se de uma câmara ciclônica que contém dois tubos cônicos verticais localizados verticalmente no centro da câmara. Este sistema permite três opções de modo operacional: nebulização convencional (a amostra é inserida através do nebulizador com as entradas dos tubos cônicos bloqueados), geração de vapor (a amostra acidificada e o agente redutor são bombeados através desses tubos cônicos opostos e misturados no espaço de 1-3 mm no ponto de junção e o nebulizador é bloqueado) ou modo duplo onde ambos os modos funcionam ao mesmo tempo. (FUENTES et. al, 2012; AGILENT, 2016).

A utilização do MSIS permite obter melhores limites de detecção e proporciona um desempenho consideravelmente melhor do que a nebulização convencional. Além disso, elementos que não geram vapor tem sua sensibilidade aumentada. (AGILENT, 2016)

2.6 Geração química de vapor (CVG)

Uma alternativa que se apresenta para os inconvenientes em relação a eficiência de transporte do analito é a transformação do elemento de interesse em um composto volátil através de uma reação química para seu posterior transporte ao atomizador em técnicas de espectrometria atômica. Tal processo é conhecido como geração química de vapor (CVG) (TAKASE et. al, 2002).

A CVG é um método bastante difundido onde metais, metaloides e compostos organometálicos não voláteis formam espécies voláteis ou semi-voláteis através de processos químicos, físicos e biológicos, resultando na transferência dos analitos da fase condensada para a fase gasosa (VIEIRA, 2007).

Dentre as vantagens da técnica encontra-se: o aumento da eficiência de transporte até o atomizador; menores limites de detecção; o analito é separado previamente da matriz, eliminando possíveis interferências de outras espécies; possibilidade de ser acoplada em qualquer método de espectrometria atômica. (TAKASE et.al, 2002).

No entanto, a técnica possui algumas limitações como: possíveis interferências por concomitantes presentes na solução, impedindo a reação de geração de vapor; a cinética da geração de vapor pode ser afetada, devido a fatores físicos na solução; o pH e as concentrações dos reagentes pode afetar alguns elementos, entre outros (TAKASE et.al, 2002).

Existem diversas técnicas de CVG que podem ser utilizadas para gerar vapor das espécies de interesse por reações químicas. Dentre as mais utilizadas destaca-se a geração de hidretos (HG) (CORRÊA, 2017).

2.6.1 Geração de hidretos

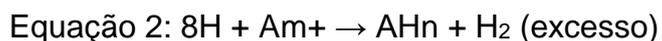
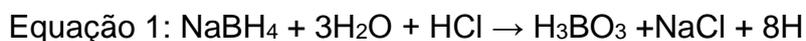
Em 1969, Holak inseriu o conceito da técnica de geração de hidreto (HG). Holak reduziu o arsênio à arsina (AsH_3) pela adição de zinco metálico em meio ácido, utilizando a técnica de F AAS (HOLAK, 1969). No entanto, a adição de metais causava problemas na reprodutibilidade, elevados valores do branco analítico e formação de poucos hidretos voláteis, basicamente a AsH_3 e SeH_2 (ORESTE, 2013).

Para contornar tal situação, em 1972 Braman et. al relatam a capacidade do borohidreto de sódio (NaBH_4) como agente redutor para a determinação de As e Sb (BRAMAN et. al, 1972). A utilização de agentes redutores como o NaBH_4 ou SnCl_2 ampliou o número de elementos determináveis por geração química de vapor, no qual passou a incluir As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn, Te, P, Tl, In, Cd e Hg (TAKASE et. al 2002). Atualmente estudos como de Luna et.al mostraram que elementos como Cu, Au, Ag e Zn também podem ser determinados por HG AAS. (LUNA et. al 2000)

O princípio da técnica de geração de hidreto envolve a redução de um elemento de um estado de oxidação alto para o mais baixo, formando o hidreto volátil (KASA et. al, 2017). Dentre os agentes redutores o NaBH_4 é o mais utilizado devido a sua melhor eficiência em relação a reprodutibilidade e a rápida cinética de reação (DÉDINA, TSALEV, 1995). Devido à instabilidade do NaBH_4 , a solução deve ser preparada em meio alcalino.

Apesar de existir estudos que alegam que a formação dos hidretos ocorre através do mecanismo do hidrogênio não nascente, que considera a formação de compostos intermediários durante a reação de redução (D'ULIVO, 2016), o mecanismo mais aceito descrito para a reação de geração de hidretos é o

mecanismo do hidrogênio nascente ou hidrogênio atômico, que é formado pela hidrólise ácida do agente redutor, sendo este representado pelas equações 1 e 2: (DÉDINA, TSALEV, 1995).



Onde 'A' é o elemento de interesse e 'm' e 'n' são respectivamente a valência do analito.

Para uma melhor eficiência na reação de geração de hidreto em meio ácido a concentração de NaBH_4 , da solução estabilizadora e do ácido utilizado devem ser otimizados para cada analito. As concentrações recomendadas de NaBH_4 para sistemas em batelada é de 0,5 a 10 % (m/v) ou 0,3 a 1 % (m/v) para sistemas em fluxo (TAKASE et.al, 2002). Para a solução estabilizadora de NaOH ou KOH utiliza-se geralmente 0,05 a 2 % (m/v) (DÉDINA, TSALEV, 1995). No sistema NaBH_4 /ácido, pode-se utilizar HCl , H_2SO_4 ou HNO_3 , no entanto o mais utilizado é o HCl (CAVALCANTE, 2014).

O transporte dos hidretos voláteis até o atomizador pode ser feito por transferência direta ou coleta. Na transferência direta a liberação do hidreto da solução é diretamente transportada para o atomizador, e os sistemas mais utilizados são o fluxo contínuo (CF) e injeção em fluxo (FI). Já no modo de coleta o hidreto é retido em um dispositivo de coleta, até que o processo seja completado, para posterior liberação e transporte até o atomizador (DÉDINA, TSALEV, 1995; TAKASE et. al 2002).

2.7 Preparo de Amostra: decomposição ácida com sistema de refluxo

A etapa de preparo de amostra é a mais importante em uma sequência analítica, onde os elementos a serem determinados em solução são convertidos em formas inorgânicas, aptas para serem determinadas (KRUG, 2008; OLIVEIRA, 2003).

Dentre os diferentes métodos de preparo de amostra, os de decomposição se destacam pela sua ampla aplicabilidade. Métodos de decomposição por via seca ou úmida, envolvendo o aquecimento das amostras em sistemas abertos ou fechados, utilizando várias formas de energias, são empregados (OLIVEIRA, 2003).

Uma adequada técnica de decomposição deve ser eficiente, evitando erros sistemáticos por contaminação, sendo de grande importância o uso de reagentes de alta pureza, evitar perdas por volatilização, ser seguro, simples e rápido (NOGUEIRA, 2003).

A decomposição por via úmida provoca um aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante concentrado (HNO_3 , HClO_4 ou H_2SO_4), de misturas de ácidos oxidantes ou mistura de um ácido oxidante com H_2O_2 (KRUG, 2008). No entanto, a utilização de decomposição com ácidos em sistemas abertos convencionais podem levar a riscos de contaminações, perdas de analito por adsorção e perdas de analito por volatilização, devido a necessidade de um tempo excessivo para decompor as amostras. (ALVES et. al, 2018).

Para contornar estes inconvenientes, Ferreira et. al. (2013) aplicaram um novo desenho de dedo frio para determinação de elementos voláteis utilizando a decomposição ácida em sistema aberto, como mostra a figura 7.

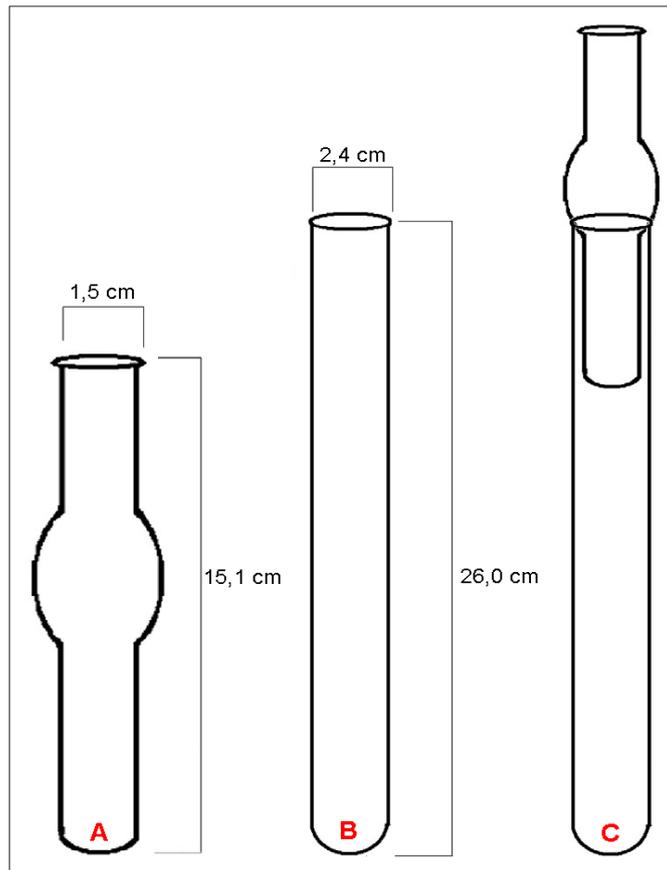


Figura 7. Desenho esquemático de (A) dedo frio (tubo de vidro em forma de dedo que é acoplado ao tubo de digestão), (B) tubo de digestão e (C) sistema de digestão com dedo frio.

Fonte: Adaptado de Ferreira et.al. (2013).

Ainda assim, a técnica possui algumas limitações: o dedo frio não permite um refluxo contínuo de água, o que ao longo do tempo pode aumentar a temperatura e se tornar um recipiente com água em um estado indesejável, ou seja, um “dedo morno”; a condensação pode acumular nos contatos superiores e escorrer pela lateral do tubo; o alívio de pressão pode ocasionar saltos no dedo e dependendo do nível de água, pode projetar para fora desse recipiente. Ou seja, embora simples pode não ser prático e a eficiência pode se reduzir principalmente nos métodos que necessitam de elevados tempos e temperatura para uma digestão.

De modo a melhorar o sistema desenvolvido por Ferreira et. al (2013), o grupo de pesquisa LABMEQUI da UFPEL desenvolveu um novo desenho para o sistema de refluxo. Aos tubos de digestão, foi introduzido o dedo frio, o qual consiste em um sistema com circulação interna de água na temperatura ambiente controlado por um banho termostático, o qual é adaptado aos tubos por intermédio de um encaixe de teflon que contém uma ranhura lateral para alívio de pressão, fazendo com que o sistema opere em pressão atmosférica, como mostra a Figura 8 (ORESTE et. al, 2013).

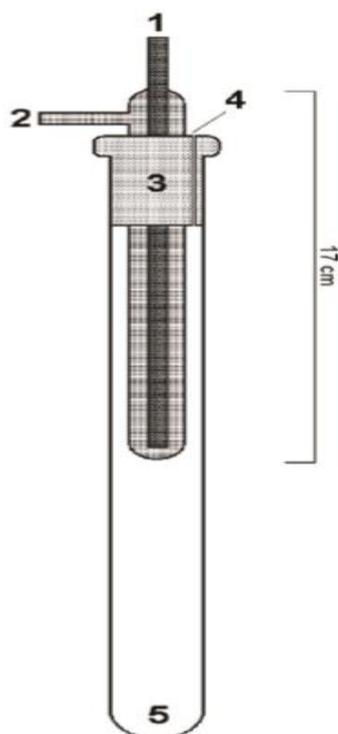


Figura 8. Diagrama esquemático do sistema de refluxo (dedo frio) acoplado ao tubo de digestor 1: entrada de água; 2: saída de água; 3: tampa de PTFE; 4: ranhura para alívio de pressão; 5: tubo digestor.

Fonte: ORESTE et. al, 2013.

O dedo frio possui entrada e saída de água para resfriar a parte superior do tubo, causando o refluxo e a condensação das espécies voláteis, evitando a perda dos mesmos por evaporação. Assim como as espécies voláteis, os ácidos utilizados para digestão também são condensados, não necessitando de reposição dos reagentes durante o processo, consumindo menos reagentes e diminuindo o risco de contaminação. Após a decomposição, a solução residual possui alta concentração de ácidos. No entanto, esse inconveniente quando possível, pode ser resolvido pela diluição da solução final. (FERREIRA et. al, 2013)

Outro modo de converter os inconvenientes da utilização de sistemas abertos é a utilização de sistemas fechados do tipo micro-ondas, pois oferecem maior velocidade na preparação da amostra e redução do risco de contaminação e perdas por volatilização. Porém, os equipamentos para decomposição assistida por radiação micro-ondas ainda apresentam alto custo para uma grande parte de laboratórios de rotina. (MATUSIEWICZ; STANISZ, 2010; ALVES et. al, 2018)

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo principal apresentar os resultados das determinações das concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em amostras de peixes após decomposição ácida com sistema de refluxo utilizando a técnica de MIP OES com sistema *MS/S* para introdução da amostra.

3.2 Objetivos específicos

- Aplicar o método da decomposição ácida com sistema de refluxo para o preparo das amostras de peixes;
- Otimizar os parâmetros do sistema *MS/S* para obter uma melhor eficiência na introdução das amostras no MIP OES;
- Avaliar a exatidão através da análise de materiais de referência certificados e testes de adição de analito;
- Realizar a comparação dos resultados obtidos entre os sistemas de introdução de amostras por nebulização convencional e *MS/S*;
- Determinar as concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn nas cinco amostras de peixes (Bagre, Tainha, Pintado, Traíra e Corvina) por MIP OES;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

As determinações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn foram realizadas utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, da Agilent Technologies, modelo 4200 (Melbourne, Australia). Para a introdução de amostra no MIP OES foram utilizados dois sistemas, um deles composto por câmara de nebulização ciclônica tipo duplo passo (nebulização convencional) e o sistema *multimode* de introdução de amostras (*MSIS*), que opera de modo simultâneo a nebulização convencional e a geração química de vapor, conforme é apresentado na Figura 9. O nebulizador de ambos sistemas foi do tipo OneNeb inerte.

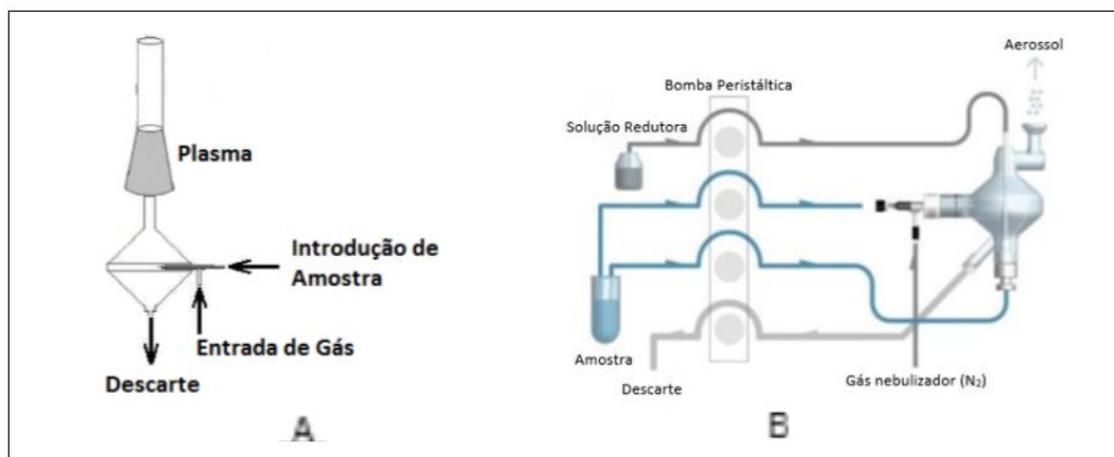


Figura 9. Sistema de nebulização convencional (A) e sistema *multimode* (B).

Fonte: Adaptado de AGILENT, 2016.

O gás utilizado para a manutenção do plasma foi o nitrogênio, obtido do ar atmosférico, a partir de um gerador de nitrogênio (Agilent, modelo 4107). As

condições operacionais do MIP OES para a determinação dos analitos estão apresentadas nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Condições operacionais do MIP OES

Parâmetros do Instrumento	Condições de operação
Frequência do Magnetron (MHz)	2450
Potência aplicada (kW)	1,0
Vazão de introdução da amostra (mL min ⁻¹)	2
Tempo de leitura (s)	5
Quantidade de replicatas	3
Tempo de estabilização (s)	15
Correção de sinal de fundo	Automático

Tabela 2. Condições operacionais do MIP OES.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Vazão do nebulizador (L min ⁻¹)	Posição de visualização do plasma (nm)
Al	396,152	0,95	0
Cd	228,802	0,55	10
Cu	324,754	0,7	0
Hg	253,652	0,75	0
Mg	285,213	0,9	0
Sb	217,581	0,75	0
Zn	213,857	0,45	0

Para o preparo das amostras de peixe, utilizou-se um bloco digestor convencional modelo MA-4025 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Aos tubos de digestão, foram acoplados os sistemas de refluxo (dedo frio) com um encaixe de Teflon que apresenta uma ranhura lateral para alívio de pressão. O sistema

citado tem circulação interna de água com temperatura controlada de 15 °C através de um banho termostatizado modelo MA-083 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Maiores informações sobre o sistema podem ser encontradas no trabalho de Oreste, (2013). As amostras foram pesadas utilizando um balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 (Pine Brook, NJ, EUA) com uma resolução de 0,1 mg e capacidade máxima de 210 g.

4.2 Materiais e Reagentes

Os reagentes utilizados foram todos de grau analítico. Para o preparo das soluções, água desionizada obtida a partir de um sistema de destilação de vidro modelo MA078/5 (Marconi) e posteriormente eluída em um desionizador modelo CS1800 Evolution (Permutation) foi utilizada. Os ácidos utilizados foram HNO₃ 65 % (m/m) da Vetec e HCl 37 % (m/m) da Química Moderna, ambos bidestilados em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi). Foi utilizado também H₂O₂ 35 % (m/m) da Dinâmica.

As soluções redutoras foram preparadas a partir dos reagentes borohidreto de sódio 96,0 % (Fluka) e hidróxido de sódio 99,0 % (Vetec). As soluções padrão utilizadas foram preparadas a partir de soluções estoque monoelementar contendo 1000 mg L⁻¹ de Hg (Fluka). Para os demais elementos foi utilizada a solução padrão multielementar contendo 100 mg L⁻¹ de cada analito (Sigma-Aldrich).

Os materiais de referência certificados (CRMs) utilizados foram o TORT-2 (hepatopâncreas de lagosta), DORM-3 (músculo de peixe), e DOLT-4 (fígado de peixe) todos do National Research Council Canada (NRC); SRM 2976

(tecido de mexilhão) e SRM 1546 (homogeneizado de carne), do National Institute of Standards and Technology (NIST).

As vidrarias foram mantidas imersas em solução de HNO₃ 10 % (v/v) por 48h, em seguida lavadas várias vezes com água desionizada e secas à temperatura ambiente.

4.3 Amostras

As amostras de peixes de diferentes espécies como Bagre, Tainha, Pintado, Traíra e Corvina foram adquiridas na forma de filés (limpos) no Mercado Público de Pelotas. Os filés foram triturados em um processador (Philips Walita) para melhor homogeneização e foram congelados a -16°C até o momento do preparo da amostra para análises.

4.4 Método para o preparo de amostra

Para o preparo das amostras de peixes, utilizou-se o método que foi desenvolvido por ALVES et al. (2018). Foram pesados aproximadamente 0,25 g de amostras de peixe *in natura* diretamente nos tubos de digestão e adicionaram-se 5 mL de HNO₃ 65 % (v/v). Em seguida, o sistema de refluxo foi acoplado aos tubos de digestão, e então os tubos foram levados ao aquecimento no bloco digestor por 2 horas a 150 °C. Passados $\frac{3}{4}$ do tempo de decomposição previsto, após o resfriamento dos tubos adicionaram-se 2 mL de H₂O₂ e deixou-se por mais 30 minutos no bloco digestor. Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, a solução resultante foi transferida de forma quantitativa para frascos volumétricos de polipropileno e avolumadas a

50 mL com água desionizada. Todas as amostras foram decompostas em triplicatas e os brancos analíticos foram preparados da mesma forma.

4.5 Validação analítica

As curvas de calibração para o sistema de introdução de amostra por nebulização convencional foram preparadas através de soluções padrão em meio de HNO₃ 2,2 % (v/v) e H₂O₂. Para o sistema *MS/S*, os padrões de calibração foram acidificados com HCl 2 % (v/v) para reação com NaBH₄.

Os parâmetros de mérito avaliados para a validação foram: faixa linear de trabalho, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), linearidade, sensibilidade, precisão e exatidão. Todos os cálculos empregados estão baseados nas orientações do guia de validação do INMETRO (2011).

4.5.1 Faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação

A faixa linear de trabalho empregada para o sistema *MS/S* foi de 10 a 250 µg L⁻¹ para todos analitos. Para o sistema convencional a faixa linear de trabalho foi de 0,1 a 5 mg L⁻¹.

O LD e LQ foram calculados a partir das equações 1 e 2, respectivamente:

$$\text{Equação 1: } LD = 3(\sigma / a)$$

$$\text{Equação 2: } LQ = 10(\sigma / a)$$

Onde, σ é o desvio-padrão de 10 leituras do branco analítico da curva de calibração e a é o coeficiente angular da curva de calibração.

4.5.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir do coeficiente de correlação linear das curvas de calibração (R), as quais foram consideradas satisfatórias curvas com valores de $R \geq 0,99$.

4.5.3 Precisão e Exatidão

A precisão é verificada através do valor do desvio padrão relativo (RSD) sendo este obtido através da equação 3:

$$\text{Equação 3:} \quad \text{RSD (\%)} = (\text{SD}/\text{X}) \cdot 100$$

Onde, SD é a estimativa do desvio padrão das medidas e X é igual a média das concentrações das medidas.

A avaliação da exatidão foi realizada através da análise de materiais de referência certificados, testes de adição de analito e comparação dos resultados entre os métodos de introdução de amostras por nebulização convencional e sistema *MSIS*. A exatidão é dada pelo valor da recuperação, na qual é calculado através das equações 4 e 5:

$$\text{Equação 4:} \quad \text{Recuperação (\%)} = (\text{C} / \text{C}_{\text{MRC}}) \cdot 100$$

Onde, C é concentração média obtida do analito para n repetições e C_{MRC} é a concentração informada no certificado do analito.

$$\text{Equação 5:} \quad \text{Recuperação (\%)} = [(\text{C}_1 - \text{C}_2) / \text{C}_3] \cdot 100$$

Onde, C_1 é a concentração média do analito na amostra fortificada, C_2 é a concentração do analito na amostra sem adição do mesmo e C_3 é a concentração de analito adicionado à amostra.

Considerou-se o intervalo de recuperação de 80 a 120% como satisfatório para aceitação da exatidão da metodologia.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimizações dos parâmetros operacionais para o sistema *multimode (MSIS)*

O sistema *MSIS* para introdução de amostras no plasma permite obter um aumento na sensibilidade para elementos formadores de hidretos ou vapor frio, bem como para outros elementos em comparação com o sistema de nebulização convencional (AGILENT, 2016). Desta forma, como cada espécie formadora de hidreto possui particularidades para a reação de geração de vapor, alguns parâmetros precisam ser otimizados, tais como a concentração do agente redutor NaBH_4 em meio de NaOH e a concentração do carreador (HCl), de modo a obter a máxima eficiência do sistema.

O efeito da concentração de HCl foi avaliado em função da intensidade de emissão de Al , Cd , Cu , Hg , Mg , Sb e Zn na faixa de 0,5 a 5 % (v/v), utilizando soluções padrão contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ dos elementos de interesse. Para a solução redutora, fixou-se a concentração de NaBH_4 em 0,25 % (m/v) em meio de NaOH 0,5 % (m/v). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 10.

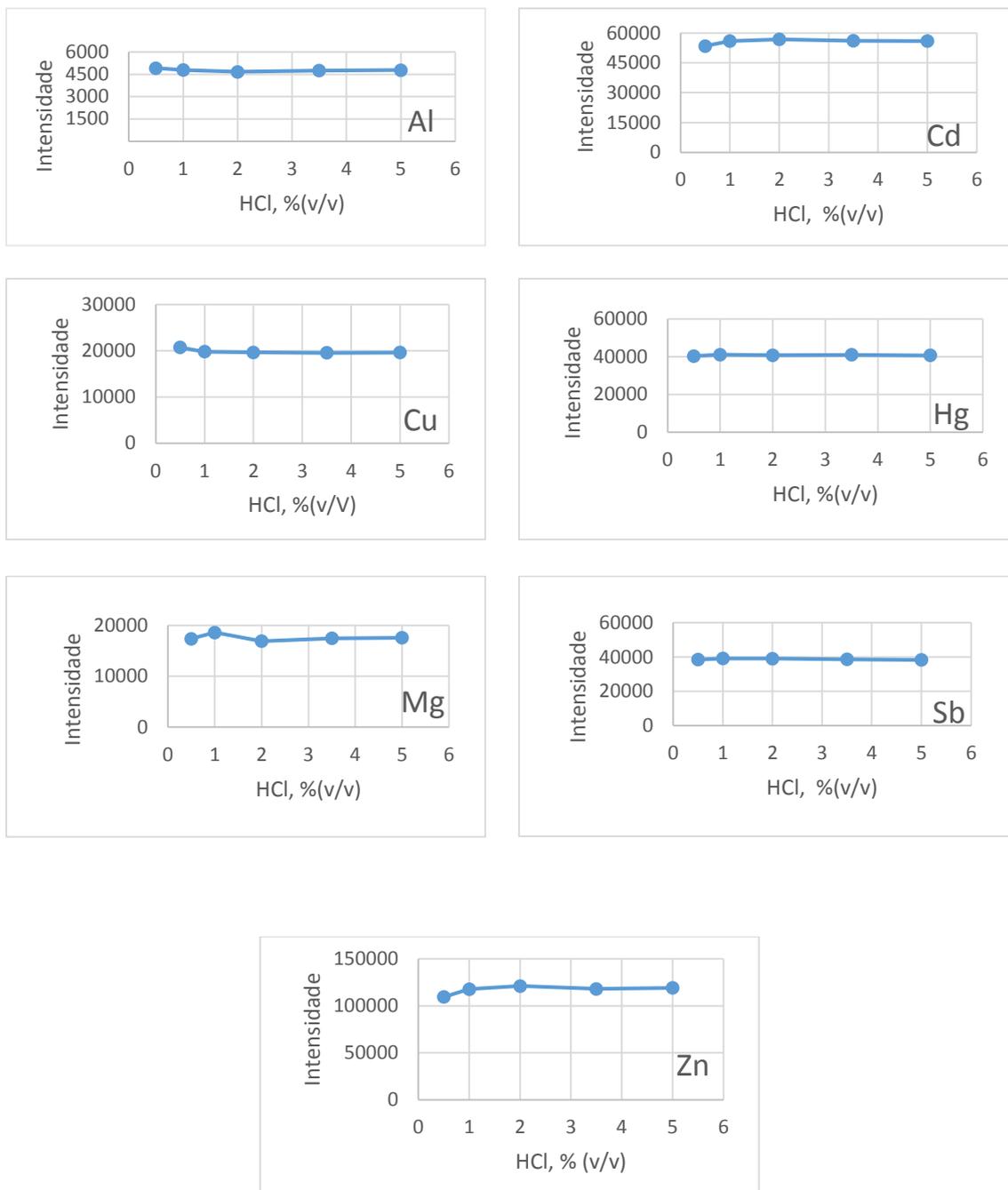


Figura 10. Efeito da concentração de HCl para Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn usando o sistema MS/S. (—●—) solução padrão.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 10 é possível observar que não houve variação significativa nas intensidades dos analitos em estudo variando a concentração de HCl. A concentração de HCl 2 % (v/v) foi

escolhida, para não haver sobrecarga na tocha do MIP OES causada por excesso de acidez.

Da mesma forma que o HCl, as concentrações do agente redutor NaBH_4 também foram otimizadas em um intervalo de 0,25 a 2 % (m/v) e fixando a concentração de HCl em 2 % (v/v). Os resultados obtidos deste estudo estão apresentados nas Figura 11.

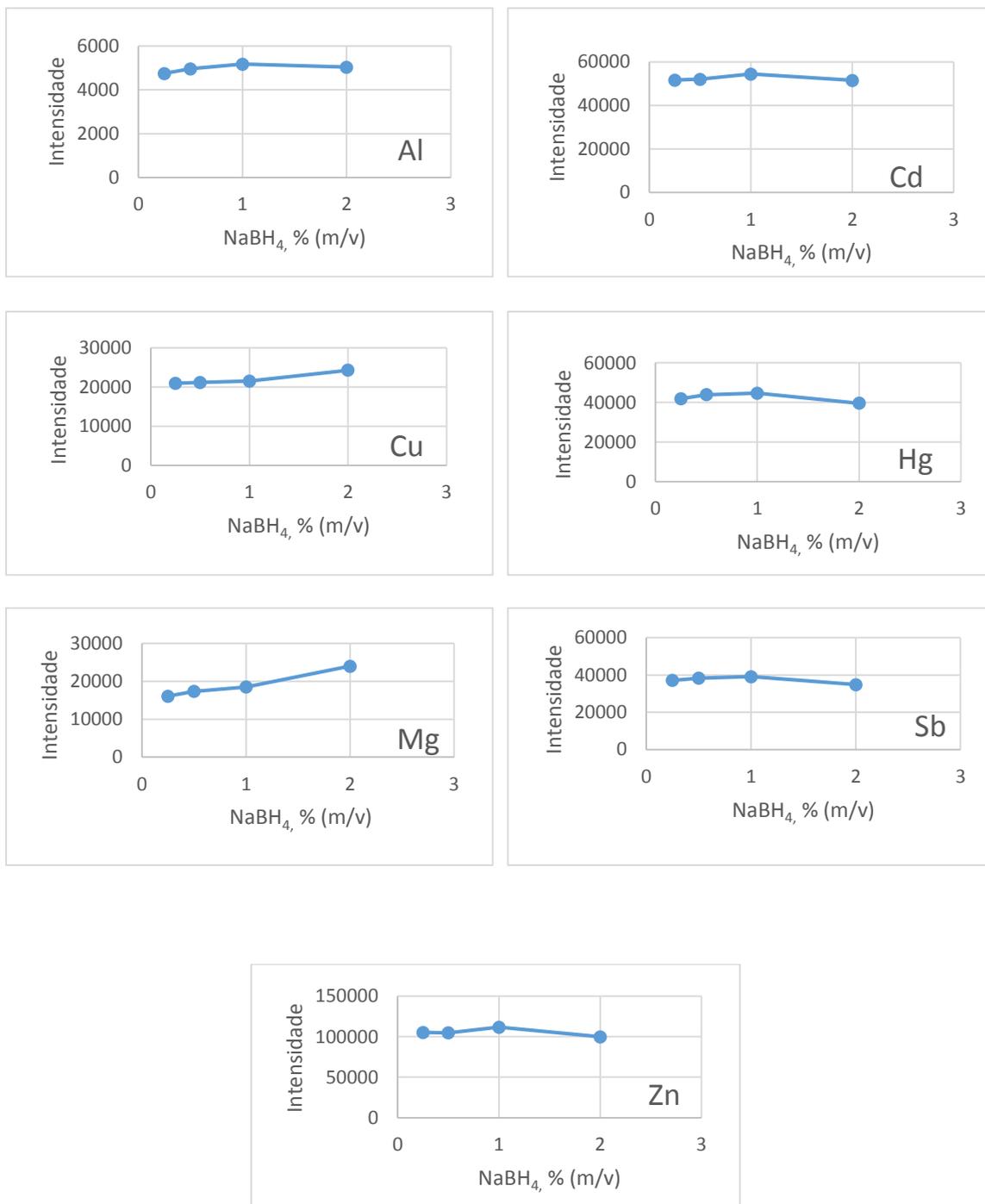


Figura 11. Efeito da concentração de NaBH₄ para Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn usando o sistema MS/S. (—●—) solução padrão.

De acordo com os resultados da Figura 11, observa-se que o aumento da concentração de NaBH₄ não provocou variações significativas nas intensidades de alguns analitos. Para o Cd, Hg, Sb e Zn foi observado um pequeno

decréscimo do sinal a partir de 1 % (m/v). Este fato pode estar relacionado com a diluição do vapor pelo excesso de gás hidrogênio produzido na reação química dentro do sistema *MS/S* (LISBOA, 2016). Sendo assim, foi adotada a concentração de NaBH₄ 0,5 % (m/v) para os estudos.

5.2 Parâmetros de mérito

Após realizadas as otimizações, foram obtidos os parâmetros de mérito para as determinações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn nas amostras de peixes usando os dois sistemas de introdução de amostras no plasma: *MS/S* e nebulização convencional. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3. Parâmetros de mérito obtidos pelo sistema *MS/S*.

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	a ($\text{L } \mu\text{g}^{-1}$)	LD (mg kg^{-1})	LQ (mg kg^{-1})	R
Al	10 - 250	29,1	0,04	0,13	0,999
Cd	10 - 250	28,96	0,19	0,64	0,999
Cu	10 - 250	138,6	0,01	0,05	0,999
Hg	10 - 250	86,5	0,015	0,05	0,999
Mg	10 - 250	229,7	0,002	0,008	0,999
Sb	10 - 250	8,7	0,6	1,98	0,996
Zn	10 - 250	48,4	0,008	0,03	0,999

a: inclinação da curva, LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação e R: coeficiente de correlação linear.

Tabela 4. Parâmetros de mérito obtidos pela nebulização convencional.

Analito	Faixa Linear (mg L⁻¹)	a (L mg⁻¹)	LD (mg kg⁻¹)	LQ (mg kg⁻¹)	R
Al	0,1 - 5	34577,2	1,2	3,9	0,999
Cd	0,1 - 5	29464,8	0,23	0,76	0,999
Cu	0,1 - 5	182806,4	0,43	1,43	0,999
Hg	0,1 - 5	5045,8	0,59	1,9	0,971
Mg	0,1 - 5	300263,4	0,053	0,18	0,999
Sb	0,1 - 5	6447,3	0,52	1,7	0,999
Zn	0,1 - 5	22178,3	0,09	0,3	0,999

a: inclinação da curva, LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação e R: coeficiente de correlação linear.

Através dos resultados dos parâmetros de mérito para ambos sistemas, é possível observar que ambas curvas de calibração apresentaram coeficiente de correlação linear maiores que 0,99, indicando a boa linearidade para os dois sistemas de introdução de amostras, com exceção do Hg que pelo sistema de nebulização convencional obteve coeficiente de correlação linear menor que 0,99.

Para o sistema *MSIS* foram obtidos menores limites de detecção e quantificação para a maioria dos analitos, em função da geração química de vapor juntamente com a nebulização convencional, promovendo desta forma um aumento da sensibilidade, conforme pode ser observado pelos valores dos coeficientes angulares das curvas obtidos.

Em relação a outras técnicas multielementares, o MIP OES com sistema *MSIS* permitiu neste trabalho, alcançar menores limites de detecção e quantificação. Por exemplo, FILHO et. al. (2013) ao avaliar metais em pescados utilizando a técnica de ICP OES obteve limites de quantificação de

6,92; 0,87; 5,30; e 7,40 mg Kg⁻¹ respectivamente para Al, Cd, Cu e Zn. No presente estudo obteve-se limites de quantificação de 0,13; 0,64; 1,43 e 0,03 mg Kg⁻¹ respectivamente para Al, Cd, Cu e Zn. Outro exemplo é o de COLLA et. al. (2018) que avaliou as concentrações de Cd, Cu, Ni e Zn em diferentes espécies de peixes do estuário da Bahía Blanca na Argentina, utilizando o ICP OES. COLLA et. al. (2018) obteve limites de detecção 1,4 mg Kg⁻¹ para Cu e 0,28 mg Kg⁻¹ para Zn, sendo estes limites acima dos encontrados neste estudo utilizando a técnica de MIP OES com sistema *MS/S*.

5.2.1 Avaliação da Exatidão

5.2.1.2 Análise de materiais de referência certificados

Para avaliar a exatidão, foram analisados diferentes materiais de referência certificados de materiais biológicos, conforme descrito na seção experimental. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5. As análises foram realizadas usando o sistema *MS/S* para introdução das amostras no plasma.

Tabela 5. Resultados de concentração obtidos de Al, Cd, Cu, Mg e Zn nos CRMs (n=3).

	Valor certificado (mg kg⁻¹)	Valor encontrado (mg kg⁻¹)	RSD (%)	Recuperação (%)
TORT-2				
Cd	26,7 ± 0,6	27,9 ± 0,2	0,7	104,4
Cu	106 ± 10	108,8 ± 0,2	0,18	102,6
DORM-3				
Zn	51,3 ± 3,1	42,2 ± 0,9	2,13	82,3
DOLT-4				
Mg	1500*	1200,3 ± 125,4	10,4	80
Cd	24,3 ± 0,8	21,1 ± 0,03	0,17	87
Cu	31, 2 ± 1,1	30,7 ± 0,4	1,3	98,4
SRM 2976				
Al	134 ± 34	130 ± 1,3	1,0	97
SRM 1546				
Mg	163 ± 11	175,4 ± 7,6	4,3	107,6

*Valor informado

De acordo com os resultados obtidos a partir das análises dos materiais de referência certificados, observou-se uma boa exatidão, comprovada pela concordância entre os valores de concentração encontrados com os valores certificados ou informados para os analitos, com recuperações variando entre 80 a 107,6 %. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) foram menores que 10,4 %, demonstrando a boa precisão das medidas.

5.2.1.3 Teste de adição de analito

Para avaliar a exatidão também foram realizados testes de adição de analito para os elementos que não foi possível avaliar pelo CRM. Foram avaliados três níveis de concentrações para ambos sistemas de introdução de amostras investigados (*MSIS* e nebulização convencional). Para o sistema *MSIS*, os níveis de concentrações foram 50, 100 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o sistema de nebulização convencional foram 0,1; 0,25 e 0,5 mg L^{-1} . A amostra utilizada para os testes de adição do analito foi a amostra de Corvina. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Tabela 6. Concentrações obtidas de Hg e Sb por MIP OES utilizando o sistema *MS/IS* após diferentes adições (n=3).

Analito	Sem adição	50 µg L⁻¹	Recup. (%)	100 µg L⁻¹	Recup. (%)	200 µg L⁻¹	Recup. (%)
Hg	<LD	52,74 ± 0,58	105,5	115,72 ± 0,33	115,72	186,22 ± 0,71	93,11
Sb	<LD	53,43 ± 0,44	106,86	108,68 ± 1,38	108,68	206,57 ± 10,46	103,3

Tabela 7. Concentrações obtidas de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb, e Zn por MIP OES utilizando o sistema de nebulização convencional após diferentes adições (n=3).

Analito	Sem adição	0,1 mg L⁻¹	Recup. (%)	0,25 mg L⁻¹	Recup. (%)	0,5 mg L⁻¹	Recup. (%)
Al	<LD	0,11 ± 0,01	105	0,24 ± 0,01	98	0,52 ± 0,01	104
Cd	<LD	0,08 ± 0,01	80	0,2 ± 0,01	80	0,41 ± 0,01	83
Cu	<LQ	0,09 ± 0,019	90	0,21 ± 0,01	84	0,41 ± 0,01	83
Hg	<LD	<LD	0	<LD	0	<LD	0
Mg	0,33 ± 0,01	0,42 ± 0,23	95	0,49 ± 0,01	66	0,73 ± 0,01	81
Sb	<LQ	0,22 ± 0,01	225	0,34 ± 0,01	138	0,55 ± 0,01	111
Zn	<LD	0,04 ± 0,01	40	0,17 ± 0,01	70	0,38 ± 0,01	76

Como é possível observar, usando o sistema *MS/S* foram obtidas boas recuperações para todos os elementos, tanto na análise do CRM como no teste de adição de analito ficando estas entre 80 a 115,72 %, indicando a boa exatidão das medidas. Já para o sistema de nebulização convencional, apenas quatro elementos tiveram boas recuperações. Hg, Sb e Zn tiveram recuperações abaixo do valor recomendando pela AOAC que é de 80 a 120 %, demonstrando que para alguns elementos, principalmente os que geram hidretos, o sistema de nebulização convencional não é tão sensível e exato quanto o sistema *MS/S* e uma melhor otimização das condições de reação para estes analitos seria necessário.

5.3 Determinação de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em amostras de peixes por MIP OES com sistema *MS/S*.

As concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb, e Zn em cinco espécies de peixes típicos do estuário da Lagoa dos Patos foram determinadas utilizando a técnica de MIP OES com o sistema *MS/S* para a introdução da amostra no plasma. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 8. Os valores de desvio padrão relativo variaram entre 0,1 a 7%, indicando uma boa precisão das medidas.

Tabela 8. Concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb, e Zn em peixes por MIP OES com sistema MS/S. Valores em mg kg⁻¹ ± SD.

Analito	Bagre	RSD (%)	Tainha	RSD (%)	Traíra	RSD (%)	Pintado	RSD (%)	Corvina	RSD (%)
Al	6,43 ± 0,22	3,44	<LQ		24,7 ± 0,26	1,1	<LQ		<LD	
Cd	<LQ		<LD		<LD		<LQ		<LD	
Cu	<LQ		<LQ		<LQ		<LQ		<LD	
Hg	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Mg	175,88 ± 5,87	3,33	211,25 ± 14,6	7,0	172,6 ± 1,77	1,0	188,66 ± 0,15	0,1	168,2 ± 1,2	0,71
Sb	<LQ		<LQ		<LQ		<LQ		<LD	
Zn	<LQ		<LQ		23,1 ± 0,12	0,54	<LQ		<LQ	

Para as amostras de Bagre e Traíra as concentrações de Al encontradas ficaram na faixa de 6,43 a 24,7 mg kg⁻¹, sendo o valor mínimo próximo ao encontrado por FILHO et. al (2013) em amostra de Bagre que é de 6,04 mg kg⁻¹. As concentrações encontradas neste estudo ficaram abaixo do limite máximo provisório para a ingestão semanal de Al que é de 7 mg de Al por Kg de massa corporal (DANTAS, 2007). Para as demais amostras as concentrações de Al ficaram abaixo do LD e do LQ.

As concentrações de Mg encontradas nas amostras de peixes variaram de 168,2 a 211,25 mg kg⁻¹. Apesar de não existir legislação específica para a quantidade de Mg em alimentos, existe uma recomendação de ingestão diária que é de 310 a 320 mg por dia para mulheres e 410 a 420 mg por dia para homens.

Para o Zn a concentração encontrada foi de 23,1 mg kg⁻¹ para a Traíra, sendo este valor próximo ao encontrado por FILHO et. al (2013) que é de 20,97 mg kg⁻¹. A concentração encontrada neste estudo está dentro limite máximo de tolerância (LTM) que é de 50 mg kg⁻¹ (BRASIL, 1995) em pescados, não indicando alguma contaminação nesta amostra. Para as demais amostras, as concentrações ficaram abaixo do LQ.

Para Cd, Cu, Hg e Sb as concentrações ficaram abaixo do LD e do LQ para todas as amostras.

Como é possível observar, as maiores concentrações de Al e a concentração de Zn foram encontradas para a amostra de Traíra. Tais resultados podem estar atribuídos ao fato de que a Traíra é um peixe carnívoro, alimenta-se de animais que estão no nível maior na cadeia alimentar aquática, o que indica que as maiores concentrações são resultados do

acúmulo de metais em função do fenômeno de biomagnificação (FILHO et. al, 2013).

5.3.1 Comparação das concentrações das amostras utilizando o sistema de nebulização convencional

Afim de comparar a eficiência do sistema *MSIS* como método de introdução de amostra no plasma para a determinação de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em peixes, foi realizada uma comparação dos resultados usando o sistema de nebulização convencional. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Concentrações de Al, Cd, Cu, Hg, Mg, Sb e Zn em peixes por MIP OES com sistema de nebulização convencional.

Analito	Bagre	RSD (%)	Tainha	RSD (%)	Traíra	RSD (%)	Pintado	RSD (%)	Corvina	RSD (%)
Al	<LQ		<LQ		<LQ		<LD		<LD	
Cd	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Cu	<LD		<LD		<LQ		<LD		<LD	
Hg	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Mg	155,53 ± 8,4	5,41	191,54 ± 8,7	4,53	170,7 ± 12,6	7,35	167,5 ± 17	10,12	167,7±16,93	8,54
Sb	<LD		<LD		<LD		<LD		<LQ	
Zn	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 9, com o sistema de nebulização convencional para a introdução de amostra no plasma, foi possível quantificar apenas o Mg, no qual as concentrações variaram de 155,53 a 191,54 mg kg⁻¹. Já para o sistema *MS/S* foi possível quantificar Al, Mg e Zn, mostrando que o sistema *MS/S* permite menores limites de detecção devido ao aumento da eficiência de transporte até o instrumento em função da geração química de vapor, principalmente para aqueles elementos que formam vapor.

A eficiência da utilização do sistema *MS/S* é verificada também através dos resultados dos parâmetros de mérito, onde obteve-se boas recuperações entre 80 a 115,72% para todos elementos em estudo. Já com a utilização da nebulização convencional foi possível obter boas recuperações apenas para quatro elementos. Hg, Sb e Zn tiveram recuperações entre 0 a 225%, sendo estas fora do recomendando pela AOAC que é de 80 a 120%.

6. CONCLUSÃO

A utilização da decomposição ácida com sistema de refluxo como método de preparo da amostra aliado a técnica de MIP OES mostrou-se ser uma boa alternativa para uma análise multielementar e com baixo custo operacional comparado à outras técnicas.

O sistema de introdução de amostras *MSIS* mostrou-se mais eficiente comparado à nebulização convencional, comprovado pelos bons resultados obtidos nos parâmetros de mérito e exatidão do método. Foi possível observar que as concentrações encontradas dos analitos nas amostras de peixes do tipo Bagre, Tainha, Traíra, Pintado e Corvina estão dentro dos limites permitidos pela legislação, não indicando alguma contaminação nestas amostras.

No entanto, é de suma importância um monitoramento contínuo tanto nestas espécies de peixes que foram analisadas como em outras espécies, afim de avaliar a real contaminação deste alimento indispensável na dieta humana.

REFERÊNCIAS

ABARSHI, M.M.; DANTALA, E.O.; MADA, S.B. Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of croaker fish from oil spilled rivers of Niger Delta region, Nigeria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.7, n.6, p.563-568, 2017.

AGILENT TECHNOLOGIES. Especificações MP-AES Agilent 4200. 8 p., 2014. Disponível em: <<http://cn.agilent.com/cs/library/specifications/public/5991-3445PTBR.pdf>>. Acesso em: 30 dez.2017.

AGILENT TECHNOLOGIES. Flexible sample introduction with the Multimode Sample Introduction System. 2016.

AIZPURÚA, I.C.M.; FILHO, A.T.; SAKUMA, A.M.; ZENEBON, O. Mercúrio total em cação comercializado em São Paulo - SP, Brasil. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. vol.19, n.3, p. 429-432, 1999.

ALVES, M.M.; MEDINA, A.L.; PINTO, A.M.T.; ANTUNES, A.C.N.; FILHO, P.J.S.; RIBEIRO, A.S.; VIEIRA M.A. Evaluation of the Concentration of Cu, Zn, Pb and Cr in Different Fish Species from the São Gonçalo Channel in Pelotas-RS, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.29, n.2, p. 285-296, 2018.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC (US). AOAC Official methods of analysis. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. Washington: AOAC, 2016.

BARCELOS, Tânia Dalila de Jesus. **Cobre: vital ou prejudicial para a saúde humana?**. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Faculdade de

Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2008. Disponível em:< https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/747/1/Cobre_Vital%20ou%20Prejudicial%20para%20a%20Sa%C3%BAde%20Humana%20%20T%C3%A2nia%20Barce.pdf>. Acesso em:29 dez. 2017.

BENTO, D.M.; BEMVENUTI, M.A. Os peixes de água doce da pesca artesanal no Sul da Lagoa dos Patos, RS- Subsídios ao ensino escolar. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v.3, n.2, p.33-41, 2008.

BIATA, R. N.; NYABA, L.; RAMONTJA, J.; MKETO, N.; NOMNGONGO, P. N. Determination of antimony and tin in beverages using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry after ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid phase microextraction. **Food Chemistry**, v. 237, p. 904-911, 2017.

BRAMAN, R.S.; JUSTEN, L.L.; FOREBACK, C.C. Direct volatilization-spectral emission type detection system for nanogram amounts of arsenic and antimony, **Analytical Chemistry**, v. 44, p. 2195-2199, 1972.

BRASIL. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 09 de abril de 1965.

CAMPOS, Dulce. Metais no organismo humano. Metais ambiente e vida, 2011. Disponível em:<<http://dulce-campos.com/wordpress/wpcontent/uploads/2011/11/Metais-no-Organismo-Humano.pdf>>. Acesso em: 28 dez. 2017.

CAVALCANTE, Dannuza Dias. **Estratégias analíticas para determinação de arsênio e selênio em amostras de alimentos empregando a espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos**. 2014.

112f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

COLLA, N. S. L.; BOTTÉ, S. E.; MARCOVECCHIO, J. E. Metals in coastal zones impacted with urban and industrial wastes: Insights on the metal accumulation pattern in fish species. **Journal of Marine Systems**, v. 181, p. 53-62, 2018.

CONCEIÇÃO, Gilberto. **Distribuição de elementos-traço em sedimentos superficiais do Rio Itajaí-Mirim em Santa Catarina**. 2004. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Regional de Blumenau-FURB, Blumenau, 2004. Disponível em: < <http://docplayer.com.br/17030934-Universidade-regional-de-blumenau-furb.html> >. Acesso em: 28 dez.2017.

CORRÊA, Marília Guidotti. **Determinação de metais em água doce superficial por MIP OES com introdução de amostra através do sistema *multimode***. 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

CORVINA. Pesca.Tu.Br. Disponível em: < <http://www.pesca.tur.br/peixes/agua-salgada/corvina/> >. Acesso em: 27 dez. 2017.

CRISPINO, Carla Cripa. **Determinação de As, Sb e Se em material agrônômico por espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido por geração de hidretos (HG-ICP-OES)**. 2005. 95f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005. Disponível em:<<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/6620/>

DissCCC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 5 jan. 2018.

DANTAS, S. T.; SARON, E. S.; DANTAS, F. B. H.; YAMASHITA, D. M.; KIYATAKAP. H. M. Determinação da dissolução de alumínio durante cozimento de alimentos em panelas de alumínio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 291-297, 2007.

DELGADINHO, Michael Joe Cruz. **Distúrbios do metabolismo do cobre, ferro e zinco**. 2014. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014. Disponível em: <http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4495/1/PPG_19710.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2017.

DÉDINA, Jirí; TSALEV, Dimiter L. **Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry**. v.130. New York: John Wiley & Sons, 1995. 526 p

DONATI, G.L.; AMAIS, R.S.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J.A. Direct analysis of Cr, Ni, Pb and V in ethanol fuel by Microwave Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Agilent Technologies**, v. 28, p. 755-759, 2013.

EHRlich, Steven D., NMD,. Solutions Acupuncture, uma prática privada especializada em medicina complementar e alternativa, Phoenix, AZ. VeriMed Healthcare Network, 2015. Disponível em:<<https://www.umm.edu/health/medical/altmed/supplement/magnesium>>. Acesso em: 29 dez. 2017.

FERNANDES, L.H.; MAINIER, F.B. Os riscos da exposição ocupacional ao cádmio. **Sistemas & Gestão**, v.9, n.2, p. 194-199, 2014.

FERREIRA, S. L. C.; SILVA, L. O. B.; SANTANA, F. A.; JUNIOR, M. M. S.; MATOS, G. D.; SANTOS, W. N. L. A review of reflux systems using cold finger

for sample preparation in the determination of volatile elements. **Microchemical Journal**, v.106, p.307–310, 2013.

FILHO, S.; PINTO, A.M.T.P; HIRDES, I.M. Determinação de metais pesados nos camarões (*Farfantepenaeus paulensis*) consumidos na cidade de Pelotas-RS. **Ecotoxicology and environmental contamination**, v.8, n.1, p. 129-134, 2013.

FILHO, P.J.S.; LUZ, L.P.; BETEMPS, G.R.; SILVA, M.D.R.G.; CAMARÃO, E.B. Studies of n-alkanes in the sediments of Colony Z3 (Pelotas-RS-Brazil). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v.17, n.1, p.27-33, 2013.

FILHO, P.J.S.; FONSECA, V.K.; HOLBIG, L. Avaliação de metais em pescado da região do Pontal da Barra, Laguna dos Patos, Pelotas-RS. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v.8, n.1, p. 105-11, 2013.

FISCHER, L.G.; PEREIRA, L.E.D.; VIEIRA, J.P. **Peixes estuarinos e costeiros**. 2.ed. Rio Grande, 2011.

FUENTES-CID, A.; VILLANUEVA-ALONSO, J.; PEÑA-VÁZQUEZ, BERMEJO-BARRERA, P. Comparison of two lab-made spray chambers based on MSISTM for simultaneous metal determination using vapor generation-inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v.749, p. 36-43, 2012.

GINÉ, M. F. Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES). São Paulo: CENA/USP, 1998. 148 p. Disponível em: <<http://hpst.cz/sites/default/files/attachments/5991-6453en-msis.pdf>> Acesso em: 30 dez.2017.

HEREDIA, J. Z. et al. Ultrasound-assisted pretreatment for multielement determination in maize seed samples by microwave plasma atomic emission spectrometry (MPAES), **Microchemical Journal**, v. 129, p. 78–82, 2016.

HOLAK, W. Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry, **Analytical Chemistry**, v. 41, p. 1712-1713, 1969.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – BR (INMETRO), Coordenação Geral de Acreditação, Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos, 2011.

JAISHANKAR, M.; TSETEN, T.; ANBALAGAN, N.; MATHEW, B.B.; BEEREGOWDA, K.N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v.7, n.2, p. 60-72, 2014.

JUNIOR, J.J.C.R.; SILVA, C.A. Determinação de Mercúrio, Chumbo, Cádmio e Arsênio em Peixes Marinhos Comercializados em Aracaju: Implicações e Risco à Saúde Humana. In: IV Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/998124/1/148.pdf>>. Acesso em: 30 dez. 2017.

KARADEDE, H.; OYMAK, S.A.; UNLU, E. Heavy metals in mullet, *Liza abu*, and catfish, *Silurus triostegus*, from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. **Environment International**, v.30, n.2, p.183-188, 2004.

KASA, N. A.; CHORMEY, D. S.; BUYUKPINAR, Ç.; TURAK, F.; BUDAK, T. B.; BAKIRDERE, S. Determination of cadmium at ultratrace levels by dispersive

liquid-liquid microextraction and batch type hydride generation atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v.133, p. 144-148, 2017.

KRUG, Francisco José. **Métodos de Preparo de Amostras**: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1 ed. Piracicaba, 2008. 340 p.

LAVRADAS, Raquel Teixeira. **Determinação de metais (Cu, Fe, Zn, Pb, Cd e Ni) em tecidos de organismos marinhos da Baía da Ilha Grande, RJ, Brasil**. 2012. 111f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em:<https://s3.amazonaws.com/guiase/wpcontent/uploads/sites/171/2016/11/24105541/32_RaquelTLavadasPUC.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2017.

LI, J.; SUN, C.; ZHENG, L.; JIANG, F.; WANG, S.; ZHUANG, Z. Determination of trace metals and analysis of arsenic species in tropical marine fishes from Spratly islands. **Marine Pollution Bulletin**, v. 122, p. 464-469, 2017.

LI, W.; SIMMONS, P.; SHRADER, D.; HERRMAN, T.J.; DAI, S.Y. Microwave plasma-atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta**, v.112, p. 43-48, 2013.

LIMA, V. F; MERÇON, F. Metais Pesados no Ensino de Química. **Química Nova na Escola**, v.33, n.4, p.199-205, 2011.

LISBOA, Meibel Teixeira. **Desenvolvimento de Métodos de Geração de Vapor acoplados à Espectrometria de Absorção Atômica para avaliação da concentração de Hg em amostras de biodiesel e coproduto glicerina**.

2016. 84f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

LUNA, A. S.; STURGEON, R. E.; CAMPOS, R. C. Chemical Vapor Generation: Atomic Absorption by Ag, Au, Cu, and Zn Following Reduction of Aquo Ions with Sodium Tetrahydroborate(III). **Analytical Chemistry**, v.72, n.15, p. 3523-3531, 2000.

MACÊDO, E. M. C.; AMORIM, M. A. F.; SILVA, A. C. S.; CASTRO, C. M. M. B. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Paulista de Pediatria**, v.28, n.3, p. 329-336, 2010.

MAGNA, G. A. M.; MACHADO, S. L.; PORTELLA, R. B.; CARVALHO, M. F. Avaliação da exposição ao Pb e Cd em crianças de 0 a 17 anos por consumo de alimentos vegetais cultivados em solos contaminados no município de Santo Amaro (BA). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.19, p. 3-12, 2014.

MAKEDONSKI, L.; PEYCHEVA, K.; STANCHEVA, M. Determination of some heavy metal of selected Black Sea Fish species. **Food Control**, v. 72, p. 313-318, 2015.

MANSOUR, S. A.; SIDKY, M. M.; Ecotoxicological Studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. **Food Chemistry**, v.78, n.1, p.15-22, 2002.

MALAGRINO, Waldir. **Bioacumulação e eliminação de mercúrio (^{203}Hg) no mexilhão (*Perna perna*, Linné, 1758) modelo cinético para avaliar o risco de ingestão no homem**. 2003. 98f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de

Tecnologia Nuclear-Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. Disponível em:<http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Waldir%20Malagrino_D.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2017.

MATINIANO, L. C.; BEZERRA, C. W. B.; MAQUES, E. P.; SOUSA, A. G.; FERNANDES, R. N.; MARQUES, A. L. B. Novo método espectrofotométrico para determinação de Hg (II) em amostras de peixe. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.2, p.373-379, 2008.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Development of interface for online coupling of micro-fluidic chip-based photo-micro-reactor/ultrasonic nebulization with microwave induced plasma spectrometry and its application in simultaneous determination of inorganic trace elements in biological materials, **Microchemical Journal**, v. 119, p. 133–139, 2015

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Pressurized flow solubilization system using electromagnetic induction heating technique for simultaneous determination of inorganic elements (Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Zn) in sonicate slurries of biological materials by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP-OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 584–590, 2016.

MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Simultaneous determination of As, Bi, Sb, Se and Sn by microwave induced plasma spectrometry using a quadruple-mode microflow ultrasonic nebulizer for in situ hydride generation with internal standardization, **Microchemical Journal**, v. 131, p. 70-78, 2017.

MILNER, Conan. Zinco: grande aliado nas carências, prejudicial em excesso. Epoch Times, 2015. Disponível em: <<https://www.epochtimes.com.br/zinco-grande-aliado-carencias-prejudicial-excesso/#.WI3niK6nHIV>>. Acesso em: 28 dez.2017.

MOLLER, Osmar; FERNANDES, Elisa. Hidrologia e Hidrodinâmica. **O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações/Edição de U. Seeliger, C. Odebrecht.** 1 ed. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande –FURG, 2010. p. 17.

MOZAFFARIAN, D. Fish Intake, Contaminants, and Human Health: Evaluating the Risks and the Benefits Part 2 – Health Risks and Optimal Intakes. **Cardiology Rounds**, v.10, n.9, 2006.

NOGUEIRA, Ana Rita de Araujo. Preparo de amostra. In: VIII Encontro Nacional sobre Métodos dos Laboratórios da Embrapa. 2003, Jaguariúna. Disponível em:<<http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/08MET/PalEstras/preparoamostras.pdf>>. Acesso em> 3 Jan. 2018.

OLIVEIRA, A. Peixes de água doce do Brasil - Traíra (*Hoplias malabaricus*). Cursos CPT. Disponível em:<<https://www.cpt.com.br/cursos-criacaodepeixes/artigos/peixes-de-agua-doce-do-brasil-traira-hoplias-malabaricus>>. Acesso em: 27 dez. 2017.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, v.14, n.2, p.174-182, 2003.

OLMEDO, P.; PLA, A.; HERNÁNDEZ, A.F.; BARBIER, F.; AYOUNI, L.; GIL, F. Determination of toxic elements (Mercury, cádmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. **Environment International**, v.59, p.63-72, 2013.

OZBEK, N.; KOCA M.; AKMAN, S. A Practical Method for the Determination of Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, and Zn in Different Types of Vinegars by Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v.9, n.8, p. 2246-2250, 2016.

ORESTE, Eliézer Quadro. **Avaliação de diferentes métodos de preparo de amostras biológicas para a determinação de Hg, Cd, Pb e Sn por Espectrometria de Absorção Atômica**. 2013. 191f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

ORESTE, E. Q.; JESUS, A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA, M. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. **Microchemical Journal**, v.109, p.5–9, 2013.

PAIVA, M. V. C.; SILVA, J. B.; FERNANDES, J. G. Estuário do Rio Timbó- PE: Territorialidade da pesca e impactos ambientais. **Revista de Geografia. Recife: UFPE –DCG/NAPA**, v.26, n.2, 2009.

PEIXES DA LAGOA. Pesca na Lagoa dos Patos. Disponível em: <<http://pescanalagoa.blogspot.com.br/search/label/Peixes%20da%20Lagoa>>.

Acesso em: 27 dez.2017.

PORTAL BRASIL. Produção de peixes no Brasil cresce com apoio de pesquisas da Embrapa. **Governo do Brasil**, jan. 2017. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/01/producao-de-peixes-no-brasil-cresce-com-apoio-de-pesquisas-da-embrapa>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

RÍOS, S. E. G.; PEÑUELA, G. A.; BOTERO, C. M. R. Method Validation for the Determination of Mercury, Cadmium, Lead, Arsenic, Copper, Iron, and Zinc in Fish Through Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES). **Food Analytical Methods**, v.10, n.10, p. 3407-3414, 2017.

SCHWOCHOW, R. Q.; ZANBONI, A. J. O estuário da Lagoa dos Patos: Um exemplo para o ensino de ecologia no nível médio. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v.2, n.2, p.13-27, 2007.

SEELIGER, Ulrich. Introdução. **O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações/Edição de U. Seeliger, C. Odebrecht**. 1 ed. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande –FURG, 2010. p. 11.

SEVERO, J. S.; MORAIS, J. B. S.; FREITAS, T. E. C.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; POLTRONIERI, F.; MARREIRO, D. N. Aspectos Metabólicos e Nutricionais do Magnésio. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v.35, n.2, p. 67-74, 2015.

SILVA, E.; COSTA, F. N.; SOUZA, T. L.; VIANA, Z. C. V.; SOUZA, A. S.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, S. L. C. Assessment of Trace Elements in

Tissues of Fish Species: Multivariate Study and Safety Evaluation. **Journal Of the Brazilian Chemistry Society**, v.27, n.12, p. 2161-2391, 2016.

SILVA, T. S. **Desenvolvimento de métodos espectrométricos para determinação de contaminantes inorgânicos (arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio) em peixe**. 2014. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em:<http://www.ifrj.edu.br/webfm_send/8857>.

Acesso em: 29 dez. 2017.

SILVA, T. S.; CONTE, C.; SANTOS, J. O.; SIMAS, E. S.; FREITAS, S. C.; RAICES, R. L. S.; QUITÉRIO, S. L. Spectrometric method for determination of inorganic contaminants (arsenic, cadmium, lead and mercury) in Smooth weakfish fish. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 87-94, 2016.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. 8 ed. São Paulo: Thomsom Learning, 2007. 1026p

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. Toxicidade de antimônio. Blog estudandoraras, 2012. Disponível em:<<http://estudandoraras.blogspot.com.br/2012/02/envenenamentoantimonio.html>>. Acesso em: 19 mar. 2018.

TAKASE, I.; PEREIRA, H.B.; LUNA, A.S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R.C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v.25, n.6B, p. 1132-1144, 2002.

TRAÍRA. Wikipédia. Disponível em:<<https://pt.wikipedia.org/wiki/Tra%C3%ADra>>. Acesso em: 27 dez. 2017.

TURKMEM, M.; TURKMEM, A.; TEPE, Y.; ATEŞ, A.; GOKKUŞ, K. Determination of metal contaminations in sea foods from Marmara, Aegean and Mediterranean seas: Twelve fish species. **Food Chemistry**, v.108, n.2, p. 794-800, 2008.

VIEIRA, Mariana Antunes. **Estudos de geração de vapor para técnicas de espectrometria atômica para a determinação de elementos traço em materiais geológicos em suspensão e para a especiação de mercúrio em materiais biológicos**. 2007. 142f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

WOTTER, Sérgio Eloir Teixeira. **Desenvolvimento de métodos de preparo de amostras para determinação elementar em camarão e peixes in natura oriundos do estuário Lagoa dos Patos/RS, por técnicas de espectrometria atômica**. 2016. 137f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

YI, Y.; TANG, C.; YI, T.; YANG, Z.; ZHANG, S. Health risk assessment of heavy metals in fish and accumulation patterns in food web in the upper Yangtze River, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.145, p. 295-302, 2017.

ZANOTTA, Daniel Capella; GONÇALVES, Glauber Acunha; DUCATI, Jorge Ricardo. Mapeamento da temperatura superficial da Lagoa dos Patos – RS com dados NOAA-AVHRR. **XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Natal-Brasil: INPE, 2009. p. 6681-6688.

ZHAO, Y.; LI, Z.; ROSS, A.; HUANG, Z.; CHANG, W.; OU-YANG, K.; CHEN, Y.; WU, C. Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v.112, p. 6-9, 2015.

ZHENG, N.; WANG, Q.; LIANG, Z.; ZHENG, D. Characterization of heavy metal concentrations in the sediments of three freshwater rivers in Huludao City, Northeast China. **Environmental Pollution**, v.154, p. 135-142, 2008.

ZINCO. Dossiê: Os minerais na alimentação. Food Ingredients Brasil, 2008. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/52.pdf>>. Acesso em: 29 dez.2017.