

Determinação de espécies metálicas em tecidos do peixe *Hoplias intermedius* por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente

Determination of metallic species in *Hoplias intermedius* fish tissues by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

RESUMO

Os organismos aquáticos são capazes de concentrar espécies metálicas acima das concentrações encontradas na coluna de água. Os seres humanos, que compõem o topo da cadeia alimentar, são os mais afetados. Neste contexto, o trabalho visa extrair e determinar os metais (Al, Pb e Ti) em amostras do peixe *Hoplias intermedius* criado em laboratório. Foram adicionadas concentrações conhecidas dos metais no habitat dos peixes. Após 70 dias, os peixes foram dessecados e condicionados a -80°C . O procedimento de extração foi feito com base no protocolo EPA 3050B. A digestão foi feita de duas maneiras: (i) em chapa aquecedora e (ii) microondas. As duas metodologias foram desenvolvidas em triplicata e com uma nova adição de padrão para verificar a % de recuperação. A curva analítica foi realizada na faixa de 0 a 10 mg L^{-1} , obtendo-se: $y = 10.781,3 + 96.395,3x$ para Al; $y = 1.194,2 + 4.000.7x$ para Pb e $y = 147.381,2 + 352.693,3x$ para Ti. Os resultados de recuperação ficaram abaixo do esperado, por tratar-se de uma matriz biológica. Assim, notou-se a necessidade de adaptar os dois métodos e obter resultados mais satisfatórios para todos os metais analisados.

PALAVRAS-CHAVE: Ambiente Aquático. Espécies Metálicas. *Hoplias Intermedius*.

ABSTRACT

Aquatic organisms are capable of concentrating metallic species above the concentrations found in the water column. Humans, which make up the top of the food chain, are the most affected. In this context, the work aims to extract and determine the metals (al, pb and ti) in samples of the fish *Hoplias intermedius* created in the laboratory. Known concentrations of metals have been added to the fish habitat. After 70 days, the fish were desiccated and conditioned at -80°C . The extraction procedure was performed based on the epa 3050b protocol. The digestion was done in two ways: (i) in hot plate and (ii) microwave aid. Both methodologies were developed in triplicate and with a new pattern addition to verify % recovery. The analytical curve was performed in the range of 0 to 10 mg L^{-1} , giving $y = 10,781.3 + 96,395.3x$ for al; $y = 1,194.2 + 4,000.7x$ for pb and $y = 147,381.2 + 352,693.3x$ for Ti. Recovery results were lower than expected because it is a biological matrix. Thus, it was noted the need to adapt both methods and obtain more satisfactory results for all metals analyzed.

KEYWORDS: Aquatic Environment. Metallic Species. *Hoplias Intermedius*.

Lúrian Aparecida Domingos da Cruz
lurian.2016@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Danielle Caroline Schnitzler
daniellec@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

No ambiente aquático os organismos tendem a concentrar várias espécies acima das concentrações encontradas na coluna d'água assim os seres humanos, por estarem no topo da cadeia alimentar, são os mais afetados.

O alumínio é a espécie metálica mais abundante, constituindo cerca de 8% em massa da crosta terrestre, comercialmente ele é um elemento importante, sendo comercializado como bauxita, uma mistura de hidróxido de alumínio hidratado e óxido de alumínio (alumina). Entretanto, é indicado que a ingestão excessiva de íons de alumínio pode ser um dos fatores de risco da doença de Alzheimer e danos no sistema nervoso, assim como, pode causar aumento da pressão sanguínea, danos aos rins, entre outros (YANG et al., 2018).

O chumbo é o componente natural da crosta terrestre com propriedades únicas como maciez, alta maleabilidade, baixo ponto de fusão. É um metal persistente em todas as partes do ambiente, no ar, na água, no solo e derivado principalmente de variedade de produtos manufaturados. Ele pode ser usado na produção de baterias, tintas, fabricação de joias, soldas cerâmicas, tubulações de água, pigmentos, munições, dentre outros. O consumo humano pode causar doenças pulmonares como asma, câncer de pulmão, distúrbio no sistema nervoso, digestivo, renal, entre outras (BOSKABADY et al., 2018).

Já o titânio é muito utilizado na fabricação de foguetes, produtos aeroespaciais, catalisadores, e na forma de dióxido de titânio muito utilizado na indústria alimentícia e de papel (SHRIVER et al., 2008; VICARI, 2012). O consumo humano pode causar deficiência na absorção de nutrientes causando doenças hepáticas e renais (SOUZA et al., 2018).

O peixe *Hoplias intermedius* é popularmente conhecido como traíra, encontrado em águas doce, pacíficas e rasas. Tem um caráter predatório, é carnívoro, em ambiente natural se alimenta de peixes e insetos e em cativeiro de carnes molhadas e peixes vivos (VACARI, 2012).

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar espécies metálicas, alumínio, chumbo e titânio em amostras de fígado e músculo do peixe *Hoplias intermedius* criado em laboratório

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os materiais, como vidrarias, porcelanas, recipientes plásticos e acessórios, como espátulas, utilizados nos procedimentos, foram submetidos, previamente, à lavagem, obedecendo-se à seguinte ordem:

Banho em detergente por 24 horas; Enxágue com água destilada; Banho em ácido nítrico 10% por 24 horas; Enxágue com água ultrapura e secagem a temperatura ambiente (CETESB, 2011, adaptado); Todos os materiais foram guardados em sacos plásticos e vedados até o momento da utilização.

No Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental da Universidade Federal do Paraná (UFPR), os peixes *Hoplias intermedius* foram criados. Eles foram alimentados com outros peixes contaminados com doses de chumbo, alumínio e titânio, esses peixes usados para alimentação são denominados peixe-presa.

A contaminação ocorreu em 14 ciclos de alimentação, em um total de 70 dias. Após esse período, o peixe foi anestesiado, sacrificado e dessecado.

A segunda etapa aconteceu no Laboratório de estudos em matrizes ambientais – Sedimento, Solo e Água (LEMASSA) na UTFPR. As amostras foram armazenadas em um ultrafreezer a -80°C até o dia da análise.

A digestão foi realizada de duas formas: (i) Chapa de aquecimento e (ii) Microondas.

Na digestão convencional a metodologia foi baseada segundo Shaw e colaboradores, 2013. As amostras foram pesadas em balança analítica (SHIMADZU, AUY220). Em seguida foram acondicionadas em béqueres e levadas para a estufa (SPLABOR, SP-100/150) à 50°C, por um período de 48 horas. Após este tempo foi realizada uma nova pesagem e em seguida submetidas a adição de padrão dos metais Al, Pb e Ti para estudos de recuperação.

O protocolo de digestão ácida seguiu o 3050B (USEPA) que permite a extração de compostos da matriz, não alterando estruturas de silicato. Este protocolo consiste em processo de digestão com ácido nítrico, peróxido de hidrogênio (30%) de massa de amostra em becker de 50 mL, sobre chapa de aquecimento e coberto com vidro de relógio. Para esse experimento a massa de peixe foi adaptada, variando de 0,0561 a 0,0741 g. As aberturas foram realizadas em triplicata e avolumadas em tubos de falcon (50 mL).

Na digestão com auxílio de microondas, a metodologia foi baseada segundo Houqi Liu e colaboradores, 2018. As amostras foram acondicionadas em béqueres e levadas para a estufa (SPLABOR, SP-100/150) à 50°C, por um período de 48 horas. Em seguida foram maceradas, pesadas em balança analítica (SHIMADZU, AUY220) e levadas para UFSC em Florianópolis para a digestão.

A digestão foi realizada com auxílio de um microondas (PROVETTO ANALITICA, DGT 100 PLUS). Também foi seguido o protocolo de digestão ácida 3050B (USEPA), utilizando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio (30%). As amostras com o ácido nítrico e peróxido de hidrogênio foram colocados nos recipientes do equipamento microondas e deixado em repouso por 15 minutos. Para esse experimento a massa foi adaptada, variando de 0,0906 a 0,1103 g. Em seguida as amostras foram submetidas a adição de padrão dos metais Al, Pb e Ti para estudos de recuperação.

As amostras das duas modalidades de digestões foram armazenadas em refrigerador e encaminhadas a análise instrumental por ICP-OES PerkinElmer (modelo Optima 8300)

As curvas analíticas foram preparadas com auxílio de uma solução padrão de metais multielementar para ICP da marca Sigma-Aldrich, através de diluições com água ultrapura acidificada a 5% com ácido nítrico, nas seguintes concentrações: 0; 0,1; 0,5; 1; 3; 5; 8 e 10 mg.L⁻¹

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com os resultados de intensidade de emissão foram construídas as curvas analíticas para alumínio, chumbo e titânio. Os dados obtidos a partir das regressões lineares foram usados para as equações de regressão linear:

Para o alumínio: $y = 10.781,3 + 96.395,3x$

Para o Chumbo: $y = 1.194,2 + 4.000,7x$

Para o titânio: $y = 147.381,2 + 352.693,3x$

Os dados obtidos no equipamento foram tratados, sendo convertidos para $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, considerando-se a massa inicial de amostra utilizada e o volume de 25 mL de solução. Com esses valores foi feito o estudo de recuperação para os metais alumínio, chumbo e titânio apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultados de recuperação para os metais alumínio, chumbo e titânio – Digestão Convencional (chapa de aquecimento).

Metal	Recuperação Concentração 2 (%)	Recuperação Concentração 3 (%)	Recuperação Concentração 4 (%)
Al	111,25 ± 6,50	65,54 ± 5,64	53,16 ± 3,43
Pb	70,86 ± 3,33	70,52 ± 3,17	70,73 ± 2,70
Ti	0,53 ± 4,63	1,40 ± 4,50	0,93 ± 1,36

Fonte: Autoria Própria (2019).

Tabela 2. Resultados de recuperação para os metais alumínio, chumbo e titânio – Digestão com Auxílio do Microondas.

Metal	Recuperação Concentração 2 (%)	Recuperação Concentração 3 (%)	Recuperação Concentração 4 (%)
Al	107,32 ± 26,23	79,17 ± 12,24	84,72 ± 4,91
Pb	66,21 ± 4,12	66,25 ± 2,04	71,13 ± 0,91
Ti	24,30 ± 3,33	7,11 ± 12,08	7,51 ± 1,45

Fonte: Autoria Própria (2019)

As recuperações foram feitas conforme a expressão (1), no qual R é recuperação, x_e concentração experimental, obtidas pelas equações de reta, x_b concentração do branco, x_t concentração teórico.

$$R = \frac{(x_e - x_b) * 100}{x_t} \quad (1)$$

Nota-se que os valores de recuperações do alumínio e chumbo foram parecidos comparando a digestão convencional com a digestão com auxílio de microondas. Já para o titânio houve uma diferença significativa. Comparando entre os valores do mesmo método, na chapa o melhor resultado foi para alumínio na 2ª concentração. E para microondas os valores de alumínio para todas as concentrações foram satisfatórios. Observa-se também que no geral, houve menor variação nos desvios padrões quando utiliza a chapa de aquecimento, enquanto que ao utilizar o microondas houve uma discrepância, para alguns metais/concentrações, como por exemplo, para Chumbo na 4ª concentração o desvio padrão é 0,91, mostrando que a variação dos valores encontrados é próxima de zero, conseqüentemente, os valores obtidos estão mais próximos da média. Enquanto que para alumínio na 1ª concentração há um desvio padrão de 26,23, indicando que os valores encontrados variam de 26,23 a baixo da média de

recuperação até o mesmo valor a cima da média de recuperação. Quanto mais próximo de zero é o desvio padrão, melhor é a exatidão dos resultados, mostrando que os valores estão mais próximo da média das recuperações.

Os resultados insatisfatórios e diferentes entre os metais em ambas as formas de digestão são devidos principalmente por ser uma matriz biológica e ao não controle de quanto foi absorvido pelo peixe nas etapas de alimentação.

CONCLUSÕES

Conclui-se que é necessário um controle no processo de alimentação dos peixes, bem como, adequação dos processos de extração para que os estudos de precisão e exatidão atinjam valores acima de 95%.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a orientadora do projeto Prof^(a). Danielle Caroline Schnitzler, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) e ao Laboratório de estudos em matrizes ambientais – Sedimento, Solo e Água (LEMASSA) pela estrutura oferecida. A Universidade Federal do Paraná (UFPR) pelo fornecimento dos peixes. A universidade Federal de Santa Catarina pela estrutura oferecida e o microondas. Ao Ministério Público do Paraná e ao Ministério do Trabalho pelos recursos. Ao Programa de pós-graduação da UTFPR e aos meus colegas de laboratório.

CITAÇÕES E REFERÊNCIAS

BOSKABADY, M.; MAREFATI, N.; FARKHONDEH, T.; SHAKERI, F.; FARSHBAF, A.; BOSKABADY, M. H. The Effect Of Environmental Lead Exposure On Human Health And The Contribution Of Inflammatory Mechanisms, A Review. Iran, 2018

CETESB. Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras: Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas E Efluentes Líquidos. São Paulo: Companhia Ambiental Do Estado De São Paulo, 2011.

HOUQI LIU. Distribution Of Heavy Metals, Stable Isotope Ratios And Risk Assessment Of Sh From The Yellow River Fi Estuary, China, 2018.

SHAW, B. J.; RAMSDEN, C. S.; TURNER, A.; HANDY, R. D. A Simplified Method For Determining Titanium From Tio₂ Nanoparticles In Fish Tissue With A Concomitant Multi-Element Analysis. Chemosphere, 2013.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. QUÍMICA INORGÂNICA. 4. ED. PORTO ALEGRE, RS: BOOKMAN, 2018.

SOUZA, I. D.; MENDES, V. A. S.; DUARTE, I. D.; ROCHA, L. D.; AZEVEDO, V. C.; MATSUMOTO, S. T.; ELLIOT, M.; WUNDERLIN, D. A.; MONFERRAN, M. V.;

FERNANDES, M. Nanoparticle Transport And Sequestration: Intracellular Titanium Dioxide Nanoparticles In A Neotropical Fish. São Carlos, 2018.

USEPA, METHOD 3050B. Acid Digestion Of Sediments, Sledges And Soils, Washington, DC.

VICARI, T. Avaliação Genotóxica Em Hoplias Lacerdae (Erythrinidae) Após Exposição À Nanopartícula De Dióxido De Titânio (TiO₂) E Chumbo Inorgânico Pb(II). Projeto De Tese, Apresentado Ao Curso De Pós-Graduação Em Genética. 2012.

YANG, M.; CHEN, C.; LIN, Y.; HUANG, M.; CHEN, K.; WU, H.; LIN, P.; GOZES, I.; TYAN, Y. Reduction Of Aluminum Ion Neurotoxicity Through A Small Peptide Application – NAP Treatment Of Alzheimer’s Disease. FDA, Tawan, 2018.