

ESTUDOS PARA A CONSOLIDAÇÃO METODOLÓGICA E ELABORAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO E DE DIVULGAÇÃO DO PROGRAMA DE AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DE MERCÚRIO EM PEIXES

Tatiana M. P. Calixto

Bolsista de Iniciação Científica, Química, UFF

Allegra Viviane Yallouz

Orientadora, Química, D. Sc.

RESUMO

Neste trabalho são apresentados e discutidos os resultados referentes aos estudos de consolidação do método para determinação semiquantitativa de mercúrio em peixes, visando a diminuição do custo operacional e a garantia da qualidade dos resultados. Este método é parte integrante do Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes, aplicável em cidades

potencialmente afetadas pela poluição com mercúrio. A elaboração de material de divulgação do programa para diferentes setores da sociedade e os resultados da avaliação preliminar de teor de mercúrio nos peixes mais consumidos na região de Itaocara-S.Fidélis, Baixo Curso do Rio Paraíba do Sul, também estão descritos neste relatório.

1. INTRODUÇÃO

O consumo de peixe contaminado com metil-mercúrio é a principal via de intoxicação de seres humanos com este metal, o que foi comprovado nos estudos relacionados ao acidente ocorrido em Minamata, Japão. Daí a necessidade da avaliação do teor de mercúrio em peixes, especialmente em localidades com histórico de garimpo. O método mais utilizado para a determinação de mercúrio em peixes é a técnica de vapor a frio acoplada à espectrometria de absorção atômica (TVF-AA), que é um método preciso e exato, mas apresenta custo relativamente alto para a aquisição e manutenção de equipamentos, além de requerer pessoal técnico

especializado. Visando minimizar estes inconvenientes, Yallouz^{1,2} desenvolveu um método semiquantitativo mais adequado à realidade das cidades brasileiras afetadas. Este método envolve uma etapa de solubilização da amostra de peixe com mistura ácida oxidante, seguida de redução do mercúrio em solução, com posterior expulsão do elemento de interesse direto sobre um papel detector recoberto com emulsão contendo iodeto cuproso, gerando um complexo de cor característica. A intensidade da cor permite a avaliação semiquantitativa de mercúrio na amostra original. Este método é de fácil execução, o que permite seu uso por pessoal técnico não especializado, é suficientemente sensível para determinar o nível de mercúrio segundo as recomendações da Organização Mundial de Saúde (O.M.S.) (Tabela1). Ele consiste, portanto num auxílio imediato ao consumidor, à comunidade e/ou às autoridades responsáveis pela tomada de decisões quanto à margem de segurança sobre o consumo de uma determinada espécie de peixe da região estudada.

Tabela 1 - Limites de teor de Hg em peixes segundo a O.M.S

Concentração de Hg (ng/g)	Frequência de Consumo
Até 300	Diário
Entre 300 a 500	Eventual
Acima de 500	Não deve ser consumido

A partir do desenvolvimento do método, foi criado o *Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes*³, visando a prevenção de intoxicação da população habitante em cidades potencialmente afetadas pela poluição por mercúrio. Após uma etapa preliminar de avaliação quantitativa do teor de mercúrio nos peixes mais consumidos na região em estudo, caso seja evidenciada a necessidade do controle periódico, as autoridades ou representantes da comunidade são envolvidos na decisão de implantação do programa supracitado.

Neste trabalho serão apresentados os resultados referentes a estudos de consolidação metodológica, elaboração de material didático de divulgação do Programa e um estudo de caso de avaliação preliminar no trecho Itaocara-S.Fidelis, baixo curso do rio Paraíba do Sul, noroeste do Estado do Rio de Janeiro. Em relação à consolidação metodológica estão incluídos a avaliação do retirada da agitação magnética, visando a diminuição do custo

operacional, o estudo de diferentes condições de preparo e armazenamento do cloreto estano, a elaboração das instruções de trabalho e a participação em programas interlaboratoriais de determinação de mercúrio em peixes. Para divulgação foram elaboradas uma home page, transparências, painéis didáticos em diferentes abordagens visando atender aos diferentes setores da sociedade.

2.OBJETIVOS

Este projeto teve como objetivos:

? Avaliar a possibilidade de diminuição de custo pela retirada da agitação magnética do procedimento original. ? Estudar as condições de armazenamento para o preparo da solução redutora, visando a simplificação do trabalho do operador. ? Introduzir práticas do sistema da qualidade através da elaboração das instruções de trabalho e participação em Programa Interlaboratorial para avaliação de desempenho na determinação quantitativa de mercúrio em peixes. ? Elaborar material didático e de divulgação do *Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes* visando a prevenção de intoxicação por peixe contaminado. ? Avaliar os teores de mercúrio em pescado mais consumido pela população urbana do trecho Itaocara-S.Fidélis, noroeste do Estado do Rio de Janeiro.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Consolidação Metodológica

3.1.1 Método Semiquantitativo: Diminuição de Custos Operacionais Através da Retirada da Agitação Magnética

O método desenvolvido por Yallouz^{1,2} consiste na solubilização prévia de 10 g de amostra de peixe utilizando aquecimento em banho-maria ou de areia à 90°C com uma mistura ácida - oxidante ($H_2SO_4 : HNO_3 : 0,1\% V_2O_5$) usando um sistema formado por um erlenmeyer e um dedo frio. A solução obtida a partir da solubilização da amostra de peixe é transferida para o sistema dinâmico (figura 2) e o mercúrio é então expulso da solução por borbulhamento com ar comprimido e agitação magnética, sendo forçado a

passar através de papel recoberto com emulsão contendo Cu_2I_2 , gerando um complexo colorido. A intensidade da cor desenvolvida no teste é proporcional ao teor de mercúrio na amostra.

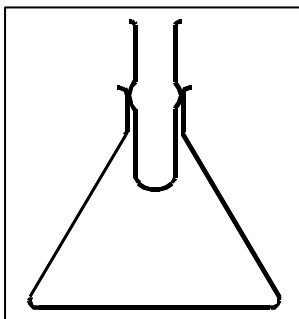


Figura 1 - Sistema utilizado na solubilização das amostras

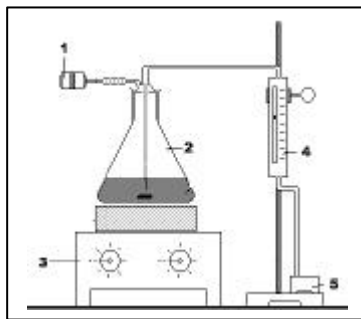


Figura 2 - Sistema Dinâmico: (1) suporte p/ papel detector, (2) frasco de reação, (3) agitador magnético, (4) controlador de fluxo e (5)

Apesar do método possuir custo acessível, pois é confeccionado com materiais simples, verificou-se a possibilidade de diminuí-lo através da retirada da agitação magnética, que contribui com 25% do custo do material permanente. Com esta retirada além da diminuição dos custos de implantação ainda poder-se-á evitar problemas de manutenção.

O experimento foi realizado em 2 fases: a primeira utilizando soluções aquosas contendo 100ng/mL e a segunda soluções provenientes da solubilização de amostras de peixe nas condições previstas no método semiquantitativo. Na primeira fase foram realizadas 20 determinações utilizando 70 ml da solução original a cada vez e alternando o uso e o não uso da agitação magnética. A cor do complexo gerado foi comparada à escala artificial e o resultado anotado em formulário próprio. A avaliação da recuperação foi feita procedendo à solubilização dos papéis pelo procedimento anteriormente proposto¹ e a solução final analisada pela TVF-AA. O valor encontrado foi posteriormente comparado ao teor esperado. Ao final do experimento foram comparadas a concentração da solução original, a cor visualizada, a recuperação com agitação e a recuperação sem agitação. Para avaliar a influência do efeito da matriz sobre a eficiência do procedimento após a retirada da agitação, foram solubilizadas 30 amostras

de 10 g de atum, de acordo com o procedimento usual para a determinação semiquantitativa. As soluções resultantes foram agrupadas de 3 em 3, devidamente dopadas com solução de mercúrio para que a concentração final fosse equivalente à uma concentração na faixa crítica (600-1000ng/g). A solução final homogênea, e com concentração equivalente à faixa desejada foi submetida às avaliação quantitativa, semiquantitativa com e sem agitação e à comparação visual utilizando procedimento similar ao descrito na primeira fase do experimento com soluções aquosas. Devido a problemas operacionais ainda não foi possível a determinação da recuperação nos papéis detetores, o que deverá ser feito num futuro próximo.

3.1.2 Condições de Armazenamento e Preparo da Solução de SnCl_2

Uma solução de SnCl_2 20% em HCl foi dividida em 4 porções acondicionadas em frascos bem tampados conforme descrito na tabela 2

Tabela 2 - Condições de armazenamento e preparo das soluções de SnCl_2

Amostra	Condições de Armazenamento e Preparo
A1	Temperatura ambiente(-25°C).
A2	Temperatura ambiente (25°C). Adição de grânulos de Sn
G1	Temperatura -10°C (geladeira).
G2	Temperatura -10°C (geladeira). Adição de grânulos de Sn

O teor de SnCl_2 foi determinado pela técnica de Volumetria de Oxi-Redução utilizando Iodo, previamente padronizado com óxido de As, em 7 dias diferentes : (1º, 3º, 4º, 5º,8º, 10º, e 16º dia).

3.1.3 Elaboração de Instruções de Trabalho

Foram elaboradas apostilas descrevendo os procedimentos empregados nas determinações com método semiquantitativo e precauções de segurança utilizando o editor de texto Word 7 (Microsoft).

3.1.4 Participação em Exercícios Interlaboratoriais para Determinação Quantitativa de Mercúrio em Peixe

Em dezembro de 1999, o Departamento de Química Analítica iniciou sua participação no Programa Interlaboratorial coordenado pela Canadian Food Inspection Agency, Fish Inspection Program, Canadá. Periodicamente são enviadas 4 amostras de peixe enlatado com diferentes teores de mercúrio(-200 a 1500 ng/g) para determinação pela técnica normalmente

utilizada nas análises de rotina. Os laboratórios participantes analisam cada amostra em triplicata e em 2 dias diferentes, perfazendo um total de 24 determinações. Os resultados são enviados à Coordenação do Programa e posteriormente avaliados estatisticamente.

3.2 Elaboração de Material Didático para Divulgação do *Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes*

3.2.1 Home page

Para a elaboração da Home page utilizou-se o editor de linguagem HTML AceExpert 2.54c (Vision Media) e os editores de imagens Paint Shop Pro 6.0 (Jasc Software), CorelDrawn 6.0 (Corel) e iPhoto Plus 4.0 (Ulead Systems, Inc.)

3.2.2 Painéis e Folders Didáticos

Para a elaboração dos painéis e folders empregou-se os editores de imagens Paint Shop Pro 6.0 (Jasc Software) e iPhoto Plus 4.0 (Ulead Systems, Inc.) e o editor de slides PowerPoint (Microsoft).

3.3 Estudo de caso : “Avaliação dos Teores de Mercúrio em Pescado do Trecho Itaocara —S. Fidélis, Baixo Curso do Rio Paraíba do Sul.

As amostras de pescado foram adquiridas no mercado local, com pescadores que cobrem a região de Funil a S. Fidelis. O período de coleta foi de 12/04 a 20/09/99. Um total de 63 amostras de 11 espécies diferentes e hábitos alimentares diferenciados (carnívoros, onívoros e iliófagos) foram analisadas. Para a análise das amostras utilizou-se, inicialmente, digestão ácida-oxidante (H_2SO_4 : HNO_3 : 0,1% V_2O_5) seguida da adição de KMnO_4 . Todas as análises foram acompanhadas com amostra controle de peixe liofilizado e homogeneizado. Para a determinação instrumental do teor de Hg foi utilizado o TVF - AA. Parte das amostras foi analisada na UERJ (VARIAN SPECTRAA 10 PLUS BQ) e parte no CETEM (VARIAN VGA 76). O excesso de oxidante foi previamente reduzido com $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 20% m/v, imediatamente antes da determinação. Os reagentes utilizados foram de grau analítico e a água deionizada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Consolidação Metodológica

4.1.1 Método Semiquantitativo: Diminuição de Custos Operacionais Através da Retirada da Agitação Magnética

Os resultados referentes à primeira fase e segunda fase estão descritos nas Tabelas 2 e 3 respectivamente:

Tabela 2: Resultados da avaliação da possibilidade de retirada da agitação do sistema dinâmico utilizando soluções aquosas

Condições de análise	Teor esperado(ng/g)	Nº de repetições	Observação visual(ng/g)	% de recuperação
Com agitação	700	10	600 a 1000	88 ? 6
Sem agitação	700	9	600 a 1000	93 ? 9

Tabela 3: Resultados da avaliação da possibilidade de retirada da agitação do sistema dinâmico utilizando soluções contendo a matriz

Condições de análise	Teor esperado(ng/g)	Nº de Repetições	Observação visual(ng/g)
Com agitação	859?62	9	600 a 1000
Sem agitação	859?62	9	600 a 1000

Os resultados da 1ª fase (soluções aquosas) demonstraram que a retirada da agitação não afetou a qualidade dos testes de avaliação, já que para todos os testes o operador fez a observação esperada. O mesmo foi observado ao se proceder aos testes contendo a matriz proveniente da solubilização de amostras de peixe. Ao se quantificar o teor de mercúrio nos papéis detetores gerados na 1ª fase, os resultados médios de recuperação foram comparados estatisticamente empregando o teste de hipótese nula⁴ da diferença das médias, comprovando a sua equivalência. Sendo assim pode-se afirmar que a retirada da agitação poderá ser realizada sem comprometimento na qualidade dos resultados.

4.1.2 Condições de Armazenamento e Preparo da Solução de SnCl₂

O SnCl₂ é um dos reagentes mais citados como agente redutor de mercúrio. Mas a solução é instável ao contato com o ar, sofrendo oxidação, sendo recomendado o seu preparo no momento do uso⁵. Na mesma referência bibliográfica, o autor recomenda o armazenamento da solução com um grânulo de estanho metálico. Para minimizar o inconveniente do operador precisar preparar a solução diariamente, foram realizados testes para avaliar a estabilidade da solução em diferentes condições de armazenamento e preparo.

Observou-se que a adição de Sn metálico acarreta um aumento inicial do teor de SnCl₂ (Gráfico 1 - Dias 1 a 4) com posterior manutenção do teor final (Gráfico 1 - Dias 4 a 16) em 90%. Este fato é provavelmente devido ao alcance do estado de equilíbrio para as formas Sn²⁺ e Sn⁴⁺. O SnCl₂ formado com a adição do Sn metálico compensa o efeito da oxidação pelo ar.

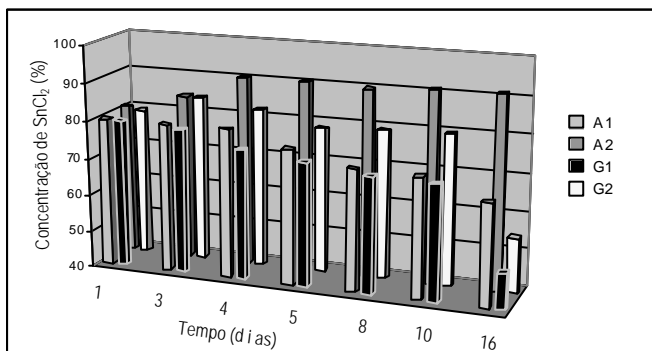


Gráfico 1- Teores de SnCl₂ em diferentes condições de preparo e armazenamento

Ao avaliar-se o comportamento das soluções mantidas na geladeira versus na temperatura ambiente, observa-se um gradual decaimento no teor de SnCl₂, bem mais acentuado do que as amostras acondicionadas à temperatura ambiente. Com isto, conclui-se que a adição de estanho e o armazenamento fora da geladeira são as melhores condições de preparo e armazenamento, já que os testes realizados demonstraram que a solução preparada desta forma se manteve estável por 16 dias no mínimo.

4.1.3 Elaboração de Instruções de Trabalho

O protótipo das instruções de trabalho já está disponível em duas versões (preto/branco e colorida) para futura reprodução. O formato proposto (cartões impressos plastificáveis), permite a fácil inclusão e atualização de informações.

4.1.4 Participação em Exercícios Interlaboratoriais para Determinação Quantitativa de Mercúrio em Peixe

Até o momento somente o relatório do primeiro ciclo de avaliação de desempenho para a determinação de mercúrio em peixes, realizado no período de dezembro-99/janeiro 2000 foi enviado. O DOA obteve grau satisfatório. Este fato demonstra que os procedimentos adotados pelo DOA para a determinação de mercúrio em peixes com teores acima de 100 ng/g, é eficiente. A continuidade desta participação garante a qualidade dos resultados futuros.

4.2 Elaboração de Material Didático para Divulgação do Programa de Avaliação Mercúrio em Peixes

A home page do Programa de Avaliação de Teor de Mercúrio em Peixe encontra-se hospedada Home page do CETEM sob o endereço eletrônico www.cetem.gov.br/mercurio/semiquanti e foi submetida a cadastro nos seguintes sites de busca: www.cade.com.br, www.yahoo.com, www.altavista.com, www.hotbot.com, e www.surftrade.com.br.

A home page, transparências, painéis e folders descrevendo a importância do programa de avaliação, e dos resultados obtidos até o momento estão sendo utilizados na divulgação da proposta em palestras, apresentação em congressos (23ª Reunião Anual da SBQ, 52ª Reunião da SBPC), apresentação em escolas etc.

4.3 Estudo de caso : "Avaliação dos Teores de Mercúrio em Pescado do Trecho Itaocara —S. Fidélis, Baixo Curso do Rio Paraíba do Sul.

Os resultados encontrados confirmam claramente a tendência já descrita na literatura de acúmulo de mercúrio nas espécies carnívoras (Gráfico 3). Para este mesmo grupo percebe-se que a espécie representada pelo Dourado, que atinge maiores pesos, apresentou teores médios bem próximos ao limite máximo recomendado pela O. M. S. ($ng.g^{-1}$) para consumo frequente. Já as

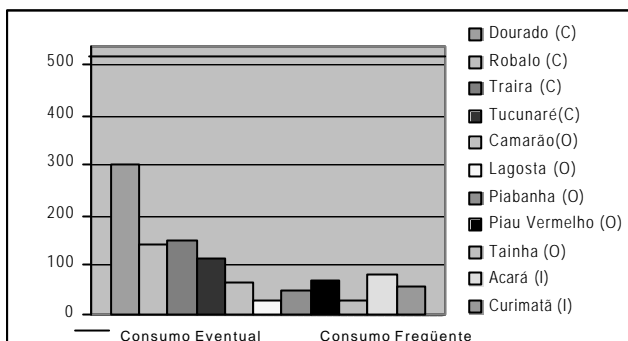


Gráfico 2 - Teores médios de Hg em pescado do trecho Itaocara S.- Fidélis

espécies onívoras e iliófagas apresentaram teores abaixo de 123ng.g^{-1} para todas as amostras analisadas. Como não foram encontradas evidências de contaminação nos peixes, não foi oferecido à comunidade local, a implantação do *Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes*, conforme inicialmente previsto. O resultados foram divulgados nas comunidades interessadas na forma de palestras em escolas da rede pública e privada, em associações comerciais e exemplares de painel didático foram entregues na Prefeitura de S. Fidélis e aos líderes da comunidade. A repercussão e o envolvimento da população local foi surpreendente, demonstrando o quanto é importante este retorno para a comunidade participante e o quanto estão ávidos de orientação nas questões referentes à saúde e ao meio ambiente.

5. CONCLUSÕES

O trabalho desenvolvido neste período atingiu os objetivos propostos de consolidação metodológica ao avaliar a possibilidade de diminuir o custo de implantação, através da retirada de agitação e do estudo e definição das condições de preparo e armazenamento da solução de cloreto estansoso, além de introduzir práticas relacionadas à garantia da qualidade, através da elaboração das instruções de trabalho e participação de exercício interlaboratorial para avaliar o desempenho do DQA na análise de amostras

de peixes, contendo teores de mercúrio acima de 100 ng/g. Quanto à elaboração do material didático, o aumento dos recursos de divulgação representa um grande impulso na concretização da implantação do Programa em cidades com alto risco de contaminação.

BIBLIOGRAFIA:

- 1 - Yallouz, A.V. *Estudo de Parâmetros Experimentais Visando a Construção de um Sistema Simples para a Determinação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes*. Tese de Doutorado, PUC-Rio, Rio de Janeiro, 1997, 113p.
- 2 - Yallouz, A.V., Campos, R.C. e Paciornik, S. *A Low-Cost Non Instrumental Method for Semiquantitative Determination of Mercury in Fish*. Aceito para publicação na revista *The Fresenius Journal of Analytical Chemistry*.
- 3 - Yallouz, A.V. , Calixto, T M. P. Programa de Avaliação Semiquantitativa de Mercúrio em Peixes . Home page : www.cetem.gov.br/mercurio/semiquanti
- 4 - Skoog, D.A., West, D.M. e Holler, J.H. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 7th Ed., Saunders College Publishing, Fort Worth, 870p.
- 5 - Morita, T. e Assumpção, *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*, 2^a ed., São Paulo, Edgard Blücher Ltda, 1976 , Brasil, 627p

