

ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS INSTRUMENTAL APLICADA PARA A DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS EM PEIXES DO GÊNERO *ASTYANAX*, CONSUMIDOS POR PESCADORES ARTESANAIS DO DISTRITO DE RIACHO GRANDE, SÃO BERNARDO DO CAMPO – SP

Daniele P. Reis, Edson G. Moreira

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN – CNEN/SP)
Av. Professor Lineu Prestes, 2242
05508-000 São Paulo – SP
daniele.quimio@gmail.com

RESUMO

Elementos tóxicos em contato com o organismo humano provocam inúmeros problemas de saúde e esta contaminação pode ocorrer inclusive por meio dos

alimentos, como a ingestão de peixes contaminados com altas concentrações de As, Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, Na, Se e Zn, entre outros elementos. Porém, muitos pescadores e familiares, por desconhecerem os riscos à saúde associado ao consumo de pescado de água contaminada, acabam se expondo a diferentes elementos tóxicos devido à dieta baseada em peixe como principal nutriente proteico. Diante da possível exposição dos pescadores do Riacho Grande – Represa Billings (Distrito de São Bernardo do Campo/SP) a elementos tóxicos, neste estudo foi realizada a quantificação de elementos tóxicos em amostras de peixes do gênero *Astyanax* (conhecido como lambari) coletados da Represa Billings. O peixe lambari teve maior relevância neste estudo, pois é consumido na forma de petisco, na qual o sujeito se alimenta de todo o organismo do peixe, tendo maior risco de contato direto com elementos tóxicos por meio da ingestão. Para análise foi utilizado à aplicação da Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA). Este estudo é importante para obter visão espaço-temporal atualizada da contaminação por diversos elementos de interesse na região, como o As, Fe, Zn, entre outros e contribuir para a garantia da segurança alimentar no âmbito sanitário, no que diz respeito aos contaminantes inorgânicos referidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

1. INTRODUÇÃO

O reator IEA-R1 localizado em São Paulo, no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, (IPEN – CNEN/ SP) é um reator de pesquisa do tipo piscina aberta, que foi projetado e construído pela empresa norte-americana “Babcock & Wilcox”, pelo programa átomos pela paz. O IEA-R1 é utilizado para produção de radioisótopos, para o uso em medicina nuclear –como o Samário-153, utilizado como paliativo de dor em metástase óssea, Iodo-131 utilizado na terapia de câncer de tireoide e irídio-192 utilizado em técnicas de braquiterapia, também é utilizado em pesquisas em física nuclear, serviços em neutrografia e para irradiação de amostras e realização de análises multielementares.

Neste trabalho, O IEA-R1 foi imprescindível para a irradiação de amostras biológicas e realização de análises multielementares aplicando a técnica de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA). A INAA consiste em submeter a amostra a um fluxo de nêutrons, que através de diversas reações nucleares, formam-se isótopos radioativos, que então, podem ser medidos a partir das radiações emitidas. Os resultados da medição permitem a análise elementar qualitativa quantitativa e da amostra.

Neste estudo a amostra submetida ao reator foi uma amostra biológica e sólida, obtida a partir da coleta de espécies do gênero *Astyanax* – conhecido como lambari –, na Represa Billings, na região do Riacho Grande, São Bernardo do Campo/SP. Na INAA há tratamento mínimo da amostra e após a irradiação, há a possibilidade de determinação simultânea de muitos radionuclídeos. Os elementos determinados foram As, Na, K, Br, Co, Cr, Se, Cs, Sc, Rb, Fe e Zn.

1.1 A análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) utilizando o reator IEA-R1

A Análise por Ativação Neutrônica Instrumental é utilizada para determinar a medida da radioatividade de diversos elementos. Esta tem sido largamente utilizada, pois apresenta muitas vantagens em relação aos outros métodos analíticos e tem grande aplicabilidade, como exemplos, no uso na análise de cabelos, unhas, sangue, urina, tecidos de órgãos [1].

A INAA é uma técnica que fornece uma análise multielementar simultânea e não destrutiva, sendo um método vantajoso e um dos mais importantes dentre as técnicas de análise qualitativa e quantitativa de elementos traço, pois obtém altos níveis de precisão comparada a outras técnicas analíticas. O método pode ser comparativo ou absoluto. A medição pelo método absoluto utiliza alguns fatores nucleares, como fluxo de nêutrons, abundância isotópica do núcleo alvo, entre outros [2]. Já no método comparativo, a amostra é irradiada junto com uma quantidade conhecida do elemento que se quer determinar, no mesmo tempo e fluxo de nêutrons. Após a irradiação, tanto o padrão, quanto a amostra são medidos usando o mesmo sistema para espectrometria gama, permitindo que a concentração desconhecida possa ser diretamente calculada a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão e conhecendo-se a massa de ambos [3,4]. Neste estudo foi utilizado o método comparativo.

Para a irradiação e medição da radioatividade de elementos de interesse: As, Na, K, Br, Co, Cr, Se, Cs, Sc, Rb, Fe e Zn por INAA. Foram pesados aproximadamente 200 mg das amostras liofilizadas em balança analítica (Shimadzu AEM-5200) em invólucro de polietileno previamente descontaminado de 1,8 x 1,8 cm (24 h em HNO₃ Merck a 10% v/v) e selado (Selapack). Um procedimento semelhante foi realizado para dois materiais de referência certificados (MRC) IPEN TP-1 – tecido de peixe [5] e NIST SRM 1566b – *Oyster Tissue* [6]. As soluções padrão elementares (Spex CertiPrep) foram pipetadas em tiras de papéis de filtro (Whatman 40) usando pipetas Eppendorf com volumes previamente verificados.

Para alguns elementos, foi necessário diluir as soluções padrão em um balão volumétrico de 10 ml antes de pipetá-las.

As tiras de papel foram secas à temperatura ambiente, depois foram dobradas e colocadas em sacos de polietileno do mesmo tamanho de amostra. Cada lote de irradiação consistia em uma amostra ou MRC e padrões elementares. Eles foram irradiados no reator nuclear IEA-R1 (IPEN – CNEN/SP) na estação pneumática por 20 s sob fluxo térmico de nêutrons de aproximadamente $1,9 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Após a irradiação, os elementos foram determinados por espectrometria gama de radionuclídeos desses elementos, realizada em um detector CANBERRA HPGe (modelo GC2018) acoplado ao analisador espectral digital CANBERRA DSA 1000. Informações adicionais sobre os padrões pipetados e radionuclídeos usados para as determinações de elementos são mostradas na Tabela 1.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para validação dos resultados obtidos experimentalmente pelo método comparativo da INAA, foram utilizados materiais de referência certificados NIST SRM 1556b *Oyster Tissue* e IPEN TP1 – tecido de peixe. Foi realizado o cálculo do índice- z para verificar se os resultados de análise estavam dentro do intervalo de confiança esperado. Foram considerados aprovados os valores de ambos os MRC, visto que os critérios para os valores de aprovação são $|z| < 3$, e todos os resultados estiveram dentro deste intervalo, o que significa que os resultados para os MRC ficou no intervalo de confiança de aproximadamente 99% do valor certificado [7], conforme tabela a seguir.

Tabela 1 – Parâmetros de radionuclídeos e padrões pipetados usados na INAA

Elemento	Radionuclídeo	Energia, keV	Meia-vida	Massa do elemento em padrão pipetado, μg^a
As	^{76}As	559,1	26,32 h	$2,453 \pm 0,076$
Br	^{82}Br	776,52	17,68 min	$1,219 \pm 0,038$
Co	^{60}Co	1773,24	5,27 y	$2,454 \pm 0,035$
Cr	^{51}Cr	320,08	27,7 d	$2,392 \pm 0,046$
Cs	^{134}Cs	795,85	2,06 y	$0,1226 \pm 0,0016$
Fe	^{59}Fe	1099,25	44,5 d	$499,4 \pm 2,0$
K	^{42}K	1524,58	12,36 h	$1497,4 \pm 5,0$
Na	^{24}Na	1368,6	14,96 h	$498 \pm 2,0$
Rb	^{86}Rb	1076,60	18,66 d	$9,71 \pm 0,34$
Sc	^{46}Sc	889,28	83,81 d	$0,245 \pm 0,0016$
Se	^{75}Se	264,66	119,77 d	$2,453 \pm 0,038$
Zn	^{65}Zn	1115,55	243,9 d	$24,52 \pm 0,31$

^aIncerteza expandida, $k = 2$

A média dos resultados obtidos para cada elemento nas amostras de peixe da Represa Billings estão listados na Tabela 3. Os resultados estão separados em valores médios obtidos nos tecidos individuais e valores obtidos nas mistura das vísceras (pool), isto é, órgãos internos, visto que o material foi analisado separadamente.

Resultados semelhantes foram obtidos para o elemento zinco em uma pesquisa na região do Riacho Grande, Represa Billings, uma vez que o zinco foi o elemento com maior concentração para o *Astyanax spp* [8]. Neste estudo e no estudo de [9], também é verificado que o valor do cromo apresenta amostras com valores abaixo do LQ ($1,0 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$). Os demais elementos (As, Br, Cs, Co, Fe, K, Na, Sc, Se e Rb) não foram analisados no estudo citado.

Tabela 2 – Frações de massa obtidas pelo INAA comparativo (valores médios e incertezas expandidas, $k = 2$, peso seco) e os valores certificados dos materiais de referência

CRM				
Elemento	<i>Oyster tissue 1556b NIST SRM</i>		<i>Micropogonias furnieri TP-1 IPEN</i>	
	Valor obtido	z-score	Valor obtido	z-score
	(valor do certificado)		(valor do certificado)	
As (mg/kg^{-1})	não obtido experimentalmente	-	$7,135 \pm 0,247$	1,71
	$(7,6 \pm 0,65)$		$(5,9 \pm 0,27)$	
Co (mg/kg^{-1})	$3,43 \pm 0,050$	-0,41	$0,168 \pm 0,019$	-
	$(0,371 \pm 0,009)$		(N.D)	
Fe (mg/kg^{-1})	$222.750 \pm 51,97$	1,15	$16,00 \pm 2,263$	1,67
	$(205,8 \pm 6,8)$		$(13,55 \pm 1,05)$	
K (g/kg^{-1})	$6,37 \pm 1,59$	-0,55	$11,64 \pm 1,68$	-1,896
	$(6,520 \pm 0,090)$		$(12,55 \pm 0,49)$	
Na (g/kg^{-1})	$2,986 \pm 0,150$	-1,99	$4,725 \pm 0,247$	-0,23
	$(0,330 \pm 0,0053)$		$(4,775 \pm 0,145)$	
Rb (mg/kg^{-1})	$2,680 \pm 0,057$	0,09	$2,595 \pm 0,686$	-
	$(3,262 \pm 0,145)$		(N.D)	
Se (mg/kg^{-1})	$1,815 \pm 0,120$	-0,83	$2,650 \pm 0,311$	-0,75
	$(2,06 \pm 0,15)$		$(2,95 \pm 0,14)$	
Zn (mg/kg^{-1})	$1530.40 \pm 378,86$	1,39	$20,050 \pm 2,192$	1,95
	(1424 ± 46)		$(16,65 \pm 0,50)$	

Na análise, verificou-se que as concentrações de zinco eram maiores nas vísceras do que no músculo do peixe *Astyanax spp*, resultado semelhante também foi obtido por um trabalho realizado na represa Billings [9]. Os demais elementos (As, Br, Cs, Co, Fe, K, Na, Sc, Se e Rb) não foram analisados neste estudo.

A variação no teor de zinco foi de 101,10 a 105,10 µg/g na musculatura e 130 µg/g nas vísceras. Na legislação brasileira, a resolução 269, de 22 de setembro de 2005, recomenda pela Anvisa a ingestão diária de um adulto de 7 mg de zinco [10]. O zinco é um elemento essencial e útil no metabolismo, mas em casos de intoxicação alimentar, pode causar problemas pulmonares, febre, calafrios, gastroenterites, sonolência, náusea, desidratação e incoordenação muscular [9].

Tabela 3 – Fração de massa dos elementos em peso úmido em amostras de peixes (média ± desvio padrão, n = 3) e intervalo entre parênteses

Espécie				
Elemento	<i>Astyanax fasciatus</i>		<i>Astyanax bimaculatus</i>	
	tecido	pool de vísceras	tecido	pool de vísceras
As, mg kg ⁻¹	*ND	0,08 ± 0,01	0,025 ± 0,03 (< LD – 0,05)	0,08 ± 0,01
Br, mg kg ⁻¹	13,5 ± 2,77 (11,00 – 17,06)	18,1 ± 0,22	11,59 ± 1,43 (10,58 – 12,61)	13,5 ± 0,17
Cs, mg kg ⁻¹	0,25 ± 0,05 (0,22 – 0,33)	0,14 ± 0,004	0,28 ± 0,04 (0,25 – 0,32)	0,123 ± 0,004
Co, mg kg ⁻¹	0,01 ± 0,0293 (0,04 – 0,02)	0,04 ± 0,003	0,04 ± 0,003 (0,036 – 0,04)	0,04 ± 0,003
Cr, mg kg ⁻¹	< LD	0,05 ± 0,02	< LD	0,03 ± 0,03
Fe, mg kg ⁻¹	34,53 ± 5,16 (30,08 – 40,10)	128,4 ± 2,6	35,15 ± 4,59 (30,10 – 40,20)	97,6 ± 2,4
K, g kg ⁻¹	10,64 ± 1,25 (8,56 – 11,38)	5,76 ± 0,33	10,92 ± 0,36 (10,66 – 11,17)	5,31 ± 0,3
Na, g kg ⁻¹	1,67 ± 0,24 (1,46 – 2,02)	1,46 ± 0,01	1,95 ± 0,17 (1,83-2,07)	1,19 ± 0,004
Sc, mg kg ⁻¹	< LD	0,01 ± 0,002	< LD	0,0051 ± 0,0001
Se, mg kg ⁻¹	1,03 ± 0,06 (0,92 – 1,05)	2,13 ± 0,05	0,8 ± 0,17 (0,68 – 0,92)	1,43 ± 0,09
Rb, mg kg ⁻¹	12,25 ± 2,9 (9,41 – 16,23)	8,1 ± 0,19	14,17 ± 0,46 (13,85 – 14,50)	7,89 ± 0,19
Zn, mg kg ⁻¹	103 ± 1,68 (101,10 – 105,10)	130 ± 1,3	62,25 ± 2,47 (60,5 – 64,0)	105,6 ± 1

*ND – não determinado experimentalmente;

< LD = valor abaixo do limite de detecção

Para ambas as espécies, *Astyanax fasciatus* e *Astyanax bimaculatus*, os valores viscerais são mais altos do que na musculatura para os elementos Br, Fe, Se e Zn, o que indica que para esses elementos a maior concentração no visceral do peixe.

A ingestão diária de ferro é de 14 mg, Para o selênio, a recomendação diária é de 34 microgramas. E a ingestão diária recomendada de cromo é de 35 microgramas [10]. Outros elementos (As, Br, Cs, Co, K, Na, Sc e Rb) não são regulamentados por esta resolução. Devido à baixa incidência de estudos sobre esses elementos na literatura no contexto deste trabalho, os dados não puderam ser comparados com outros estudos.

3. CONCLUSÃO

O reator IEA-R1 foi imprescindível para a análise multielementar dos tecidos e órgãos internos das amostras de peixe pela técnica de INAA. O procedimento para caracterização de tecidos comestíveis de peixes pelo INAA foi adequado, com índices z satisfatórios para os MRC utilizados sob a mesma condição de irradiação. Verificou-se que os elementos Br, Fe, Se e Zn apresentaram maior concentração nos órgãos internos em comparação ao tecido. A análise dessa diferença de acumulação é importante para este caso, pois o peixe lambari é digerido inteiro, sem remover as vísceras. Observou-se que a ingestão diária de cromo, ferro, selênio e zinco é recomendada, no entanto, o alto consumo pode se tornar prejudicial à saúde. Não existem estudos na literatura relacionados aos elementos Br, Cs, Co, K, Na, Sc e Rb na região de Riacho Grande. É importante analisar esses elementos para futuras correlações e comparações relacionadas à segurança alimentar. Novas análises aprofundadas serão realizadas em um futuro próximo, em outras espécies de peixe, assim como em mechas de cabelo de pescadores, para estas análises também será utilizado o reator IEA-R1, também com a aplicação da técnica de INAA.

REFERÊNCIAS

1. IAEA. *Practical aspects of operating a neutrons activation analysis laboratory*. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1990. 250 p.
2. PETRONI, R. *Validação dos métodos de análise por ativação do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica do IPEN-CNEN/SP visando à produção de materiais de referência certificados*. 2015. 261 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e

Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2015. DOI: 10.11606/D.85.2015.tde-18062015-143835.

3. FARIAS, L. A. *Avaliação do conteúdo de mercúrio, metilmercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da Região Amazônica*. 2006. 233 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2006. DOI: 10.11606/T.85.2006.tde-24052007-161122.

4. MARIANO, D. B. *Implementação do método k_0 -INAA no laboratório de análise por ativação com nêutrons do IPEN utilizando o programa k_0 -IAEA, aplicação à análise de amostras geológicas* 2011. 219 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2011. DOI: 10.11606/D.85.2012.tde-03042012-104529.

5. MAIHARA, V. A.; Moreira, E. G. *Report of analysis – trace elements in fish tissue*. Prepared under IAEA RLA 2/014 Project, 2006. 5 p.

6. NIST – NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. *Certificate of Analysis Standard Reference Material 1566b Oyster Tissue*. EUA: NIST, 2001. 5 p.

7. BODE, P. *Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory*. 1996. 264 p. Tese (Doutorado) – Delft University of Technology, The Netherlands, 1996. Disponível em: <http://resolver.tudelft.nl/uuid:438b9110-fb94-4015-b277-1c5fba96ac71>.

8. BARROZO, F.; COUTINHO, S. N.; QUINÁGLIA, G. A. Avaliação da presença de metais em amostras de sedimentos e água do reservatório Billings. São Paulo, *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz*, ano 4, n. 13, jan.-mar. 2017. 14 p. Disponível em: https://oswaldocruz.br/revista_academica/content/pdf/Edicao_13_BARROZO_Fairah_-_COUTINHO_Suellen_Nobrega_-_QUINAGLIA_Gilson_Alves.pdf.

9. OLIVEIRA, T. A. *Metais presentes nas águas e em tecidos de peixes da represa Billings: uma avaliação temporal*. 2012. 215 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2012. DOI: 10.11606/D.85.2012.tde-08032013-134955.

10. ROCHA, A. A.; PEREIRA, D. N.; PÁDUA, H. B. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da Represa Billings, São Paulo (Brasil). *Rev.*

Saúde Pública, São Paulo, v. 19, n. 5, p. 401-410,1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101985000500003>.

11. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC Anvisa nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 23 set. 2005.

