

AValiação DO TEOR DE ARSÊNIO TOTAL EM PESCADO DE ÁGUA DOCE

Lúcio Flávio Costa MELO¹
Marcelo Antonio MORGANO²
Dilza Maria Bassi MANTOVANI

RIALA 06/869

MELO, L.F.C.; MORGANO, M. A. & MANTOVANI, D.M.B. Avaliação do teor de arsênio total em pescado de água doce. — Rev. Inst. Adolfo Lutz, 58(2): 81-86, 1999.

RESUMO: Foi determinado o teor de arsênio total em polpas e filés das seguintes espécies de peixes de água doce: Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Matrinxã (*Brycon lundii*), Carpa (*Cyprinus carpio*), Tilápia (*Oreochromis niloticus*), Curimbatá (*Prochilodus sp*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Bagre Africano (*Clarias sp*), procedentes do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura, Pirassununga — São Paulo. A determinação do elemento arsênio foi realizada por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma de argônio induzido (ICP-AES) acoplado a um gerador de hidretos, nas amostras previamente mineralizadas por via seca com nitrato de magnésio. Os teores obtidos de arsênio ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para os filés e polpas foram, respectivamente: Pacu (49 e 8), Matrinxã (27 e 24), Carpa (66 e 209), Tilápia (37 e 277), Curimbatá (30 e 93), Tambaqui (42 e 24) e Bagre (43). Em todas as amostras foram encontrados níveis de arsênio inferiores ao recomendado pela legislação brasileira.

DESCRITORES: arsênio, ICP-AES, gerador de hidretos, peixes.

INTRODUÇÃO

O arsênio encontra-se amplamente distribuído na natureza, sendo uma espécie de constante interesse analítico. A contaminação dos alimentos por arsênio pode ter origem natural, podendo ser liberado no ambiente, a partir de minérios, por ação do intemperismo, erosões e vulcanismo^{8,14}. Também pode ter origem antropogênica, devido à sua utilização na indústria (revestimento de madeiras, secantes de algodão, etc.) e na agricultura (herbicidas, fungicidas, pesticidas)⁸.

O arsênio é um elemento químico altamente tóxico ao organismo humano, sendo um conhecido agente car-

cinogênico¹⁷. Os peixes constituem uma das maiores fontes de arsênio na dieta humana³. No seu ciclo através do ecossistema aquático, o arsênio se acumula especialmente nos peixes, nos quais encontram-se concentrações mais elevadas do que em organismos terrestres^{10, 19}.

A toxicidade do arsênio depende da forma química na qual é ingerido. As espécies inorgânicas de arsênio (III) são mais tóxicas que espécies de arsênio (V), seguidas pelas formas orgânicas (arsenocolina e arsenobetaina) que são as menos tóxicas. O arsênio inorgânico é reconhecido como uma forma tóxica cumulativa com sérios efeitos inclusive carcinogênico e facilmente

1 Departamento de Química Analítica — Instituto de Química — Unicamp — C. P.I 6154 — Campinas — SP — Brasil — Fone: (019) 788-3010 Fax: (019) 788-3023 — e-mail: lmelo@iqm.unicamp.br

2 Instituto de Tecnologia de Alimentos -Centro de Química e Nutrição Aplicada

Av. Brasil, 2880 -CEP 13073-001 — Campinas — SP — Brasil

Fone: (019) 2415222 / Fax: (019) 2424585 — e-mail: morgano@ital.org.br -e-mail: dilzambm@ital.org.br

absorvido pelo organismo. Doses de arsênio entre 30 e 100 miligramas podem ser fatais¹⁶.

A utilização da polpa de pescado, como matéria-prima para produtos formulados, permite uma recuperação maior das partes comestíveis do pescado comparativamente à obtida por métodos convencionais de filetagem. Uma grande variedade de produtos tem sido preparada a partir da polpa, incluindo salsichas, pastas, croquetes, isolados protéicos e bolinhos salgados. Produtos alimentícios desidratados também podem ser estimulados pela utilização de polpa de pescado. Todavia, a polpa de pescado obtida através da técnica de separação mecânica apresenta alguns problemas, tais como a presença de sangue, pigmentos, partículas ósseas, e fragmentos de pele e membranas que aceleram a deterioração dos produtos mesmo quando estocados a baixa temperatura¹⁵. Nenhum estudo para avaliar a contaminação por metais tóxicos, como arsênio, tem sido relatado na literatura para esta situação.

A determinação de elementos como arsênio, estanho, selênio, antimônio e mercúrio é mais eficiente quando se utiliza a técnica de geração de hidretos gasosos instáveis a altas temperaturas. Esta técnica resulta em determinações com alta seletividade e sensibilidade, com baixos limites de detecção devido a possibilidade de remover o analito da matriz e com baixa interferência espectral. A eficiência da etapa de geração de hidreto depende das condições experimentais e particularmente do estado de oxidação do analito. Algumas espécies se encontram em estado de oxidação não suscetíveis à formação de hidretos (como As(V) e Sb(V)) e devem ser convertidas a estados de oxidação adequados. O procedimento para geração do hidreto de arsênio, a arsina (AsH₃), consiste na conversão de todo o arsênio presente na amostra em arsênio trivalente. O arsênio(V) é reduzido a arsênio(III) através da adição de solução aquosa de um redutor, o iodeto de potássio (solução a 45% (m/v)). Em seguida, obtém-se a arsina (AsH₃), através da reação com borohidreto de sódio em meio ácido. A arsina é um composto extremamente volátil que deixa o meio reacional juntamente com a corrente de hidrogênio gerada; ao atingir o plasma ocorre a atomização^{2,6}. Outro aspecto interessante desta técnica é de que ela pode ser implementada em sistema de injeção em fluxo (FIA).

Muitos trabalhos recentes^{3, 6, 20}, tratam de espécies de água salgada. O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de arsênio em pescado de água doce “*in natura*” através da técnica de geração de hidretos e quantificação em espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES). Os pescados avaliados correspondem às espécies de grande consumo pela população brasileira. Também foram avaliados os níveis de arsênio na polpa e filé das espécies estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

As amostras de pescado “*in natura*” usadas para a determinação do teor de arsênio foram procedentes do Centro de Pesquisa e Treinamento em Aquicultura — CEPTA, IBAMA de Pirassununga (SP). Os peixes foram criados em tanques com idade entre 1 e 2 anos e alimentados com rações cuja composição básica é de: 26% de proteína bruta, 4,7% de lipídios, 6,5% de fibra bruta e 2600 kcal/kg de energia digestível estimada.

Para o estudo foram utilizados entre 50 a 100 kg de peixe de cada espécie. Para a determinação do teor de arsênio foi utilizada uma amostra composta (10 kg) representativa da quantidade total dos peixes. Os peixes inteiros foram filetados manualmente e a polpa foi obtida por separação mecânica do restante da carcaça dos peixes em máquina separadora de carne e ossos, marca Bibun, modelo SDX-13, na planta piloto de pescado do Centro de Tecnologia de Carnes, no Guarujá. A polpa refere-se à carne de pescado separada mecanicamente, obtida a partir do produto eviscerado e descabeçado submetido à ação da máquina de desossa mecânica e lavagem com água clorada. A separação mecânica basicamente envolve ações de dilaceração e compressão para remover a polpa do pescado. O rendimento do processo é de aproximadamente 60%.

Foram usadas as polpas e os filés das seguintes espécies: Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Matrinxã (*Brycon lundii*), Carpa (*Cyprinus carpio*), Tilápia (*Oreochromis niloticus*), Curimatá (*Prochilodus sp.*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*); da espécie Bagre Africano (*Clarias sp.*) somente o filé foi avaliado.

Preparação das Amostras

Após a desossa dos pescados “*in natura*”, as amostras das polpas e filés foram pré-trituradas em um processador de alimentos de uso doméstico e secas em estufa a 100°C durante 15 horas. Em seguida foram homogeneizadas integralmente em moinho Waring-Blender com copo de aço inoxidável até obter-se um pó fino do produto.

Método

Para a determinação do teor de arsênio total das amostras, utilizou-se a técnica de mineralização por via seca com nitrato de magnésio de acordo com LEBLAND et alii¹⁰, conforme descrito a seguir: pesaram-se 2,0000g de amostra seca e pulverizada em um béquer de 150 mL, adicionaram-se 8 mL de solução aquosa de nitrato de magnésio a 50% (m/v) e 10 mL de ácido nítrico concen-

trado p.a. Aqueceu-se em chapa elétrica, evaporando-se o líquido até carbonização das amostras. Em seguida, o resíduo foi levado à mufla, com aquecimento gradual de temperatura até 450°C, permanecendo por 15 horas nesta temperatura. As cinzas, assim obtidas, foram dissolvidas com solução de HCl 6 mol L⁻¹ em balão volumétrico de 25 mL e quinze minutos antes de proceder a quantificação do teor de arsênio das amostras, foram adicionados 500 µL de solução 50% (m/v) de iodeto de potássio.

A quantificação do arsênio foi realizada pela técnica de geração de hidretos usando-se um gerador de hidretos (PS Analytical, Kent, UK), sob fluxo contínuo, empregando-se solução 0,5% (m/v) de borohidreto de sódio em hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ como agente redutor e solução 1 mol L⁻¹ de ácido clorídrico como carregador.

Como detector foi usado o espectrômetro de emissão atômica com plasma de argônio acoplado indutivamente, modelo ICP 2000 simultâneo (BAIRD, Bedford, USA). As condições de operação do espectrômetro foram: potência de radiofrequência aplicada, 1200W; linha de emissão para o elemento As, 189,04 nm; pressão de gás na linha, 50 psi; ajuste de posição da tocha: horizontal, 19 mm e vertical 19,5 mm. Foi utilizada uma curva de calibração entre 0,001 a 0,100 mg kg⁻¹ para a quantificação do arsênio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação da Metodologia

O limite de detecção (LD) de arsênio foi determinado a partir da leitura da intensidade de emissão de 10 replicatas de branco, preparadas seguindo o mesmo procedimento de preparação de amostras. O limite de detecção foi calculado segundo LONG et alii¹¹, a partir da equação:

$$LD = 3. \sigma_B / s \quad (1)$$

onde: σ_B é o desvio padrão relativo dos valores de intensidade de emissão e s é a sensibilidade do método (coeficiente angular da curva de calibração). O limite de detecção determinado foi de 6,5 µg kg⁻¹.

Para a validação do método foi analisado o material de referência certificado, tecido de ostra SRM 1566a do National Institute of Standards & Technology (NIST). O resultado obtido para uma triplicata foi de 15,0 ± 1,1 µg kg⁻¹, concordando com o valor certificado de 14,0 ± 1,2 µg kg⁻¹.

Os elementos alumínio, ferro, cobre e zinco, presentes na amostra certificada de tecido de ostra SRM

1566a (NIST), são considerados os interferentes mais prováveis em amostras de peixes. Nenhuma interferência química foi observada no processo de geração de hidreto na presença de alumínio, ferro, cobre e zinco nas concentrações de 20 mg kg⁻¹, 50 mg kg⁻¹, 6 mg kg⁻¹ e 80 mg kg⁻¹, respectivamente, cujos níveis são maiores do que os encontrados nas amostra de peixes estudados. TRACY et alii²¹ e HERSHEY & OOSTDYK⁹ estudaram estes e outros interferentes metálicos em sistemas similares não verificando interferência destes metais na formação da arsina.

Níveis de arsênio nas espécies de peixes estudados

O teor de arsênio foi avaliado tanto nos filés quanto nas polpas para verificar se o processo de desossa mecânica pode contribuir com aumento ou redução do teor deste elemento, pois as indústrias de produtos de processamento à base de pescado tem utilizado as polpas mecanicamente separadas com o objetivo de maior aproveitamento da matéria-prima.

Os teores de arsênio obtidos, na base úmida, em todas as espécies estudadas estão apresentados na Tabela 1. O teor de umidade das amostras variou de 69% a 78% para as polpas e de 66% a 79% para os filés. As amostras foram analisadas em triplicata e os resultados expressos correspondem às médias dos valores obtidos com os respectivos desvios padrão (s).

EGAAS & BRAEKKAN⁷ determinaram o teor de arsênio em 43 amostras de peixes *in natura* e processados (enlatados) cujas concentrações variaram de 0,15 a 18,7 mg kg⁻¹. LUNDE¹² analisou algumas espécies de peixes marinhos e encontrou teores de arsênio que variaram entre 1 e 20 mg kg⁻¹. BROOK & EVANS⁵ avaliaram o teor de arsênio inorgânico total em diferentes espécies marinhas e encontrou valores entre 1,1 a 26 mg kg⁻¹. Os valores de arsênio encontrado neste estudo foram menores do que aqueles citados nas literaturas. Isto pode ser devido ao fato de tratar-se de peixes de água doce criados em cativeiro, enquanto os da literatura são espécies marinhas. Para as espécies analisadas não se encontrou literatura para comparação dos valores obtidos.

Através da tabela 1 foi verificado que, para as espécies de Pacu e Tambaqui os níveis de arsênio encontrados para os filés foram mais elevados do que para as polpas. Já para as espécies de Carpa, Tilápia e Curimatá ocorreu o inverso, ou seja, os maiores níveis de arsênio foram encontrados para a polpa. Para a espécie Matrinxã os níveis de arsênio estão próximos tanto na polpa quanto no filé. Os níveis de arsênio variaram de 27,27 a 66,03 µg kg⁻¹ para os filés e de 8,34 a 277 µg kg⁻¹ para as polpas.

Segundo SEARCY e HAMM¹⁸ os teores de minerais podem diferir significativamente entre a carne meca-

Tabela 1. Níveis de arsênio total, na base úmida, das espécies de peixes estudadas.

Espécie	Concentração de arsênio ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
	Polpa	Filé
Pacu	$8,34 \pm 1,62$	$49,19 \pm 1,00$
Matrinxã	$24,02 \pm 0,00$	$27,27 \pm 0,46$
Carpa	209 ± 1	$66,03 \pm 1,06$
Tilápia	277 ± 1	$37,62 \pm 2,46$
Curimbatá	$92,82 \pm 0,29$	$29,52 \pm 1,44$
Tambaqui	$23,67 \pm 2,13$	$42,49 \pm 1,67$
Bagre	—	$43,15 \pm 1,25$

nicamente separada e o filé porque pequenas quantidades de ossos e outros tecidos (sangue, tecido nervoso e conectivo) são incorporados à carne mecanicamente separada. Eles afirmam que a grande variação de elementos presentes em pequenas quantidades (como chumbo, cobre e manganês) nos produtos que usam carne mecanicamente separada podem ser explicadas pela contaminação durante a desossa, sugerindo que existe a necessidade de um controle frequente de lotes de produção.

Em muitos países, o teor de arsênio em alimentos é regulamentado por lei. No Brasil, o Decreto nº 55.871/65¹ (D.O.U. de 29/05/1965-Seção I/Parte I) traz na sua Tabela II a relação de aditivos incidentais toleráveis em alimentos¹³. A Portaria nº 685/98⁴ da Secretaria de Vigilância Sanitária — MS (D.O.U. de 28/08/1998- Seção I) fixa valor máximo de arsênio para peixe e produtos de peixe em $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Sendo assim, observa-se que nenhuma das amostras analisadas está com o teor de arsênio além do nível máximo permitido.

CONCLUSÕES

O método de preparo de amostra para a determinação de arsênio utilizando-se a técnica de mineralização por via seca com nitrato de magnésio e ácido nítrico mostrou-se eficiente e evitou a perda por volatilização do arsênio. A detecção de arsênio por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma acoplado ao gerador de hidretos apresentou boa reprodutibilidade dos dados e permite sua quantificação em níveis de traços em pescados.

A avaliação das espécies de peixes coletadas no CEPTA, IBAMA de Pirassununga, permite concluir que os níveis de arsênio estão de acordo com os estabelecidos pela legislação brasileira. Os níveis encontrados de arsênio nas polpas e filés diferiram entre as espécies estudadas. Nas espécies de Carpa, Tilápia e Curimbatá os níveis de arsênio foram maiores na polpa, enquanto que para as espécies Pacu e Tambaqui os níveis de arsênio foram maiores no filé. Na espécie Matrinxã os níveis de arsênio encontrados estão próximos tanto no filé quanto na polpa.

MELO, L.F.C.; MORGANO, M. A. & MANTOVANI, D.M.B. Evaluation of arsenic content in fish from freshwater. — Rev. Instituto Adolfo Lutz, 58(2): 1999.

ABSTRACTS: The level of arsenic was determined in pulps and steak of the following freshwater fish species: Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Matrinxã (*Brycon lundii*), Carp (*Cyprinus carpio*), Tilápia (*Oreochromis niloticus*), Curimatá (*Prochilodus sp.*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Bagre Africano (*Clarias sp.*). The samples were obtained from the Center of Research and Training in Agriculture, Pirassununga, São Paulo. The determination of the arsenic element was performed by hydride generator-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES), after mineralizing by drying with magnesium nitrate of the samples. The quantity obtained of arsenic in $\mu\text{g kg}^{-1}$ from the fishes for steak and pulps respectively were: Pacu (49 e 8), Matrinxã (27 e 24), Carp (66 e 209), Tilápia (37 e 277), Curimatá (30 e 93), Tambaqui (42 e 24) e Bagre (43). Arsenic levels below the recommended Brazilian legislation were found in all samples.

KEY WORDS: arsenic; ICP-AES; hydride generator, fish.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO. *Compêndio de normas e padrões para alimentos*, São Paulo, 1990.
2. BOWMAN, J.; FAIRMAN, B.; CATTERICK, T. Development of a multi-element hydride generation-inductively coupled plasma mass spectrometry procedure for the simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium in waters. *J. Anal. Atom. Spec.*, 12: 313-316, 1997.
3. BRANCH, S.; EBDON, L.; O'NEILL, P. Determination of Arsenic Species in Fish by Directly Coupled High-performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. Atom. Spec.*, 9: 33-37, 1994.
4. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria no 685 de 27/08/98. *Diário Oficial da União*, Brasília, 24/09/98. Seção 1, p. 1-4.
5. BROOKE, P.J.; EVANS, W.H. Determination of total inorganic arsenic in fish, shellfish and fish products. *Analyst*, 106: 514-520, 1981.
6. DAMKRÖGER, G.; GROTE, M.; JANßEN, S. Comparison of sample digestion procedures for the determination of arsenic in certified marine samples using the FI-HG-AAS-technique. *Fres. J. Anal. Chem.*, 357: 817-821, 1997.
7. EGAAS, E.; BRAEKKAN, O. R. The arsenic content in some Norwegian fish products. *Fish Dir. Skr. Ernaring*, 1(3): 93-98, 1977.
8. EL MOLL, A.; HEIMBURGER, R.; LAGARDE, F.; LEROY, M.J.F.; MAIER, E. Arsenic speciation in marine organisms: from the analytical methodology to the constitution of reference materials. *Fres. J. Anal. Chem.*, 354: 550-556, 1996.
9. HERSHEY, J.W.; OOSTDYK, T.S. Determination of arsenic and selenium in environmental and agricultural samples by hydride generation atomic absorption spectrometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71(6): 1090-1093, 1988.
10. LEBLAND, P.J.; JACKSON, A.L. Dry ashing technique for the determination of arsenic in marine fish. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 56(2): 383-386, 1973.
11. LONG, G.L.; WINEFORDNER, J.D. Limit of detection, a closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.*, 55(7): 712A-724A, 1983.
12. LUNDE, G. Analysis of arsenic and selenium in marine raw materials. *J. Sci. Food Agric.*, 21(5): 242-247, 1970.
13. MANTOVANI, D.M.B. Contaminantes metálicos em pescados. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. *Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado*, Santos, 1988. Santos Editora Universitária Leopoldinum, São Paulo, Edições Loyola, 1988, p. 231-238.
14. MANTOVANI, D.M.B.; ANGELUCCI, E. Avaliação do teor de arsênico em atum e sardinha. *Bol. SBCTA*, 26(1): 1-5, 1992.
15. MORAIS, C.; AGUIRRE, J.M.; DELAZARI, I.; PIZZINATO, A.; TRAVAGLINI, M.M.E.; FIGUEIREDO, I.B.; SALES, A.M.; KAI, M. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 18(2): 177-199, 1981.
16. REILLY, C. *Metal Contamination of Food* 2.ed. London: Elsevier, 1991.
17. SANTA MARIA, I.; GONZALEZ, M.; LARA, W.; OBER, A. Arsenic levels in Chilean marine species.

- Bulletin of Enviromental Contamination and Toxicology*, 37(4): 593-598, 1986.
18. SEARCY, G.K.; HAMM, D. Mineral contents of commercial samples of mechanically deboned poultry meat. *Poultry Sci.*, 60: 686-688, 1981.
 19. SHINAGAWA, A.; SHIOMI, K.; YAMANAKA, H.; HIKUCHI, T. Selective determination of inorganic arsenic (III), (V) and organic arsenic in marine organisms. *Bulletin of Japan Society of Scientific Fisheries*, 49(1): 75-78, 1983.
 20. TAKATSU, A.; UCHIUMI, A. Abnormal arsenic accumulation by fish living in a naturally acidified lake. *Analyst*, 123: 73-75, 1998.
 21. TRACY, M.L.; LITTLEFIELD, E.S.; MOLLER, G. Continuous flow vapor generation for inductively coupled plasma argon plasma spectrometric analysis. Part 2. Arsenic. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74(3): 516-521, 1991.

Recebido para publicação em 24/03/1999.