



Comparação estatística entre quatro métodos analíticos para determinação de arsênio em amostras de tucunaré (*Cichla spp.*)

SANTANA, L.*¹; SARKIS, J.E.S.¹; HORTELLANI M.¹

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN, Avenida Lineu Prestes, 2.242, CEP05508-000, Cidade Universitária, SP, Brasil; *email: lvsantana@ipen.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a significância estatística de métodos analíticos diferentes para determinação de As total em amostras de tecido muscular de peixe da espécie tucunaré. As amostras foram preparadas por meio de imersão do tecido de peixe limpo e triturado em solução fortificada com $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de Arsênio. Todo preparo seguiu as normas ISO 34 e 35 específicas para preparo de materiais de referência. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias de Tukey ($P < 0,05$). A análise estatística demonstrou que não houve diferenças significativas nos resultados obtidos por métodos semelhantes, enquanto que a análise dos resultados obtidos por AAS diferiram significativamente ($P > 0,05$) dos obtidos pelos métodos ICP-MS e ICPOES.

Palavra-chave: Piscicultura, tucunaré, ensaios de proficiência, espectrometria de massas, espectrometria de absorção atômica.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the statistical significance of different analytical methods for determination of total As in samples of muscle tissue of species fish peacock bass sp. The samples were prepared by dipping the cleaned fish tissue and triturated in solution fortified with $1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ of arsenic. All the preparation followed the ISO 34 and 35 standard specific for preparation of reference materials. The data was submitted to ANOVA and Tukey's test ($P < 0.05$). No significant differences were observed among the results obtained by similar methods, whereas significant differences ($P > 0.05$) were found between the AAS and ICP methods.

Keyword: Pisciculture, peacock bass, proficiency testing, mass spectrometry, atom absorption spectrometry.



INTRODUÇÃO

Os metais potencialmente tóxicos são poluentes conservativos de grande importância atualmente, pois eles dificilmente sofrem degradação por ataque bacteriano, deste modo no ambiente aquático estes metais distribuem entre as colunas de água, água intersticial dos sedimentos, fase sólida suspensa e sedimentada, organismos aquáticos e plantas. O fato desses metais poderem acumular-se nos organismos bentônicos em níveis tóxicos torna frequente a sua quantificação em ostras, bivalves e peixes. Assim a utilização pelo homem de ostras, bivalves e peixes, contaminados, como alimento podem causar uma série de transtornos a saúde e até morte (COIMBRA, 2003).

Os métodos analíticos utilizados atualmente em amostras ambientais são variados, como por exemplo, a espectrometria de absorção atômica com chama (F-AAS), com forno de grafite (GF-AAS), com geração de hidretos (HG-AAS) e a espectrometria de massas acoplada a plasma indutivo (ICP-MS) e a espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICPOES).

Apesar, dos métodos anteriormente citados exigirem um alto investimento inicial, permitem aumentar a faixa de concentração dos compostos medidos até níveis da ordem de grandeza de $\mu\text{g g}^{-1}$, $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e ng g^{-1} (RIBEIRO, 2006).

Os métodos analíticos escolhidos para comparação estatística neste trabalho foram a espectrometria com forno de grafite (GF-AAS) e com geração de hidretos (HG-AAS), a espectrometria de massas acoplada a plasma indutivo (ICP-MS) e a espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICPOES) (RIBEIRO, 2006). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças estatisticamente significativas entre quatro técnicas analíticas utilizadas para determinação de As total em amostras de tecido de peixe.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 2 peixes com 660 g e 589 g, respectivamente, adquiridos em feira livre da cidade de Itaituba, região Amazônica próximo ao rio Tapajós. Os peixes foram limpos, removendo-se cabeça, rabo, vísceras e pele, usando uma faca de aço inox. O tecido muscular foi filetado, triturado em um triturador doméstico e imerso em solução a 2 % de ácido nítrico destilado,



fortificado com As na concentração de $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ (concentração inicial $0,096 \mu\text{g g}^{-1}$). Em seguida, o material foi homogeneizado em uma batedeira doméstica por 10 minutos, resultando em 1300 g de material.

O material foi envasado em 86 sachês de 15 g cada. O lote preparado foi irradiado em um ciclotron modelo Cyclone-30 (Empresa IBA - Ion Beam Applications), no Centro de Tecnologia das Radiações do IPEN, com $10,0 \pm 1,05 \text{ kGy}$ utilizando uma fonte de cobalto ^{60}Co à temperatura de $24 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$, 43 sachês foram separados aleatoriamente para os estudos de homogeneidade e estabilidade e o restante foi utilizado em um estudo-piloto de ensaio de proficiência.

Participaram do ensaio de proficiência 10 laboratórios, os quais receberam 1 sachê de amostra de 15 g. Apenas 6 laboratórios enviaram os resultados obtidos pelos métodos analíticos citados anteriormente. Os demais não enviaram seus resultados em virtude de problemas técnicos analíticos. Solicitou-se que os laboratórios procedessem de acordo com sua rotina e enviassem o resultado de triplicatas analisadas em dias diferentes, junto com o desvio padrão e limite de detecção da técnica.

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias de Tukey (HSD) a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o teste de Shapiro-Wilks para normalidade apresentou valor $W_{\text{calculado}}$ de 0,97, para ($P > 0,05$), comprovando a normalidade dos dados. Após este teste, foi aplicada análise de variância e o teste de comparação de médias de Tukey entre os métodos e evidenciou-se que há diferença significativa ($P < 0,05$), nos resultados (Tabela 1) determinados por métodos variados. No entanto, não se observou diferenças significativas entre métodos semelhantes ($P > 0,05$).

A comparação de métodos analíticos é importante para a caracterização de materiais de referência certificados, onde o item 5.10 na norma ISO 35 sugere a caracterização por diferentes métodos e/ou diversos laboratórios, desde que haja um controle sobre as medições, o que constitui um pré-requisito para se conseguir a rastreabilidade dos resultados utilizados para a

certificação do candidato a material de referência ou para obtenção de valores designados para amostras de proficiência.

Neste contexto, deve-se avaliar a extensão com a qual os diferentes componentes de incerteza irão contribuir para a incerteza associada ao valor da propriedade. Além disso, é importante que o valor da propriedade atribuído e sua incerteza. São mostrados os valores das concentrações obtidas de As total as técnicas analíticas verificadas, acompanhados da incerteza expandida Gráfico 1.

Tabela 1. Médias, desvios padrões e limite de detecção da análise de As total em tecido de peixe por diferentes métodos analíticos

Lab.	média ± DP (µg g ⁻¹)	CV (%)	LD (enviado pelos laboratórios)	LD (µg g ⁻¹)	Método analítico
1	0,97 ± 0,05 ^a	5,2	2,2 µg Kg ⁻¹	0,0022	HG-AAS
2	1,27 ± 0,11 ^a	8,7	0,0275 µg g ⁻¹	0,0275	GF-AAS
3	0,82 ± 0,01 ^b	1,2	0,0009 µg g ⁻¹	0,0009	ICPOES
4	1,14 ± 0,04 ^a	3,5	0,852 ng g ⁻¹	0,000852	ICPOES
5	1,09 ± 0,09 ^b	8,3	0,15 µg L ⁻¹	0,00015	ICP-MS
6	1,03 ± 0,05 ^a	4,9	2,5 µg Kg ⁻¹	0,0025	HG-AAS

^{ab} Letras diferentes representam diferenças estatísticas por Tukey (P<0,05)

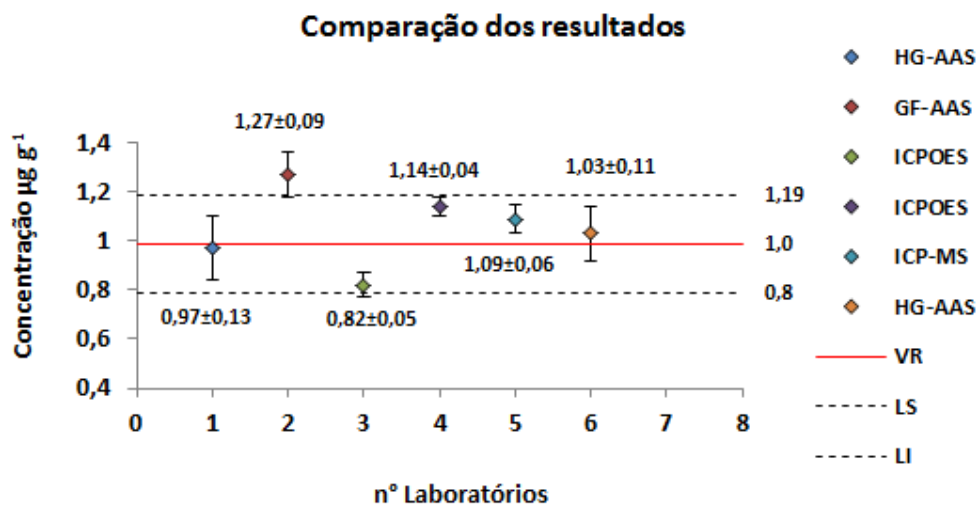


Gráfico 1. Comparação dos resultados de arsênio total (As) nas técnicas HG-AAS, GF-AAS, ICPOES e ICP-MS. A linha tracejada vermelha representa o valor de referência das amostras e as linhas tracejadas em preto são os limites superior e inferior.



CONCLUSÕES

Foram detectadas diferenças significativas entre os métodos analíticos empregados neste estudo, evidenciando a importância de uma avaliação criteriosa de dados levantados a partir de amostras biológicas, por serem complexas e sujeitas a interferências no momento da análise. A comparação direta foi muito próxima para os métodos semelhantes como de espectrometria por forno de grafite e geração de hidretos. Neste trabalho não foi levado em consideração qual dos métodos era o mais preciso e sim se haviam diferenças entre eles.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2012) Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação, ABNT ISO GUIA 34.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2012). Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação, ABNT ISO GUIA 35.
- COIMBRA, A. G. (2003). Distribuição de metais pesados em moluscos e sedimentos nos manguezais de Coroa Grande e das Enseadas das Garças, Baía de Sepetiba, RJ. 2003. 72 f. Dissertação Mestrado em Geociências - Universidade Federal Fluminense. Niterói.
- RIBEIRO, C. M. C. DA MATA (2006). Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1822/7381>. Acessado em: 11/07/2014.