

## SOLUBILIZAÇÃO ALCALINA DE PEIXES E OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA PARA DETERMINAÇÃO DE CHUMBO E MANGANÊS USANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Luciano de Almeida Pereira\*, Cláudia Carvalhinho Windmöller e José Bento Borba da Silva

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-090 Belo Horizonte – MG, Brasil

Waldomiro Borges Neto

Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Av. João Naves de Ávila, 2121, 38400-902 Uberlândia – MG, Brasil

Recebido em 15/9/10; aceito em 1/3/11; publicado na web em 5/5/11

ALKALINE SOLUBILIZATION OF FISH AND MULTIVARIATE OPTIMIZATION FOR DETERMINATION OF LEAD AND MANGANESE USING GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY. This paper describes the development of methods for the determination of Pb and Mn in fishes by GF AAS after solubilization with tetramethylammonium hydroxide. The optimization of the operational conditions and the choice of modifier were made using multivariate optimization. Analytical Figures of Merit were adequately to propose. The Limit of Quantification obtained were 150 and 18.5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  to Mn and Pb, respectively. No significant difference was found between the slope values obtained for the aqueous and standard addition calibration curves. The D.P.R. was always lower than 12% and the analysis of the SRM NRCC TORT2 showed 80-120% of recovery.

Keywords: GF AAS; TMAH; multivariate optimization.

### INTRODUÇÃO

A contribuição dos peixes como fonte de proteínas na alimentação humana em escala global é de 10 a 15%.<sup>1</sup> Embora o consumo deste alimento seja benéfico à saúde das pessoas, é fundamental que o produto não apresente concentração de metais acima dos limites recomendados.<sup>2</sup> O quadro exposto justifica o desenvolvimento de metodologias para determinar a concentração de metais tóxicos em peixes.

A determinação de metais em peixes e em outras amostras de alimentos pode ser feita por meio de técnicas instrumentais como: espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).<sup>3</sup> Características de GF AAS, como os baixos valores relativos para limite de quantificação, o uso de pequenas quantidades de amostra, a eliminação eficiente de interferências espectrais e não espectrais e a possibilidade de se utilizar processos mais simplificados de preparo de amostras e, até mesmo, o não preparo, tornam esta técnica atrativa para o monitoramento da presença de metais em peixes.<sup>4</sup>

Alguns exemplos de emprego de GF AAS para a determinação de metais em peixes podem ser citados: digestão ácida assistida por ultrassom na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb em amostras de solos, sedimentos, peixes e tecidos vegetais;<sup>5</sup> uso de digestão assistida por micro-ondas com mistura de ácidos (HF, HNO<sub>3</sub> e HCl) na determinação de Cd, Cu, Pb, e Zn em peixes.<sup>6</sup> Em outro trabalho, amostras de peixe foram solubilizadas por HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com digestão assistida por micro-ondas para posterior determinação de Cr, Pb, Mn e Ni por GF AAS.<sup>7</sup> Todos estes exemplos de emprego de GF AAS na determinação de metais em peixes utilizam estratégias de preparo de amostras que em meio ácido. No entanto, há também registros de procedimentos empregando solubilização alcalina com reagentes como misturas de

aminas terciárias solúveis em água e o TMAH (hidróxido de tetrametilamônio).<sup>8</sup> Giacomelli e colaboradores<sup>9</sup> utilizaram 1,2 mL de TMAH 25% m/m na solubilização de 300 mg de amostras de peixes. A mistura foi digerida em recipientes fechados e mantida a 60 °C em banho-maria por 10 min, até completa solubilização. O procedimento se mostrou adequado para a determinação de As, Cd e Pb em amostra de material certificado (NRCC DORM 2).

A otimização univariada dos parâmetros experimentais (tipo de modificador químico e temperaturas de atomização e pirólise) na análise por GF AAS é normalmente realizada por meio de curvas de pirólise e atomização, que necessitam de um grande número de experimentos e aumenta os custos das análises, além de não permitir que se avalie a interação entre as variáveis otimizadas. A otimização multivariada é mais adequada quando muitas variáveis são estudadas.<sup>10</sup> O planejamento fatorial fracionário é uma ferramenta estatística adequada para avaliar os efeitos das variáveis e suas interações através de poucos experimentos. Estes planejamentos são empregados quando o número de variáveis é igual ou maior que 4 e possibilitam obter as mesmas informações que os planejamentos fatoriais completos, mas com menor número de experimentos.<sup>11,12</sup>

Neste trabalho, a otimização multivariada (planejamento fatorial e planejamento composto central) dos parâmetros experimentais (modificador químico, tempo de pirólise e temperaturas de atomização e pirólise) na análise por GF AAS foi empregada para determinação de Pb e Mn em amostras de peixes após solubilização alcalina com TMAH.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Equipamentos

Todas as medidas foram feitas em um equipamento da Perkin Elmer Analyst 400, equipado com um amostrador automático (AS-800), com lâmpada de deutério para correção de fundo. Lâmpadas de cátodo oco (HCL) para chumbo, operando a 5 mA, com largura de fenda de

\*e-mail: almeidap1@yahoo.com.br

0,5 nm e em comprimento de onda de 283,3 nm (Perkin Elmer, Part No. N305-0157), e para manganês (multielementar) operando a 25 mA, com largura de fenda de 0,6 nm e em comprimento de onda de 279,5 nm (Perkin Elmer, Part No. N305-0212) foram utilizadas. O argônio, 99,999% de pureza, usado como gás de purga, foi fornecido pela White Martins®. O fluxo do gás de purga foi de 250 mL min<sup>-1</sup>. Tubos de grafite pirolítico (Perkin Elmer, Part No. B3-001254) com plataforma de L'Vov (Perkin Elmer, Part No. B3-001256) foram utilizados nos estudos.

### Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico. O ácido nítrico 65% (m/m) foi fornecido pela Merck e o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) 25% (m/m) em água foi fornecido pela Fluka.

Soluções padrões dos elementos empregados como modificador permanente foram: irídio 0,996 g L<sup>-1</sup> em ácido clorídrico 10% (v/v) e ródio 1,011 g L<sup>-1</sup> em ácido clorídrico 4,9% (v/v), ambas fornecidas pela Aldrich; rutênio 1,000 g L<sup>-1</sup> em ácido clorídrico 1 mol L<sup>-1</sup> e zircônio 1,000 g L<sup>-1</sup> em ácido clorídrico 2 mol L<sup>-1</sup>, ambas fornecidas pela Fluka e tungstênio 1,000 g L<sup>-1</sup> em ácido nítrico 2 mol L<sup>-1</sup> fornecida pela Vetec.

As soluções padrões de Pb e Mn foram preparadas de uma solução estoque 1000 mg L<sup>-1</sup> da Merck em ácido nítrico 2% (v/v). A água desionizada utilizada no preparo das amostras e das soluções foi obtida por um sistema Milli-Q (resistividade de 18 MΩ cm<sup>-1</sup>). Material certificado de referência, TORT-2 Lobster Hepatopancreas (fígado e pâncreas de lagosta), do *National Research Council of Canada* (NRCC), foi utilizado na avaliação da exatidão das metodologias propostas.

### Materiais

Vidrarias e recipientes de plástico, como ponteiras de micropipetas, tubos de centrifuga e copos do amostrador automático do equipamento, foram deixadas mergulhadas em solução HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) por no mínimo 24 h e, em seguida, rinsadas várias vezes com água Milli-Q e secas em ambiente fechado. A solução de limpeza do pipetador automático do amostrador do GF AAS foi preparada pela mistura de Triton® X-100 0,1% (v/v) (Merck) e ácido nítrico 0,2% (v/v). Esta solução de limpeza foi usada para evitar a adsorção da amostra solubilizada na superfície interna do capilar do amostrador automático, bem como para melhorar a dispersão da solução sobre a plataforma do tubo de grafite.

### Avaliação estatística multivariada

Todas as operações matemáticas e estatísticas, como a construção dos gráficos de Pareto e das superfícies de resposta e os cálculos dos resíduos dos modelos, foram feitas com o auxílio do programa Statistica 6.0 (Statsoft, USA).

### Preparo da amostra

As amostras utilizadas na otimização da metodologia foram coletadas na Lagoa da Pampulha, Belo Horizonte, Brasil. Os peixes foram lavados com água destilada e cortados com uma faca de plástico para retirada das vísceras. Apenas o músculo foi utilizado nos estudos e o mesmo foi mantido sob refrigeração a -5 °C até o momento do uso. 0,2000 mg do peixe foram pesados diretamente em um frasco cônico de 15,0 mL. 0,50 mL de TMAH 25% (m/m) foram adicionados à amostra e a mistura mantida em banho-maria a 60 °C por 30 min, até a completa solubilização; em seguida, o volume foi completado a 10,0 mL com água Milli-Q. Foi necessário contaminar artificialmente

a amostra solubilizada com Pb para se obter concentração em torno de 20 µg L<sup>-1</sup>. A concentração do metal presente no peixe coletado não era suficiente para produzir sinal analítico de intensidade adequada aos objetivos do estudo. O volume da alíquota da amostra solubilizada empregado nas leituras no GF AAS foi de 20 µL.

A amostra de material certificado foi preparada nas mesmas condições que a amostra de peixe *in natura*. No entanto, foram necessárias 2 h para completar o processo de solubilização.

### Tratamento do tubo de grafite

A plataforma de L'vov foi tratada pela aplicação de 50 µL da solução do modificador 1000 mg L<sup>-1</sup> e o tubo foi submetido a programa específico de temperatura apresentado em estudos anteriores.<sup>13,14</sup> Este procedimento foi realizado 10 vezes de forma a se obter um depósito de 500 µg de modificador permanente sobre a plataforma de L'vov. O processo foi aplicado em diferentes tubos de grafite com todos os modificadores estudados.

### Otimização das condições de funcionamento do GF AAS

#### Triagem dos modificadores

A escolha dos dois modificadores empregados na etapa de otimização multivariada foi feita utilizando o programa de temperatura do forno recomendado pelo fabricante do equipamento. A escolha foi baseada no aspecto do sinal analítico formado, bem como na maior intensidade de absorção com correção de fundo.

#### Otimização multivariada

Os dois modificadores escolhidos na etapa de triagem e as temperaturas de pirólise e atomização recomendadas pelo fabricante do equipamento foram utilizadas na montagem de um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para avaliar as variáveis significativas na determinação de Mn em peixes. Para Pb foi montado um planejamento fatorial fracionário 2<sup>4-1</sup> onde foi incluída outra variável (tempo de duração da etapa de pirólise) aos três fatores avaliados para Mn. A opção por incluir a variável tempo de pirólise para o Pb se deu pela influência desta variável na determinação do analito, conforme relatado em outros estudos.<sup>4</sup> As matrizes dos planejamentos fatoriais dos dois analitos são apresentadas na Tabela 1. As variáveis indicadas como significativas pelo planejamento fatorial foram utilizadas para montagem de um planejamento composto central (CCD) que estabeleceu as condições otimizadas de análise. Em todos os experimentos a temperatura de limpeza foi mantida em 2800 °C por 5 s.<sup>15</sup>

**Tabela 1.** Matriz do planejamento fatorial para avaliação das variáveis significativas na determinação de Mn e Pb em peixes

Variáveis	Níveis			
	Mn		Pb	
	(-1)	(+1)	(-1)	(+1)
Temperatura de pirólise (°C)	1400	1700	400	700
Temperatura de atomização (°C)	2200	2600	2000	2500
Tempo de pirólise (s)	-	-	6	20
Modificador (Tipo)	W	Rh	Ir	Zr

### Validação analítica

As figuras analíticas de mérito avaliadas foram: limites de detecção e de quantificação, linearidade, seletividade, precisão e exatidão. Foram

preparadas três curvas de calibração em água Milli Q (calibração aquosa) e três curvas de calibração em peixe solubilizado. Os cálculos para obtenção das figuras de mérito foram feitos com os valores médios das leituras obtidas nas três curvas de calibração em cada meio.

#### Faixa de trabalho, limites de detecção e quantificação

A faixa de trabalho empregada foi de 10,0 a 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Pb e Mn. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados usando-se as Equações 1 e 2, respectivamente:

$$LD = 3 \frac{\sigma}{b} \quad (1)$$

$$LQ = 10 \frac{\sigma}{b} \quad (2)$$

onde,  $\sigma$  é a estimativa de desvio padrão de 10 leituras do branco dos reagentes da curva de calibração e  $b$  a inclinação da curva de calibração.

#### Linearidade

A avaliação da linearidade foi feita pelo cálculo do coeficiente de correlação da curva de calibração ( $r$ ). Foram consideradas como satisfatórias as curvas cujos valores de  $r$  foram maiores ou iguais a 0,99.<sup>16</sup>

#### Seletividade

A seletividade das metodologias propostas foi feita pela comparação das inclinações das curvas de calibração aquosa e das curvas por adição de padrão. A comparação foi feita por teste F de Fischer-Snedecor e teste t de Student a um nível de 95% de significância. As diferenças estatísticas entre as inclinações das curvas das duas estratégias de calibração indicam que há componentes da matriz interferindo na medida do sinal analítico, impedindo o uso da calibração aquosa.<sup>16</sup>

#### Precisão

A precisão foi avaliada através da estimativa do desvio padrão relativo das leituras (RSD), calculada pela Equação 3:<sup>17</sup>

$$\text{RSD}(\%) = (s/\bar{x}) \cdot 100 \quad (3)$$

onde:  $s$  é igual à estimativa de desvio padrão das medidas;  $\bar{x}$  é igual à concentração média.

As metodologias foram consideradas como precisas quando apresentaram valores de RSD% menores que 15%.<sup>18</sup>

#### Exatidão

A avaliação da exatidão foi feita pelo cálculo do erro relativo percentual da concentração encontrada em relação à concentração certificada do analito no material de referência. A Equação 4 foi utilizada nesta avaliação:

$$E_R = ((X_{\text{lab}} - X_v)/X_v) \times 100 \quad (4)$$

onde:  $X_{\text{lab}}$  é a concentração encontrada;  $X_v$  é a concentração do analito no material certificado.

Considerou-se o intervalo de recuperação de 80 a 120% como suficiente para aceitação da exatidão da metodologia investigada.<sup>19</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Otimização multivariada

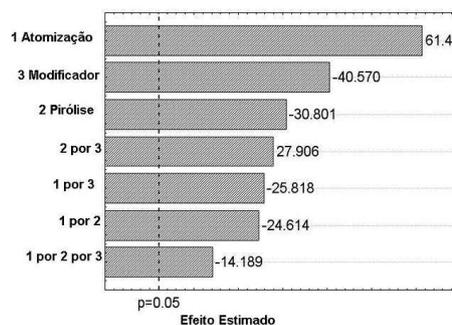
Os dois modificadores que apresentaram as melhores perfor-

mances na etapa de triagem de modificador foram Ir e Zr para Pb e Rh e W para Mn. A Tabela 2 apresenta os resultados de absorvância para os dois analitos nos modificadores investigados. Os resultados obtidos com os experimentos nos planejamentos fatoriais produziram os gráficos de Pareto para Mn e Pb, apresentados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

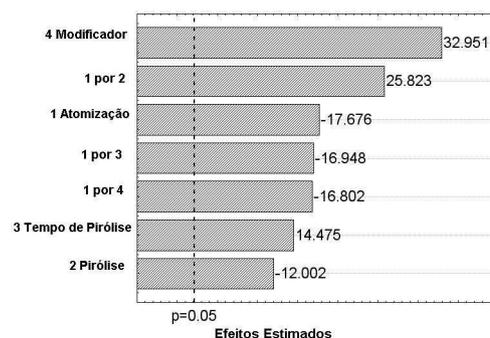
**Tabela 2.** Escolha dos melhores modificadores na determinação de Pb e Mn em peixes

Modificador	Mn ABS (n = 5)	Pb ABS (n = 5)
W	0,362*	0,041
Ir	0,020	0,070*
Rh	0,397*	0,045
Zr	0,193	0,045*
Ru	0,339	0,015
Sem modificador	0,340	0,026

\* Modificadores escolhidos para construção do planejamento fatorial



**Figura 1.** Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial na determinação de Mn em peixes



**Figura 2.** Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial fracionário na determinação de Pb em peixes

Observa-se na Figura 1 que todas as variáveis estudadas são significativas na determinação de Mn em peixes, onde os efeitos principais indicam tendência positiva (nível alto) para a temperatura de atomização e tendências negativas (nível baixo) para o tipo de modificador e a temperatura de pirólise. Isto significa que para obtermos maior resposta, devemos manter a temperatura de atomização na região de 2600 °C, temperatura de pirólise em 1400 °C e usar W como modificador. A interação entre tipo de modificador e temperatura de pirólise foi positiva, o que significa que seguindo as tendências de seus efeitos principais (nível baixo) se obtém maior resposta. No caso das demais interações, temperatura de atomização com tipo

de modificador e temperatura de atomização com temperatura de pirólise, observa-se que os valores foram negativos, indicando que a resposta diminui seguindo as tendências de seus efeitos principais. Estabelece-se, assim, um conflito entre as tendências dos efeitos principais e das interações, porém como as magnitudes dos efeitos principais são maiores que as dos efeitos das interações, as tendências dos efeitos principais são seguidas na montagem do CCD para se obter uma maior resposta.

O gráfico de Pareto para o Pb, Figura 2, mostra que as variáveis são significativas, com efeitos principais com tendências positivas (nível alto) para o tipo de modificador e o tempo da etapa de pirólise, e tendências negativas (nível baixo) para as temperaturas de pirólise e de atomização. O efeito positivo da interação entre as temperaturas de atomização e de pirólise é concordante com as tendências dos seus efeitos principais, ou seja, se obtêm maiores respostas mantendo as temperaturas de atomização e pirólise, simultaneamente, em seus níveis mais baixos. As demais interações possuem tendências opostas às dos efeitos principais, mas analisando-se as magnitudes dos efeitos principais, se obtêm uma maior resposta nas regiões de temperatura de atomização de 2000 °C, temperatura de pirólise de 400 °C, tempo de pirólise de 20 s e usando Zr como modificador. O uso de Zr como modificador permanente para determinação de Pb por GFAAS em amostras de alimentos é concordante com as conclusões de outros pesquisadores. Nestes estudos verificou-se que o uso de elementos, como o Zr por exemplo, que são formadores de carbetos metálicos, é favorável para a determinação de Pb, devido à eficiência do Zr para eliminar os concomitantes de matriz e assegurar determinações livre de interferências.<sup>20</sup>

Após a avaliação das variáveis através dos planejamentos fatoriais, foram construídos CCDs com as tendências obtidas para se estabelecer as melhores condições analíticas para cada um dos analitos. No caso do Mn foi utilizado W como modificador e as temperaturas de pirólise e atomização estão descritas na Tabela 3. A Figura 3 mostra a superfície de resposta para o Mn gerada pelo CCD segundo a Equação 5:

$$\text{ABS} = 78,71048 + 0,039294.TA - 0,00000929.TA^2 + 0,035648.TP - 0,0000180.TP^2 + 0,000007214.TA.TP + 0,000002345.400.TA + 0,0000323.400.TP + 0,28754 \quad (5)$$

**Tabela 3.** Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Mn em peixes

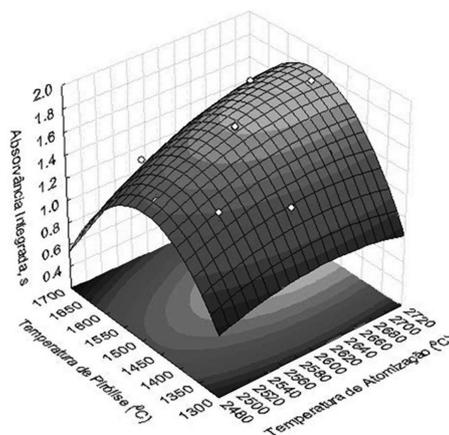
Variáveis	Níveis				
	(-√2)	(-1)	(0)	(+1)	(+√2)
Temperatura de atomização (°C)	2500	2530	2600	2670	2700
Temperatura de pirólise (°C)	1360	1400	1500	1600	1640

Para Pb utilizou-se o Zr como modificador e as condições descritas na Tabela 4. As Figuras 4 e 5 mostram as superfícies de resposta para o Pb segundo as equações quadráticas:

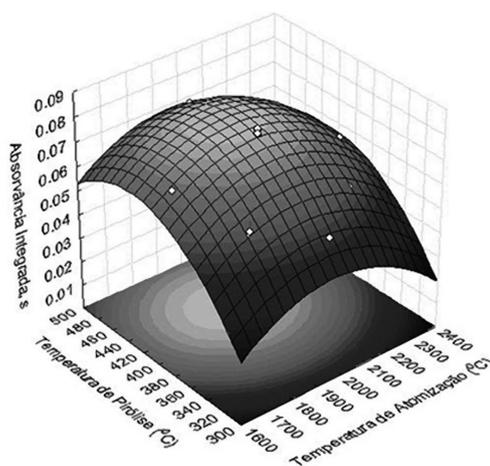
$$\text{ABS} = -0,89067 + 0,000495.TA - 0,000000120.TA^2 + 0,007636.TP - 0,0001858.TP^2 - 0,000000875.TA.TP - 0,0000000125.400.TA + 0,00000350.400.TP + 0,39930 \quad (6)$$

$$\text{ABS} = -0,89067 + 0,000495.TA - 0,000000120.TA^2 + 0,001911.tp - 0,000002282.tp^2 - 0,000000875.20.TA - 0,0000000125.TA.tp + 0,00000350.20.tp + 0,078384 \quad (7)$$

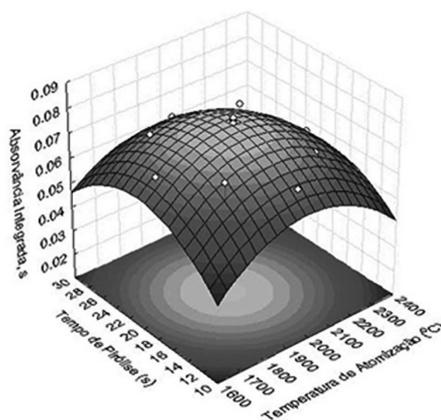
Nas Equações 5, 6 e 7, ABS é a resposta em absorvância integrada, TA a temperatura de atomização em °C, TP a temperatura de pirólise em °C e tp o tempo de pirólise em segundos.



**Figura 3.** Superfície de resposta para temperatura de atomização vs temperatura de pirólise na determinação de Mn em peixes



**Figura 4.** Superfície de resposta para temperatura de atomização vs temperatura de pirólise na determinação de Pb em peixes



**Figura 5.** Superfície de resposta para temperatura de atomização vs temperatura de pirólise na determinação de Pb em peixes

**Tabela 4.** Variáveis e níveis estudados no planejamento CCD na determinação de Pb em peixes

Variáveis	Níveis				
	(-√3)	(-1)	(0)	(+1)	(+√3)
Temperatura de atomização (°C)	1664	1800	2000	2200	2336
Temperatura de pirólise (°C)	316	350	400	450	484
Tempo (s)	12	15	20	25	28

Todas as variáveis estudadas no CCD foram significativas de acordo com a análise de variância (ANOVA). As soluções das equações geradas pelos modelos representam as condições otimizadas das temperaturas de atomização e de pirólise para determinação de Mn e Pb em peixes; estas condições compõem os programas de temperatura do forno para os dois analitos apresentados na Tabela 5. Com os programas de forno foram avaliadas as figuras analíticas de mérito, apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 5.** Programa de forno otimizado para determinação de Mn e Pb em peixes após solubilização alcalina

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Fluxo de ar (mL min <sup>-1</sup> )
Pré-secagem	60	15,0	20,0	250
Secagem	140	3,0	4,0	250
Pirólise	1600 <sup>a</sup> ; 400 <sup>b</sup>	4,0	20 <sup>a</sup> ; 28 <sup>b</sup>	250
Atomização*	2700 <sup>a</sup> ; 2000 <sup>b</sup>	0,5	5,0	0,0
Limpeza	2800	2,0	2,0	250

\*Leitura; a = Mn; b = Pb

**Tabela 6.** Figuras analíticas de mérito para determinação de Mn e Pb em peixes

	Mn	Pb
Faixa de trabalho (µg L <sup>-1</sup> )	10,0-50,0	10,0-50,0
Inclinação da curva de calibração aquosa	0,0250	0,0137
Inclinação da curva por adição de padrão	0,0318	0,0114
LOD (µg kg <sup>-1</sup> )*	45,0	5,55
LOQ (µg kg <sup>-1</sup> )*	150	18,5
Coefficiente de correlação (r)	0,9928	0,9991
RSD(%)	8,93	12,5
Recuperação(%)	82,4	114

\* Em relação à massa utilizada no preparo da suspensão alcalina

### Figuras analíticas de mérito

Não houve diferença estatística significativa a um nível de 95% de significância entre as inclinações das curvas aquosa e na matriz para as determinações de Pb, o que permite trabalhar com a estratégia de calibração aquosa para este analito. Para o Mn houve diferença entre as inclinações das curvas de calibração das duas estratégias, o que indica efeito de matriz para este analito. Acredita-se que a característica do Zr como elemento formador de carbeto metálicos em sua atuação como modificador permanente tenha sido suficiente para eliminar os concomitantes de matriz na determinação de Pb em peixes. Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos anteriores.<sup>20</sup>

Os limites de quantificação alcançados pelas metodologias são adequados à proposta do trabalho. Para o Pb, por exemplo, o valor de 18,5 µg kg<sup>-1</sup> é inferior ao valor de 2000 µg kg<sup>-1</sup> que é a concentração máxima permitida pela Resolução 685 da ANVISA para presença deste metal em peixes.<sup>21</sup> Não há nesta Resolução recomendação sobre concentração máxima de Mn, mas há registros de que a concentração deste metal pode estar entre 150 e 3000 µg kg<sup>-1</sup> em peixes, o que possibilita o monitoramento com a metodologia desenvolvida, já que o valor de LOQ é igual a 150 µg kg<sup>-1</sup>.<sup>22</sup>

Como pode se observar na Tabela 6 os valores do coeficiente de correlação das duas metodologias foram maiores que 0,99, atestando a boa linearidade do método.<sup>16</sup> Os valores de RSD para

os dois metais foram inferiores a 15%.<sup>18</sup> Os valores de recuperação para o estudo de exatidão com material certificado apresentaram valores satisfatórios na faixa de 80 a 120%.<sup>19</sup>

### CONCLUSÃO

O uso de volume relativamente pequeno de THMA para a massa de peixe empregada, bem como o emprego de temperatura branda, foi suficiente para solubilizar adequadamente as amostras. A solução assim preparada apresentou boa estabilidade, o que pode ser atestado pelos baixos valores de desvio padrão relativo das leituras. O planejamento fatorial, seguido de planejamento composto central, é um procedimento rápido e eficiente para otimizar as condições de operação do GF AAS e para escolha dos modificadores permanentes na determinação de Mn e Pb em peixes após solubilização alcalina.

Os modificadores permanentes empregados foram W e Zr para determinação de Mn e Pb. A otimização multivariada permitiu, também, que se avaliasse a interação entre as variáveis estudadas. A otimização da metodologia foi suficiente para garantir leituras livres de interferências dos concomitantes da matriz, o que é exemplificado na determinação do Pb, onde não foi encontrada diferença estatística significativa entre a inclinação da curva de calibração aquosa e da curva por adição de analito.

A exatidão das metodologias foi atestada pelos bons valores de recuperação (entre 80 e 120%) com material de referência certificado. Os valores de limite de quantificação para determinação de Pb foram adequados às exigências da legislação brasileira, o que permite que a metodologia possa ser empregada no monitoramento da presença de metais tóxicos em amostras de alimentos.

### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico – CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (ECT 479/07).

### REFERÊNCIAS

- Wilson, R. P.; Corraze, G.; Kaushik, S.; *Aquaculture* **2007**, *267*, 1.
- Castro-Gonzalez, M. I.; Mendez-Armenta, M.; *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2008**, *26*, 263.
- Welz, B.; Sperling, M.; *Atomic Absorption Spectrometry*, 3<sup>rd</sup> ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999.
- Sardans, J.; Montes, F.; Peñuelas, J.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2010**, *65*, 97.
- Kazi, T. G.; Jamali, M. K.; Arain, M. B.; Afridi, H. I.; Jalbani, N.; Sarfraz, R. A.; Ansari, R.; *J. Hazard. Mater.* **2009**, *161*, 1391.
- Dalman, Ö.; Demirak, A.; Balci, A.; *Food Chem.* **2006**, *95*, 157.
- Mendil, D.; Özgür, D. U.; *Food Chem.* **2007**, *101*, 739.
- Nóbrega, J. A.; Santos, M. C.; Sousa, R. A.; Cadore, S.; Barnes, R. M.; Tatro, M.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2006**, *61*, 465.
- Giacomelli, M. B. O.; Lima, M. C.; Stupp, V.; Carvalho Júnior, R. M.; Silva, J. B. B.; Barrera, P. B.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2002**, *57*, 2151.
- Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*, 2<sup>a</sup> ed., Ed. Unicamp: Campinas, 2003.
- Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S.; *Statistics for experiments. An introduction to design, data analysis and model building*, Wiley: New York, 1978.
- Amorim, F. R.; Bof, C.; Franco, M. B.; Silva, J. B. B.; Nascentes, C. C.; *Microchem. J.* **2006**, *82*, 168.

13. Silva, J. B. B.; Giacomelli, M. B. O.; Souza, I. G.; Curtius, A. J.; *Microchem. J.* **1998**, *60*, 249.
14. Silva, J. B. B.; Silva, M. A. M.; Curtius, A. J.; Welz, B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1999**, *14*, 737.
15. Nunes, B. R.; Magalhães, C. G.; Silva, J. B. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2002**, *17*, 1335.
16. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; DOQ-CGCRE-008, *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*, Março, 2003.
17. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2002.
18. Guilhen, S. N.; Pires, M. P. F.; Keiko, E. S.; Xavier, D. F. B.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1285.
19. Hibbert, D.; *Accred. Qual. Assur.* **1999**, *4*, 352.
20. Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I.; Lampugnani, L.; D'Ulivo, A.; Georgieva, R.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2000**, *55*, 473.
21. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Portaria nº685 de 27/08/1998, *Diário Oficial da União*, Brasília, 28/08/1998.
22. Azevedo, F. A.; *Metais: Gerenciamento e Toxicidade*, Ateneu: São Paulo, 2003.