

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM
AMOSTRAS DE OVOS E CARAPAÇAS DE TARTARUGAS VISANDO
MONITORAMENTO AMBIENTAL**

ALUNO: PEDRO VÍTOR GONÇALEZ ETTO

ORIENTADOR: EDENIR RODRIGUES PEREIRA FILHO

SÃO CARLOS - SP

AGOSTO DE 2023

AGRADECIMENTO

Agradeço, inicialmente, aos meus pais que me possibilitaram tudo que fiz até hoje, desde a minha educação até os meus mimos, me oferecendo suporte além de um ambiente doméstico sem igual.

Aos meus irmãos, que sempre estiveram ao meu lado, dispostos a darem dicas e a me ajudar com minhas dúvidas. Ao meu lado, também, em momentos de descontração e festa.

Ao meu grande amigo Rodrigo, que desde que nos conhecemos, nunca passamos um dia sequer sem conversarmos, compartilhando diversos momentos e sentimentos.

Aos meus amigos do departamento de Química: Gustavo, Leonardo e Nathan, que me suportaram e me ajudaram a continuar.

Aos professores, desde o ensino primário até o ensino superior, desde os mais corteses aos mais ríspidos, todos sendo necessários para que eu conquistasse tudo que conquistei até hoje.

RESUMO

Para o desenvolvimento da sociedade como a conhecemos hoje, investimentos na área de exploração de recursos naturais é necessária. Uma boa parte da indústria brasileira e internacional é dependente de matérias-primas como o ferro, o metal mais usado e explorado no mundo. Para a obtenção de minerais, entretanto, é necessário a preparação do sítio a ser explorado, havendo a necessidade da construção de barragens destinada aos resíduos da exploração. Como esses metais não são encontrados de forma pura e os processos de transformação geram subprodutos potencialmente tóxicos, espera-se que os dejetos sejam tratados e mantidos à distância de seres vivos. Entretanto, nem sempre isto é respeitado, e estes resíduos contaminam ecossistemas, desta forma, métodos físicos ou químicos são usados para o tratamento e a identificação dos contaminantes. Este trabalho tem por objetivo a utilização do ICP OES, uma técnica analítica, para identificação e quantificação de elementos potencialmente tóxicos em organismos vivos de forma a realizar um monitoramento ambiental. Os resultados quantificaram os elementos químicos de interesse, e apontam para uma possível contaminação da espécie de tartaruga estudada.

Palavras-chaves: Química Analítica, ICP OES, Elementos tóxicos. Contaminação do ecossistema nacional.

ABSTRACT

The development of society as we know it today requires investment in the exploitation of natural resources. A large part of Brazilian and international industry is dependent on raw materials such as iron, the most widely used and exploited metal in the world. To obtain minerals, however, it is necessary to prepare the site to be exploited, so the construction of dams for waste is essential. As these metals are not found in pure form and the transformation processes generate potentially toxic by-products, it is expected that the waste will be treated and kept away from living beings. However, this is not always respected, and this waste contaminates ecosystems, so physical or chemical methods are used to treat and identify the contaminants. This work aims to use ICP OES, an analytical technique, to identify and quantify potentially toxic elements in living organisms in order to carry out environmental monitoring. The results quantified the chemical elements of interest and point to possible contamination of the turtle species studied.

Key-words: Analytical Chemistry, ICP OES, Toxic elements, contamination of the national ecosystem.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	9
3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	10
3.1 LINHAS DE EMISSÃO DOS ELEMENTOS	13
3.2 CARACTERÍSTICAS PARA ANÁLISE.....	14
3.3 PREPARAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO	15
3.4 LIOFILIZAÇÃO.....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS	35

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1) Percurso aproximado dos resíduos da exploração de ferro	7
Figura 2) Área afetada pelo rompimento da barragem no distrito de Bento Rodrigues, Mariana-MG.....	7
Figura 3) Aparelho de ICP OES	10
Figura 4) Ilustração esquemática do ICP OES.....	11
Figura 5) Espectro de luz visível	14
Figura 6) Diagrama de fases da água.....	17
Figura 7) Diagrama esquemático de um liofilizador.....	17
Figura 8) Bloco Digestor utilizado.....	21
Figura 9) Gráfico de barra do resumo geral de dados	24
Figura 10) Mapa de árvore do resumo geral de dados.....	24
Figura 11) Histograma do ferro a partir do resumo geral de dados	25
Figura 12) Histograma do cromo a partir do resumo geral de dados	26
Figura 13) Mapa de calor para os coeficientes de correlação	27
Figura 14) Gráfico de dispersão entre Fe e Mn.....	28
Figura 15) Gráfico de dispersão entre Cu e Mn	29
Figura 16) Perfil de concentração dos constituintes Casca a), Clara b) e Gema c) dos Ovos	30
Figura 17) Perfil de concentração dos constituintes Casca a) e Conteúdo b) de Ovos não eclodidos.....	31
Figura 18) Perfil de concentração para as tartarugas natimortas.....	32
Figura 19) Perfil de concentração para as carapaças.....	33

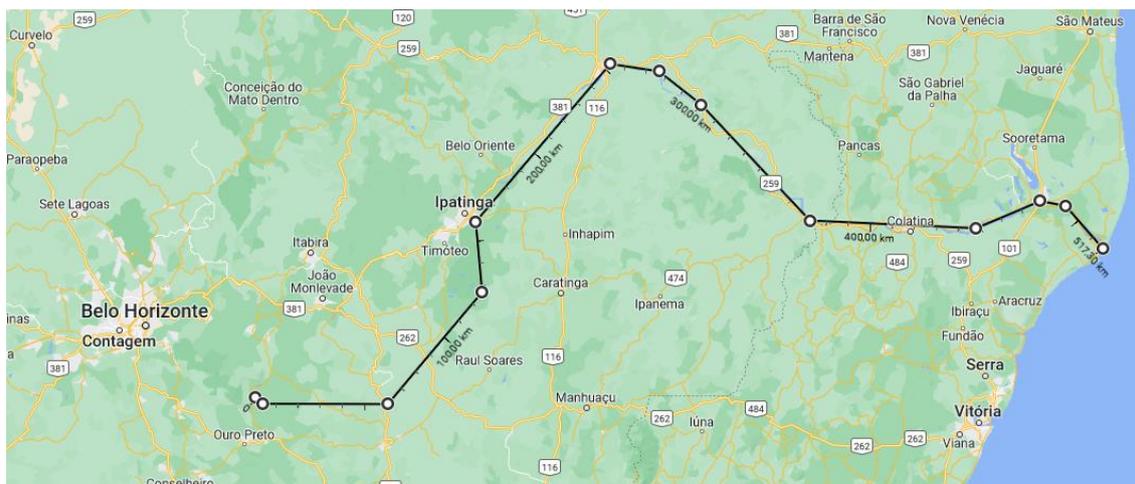
TABELAS

Tabela 1) Média e desvio padrão das amostras analisadas.....	22
Tabela 2) Média e desvio padrão das amostras analisadas.....	22
Tabela 3) Resumo geral dos dados.....	23
Tabela 4) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Casca.....	34
Tabela 5) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Clara	34
Tabela 6) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Gema.....	34
Tabela 7) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para casca de ovos não eclodidos (NE).....	35
Tabela 8) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para carapaças.....	36

1. INTRODUÇÃO

Os resíduos provenientes da exploração de ferro possuem uma composição química variada e representam cerca de 27% em massa do que é explorado (IPEA, 2012), além disso, são compostos por elementos potencialmente tóxicos como As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb e Zn (FUNGARO e IZIDORO, 2005). Acidentes envolvendo o derramamento desses subprodutos já ocorreram no Brasil, os exemplos mais conhecidos são o do rompimento de uma das barragens no distrito de Bento Rodrigues, na cidade de Mariana-MG, que ocorreu em novembro de 2015, um caso similar ocorreu na cidade de Brumadinho-MG, em janeiro de 2019. Ambas as tragédias estão relacionadas com barragens, as quais os resíduos da exploração de ferro eram acumulados para serem posteriormente tratados. O rompimento das mesmas causou o derramamento do refugo contendo elementos potencialmente tóxicos no solo assim como a morte de diversas pessoas que moravam nas proximidades do local. Em relação à Mariana, o desastre causou a contaminação do Rio Doce, que carregou a lama até o Oceano Atlântico no litoral do Espírito Santo. O percurso total dos resíduos foi da ordem de 500 km, e o trajeto aproximado pode ser observado na Figura 1, que parte da Barragem de Fundão. Os danos à flora e à fauna são evidentes e uma das espécies afetadas foi a Tartaruga-de-couro (*Dermochelys coriacea*). Durante o percurso, a lama atingiu áreas rurais, conforme mostra a Figura 2.

Figura 1) Percurso aproximado dos resíduos da exploração de ferro



Fonte: Produzido no Google Maps

Figura 2) Área afetada pelo rompimento da barragem no distrito de Bento Rodrigues, Mariana-MG



Fonte: Agência Brasil (TOKARNIA, 2020)

A contaminação da fauna e flora por esses elementos leva a um acúmulo no organismo, o que gera uma série de complicações, sendo as mais comuns relacionadas a problemas no sistema nervoso, inibição das atividades enzimáticas e por consequência morte do organismo, principalmente aqueles em fase de desenvolvimento. Com o objetivo de qualificar e quantificar os elementos em amostras orgânicas, estudos na área de química analítica se mostraram eficientes na quantificação de elementos químicos. Uma das técnicas mais utilizadas na determinação é a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Uma técnica que tem como princípio a medida da radiação

emitida por átomos e íons excitados por um plasma. Ao retornarem ao seu estado fundamental cada elemento emite uma radiação característica, assim, essa técnica permite o cálculo da concentração de elementos em amostras com extrema precisão e sensibilidade e em um intervalo de tempo relativamente curto.

Com os resultados obtidos a partir desses estudos, é possível propor uma solução, assim como o seu acompanhamento. O método mais comumente utilizado para descontaminação de solo ou corpos de água é conhecido como Remediação Biológica, trata-se de uma técnica que usa microrganismos que absorvem, acumulam ou transformam os metais.

2. OBJETIVOS

Determinar, a partir, da técnica de ICP OES, a concentração dos elementos Arsênio, Cromo, Cobre, Ferro, Manganês, Chumbo e Zinco em amostras de ovos de tartaruga, tartarugas natimortas e de carapaças de tartaruga.

Comparar as concentrações obtidas de amostras coletadas em solo nacional com valores obtidos em outros países, a fim de concluir se há contaminação, ou não, dos corpos de água.

3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

A técnica de ICP OES é dependente do princípio de medição de radiações emitidas por átomos e íons excitados pelo plasma ao retornarem ao seu estado fundamental. Trata-se de uma técnica multielementar e seletiva e de ampla faixa linear, que permite a determinação de mais de 70 elementos. Essa técnica requer, além da dissolução da amostra em água ou em ácido, a preparação de curvas de calibração, isto é, um padrão com concentrações conhecidas de um elemento. Atualmente, trata-se da técnica mais popular para a espectrometria de emissão atômica (SKOOG *et al*, 1963). Um modelo de um aparelho de ICP OES pode ser visto na Figura 3.

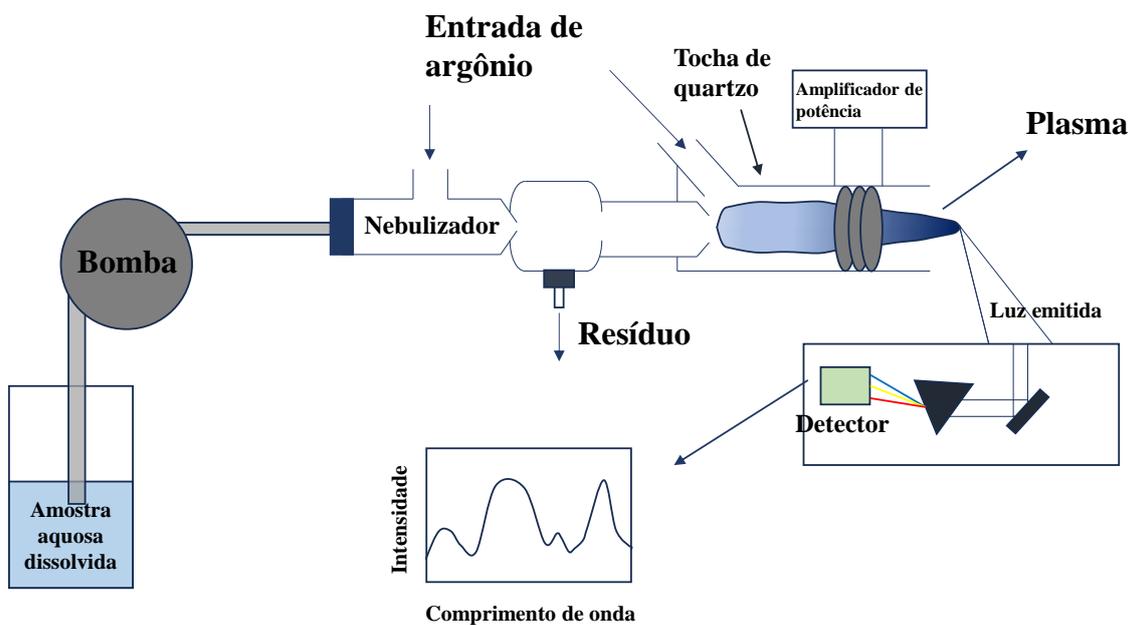
Figura 3) Aparelho de ICP OES



Fonte: Imagem registrada pelo autor

Um esquema ilustrativo de um aparelho de ICP OES pode ser visto na Figura 4. A partir do conhecimento de todos os mecanismos do equipamento, torna-se possível a interpretação dos fundamentos teóricos dessa técnica.

Figura 4) Ilustração esquemática do ICP OES



Fonte: Produzido pelo autor

A amostra normalmente é transportada ao equipamento como líquido. Dentro do equipamento, o líquido é convertido em um aerossol por um processo chamado de nebulização, que ocorre no nebulizador. A amostra em aerossol é transportada, então, a um plasma que a dissolvata, vaporiza, atomiza e excita ou ioniza. Os átomos e íons excitados, ao retornarem ao seu estado fundamental, emitem uma radiação característica que é registrada a partir de seus comprimentos de onda. A radiação é detectada e transformada em sinais elétricos. A partir da intensidade dos sinais elétricos e da curva de calibração, é possível quantificar o analito (BOSS e FREEDEN, 1999).

A função do nebulizador é fundamental, pois a introdução ao plasma da amostra deve ocorrer na forma de aerossol, uma vez que apenas pequenas gotículas, de diâmetro igual ou menor a $10 \mu m$, são úteis na técnica de ICP OES. De forma geral, os nebulizadores são do tipo pneumático que fazem uso de um gás em alta velocidade para criação do aerossol. As amostras são

introduzidas ao nebulizador através de mangueiras e a velocidade de bombeamento pode ser controlada pelo *software* do instrumento.

Após o aerossol ser produzido, a amostra deve ser transportada à tocha para que seja injetada no plasma. Entre o nebulizador e a tocha, entretanto, encontra-se a câmara de nebulização, que tem o intuito de remover gotas consideradas grandes do aerossol, visto que apenas gotículas com um diâmetro de $10\ \mu\text{m}$ são permitidas a passar no plasma, visto que maiores diâmetros possuem menor eficiência de ionização. De forma geral, no máximo 5% da amostra é aproveitada, enquanto o restante é drenado como resíduo. (BOSS e FREEDEN, 1999).

As tochas possuem diversas variações, mas normalmente consistem em três tubos concêntricos para fluxo de gás argônio e aerossol. A amostra é injetada no plasma através do tubo central, também chamado de injetor.

A amostra em aerossol que é liberada pela tocha passa, então, pelo plasma, que possui um sistema de gerador de radiofrequência que trabalha entre 700 e 1500 *Watts* e que mantém o plasma, a frequência normalmente é de 27 *MHz* ou 40 *MHz*.

Após excitação e relaxação do átomo ou íon, há a liberação de uma radiação característica, que é dispersa por grades de difração óptica, que direciona a radiação ao detector.

Uma vez que elementos distintos não possuem o mesmo espectro de emissão e em mesma intensidade, a técnica é seletiva. A partir da curva de calibração, o equipamento realiza uma conversão entre as medidas de intensidade da corrente produzida no detector e a concentração do analito, normalmente em $\mu\text{g}/\text{L}$.

O gás usado para formação do plasma é o Argônio, visto que possui uma alta energia de ionização, o que facilita a ionização do analito, além de gerar um baixo fundo espectral e ser adequado devido às suas características

químicas: alta resistividade elétrica e condutividade térmica. (BOSS e FREEDEN, 1999).

3.1 LINHAS DE EMISSÃO DOS ELEMENTOS

Emissão é o processo em que um elemento em um estado energético mais elevado retorna a um estado menor, o que resulta na emissão de luz. O comprimento de onda da luz emitida possui uma relação direta com a diferença de energia entre o estado excitado e fundamental. A frequência da luz liberada pode ser calculada a partir da Equação 1.

$$E_{fóton} = h \cdot \nu \quad (\text{EQUAÇÃO 1})$$

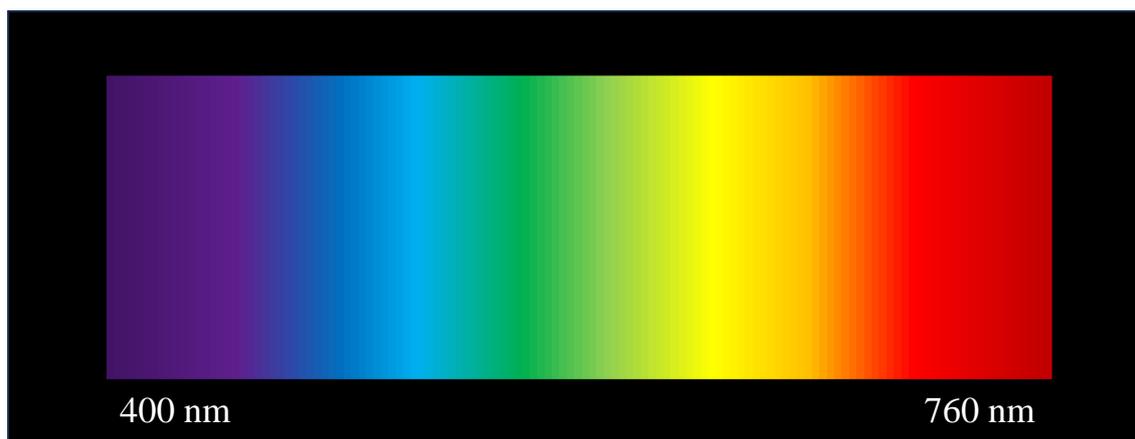
Em que $E_{fóton}$ está relacionado com a energia carregada pelo fóton, ou seja, à diferença de energia do estado excitado e do estado de menor energia (estado fundamental, na maioria dos casos); h é a Constante de Plank e ν a frequência da luz a ser determinada.

Uma vez calculada a frequência da luz, é possível a identificação do comprimento de onda, a partir da Equação 2.

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

O comprimento de onda (λ) tem uma relação inversamente proporcional com a frequência (ν). Enquanto c representa a velocidade da luz no vácuo. Após o cálculo do comprimento de onda do fóton emitido pelo elemento ao retornar do seu estado excitado, é possível identificar a posição da radiação no espectro de luz visível demonstrado na Figura 5.

Figura 5) Espectro de luz visível



Fonte: Produzido pelo autor

As frequências de luz que um átomo pode emitir estão relacionadas com os estados eletrônicos que o mesmo apresenta. Desta forma, elementos com elevado número de elétrons e orbitais possuem um espectro de emissão complexo.

Elementos que possuem um espectro de emissão complexo normalmente possuem comprimentos de ondas mais utilizados para a técnica de ICP OES, normalmente a escolha está relacionada à intensidade do sinal e da não existência de outros elementos que possuam emissões em comprimento de onda similar ao elemento de interesse. Os comprimentos de ondas mais utilizados para a determinação do ferro são os de $238,204 \text{ nm}$ e $239,562 \text{ nm}$, mas outros podem ser usados em casos de interferências com comprimentos de ondas de outros elementos, como o Cobalto, que apresenta interferência em ambos os comprimentos citados, mas com menor intensidade. Recomenda-se que os comprimentos de onda selecionados não sejam sobrepostos por mais de $0,5 \text{ nm}$ de sinais de outros elementos presentes em solução.

3.2 CARACTERÍSTICAS PARA ANÁLISE

Como já apresentado, a amostra a ser introduzida no sistema deve estar solubilizada, ou em água ou em ácido, isto deve ser feito para que o aerossol

seja facilmente produzido, além de que não haja problemas de contaminação da tocha de quartzo ou de entupimento das tubulações de sucção da amostra.

A concentração do elemento na amostra deve ser maior que a concentração equivalente ao sinal de fundo (BEC – *background equivalent concentration*). Isto é, a concentração do analito deve ser suficientemente alta para não ser confundido com o sinal de fundo do equipamento. Cada comprimento de onda escolhido possui um respectivo BEC, dessa forma a escolha do comprimento de onda também apresenta uma importância elevada. (OLIVEIRA *et al.*, 2012)

3.3 PREPARAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

A técnica de ICP OES requer a preparação de uma curva de calibração, que consiste na produção de no mínimo 5 soluções do elemento de interesse em concentrações diferentes e próximas aos valores esperados para a amostra com concentração desconhecida. Realiza-se a leitura dos sinais de emissão das amostras padrões, estes sinais são utilizados para determinação da concentração do analito na amostra de interesse.

A preparação da curva de calibração permite a regressão, isto é, a obtenção de uma equação de reta que relaciona a concentração e o sinal observado. A equação da curva permite, portanto, o cálculo da concentração de um analito em uma amostra com concentração desconhecida a partir da intensidade de luz emitida pelo relaxamento do átomo ou íon, que libera um fóton. Quanto maior a linearidade da equação obtida, melhor a regressão dos dados, assim os resultados obtidos se tornam satisfatórios.

A fim de produzir curvas de calibração para o equipamento de ICP OES, primeiro decide-se quais elementos serão determinados e quais são as concentrações esperadas, a partir dessas avaliações, produz-se uma curva de calibração contendo no mínimo cinco pontos, escolhe-se o comprimento de

onda mais adequado para as concentrações, e realiza-se a leitura dos padrões no equipamento.

Após a preparação da curva de calibração, e introdução de amostras com concentrações desconhecidas, o *software* calcula a concentração, normalmente apresentando o resultado em *mg/L* e que deverá ser tratado de acordo com o fator de diluição da amostra. Caso os valores obtidos não compreendam o esperado, torna-se necessário a diluição ou preparação de uma nova curva de calibração, uma vez que valores muito distantes dos pontos compreendidos pela curva de calibração possuem um erro associado ao cálculo.

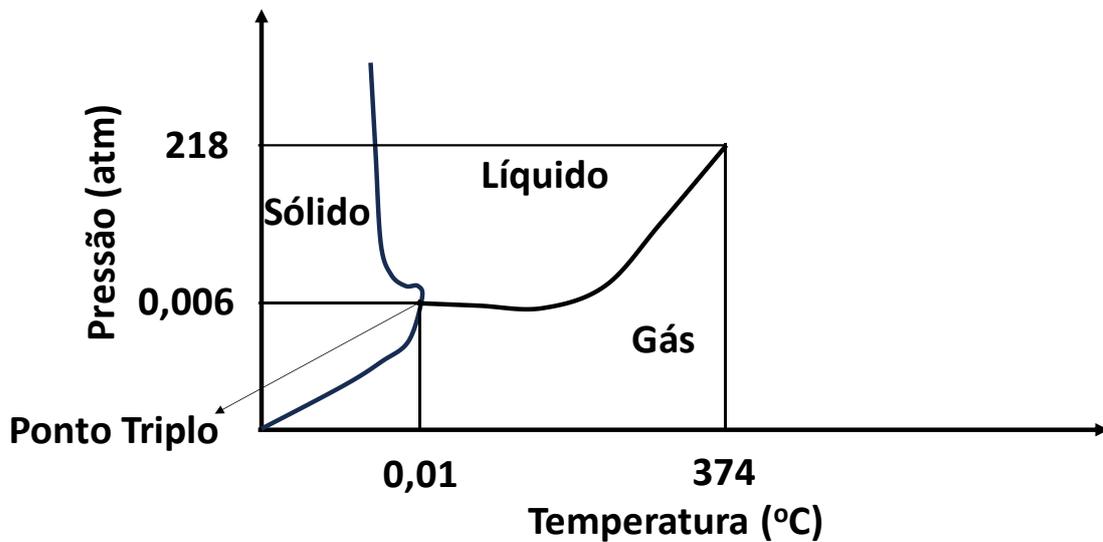
3.4 LIOFILIZAÇÃO

O processo de liofilização permite desidratar amostras em baixas temperaturas, trata-se de uma técnica extremamente utilizada para realizar o pré-tratamento de amostras.

A técnica consiste em submeter a amostra a baixas pressões e temperaturas, de forma que a água sublima, isto é, passe do estado sólido para o gasoso diretamente. As baixas temperaturas evitam que elementos voláteis sejam perdidos durante o processo de desidratação, desta forma os resultados permanecem fiéis aos valores reais.

O liofilizador foi usado neste trabalho no intuito de desidratar amostras orgânicas, devido ao seu mau odor. O diagrama de fases da água pode ser visto na Figura 6.

Figura 6) Diagrama de fases da água

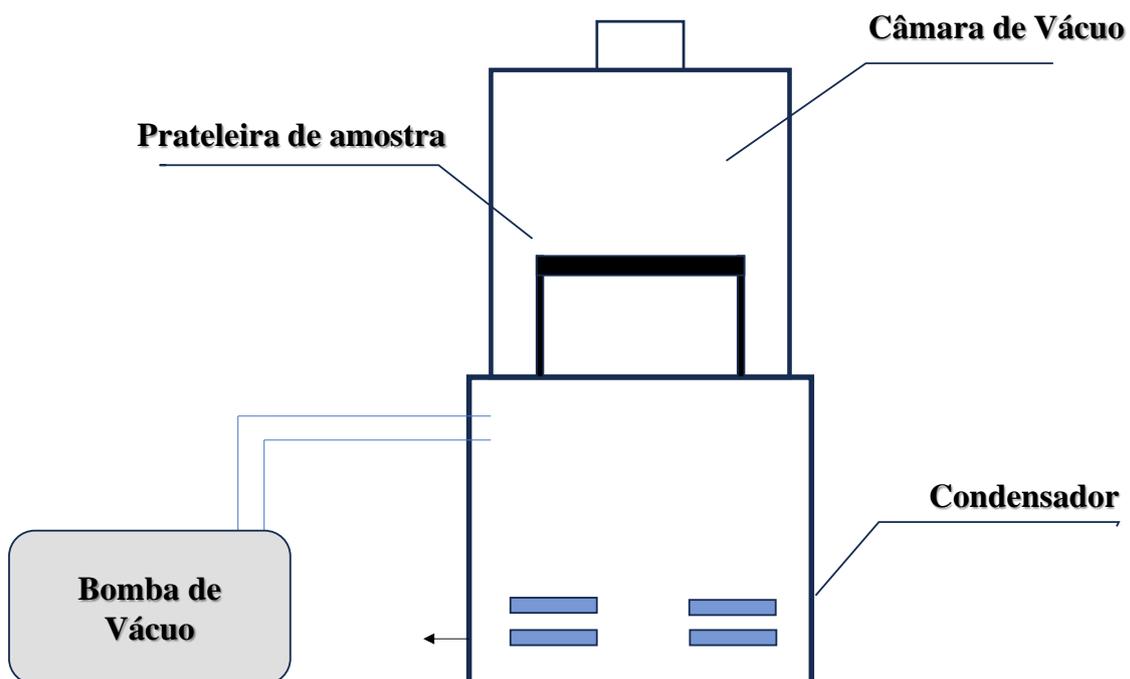


Fonte: Produzido pelo autor

Percebe-se que, caso a água seja submetida a pressões inferiores a $0,006 \text{ atm}$, o estado líquido não mais aparece entre o sólido e o gás, o que faz com que a mudança de temperatura faça o estado físico variar entre sólido e gasoso diretamente, este é o conceito de sublimação.

Um diagrama esquemático do liofilizador pode ser visto na Figura 7.

Figura 7) Diagrama esquemático de um liofilizador



Fonte: Produzido pelo autor

Um liofilizador é bastante simples em termos de funcionamento e depende de um condensador, que é um sistema de troca de calor que resfria o sistema a temperaturas de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e também de uma bomba de vácuo, que fornece o vácuo na câmara de vácuo.

As amostras são inseridas após o sistema já estar a temperaturas negativas, e então, fecha-se o sistema e liga-se o vácuo. O tempo de liofilização depende da amostra e pode variar de 18 horas a até alguns dias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliação da concentração de elementos potencialmente tóxicos contidos em ovos de tartarugas, tartarugas natimortas e de carapaças, as amostras coletadas foram tratadas, digeridas e então analisadas no ICP OES.

As amostras foram enviadas ao laboratório de análises em embalagens contendo três diferentes amostras de uma mesma região e com uma mesma identificação, que, por questões de sigilo não serão apresentadas. Dentre as três amostras com mesma identificação, escolheu-se de forma aleatória uma para preparação da amostra e determinação da concentração

O passo anterior à realização das leituras de resultados, foi a construção das curvas de calibração de cada um dos elementos a serem quantificados. As curvas de calibração foram produzidas a partir de cinco pontos e os elementos estudados foram: As, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn. Cada concentração foi devidamente escolhida levando em consideração a intensidade do sinal de emissão.

As tartarugas e os ovos são da espécie *Caretta caretta*, comumente chamadas de Tartarugas-cabeçudas, que habitam zonas tropicais e temperadas dos Oceanos Índico, Pacífico e Atlântico. Desta forma, as amostras foram coletadas do mar.

Realizou-se a determinação dos elementos citados em 10 amostras diferentes, amostras de ovos possuem três constituintes (casca, gema e clara), enquanto ovos não eclodidos possuem apenas dois (casca e conteúdo). Caparaças e tartarugas natimortas não possuem diferentes constituintes, assim totalizaram-se 140 determinações considerando duplicatas.

As carapaças foram obtidas pelo processo natural de troca de casca, respeitando a saúde do animal, pois foram coletadas quando já estavam prestes a se descolarem da tartaruga.

4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

O estudo envolveu quatro diferentes tipos de amostras:

- Carapaças;
- Ovos (contendo casca, clara e gema);
- Ovos não eclodidos (contendo casca e conteúdo);
- Tartarugas natimortas.

As amostras foram lavadas com água ultrapura do tipo 1 e tiveram os seus constituintes separados e pesados em frascos. Realizou-se a liofilização destes componentes, assim como a determinação da massa novamente após desidratação total. Pesaram-se, aproximadamente, 500 *mg* de cada constituinte em tubos de ensaio de vidro, de forma a padronizar a massa para a digestão a partir da adição de 5 *mL* de ácido nítrico 50%. Os tubos de ensaio foram levados a um bloco digestor que oferece aquecimento, de modo a aumentar a eficiência do ácido nítrico durante o processo de digestão da matéria orgânica. Por fim, o produto foi filtrado e avolumado para 25 *mL* antes de ser levado para análise pela técnica de ICP OES.

As amostras de carapaças, entretanto, tiveram um diferente preparo, estas não foram liofilizadas e o processo de digestão ocorreu em um cadinho. Não obstante, o restante das etapas foi igual. As amostras de clara de ovo também não foram liofilizadas, visto que a maior parte de sua composição se refere à água.

A Figura 8 apresenta o bloco digestor usado para fornecimento de calor durante o processo de digestão. O fornecimento de calor torna o ácido nítrico um agente oxidante mais forte.

Figura 8) Bloco Digestor utilizado



Fonte: Imagem registrada pelo autor

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinou-se a concentração dos elementos arsênio, cromo, cobre, ferro, manganês, chumbo e zinco nas amostras. Uma relação entre concentração dos elementos, tempo decorrido e local de origem das amostras se torna possível a partir de futuros monitoramentos ambientais.

As Tabelas 1 e 2 representam as concentrações e seus respectivos desvios padrões e resumem o resultado final das determinações. A sigla NE se refere aos ovos não eclodidos.

Tabela 1) Média e desvio padrão das amostras analisadas

Amostra	Concentração ($\mu\text{g/g}$)			
	As	Cr	Cu	Fe
OvoCasca	0,39±0,06	3,36±0,51	4,06±0,48	14,50±5,62
OvoClara	0,98±1,54	1,25±1,70	2,16±2,89	5,97±6,82
OvoGema	0,69±0,21	1,29±0,30	4,80±0,69	36,59±3,07
OvoNECasca	6,99±1,49	2,12±0,78	17,37±5,41	32,10±11,10
OvoNEConteúdo	11,04±5,09	1,30±0,33	11,15±9,20	25,23±18,08
Natimorto	8,87±3,16	1,12±1,01	28,16±22,76	397,75±534,04
Carapaça	2,46±1,44	2,18±1,03	1,40±0,88	2026,89±1170,41

Tabela 2) Média e desvio padrão das amostras analisadas

Amostra	Concentração ($\mu\text{g/g}$)		
	Mn	Pb	Zn
OvoCasca	5,70±5,20	<0,005	29,93±17,00
OvoClara	6,98±6,30	<0,005	6,88±7,75
OvoGema	10,70±4,01	<0,005	166,66±17,87
OvoNECasca	8,29±6,18	<0,005	88,91±63,90
OvoNEConteúdo	8,76±4,84	<0,005	137,16±54,27
Natimorto	14,52±9,37	0,62±0,57	512,83±216,24
Carapaça	33,24±14,84	1,59±1,62	141,05±28,28

Observa-se que o desvio padrão é bastante elevado para algumas amostras, isso ocorre devido a valores muito acima da média presentes nas determinações, trata-se de um comportamento comum em amostras orgânicas, neste caso podem estar relacionado à amostras contaminadas com

concentrações elevadas e amostras não contaminadas, com valores abaixo da média.

Os elementos com maior concentração são o ferro e o zinco, ambos de extrema importância para seres vivos, apesar de serem tóxicos em altas concentrações. Elementos como o chumbo, entretanto, não desempenham nenhum papel benéfico a organismos, e o seu acúmulo gera problemas de saúde ao desativar enzimas.

Um resumo geral das amostras pode ser visto na Tabela 3.

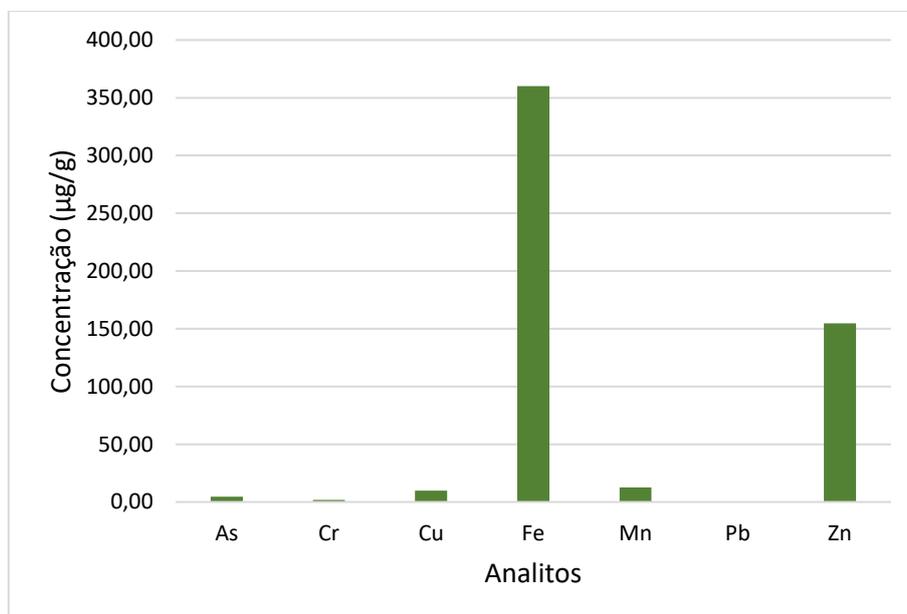
Tabela 3) Resumo geral dos dados

	<i>As</i>	<i>Cr</i>	<i>Cu</i>	<i>Fe</i>	<i>Mn</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
Média	4,49	1,80	9,87	360,15	12,60	0,32	154,77
Mediana	2,52	1,45	4,49	34,02	9,46	0,00	132,00
Desvio padrão	4,75	1,18	13,10	841,43	11,85	0,85	179,18
Curtose	1,49	1,64	12,46	8,05	3,65	29,71	5,45
Assimetria	1,23	1,11	2,96	2,87	1,92	4,93	2,26
Intervalo	22,40	6,89	86,17	4462,79	57,04	6,25	883,10
Mínimo	0,00	0,00	0,27	0,34	0,79	0,00	0,60
Máximo	22,40	6,89	86,44	4463,13	57,83	6,25	883,70

Uma característica comum a todos os elementos é a assimetria à direita, isto é, a média calculada é maior que a mediana, o que indica que a maioria dos dados estão abaixo da média, assim como há a presença de amostras com concentrações elevadas, esse comportamento é comprovado pelo valor de curtose, medida de dispersão entre os resultados, que podem estar em cume para resultados que possuem concentrações similares entre si, ou achatados, isto é, dispersos entre si. Em todos os casos a curtose é considerado alta, o que indica uma frequência elevada de amostras com uma concentração similar, ou seja, existe a presença de uma distribuição em cume.

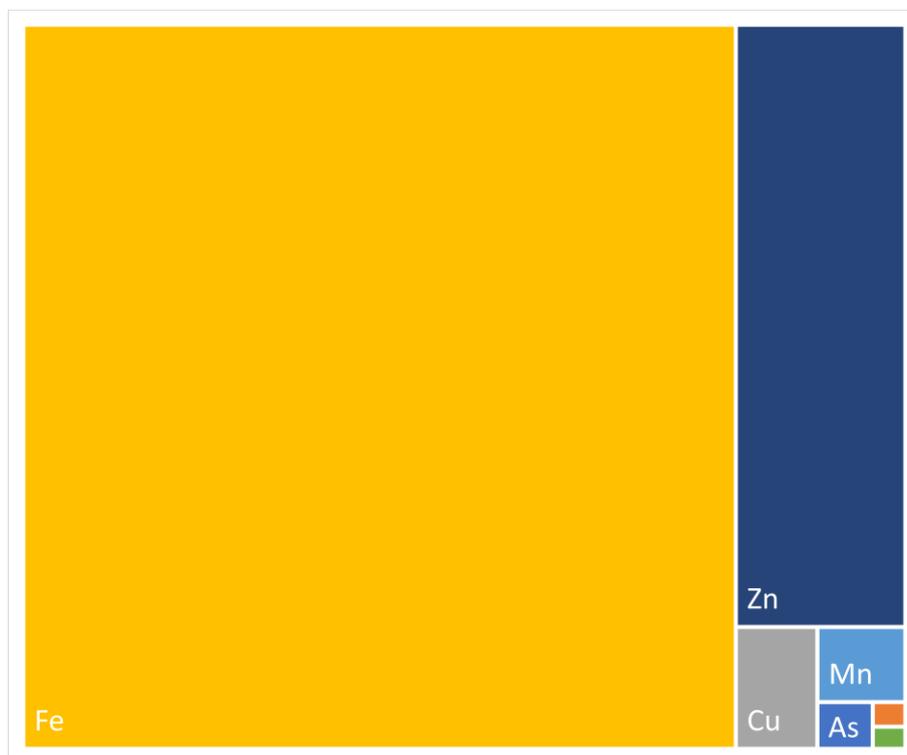
Um gráfico de barra, assim como um mapa de árvore representam o quanto o ferro e o zinco são os elementos mais presentes nas amostras, demonstrados pelas Figuras 9 e 10, respectivamente.

Figura 9) Gráfico de barra do resumo geral de dados



Fonte: Produzido pelo autor

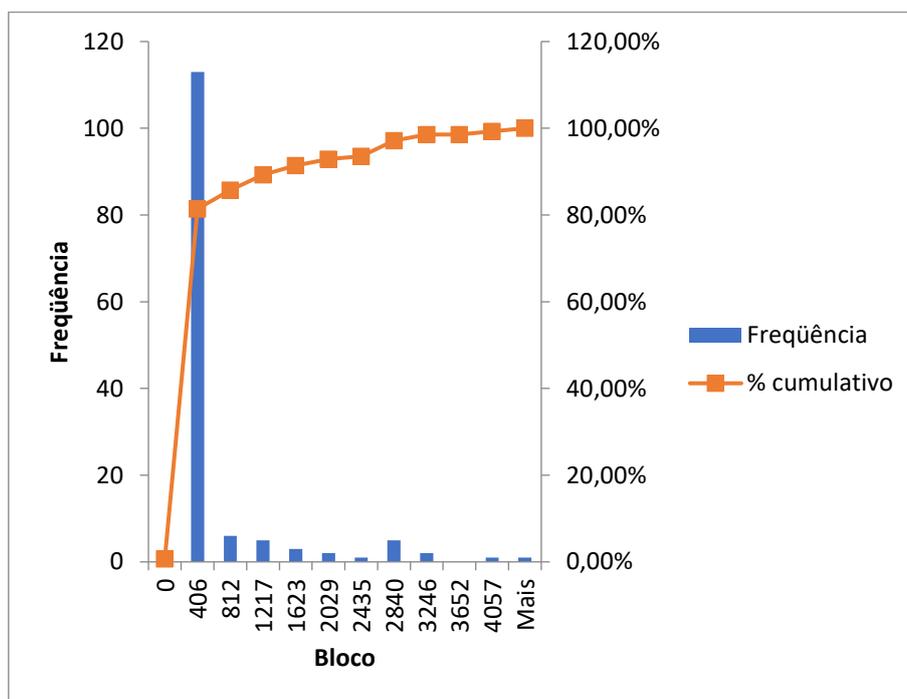
Figura 10) Mapa de árvore do resumo geral de dados



Fonte: Produzido pelo autor

Quanto à assimetria e à curtose, a visualização é facilitada ao observarmos um histograma. O elemento ferro, por exemplo, possui altos valores de curtose e assimetria, indicando muitas concentrações em uma mesma faixa, conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11) Histograma do ferro a partir do resumo geral de dados

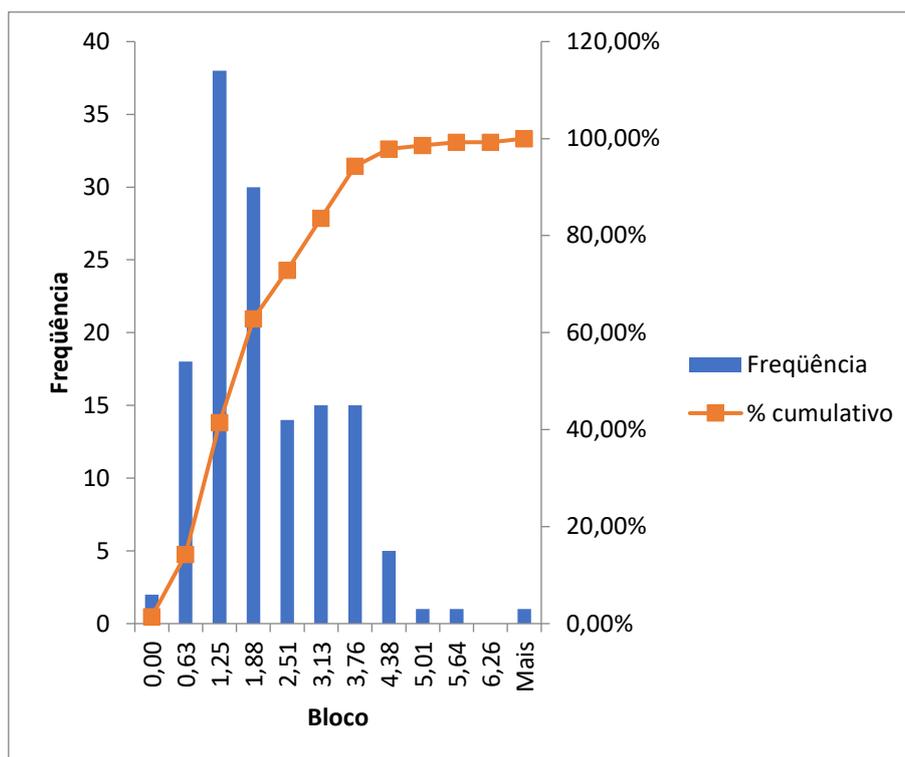


Fonte: Produzido pelo autor

Observa-se que a frequência maior ocorre no bloco pertencente à média, enquanto há valores muito acima da média, pertencentes às amostras de tartarugas natimortas e de carapaças.

Em contrapartida, as concentrações de cromo produzem um histograma bastante diferente, representado na Figura 12.

Figura 12) Histograma do cromo a partir do resumo geral de dados

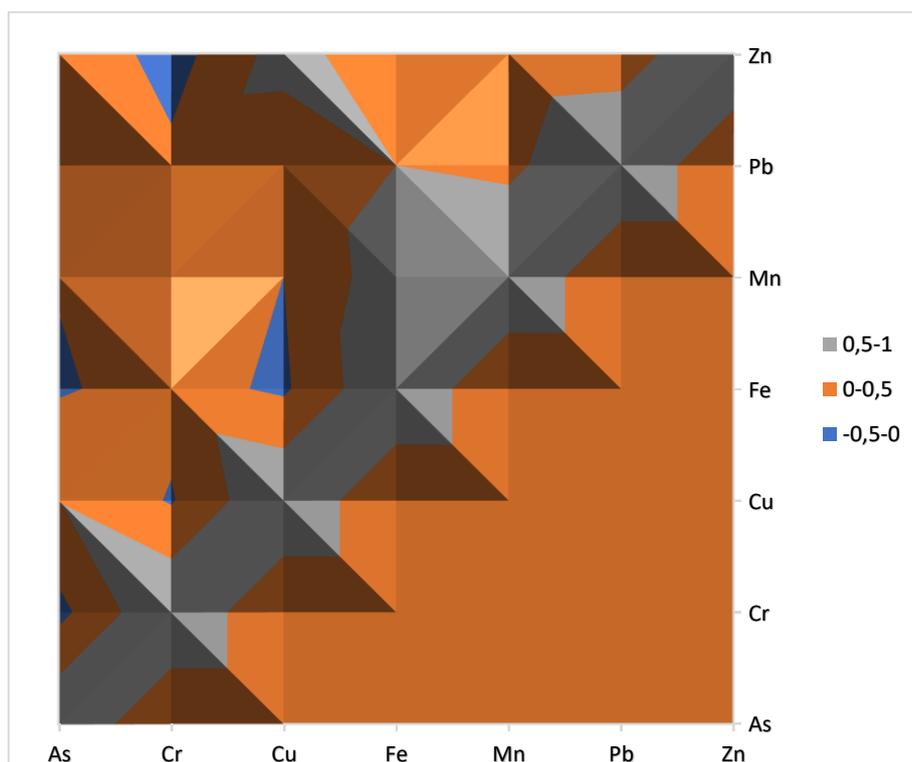


Fonte: Produzido pelo autor

O cromo possui uma curtose positiva (1,64), bastante inferior à curtose do Ferro, positiva (8,05). Trata-se de um parâmetro que indica o quão em cume é a distribuição do gráfico. Observa-se que o histograma do cromo possui uma distribuição de concentrações próximos à média, com poucos valores de concentração elevada. A assimetria é à direita, ou seja, os valores que se afastam da média são maiores que a mesma, e se referem, no caso, às amostras de casca de Ovo e de Ovo não eclodido.

A fim de se observar se há correlação entre os elementos, produziu-se um mapa de calor quanto aos coeficientes de correlação, ilustrado pela Figura 13.

Figura 13) Mapa de calor para os coeficientes de correlação

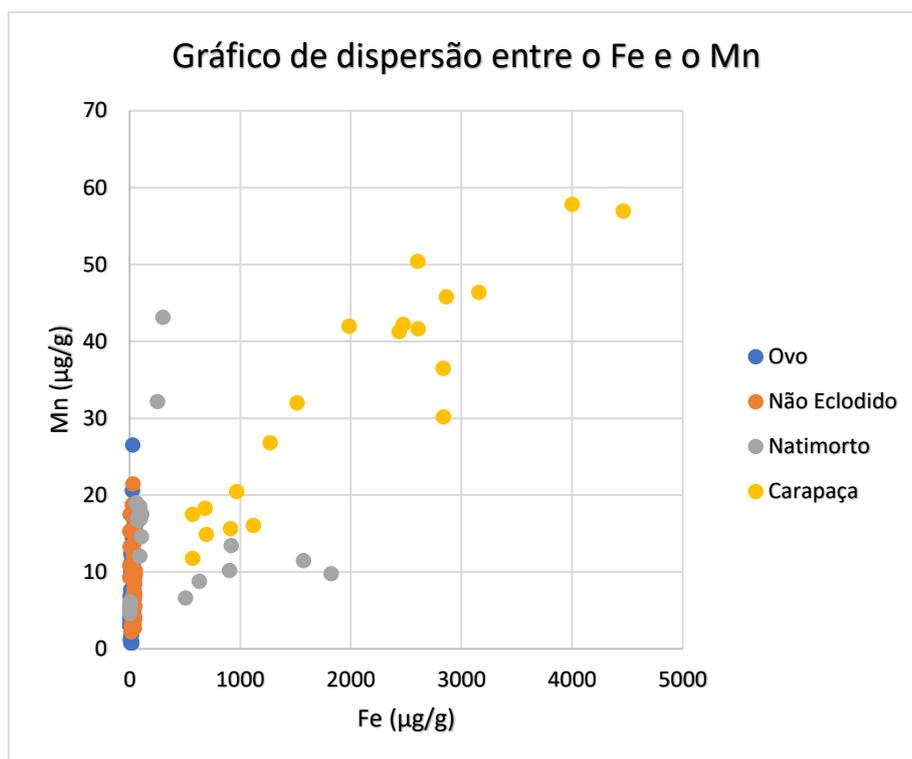


Fonte: produzido pelo autor

Observa-se que os elementos, em sua maioria, não possuem correlação entre si, ou que a correlação é baixa. Elementos como o ferro e o manganês ($R = 0,8215$), assim como cobre e zinco ($R = 0,7154$) são casos de correlação positiva e considerável, enquanto elementos como zinco e cromo ($R = -0,2152$); cobre e manganês ($R = -0,0497$) possuem uma correlação negativa.

Valores positivos de coeficiente de correlação indicam que a concentração de um elemento está associada à concentração de um segundo elemento, os fatores podem ser diversos e variam de caso a caso. A dupla Fe, Mn possuem uma correlação positiva ($R = 0,8215$) devido ao fato de que ambos minerais são encontrados em rochas sedimentares e as regiões em que são encontradas, no Brasil, são as mesmas: Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Pará. A Figura 14 demonstra a correlação dos elementos de ferro e manganês para o resumo geral dos dados.

Figura 14) Gráfico de dispersão entre Fe e Mn

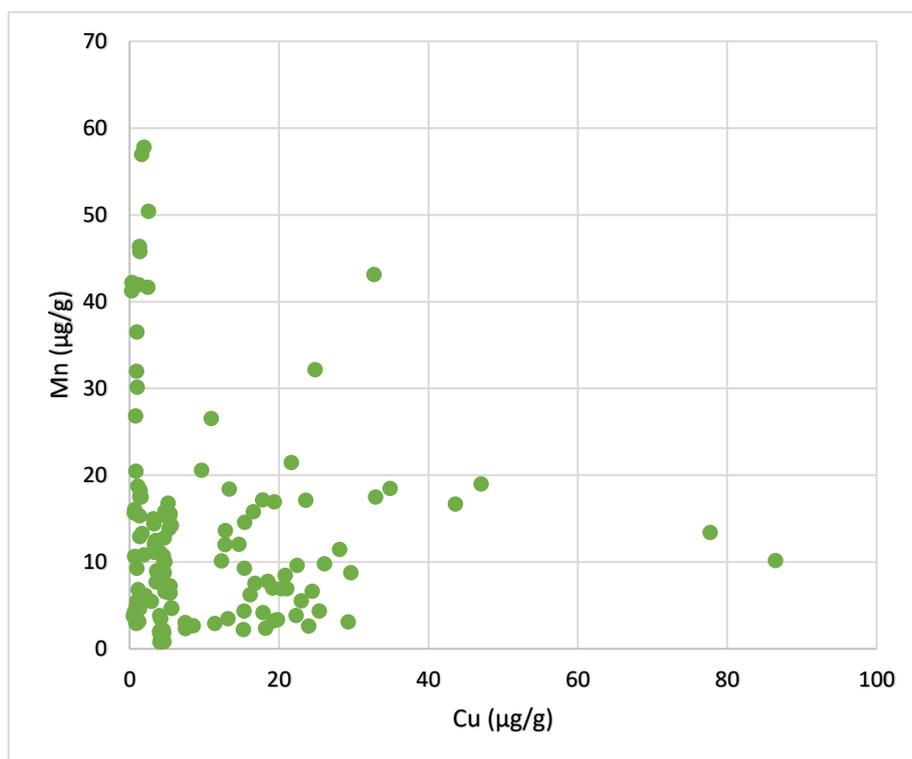


Fonte: Produzido pelo autor

A correlação é mais aparente nas amostras de carapaça, enquanto em tartarugas natimortas as concentrações possuem comportamento independente, o que sugere que a correlação de elementos também está associada à composição natural de um tecido.

Como observado entre os elementos de cobre e manganês, há uma correlação ligeiramente negativa ($R = -0,0497$), o que implica que a concentração de um elemento diminui enquanto a do segundo elemento aumenta, um gráfico de dispersão entre esses elementos pode ser visto na Figura 15.

Figura 15) Gráfico de dispersão entre Cu e Mn



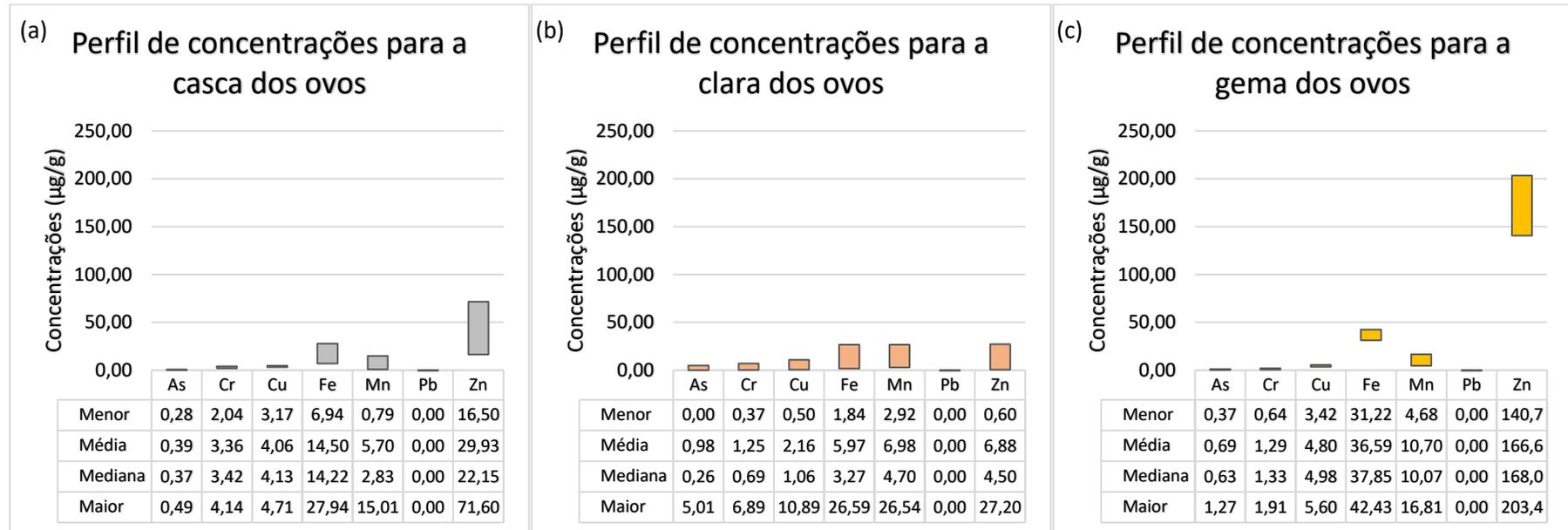
Fonte: Produzido pelo autor

Observa-se que em concentrações baixas de cobre, as de manganês são elevadas, enquanto, o aumento da concentração de cobre é acompanhado por uma diminuição do manganês. Apesar da correlação ligeiramente negativa, de forma geral observa-se uma independência dos valores de concentrações entre os elementos.

Por fim, no intuito de observar o perfil de composição química de cada constituinte estudado analisou-se os diferentes componentes de cada uma das amostras, isto é, para o Ovo determinou-se a concentração dos elementos na casca, clara e gema, enquanto para o ovo não eclodido (NE), o perfil de concentração foi produzido para a casca e conteúdo interno. Amostras que não possuem diferentes constituintes, como tartarugas natimortas e carapaças, também tiveram o seu perfil de concentração calculado.

Os perfis foram ilustrados nas Figuras 16, 17, 18 e 19, respectivamente.

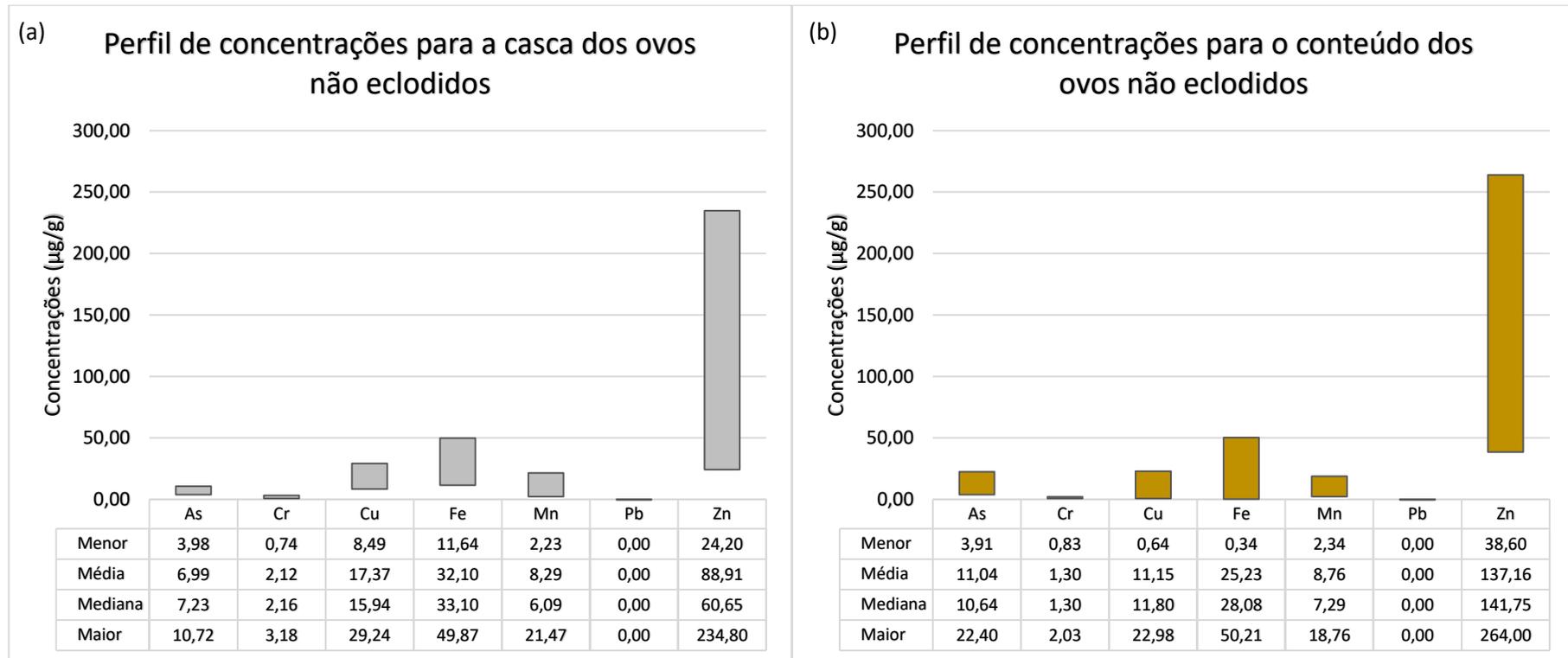
Figura 16) Perfil de concentração dos constituintes Casca a), Clara b) e Gema c) dos Ovos



Fonte: Produzido pelo autor

Observa-se que a composição química da casca (Figura 17a) e da clara de ovo (Figura 17b) são bastante similares, apesar de uma pequena mudança na concentração de zinco, que é maior na casca. O zinco é um elemento primordial para a tartaruga, e é absorvido durante o desenvolvimento embrionário, desta forma, a concentração do mesmo diminui de acordo com o estágio de desenvolvimento (HOFMEYR *et al*, 2011). A principal diferença de composição está na gema (Figura 17c), que possui alta concentração de zinco, essencial para o sistema imunológico e para a produção de enzimas.

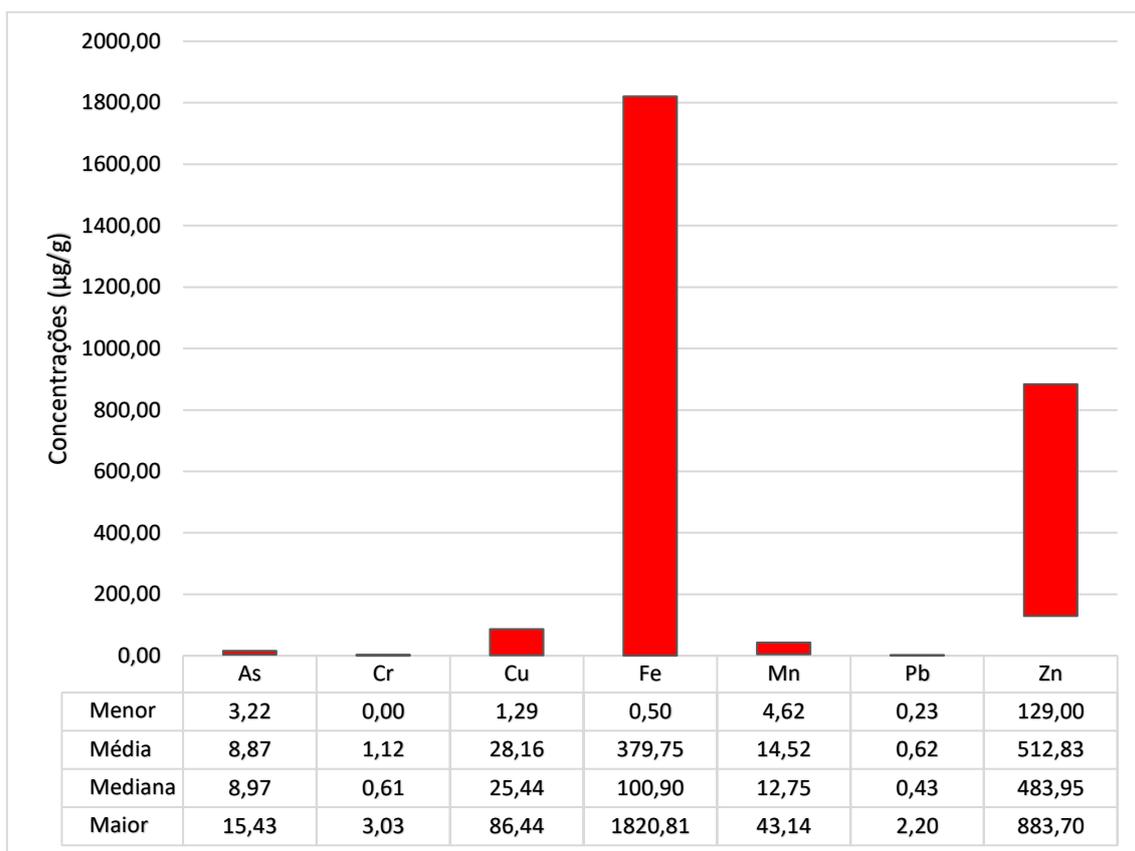
Figura 17) Perfil de concentração dos constituintes Casca a) e Conteúdo b) de Ovos não eclodidos



Fonte: Produzido pelo autor

Observa-se que em relação aos ovos não eclodidos, a concentração dos elementos é similar entre os constituintes, com um ligeiro aumento na concentração de arsênio e zinco no conteúdo interno (Figura 18b).

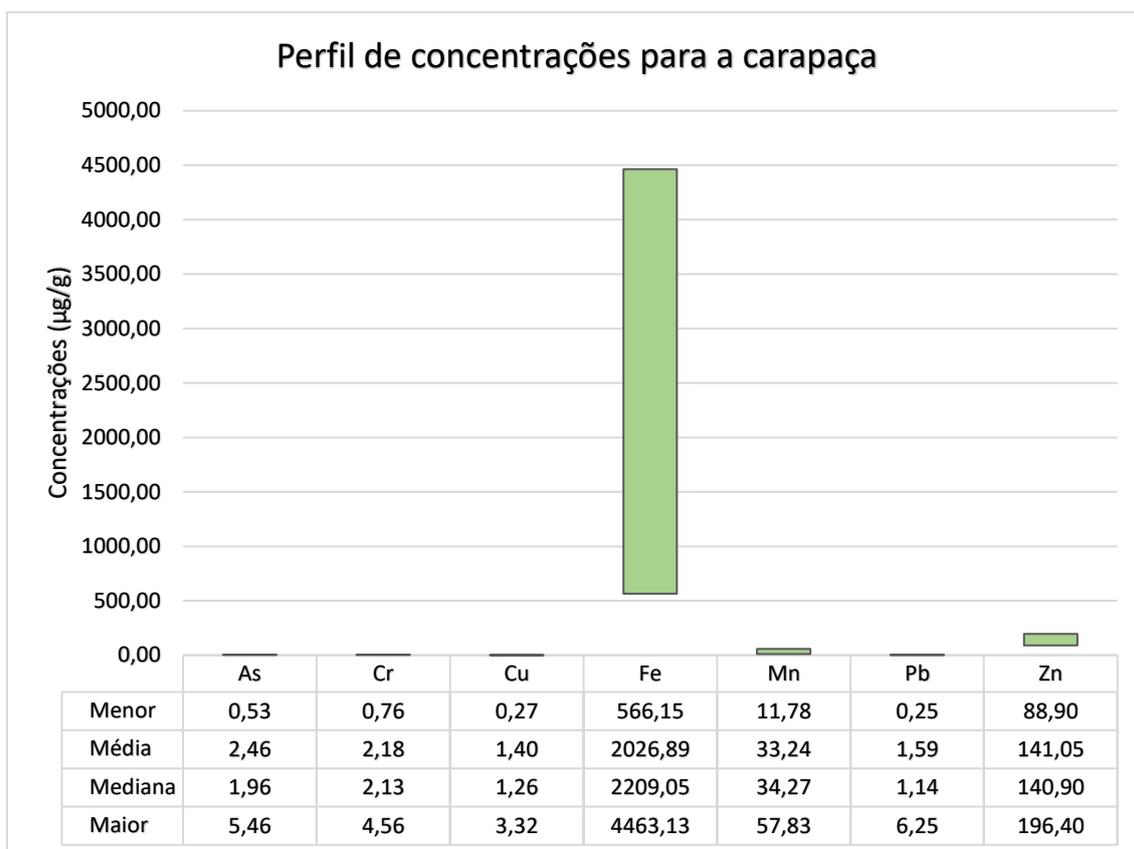
Figura 18) Perfil de concentração para as tartarugas natimortas



Fonte: Produzido pelo autor

As concentrações de todos os elementos, com exceção do cromo, são mais elevadas do que as demais amostras. Elementos como ferro e zinco são essenciais para o funcionamento de um organismo, possuindo papel importante na respiração e síntese hormonal, respectivamente.

Figura 19) Perfil de concentração para as carapaças



Fonte: Produzido pelo autor

Assim como em tartarugas natimortas, as concentrações de ferro são bastante elevadas, entretanto, nas carapaças, observa-se uma menor concentração de zinco e cobre. O elemento mais alarmante, entretanto, é o chumbo, que possui concentrações muito acima dos limites de segurança, que são iguais a $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ em humanos adultos (WHO, 2011).

Comparou-se os resultados obtidos com estudos similares da literatura.

Para os ovos, ao comparar os dados obtidos com uma pesquisa realizada por um grupo da Universidade de Liubliana, na Eslovênia (Stvarnik *et al*, 2015), que determinou as concentrações dos mesmos elementos e em massa úmida, é possível sugerir uma possível contaminação da área de estudo. Entretanto, cabe ressaltar que as espécies tratadas são diferentes, o estudo deste trabalho tratou de Tartaruga-cabeçuda, enquanto a Universidade

da Eslovênia lidou com a Tartaruga do Mediterrâneo. Os dados comparados podem ser vistos nas Tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 4) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Casca

Elemento	Concentração ($\mu\text{g/g}$)		Razão
	Casca Eslovênia	Casca obtida	
As	0,068	0,388	5,699
Cr	0,251	3,359	13,380
Cu	1,000	4,064	4,064
Fe	>40	14,497	<0,362
Mn	0,922	5,698	6,180
Pb	<0,01	<0,005	-
Zn	0,500	29,930	59,860

Tabela 5) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Clara

Elemento	Concentração ($\mu\text{g/g}$)		Razão
	Clara Eslovênia	Clara obtida	
As	<0,01	0,981	>98,1
Cr	0,076	1,251	16,461
Cu	0,230	2,157	9,378
Fe	4,100	5,974	1,457
Mn	<0,020	6,977	>348,850
Pb	<0,01	<0,05	-
Zn	<0,4	6,880	>17,200

Tabela 6) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para ovos – Gema

Elemento	Concentração ($\mu\text{g/g}$)		Razão
	Gema Eslovênia	Gema obtida	
As	<0,01	0,686	>68,6
Cr	0,077	1,294	16,799
Cu	1,000	4,804	4,804
Fe	31,000	36,589	1,180
Mn	0,369	10,700	28,997
Pb	0,030	<0,005	<0,167
Zn	26,000	166,655	6,410

Em relação aos Ovos não eclodidos, é possível realizar uma comparação com os dados obtidos com uma pesquisa realizada pela Universidade de Canakkale Onkeiz Mart, localizada na Turquia (ÖZDILEK *et al*, 2011). A espécie tratada nesse estudo foi a Tartaruga-verde (*Chelonia mydas*), também diferente da espécie deste trabalho.

A pesquisa realizada por estes biólogos possuía o intuito de determinar a concentração de elementos na casca de ovos não eclodidos durante o período de desenvolvimento embrionário. Os únicos elementos comuns nos estudos são o cobre e o zinco, e a comparação pode ser vista na Tabela 7:

Tabela 7) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para casca de ovos não eclodidos (NE)

Elemento	Concentração (µg/g)		Razão
	Casca_NE Turquia	Casca_NE obtida	
Cu	45,7	17,4	0,380
Zn	37,2	88,9	2,390

A comparação sugere uma contaminação de zinco, enquanto há menor concentração de Cobre. Trata-se de uma comparação preliminar, entretanto, por se tratar de uma análise de outra espécie e em que a preparação das amostras foi diferente, assim como não se pode afirmar a não contaminação da área da Turquia.

Determinações para tartarugas natimortas são incomuns e não puderam ser comparadas. Pesquisas realizadas em Okinawa, Japão, sugerem, entretanto, que a concentração de elementos é dependente do tecido a ser estudado. O fígado, por exemplo, possui altas concentrações de ferro, enquanto músculos possuem baixas concentrações. Desta forma, o ideal é comparar dados com pesquisas que utilizaram o mesmo método de preparação das amostras. (SAKAI *et al*, 1999)

Por fim, os dados de carapaça puderam ser comparados com aqueles obtidos pela Universidade de Beijin de Medicina Chinesa (QING *et al*,

2018), que determinou a concentração dos elementos a partir da técnica de Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS). Os dados podem ser vistos na Tabela 8:

Tabela 8) Comparação entre os dados obtidos e de um estudo similar para carapaças

Elemento	Concentração ($\mu\text{g/g}$)		Razão
	Carapaça China	Carapaça obtida	
As	0,29	2,46	8,48
Cr	1,7	2,18	1,28
Cu	21,96	1,4	0,06
Pb	1,28	1,59	1,24

Assim como sugerido na comparação com as cascas de ovos não eclodidos, observa-se que há uma menor concentração de cobre, enquanto os demais elementos possuem uma concentração mais elevada, mas ainda próxima dos valores obtidos pela universidade chinesa. A pesquisa da Universidade de Beijin de Medicina Chinesa reporta, contudo, que as concentrações de cromo e chumbo excedem os padrões nacionais.

6. CONCLUSÕES

A determinação de elementos potencialmente tóxicos em matéria orgânica a partir da técnica de ICP OES é viável, desde que os pré-requisitos sejam cumpridos, isto é, a preparação da curva de calibração, preparação da amostra e a digestão da matéria orgânica.

Apesar das comparações sugerirem contaminações de elementos como o arsênio, cromo, manganês, chumbo e zinco não é possível afirmar que houve contaminação na área de estudo, uma vez que uma análise adequada seria aquela que relaciona a mesma área em diferentes períodos, da mesma espécie, antes e depois do desastre envolvendo o derramamento dos resíduos da exploração de ferro. Comparações com amostras em áreas em que não há histórico de contaminação também se demonstram uma opção viável. O comportamento migratório de diferentes espécies também deve ser levado em consideração durante os estudos.

O monitoramento ambiental a partir de técnicas analíticas permitem o acompanhamento dos valores de concentrações de elementos tóxicos em amostras, a partir dos valores determinados, soluções podem ser propostas, assim como a transparência desses resultados permite que cidadãos compreendam as consequências das ações do homem na natureza.

REFERÊNCIAS

BOSS, Charles; FREEDEN, Kenneth. **Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry**. 2^a ed. Perkin-Elmer Corporation, 1997

FUNGARO, D.; IZIDORO, J. Remediação de drenagem ácida de mina usando zeólitas sintetizadas a partir de cinzas leves de carvão. **Química Nova**. Vol. 29 (4). Julho de 2006. Disponível em <<https://www.scielo.br/j/qn/a/Fs6456qt5DvCkP9gtFTMtqG/?lang=pt>>. Acesso em 14 de Julho de 2023.

HOFMEYR, M. Margaretha D. Hofmeyr Memorial Issue. **Chelonian Conservation and Biology**. n. 22. Junho de 2023.

IPEA, Instituto de Pesquisa Aplicada. **Diagnóstico dos Resíduos Sólidos da Atividade de Mineração de Substâncias Não Energéticas**. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/7702/1/RP_Diagn%C3%B3stico_2012.pdf>. Acesso em 14 de Julho de 2023.

OLIVEIRA, A. *et al.* Avaliação de ICP OES com configuração axial ou radial para determinação de iodo em sal de cozinha. **Química Nova**. Vol. 35 (7). 2012. Disponível em <<https://www.scielo.br/j/qn/a/nBs9JbN5qLYVxKrCcxH6wjD/?format=html&lang=pt>>. Acesso em 15 de Julho de 2023.

ÖZDILEK, Ş. *et al.* Change in Physical and Chemical Composition of Green Turtle (*Chelonia mydas*) Eggshells During Embryonic Development. **Chelonian Conservation and Biology**. Turquia. p. 265-270. Julho 2011.

QING, X. *et al.* Detection of the content of heavy metal elements in tortoise shells and tortoise shell glue by using inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine**. Vol. 41. p. 670-674. Agosto de 2018.

SAKAI, H. *et al.* Growth-Related Changes in Heavy Metal Accumulation in Green Turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Okinawa, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. Japão. Vol. 39. p. 378-385. Março de 2000.

SKOOG, Douglas *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 9^a ed. Cengage, 2015

STVARNIK, M. *et al.* Evaluation of different chemical compositions in eggs of the Hermann's Tortoise (*Testudo hermanni*). **Slovenski Veterinarski Zbornik**. Eslovênia. p. 11-20. Junho de 2016.

TOKARNIA, M. Tragédia de Mariana faz 5 anos e população ainda aguarda reparações. **Agência Brasil**. Rio de Janeiro. Outubro de 2020. Disponível em <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2020-10/tragedia-de-mariana-faz-5-anos-e-populacao-ainda-aguarda-reparacoes>>. Acesso em 15 de Julho de 2023.

WHO, World Health Organization. **Seventy-third meeting of the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) - Safety evaluation of certain food additives and contaminants**. 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/xbf01686-b940-44c2-a077-1052740ad1c6/>> Acesso 26 de Agosto de 2023.