



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

ALBERTO PEREIRA NETO

**IMPLEMENTAÇÃO DA ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA COM VAPOR FRIO PARA A DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO TOTAL EM SANGUE HUMANO**

Recife

2024

ALBERTO PEREIRA NETO

**IMPLEMENTAÇÃO DA ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA COM VAPOR FRIO PARA A DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO TOTAL EM SANGUE HUMANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Orientador (a): Prof. Dr. Elvis Joacir De França

Coorientador (a): Dr. Iago José Santos Da Silva

Recife

2024

3Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Pereira Neto, Alberto.

Implementação da espectrometria de absorção atômica com vapor frio para a determinação de mercúrio total em sangue humano / Alberto Pereira Neto. - Recife, 2024.

54p.: il.

Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Programa de Pós Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Orientação: Elvis Joacir De França.

Coorientação: Iago José Santos Da Silva.

1. CVAAS; 2. Biomarcador; 3. Hg; 4. Sangue. I. França, Elvis Joacir de. II. Silva, Iago José Santos da. III. Título.

UFPE, Biblioteca Central

CDD 621.042

**IMPLEMENTAÇÃO DA ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM
VAPOR FRIO APLICADA À DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM SANGUE
HUMANO**

Alberto Pereira Neto

Aprovado em:

Orientador: Prof. Dr. Elvis Joacir De França

Coorientador (a): Dr. Iago José Santos Da Silva

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Amanda Katielly Jordão Pessoa Felix Da Silva - CRCN-NE/CNEN

Profa. Dra. Giselda Bezerra Correia Neves - HR

Profa. Dra. Maria José De Filgueiras Gomes - DEQ/UFRPE

Visto e permitida a impressão

Coordenador(a) do PROTEN/DEN/UFPE

*À minha família, à minha noiva
Rebeca Felismino e ao meu
orientador por todo apoio e
incentivo.*

Agradecimentos

Inicialmente, agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Elvis Joacir De França, por todo apoio, dedicação e paciência que sempre me auxiliou neste trabalho em todos os momentos, muitas vezes fora do seu horário de trabalho. Muito obrigado por nunca me fazer desistir e sempre me motivar ao estudo.

A meu coorientador Prof. Dr. Iago José Santos Da Silva pelo tempo disponibilizado ao trabalho.

Desejo agradecer a todos os colaboradores do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE), especialmente a Alesxandro Nascimento, Gilberto Arruda, Ana Cláudia e meu amigo Crescêncio Andrade, cujo apoio e amizade estiveram presente em todos os momentos.

Aos funcionários do Departamento de Energia Nuclear- UFPE.

Por último, quero agradecer à minha família e minha namorada por todo apoio fundamental que me deram ao longo da elaboração deste trabalho.

À FACEPE, pelo suporte financeiro durante a execução do projeto.

À Secretaria, à Coordenação do PROTEN/UFPE, pelo suporte administrativo.

RESUMO

Alterações químicas em amostras de sangue de indivíduos podem estar relacionadas à comorbidade ou a exposição a substâncias tóxicas. Dentre os elementos químicos, mercúrio ao promover toxicidade aos sistemas cardíaco e nervoso. Atualmente, os seus níveis de concentração crescem decorrente de ações antropogênicas e por emissões naturais, por isso a quantificação do Hg em sangue humano pode atuar como biomarcador de doenças, o que demanda uma técnica analítica altamente sensível como a Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio - CVAAS. Assim, esse trabalho teve como objetivo a implementação de um método para a determinação de mercúrio total em sangue humano, assegurando-se da qualidade do procedimento analítico por meio de ensaio de recuperação com amostras dopadas e aplicando-se o método para quantificar o elemento químico em soluções de amostras cedidas. A rotina de determinação foi estabelecida a partir da modificação do meio químico a partir de soluções de ácido clorídrico e de hidroxilamina, incluindo a preparação de diversos brancos analíticos para a estimativa de limites de detecção e de quantificação. O ensaio de recuperação consistiu na dopagem de amostra de sangue com solução de Hg $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$. O limite de detecção e quantificação foram $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, enquanto a recuperação média obtida foi 84%, indicando que o presente estudo de implementar CVAAS para a determinação de mercúrio em sangue humano. Os valores determinados estiveram entre $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $42,8 \mu\text{g L}^{-1}$ nas amostras de sangue humano. De acordo com os resultados foi aplicado um tratamento químico adequado nas amostras; brancos analíticos garantiram confiabilidade metodológica, e o ensaio de recuperação possibilitou um método alternativo a validação do método. Mais ainda, recomenda-se uma futura investigação das concentrações de Hg das amostras testes de sangue humano. Pois foram encontrados valores estar cerca de 29 vezes superiores aos valores de referência encontrados na literatura.

Palavras-chave: CVAAS; Biomarcador; Hg; Sangue.

ABSTRACT

Chemical alterations in blood samples may be related to either comorbidity or exposure to toxic substances. Among the chemical elements, Mercury provides toxicity to the cardiac and nervous system. Nowadays, its levels of concentration are growing due to anthropogenic activities and natural emissions, in which the Hg detection in human blood can act as a biomarker for illnesses, which demands a highly sensible analytical technique such as the Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry - CVAAS. Therefore, this work aimed at the implementation of a method for determining the complete amount of mercury in human blood, assuring the quality of the analytical procedure by means of recovery assay with spike samples and the application of the method for quantifying the chemical element in teste sample solutions. The determination routine was established by the modification of chemical ways through chloridric acid and hydroxylamine solutions, including the preparation of diverse analytical blanks for the estimation of detection and quantification limits. The recovery assay consisted of the spiking of a blood sample with a Hg $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ solution. The limits of detection and quantification were $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ and $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively, while the mean recovery was 84%, indicating that the present study was able to implement CVAAS for determination of mercury in human blood. The determined shown values were recognized between $2.9 \mu\text{g L}^{-1}$ and $42, 8 \mu\text{g L}^{-1}$ in human blood samples. According to the results an adequate chemical treatment was applied the analytic blanks guaranteed the methodological reliability, the recovery assay provied na alternative method to the method validation. Moreover, it is recomendad turther investigation of the Hg concentrations of the human blood test samples because of the values 29 times superior to the reference values found elsewhere.

Keywords: CVAAS; Biomarker; Hg; Blood.

FIGURAS

Figura 1 Mercúrio na Tabela Periódica.....	15
Figura 2 Ciclo biogeoquímico de mercúrio.	18
Figura 3 Transformações químicas do mercúrio.	19
Figura 4 Áreas com fluxo do mercúrio.....	19
Figura 5 Esquema de um Espectrômetro de Absorção Atômica.	23
Figura 6 Lâmpada de cátodo oco.....	24
Figura 7 Espectrômetro de Absorção Atômica com Geração de Vapor.	26
Figura 8 Banho ultrassônico - Elma Elmasonic P-180H.....	28
Figura 9 Processo do banho ultrassônico.....	29
Figura 10 Espectrofotômetro de Absorção Atômica Acoplado ao Vapor Frio - spectrAA 220 FS da VARIAN® com Geração de Vapor VGA 77 da AGILENT®	30
Figura 11 Índice z calculados para os brancos analíticos preparados entre junho e setembro de 2022	39
Figura 12 Ajustes lineares das curvas analíticas para a determinação de Hg.	41
Figura 13 Índice z calculados para as amostras de sangue dopadas com Hg para a avaliação da recuperação.	43
Figura 14 Histograma das concentrações obtidas de Hg nas soluções das amostras cedidas pelo LECC/CNEN.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Estados do oxidativos de mercúrio e suas características.....	16
Tabela 2 Levantamento da literatura sobre a quantificação de mercúrio no ambiente e fatores associados.	21
Tabela 3 Parâmetros operacionais do CV-AAS.....	31
Tabela 4 Parâmetros de validação para a determinação de elementos traços.	32
Tabela 5 Recuperação do analito em função da concentração.	34
Tabela 6 Critérios de Decisão “Z”.	35
Tabela 7 Concentração de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) em brancos analíticos obtidos por CVAAS. .	38
Tabela 9 Concentração esperada, absorvância (ABS) e concentração ajustada para curvas analíticas de Hg.	40
Tabela 10 Concentrações de mercúrio em amostras dopadas.....	42
Tabela 11 Estatística descritiva dos resultados obtidos para Hg nas amostras.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica (<i>do inglês, “Atomic Absorption Spectrometry”</i>)
AFS	Espectrometria de Fluorescência Atômica (<i>do inglês “Atomic fluorescence spectrometry”</i>).
COVID-19	Doença causada pelo coronavírus SARS-Cov-2 – 2019 (<i>do inglês Coronavirus Disease 2019</i>).
CVAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor frio (<i>do inglês “Atomic Absorption Spectrometry cold vapor”</i>).
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (<i>do inglês “Flame Atomic Absorption Spectrometry”</i>).
FDA	Agência Americana para Administração de Alimentos e Medicamentos (<i>do inglês “Food and Drug Administration”</i>)
HGAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (<i>do inglês “Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry”</i>)
ICP-MS	Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>do inglês “Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry”</i>).
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente (<i>do inglês “Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry”</i>).
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>do inglês “International Union of Pure and Applied Chemistry”</i>)
MeHg	Metil mercúrio
OMS	Organização Mundial de Saúde
QTA	Atomizador de tubo de quartzo (<i>do inglês “quartz tube atomizer”</i>).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. PARTICULARIDADES QUÍMICAS	15
2.2. DISPONIBILIDADE AMBIENTAL	17
2.3. BIOMONITORAÇÃO DE MERCÚRIO EM SANGUE.....	20
2.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO 22	
2.5. CVAAS	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. DESCONTAMINAÇÃO DA VIDRARIA	27
3.2. PREPARAÇÃO DE BRANCOS ANALÍTICOS.....	27
3.4. PARÂMETROS ANALÍTICOS	31
3.4.1. Linearidade	32
3.4.2. Limite de detecção e quantificação	32
3.5. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO	33
3.5.1. Avaliação estatística	35
3.6. ESTUDO DE CASO	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. QUALIDADE DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO	37
4.1.1. Brancos analíticos	37
4.1.2. Linearidade	39
4.2. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO	41
4.3. ESTUDO DE CASO	43
5. CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

Durante a pandemia, percebeu-se a necessidade de biomonitoração humana, não só para oligoelementos, mas outros biomarcadores para o entendimento da doença. Esse acompanhamento consiste em verificar as concentrações dos elementos químicos nos seres humanos, avaliando o estado nutricional e alterações metabólicas, principalmente no caso de exposições agudas e crônicas a substâncias tóxicas (NBI, 2023).

Ao combater processos inflamatórios desencadeados, o corpo diminui substancialmente os níveis de eletrólitos, vitaminas e minerais essenciais do sistema imunológico (XU et al., 2020), afetando diretamente o funcionamento do organismo, sendo importante também a avaliação de elementos tóxicos como mercúrio-Hg (DA SILVA; DA COSTA; SILVA, 2019).

Mercúrio possui relevância para a saúde humana, considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das substâncias mais preocupantes em escala global (GIBB, 2008). Estudos mostram que Hg pode ocasionar efeitos adversos à saúde humana, devido às suas propriedades físico-químicas, afetando os sistemas central, imunológico, cardíaco e hormonal, por exemplo (SELIN, 2014; KIM; KABIR; JAHAN, 2016).

Portugal (2022) desenvolveu um método de biomonitoração humana com nível de biossegurança adequado para determinação de As, Ag, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn no sangue humano. Neste trabalho, evidenciou-se a necessidade de implementação de um método analítico para a quantificação de outros elementos químicos tóxicos como mercúrio.

No entanto, a determinação desse elemento químico requer um método sensível, pois há altos riscos de contaminação nas amostras devido à característica de dispersão de Hg na atmosfera e às baixas concentrações presentes nas matrizes biológicas. Além disso, a determinação de Hg envolve manipulação de reagentes e preparação de padrões de modo a garantir confiabilidade dos resultados analíticos.

Dentre as técnicas analíticas empregadas para a determinação de Hg em amostras de sangue, destaca-se a Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio – CV-AAS (GUILHEN, 2010) por apresentar boa sensibilidade em nível de

concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$. Diante ao exposto, o presente estudo teve como objetivo implementar um método espectrométrico de Absorção Atômica com Vapor Frio para a biomonitoração de mercúrio total em sangue humano. Os objetivos específicos foram:

- Validar o procedimento analítico adequado a partir de ensaios de recuperação de sangue dopado com mercúrio,
- Aplicar a metodologia para quantificar Hg em amostras testes de sangue.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Mercúrio (Hg) é um metal tóxico encontrado na crosta terrestre, ar e água. Em Condições Normais Atmosféricas de Temperatura e Pressão – CNATP, esse elemento químico é encontrado no estado líquido, condição adversa aos demais metais. Sua determinação com nível metrológico adequado necessita de cuidados analíticos excepcionais, o que corrobora a realização dessa pesquisa científica.

2.1. PARTICULARIDADES QUÍMICAS

Pertencente ao grupo 12 (2B) e localizado no 6º período da tabela periódica, Hg possui número atômico de 80 prótons e apresenta massa atômica relativa 200.59 u, como ilustra a Figura 1.

Figura 1 Mercúrio na Tabela Periódica.

H																	He
Li	Be	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; width: 60px; height: 60px; margin-right: 10px;"> 80 Hg Mercúrio </div> <div> <p>Configuração eletrônica [Xe]6s²4f¹⁴5d¹⁰</p> <p>Massa atômica 200.59u</p> <p>Estados oxidativos +1, +2</p> <p>Ver todas às propriedades</p> </div> </div>										B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca											Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	**	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Og
		*	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
		**	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Fonte: Adaptado de PubChem (2023).

Mercúrio está presente em todo ecossistema, devido à alta volatilidade, sendo convertido para o estado gasoso, podendo ainda, ser encontrado em diferentes Número de Oxidação (NOX) como Hg⁰ (fundamental), Hg⁺² e Hg₂⁺² (inorgânicas), MeHg e diMetilHg (orgânicas), que são inter-conversíveis no ambiente como apresentados na Tabela 1 (PENDIAS, 2016). É possível encontrar Hg em diferentes

estados oxidativos, decorrentes de sua interação com o ambiente. Além disso, cada forma possibilita diferentes efeitos sobre a saúde humana (OMS, 2019).

Tabela 1 Estados do oxidativos de mercúrio e suas características.

Nome	Fórmula	Características
Mercúrio metálico	Hg^0	Mercúrio em seu estado fundamental é utilizado nas indústrias tecnológicas, extração mineral de ouro e, antigamente foi muito utilizado na odontologia.
Mercúrio mercurioso	Hg_2^{2+}	Ambos os cátions são utilizados pelas industriais como desinfetante, antisséptico, pigmentação, aplicação em baterias e em explosivos. Entretanto, o estado mercurioso
Mercúrio mercúrico	Hg^{2+}	é pouco estável em sistemas naturais, favorecendo o mercúrico.
Dimetilmercúrio	$(\text{CH}_3)_2\text{Hg}^+$	O mercúrio por meio de atividades microbiológicas liga-se ao grupo metila, formando o estado orgânico.
Metilmercúrio	CH_3Hg	O metilmercúrio é o estado mais perigoso dentre os estados, pois é a forma mais tóxica devido à sua capacidade de ser bioacumulado pela ingestão de alimentos.

Fonte: Adaptado Guzmán (2020).

Atualmente, os níveis de concentração de Hg apresentam crescimento significativo oriundos do desenvolvimento das atividades antropogênicas e de vias naturais (responsáveis por liberarem mais de $2,7 \cdot 10^3$ toneladas ao ano até o século XXI) (FRANCISCO, 2021). Mercúrio possui um grande potencial toxicológico aos seres, capaz de desestabilizar biotas, desencadeando efeitos tóxicos (RICE et al.,

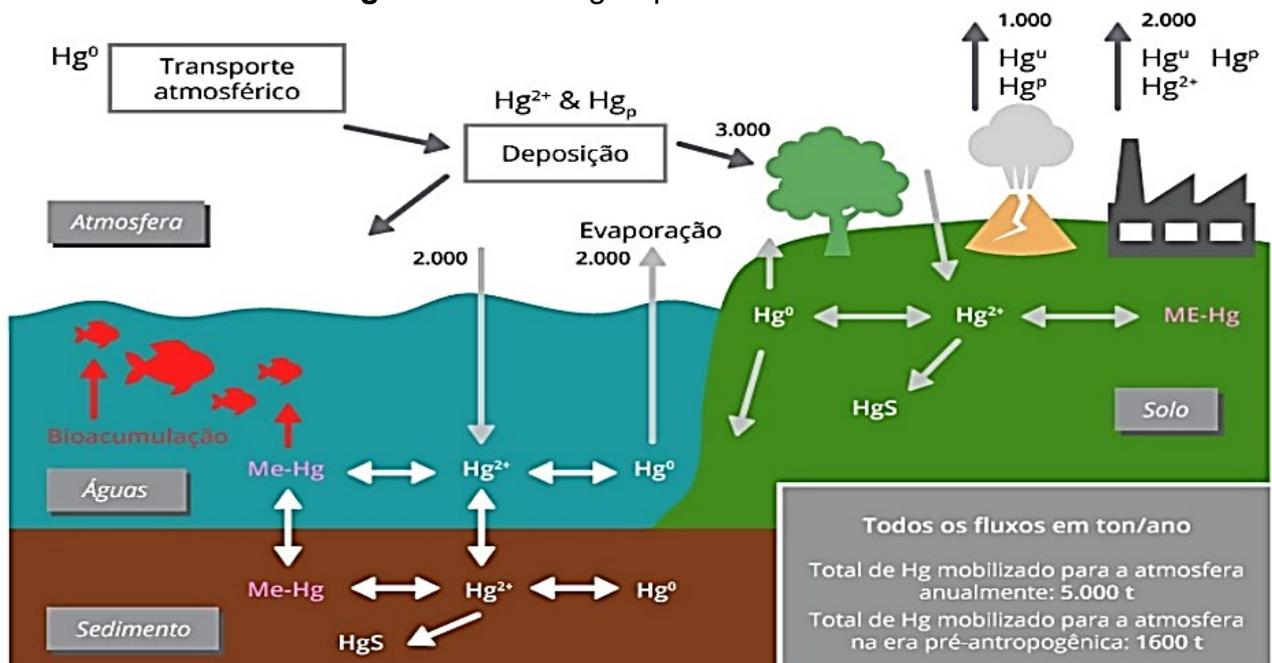
2014). A acumulação de mercúrio pode ocasionar, portanto, diversos efeitos adversos aos sistemas respiratório, imunológico, central e cardíaco, por exemplo (GIBB, 2008). Esse elemento químico possivelmente maximiza os efeitos adversos à saúde; assim, pode contribuir para o desenvolvimento de agentes infecciosos.

2.2. DISPONIBILIDADE AMBIENTAL

Mercúrio é encontrado no ambiente por meio de ações naturais como intemperismo das rochas e solos, atividades vulcânicas, minas de mercúrio e superfícies aquáticas (GUZMÁN, 2020). Porém, as atividades antropogênicas estão elevando o nível de concentração de Hg no ambiente, principalmente a geração de energia, queima de combustível fóssil, processos e produtos industriais com o emprego do elemento químico para a fabricação de lâmpadas, até mesmo o amalgama aplicado na odontologia, combustão de combustíveis fósseis, desmatamento e mineração do ouro nos garimpos (DASH, 2013).

O ciclo biogeoquímico de Hg (Figura 2) descreve as várias rotas de caminhamiento no ambiente (BRASIL, 2011). Dentre elas, pode-se observar que Hg oriundo de emissões naturais e antropogênicas contamina a atmosfera, a água e o solo (FRANCISCO, 2021). Ainda que encontrado em baixos níveis de concentração, mercúrio representa uma ameaça aos seres vivos. Sua disponibilização depende de fatores físicos, químicos e biológicos, favorecendo diferentes estados oxidativos podendo comprometer a biota. Esse metal pode permanecer até um ano disponível no ar atmosférico, depositando-se nos solos e ambientes aquáticos (BRITO; DE HOLANDO; MOREIRA, 2021).

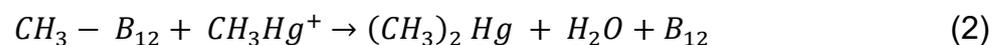
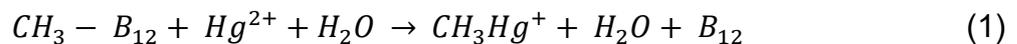
Figura 2 Ciclo biogeoquímico de mercúrio.



Legenda: Hg^0 = mercúrio elementar, Hg^{2+} = mercúrio divalente, HgS = sulfeto de mercúrio e $MeHg$ = metil-mercúrio

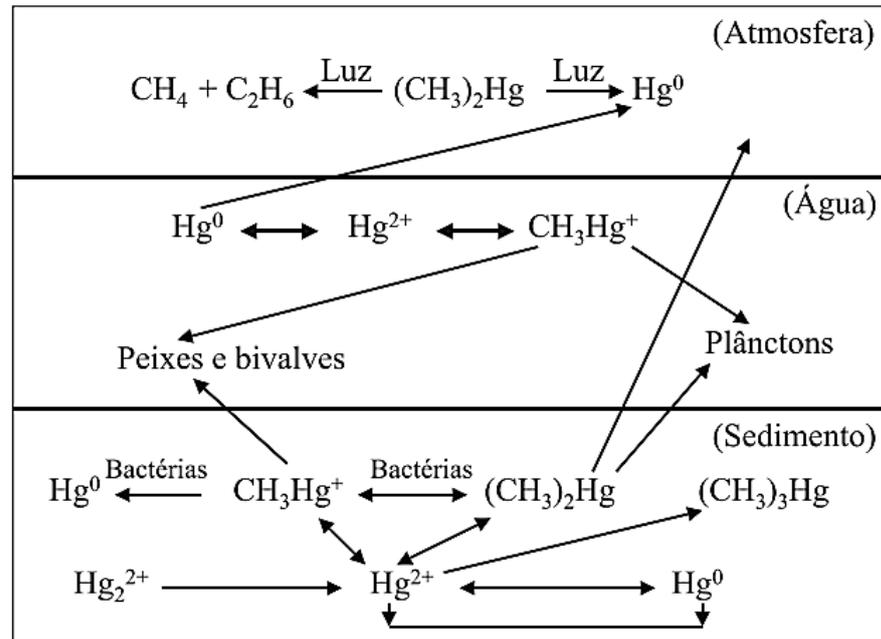
Fonte: Brasil (2011).

Para exemplificar a biodisponibilidade de metilHg em ambientes aquáticos, o mecanismo metilcobalamina (vitamina B_{12}), é capaz de trocar o seu grupo metila para Hg^{2+} . A troca do grupo neste caso pode produzir metilHg e dimetilHg (Equação 1 e 2), disponibilizando mercúrio para o ambiente. (WHO, 2020).



A disponibilidade e metilação de mercúrio desperta preocupação, pois atinge diversos ambientes e, conseqüentemente, os seres humanos, ocasionando efeitos adversos ao metabolismo celular (SOUZA; MORASSUTI; DE DEUS, 2018). A Figura 3 apresenta as transformações químicas do mercúrio quando disponível no ambiente (BISINOTI; JARDIM, 2004).

Figura 3 Transformações químicas do mercúrio.



Fonte: Bisinot e Jardim (2004).

De acordo com o Programa de Meio Ambiente das Nações Unidas, a disposição do mercúrio nas estações de monitoramento do ar no globo terrestre indica locais com maiores índices como está representado na Figura 4.

Figura 4 Áreas com fluxo do mercúrio.



Fonte: UNEP (2018).

A contaminação por Hg pode ocorrer por meio de formas direta, decorrente das substâncias presentes no meio ou indireta, ocasionada pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente, pela ingestão de animais aquáticos que sofreram acumulação de mercúrio. Portanto, a população está exposta à diferentes espécies de Hg que ocasionam danos à saúde, principalmente metilHg, que atua no sistema nervoso e pode levar a problemas neurológicos graves (GIBB, 2008).

No Japão, em 1950, foi evidenciada a perda de coordenação motora de animais e os animais também afetaram as pessoas, especificadamente as que faziam grande consumo de derivados marinhos (WHO, 1976). O caso da contaminação por mercúrio ocorreu na Baía de Minamata, quando resíduos de produtos químicos foram despejados nas águas da baía, que contaminou a fauna marinha e, conseqüentemente, a população que se alimentava dos animais marinhos da região (KWON et al., 2020). Após a contaminação, altos níveis de concentração do mercúrio foram detectados na região, aproximadamente 1.043 pacientes foram a óbitos e um total de aproximadamente 12.127 pessoas doentes, além da vida marinha ter sido comprometida, apresentando altos valores de mercúrio devido à capacidade de absorção e metilação dos organismos aquáticos (BISINOTI; JARDIM, 2004).

Mercúrio apresenta uma longa meia-vida em sistemas biológicos, causando danos irreparáveis à saúde. A exposição de mercúrio acarreta severos danos neurológicos devido à sensibilidade de certas regiões do cérebro aos efeitos tóxicos do elemento químico, podendo ocasionar fadiga, irritabilidade, distúrbios neurológicos, levando até o óbito (EKINO et al., 2007). Desde o envenenamento de Minamata, um extenso banco de dados epidemiológico, e estudos com animais examinaram as relações entre exposições a mercúrio e efeitos sobre os resultados de saúde por meio de ensaios de biomonitoração.

2.3. BIOMONITORAÇÃO DE MERCÚRIO EM SANGUE

A biomonitoração quantifica e avalia a exposição de organismos vivos a substâncias químicas, enquanto, aplicada em amostras humanas, como cabelo, urina ou sangue, permite a avaliação de impactos de elementos químicos tóxicos nos ecossistemas (PALMER et al., 2006). A disponibilidade pode ocorrer no organismo de acordo com o tamanho, habitat e alimentação (O'CONNOR et al., 2019).

O sangue humano é o principal biomarcador das concentrações internas, uma vez que eventos biológicos são decorrentes das concentrações encontradas no sangue ou urina (BRITO; DE HOLANDO; MOREIRA, 2021). Dentre os elementos químicos, os níveis de mercúrio encontrados em sangue podem sinalizar eventos adversos à saúde (AWATA et al., 2017). A Tabela 2 relata a incidência de mercúrio no ambiente nos últimos anos.

Tabela 2 Levantamento da literatura sobre a quantificação de mercúrio no ambiente e fatores associados.

Referência	Região	Destaque
Santos (2007)	Pará, Brasil.	Concentração de mercúrio em mulheres e recém-nascidos.
Mckelvey et al (2007)	Nova Iorque, Estados Unidos da América.	Concentração elevada concentração de mercúrio em sangue na população que consome peixes e frutos do mar.
Kuno (2010)	São Paulo, Brasil.	Níveis de mercúrio em sangue de homens e mulheres.
UNEP (2018)	Estimativa global.	Consumo de peixes e frutos do mar associado a altos valores de mercúrio em seres humanos.
Brito; De Holanda; Moreira (2021)	Amazônia, Brasil.	Efeitos toxicológicos de Hg em humanos e animais, associados aos sistemas nervosos, cardiovasculares e outros.
Vicentini (2020)	Rio de Janeiro, Brasil.	Determinou concentração de Hg em sangue materno e de cordões umbilicais.
Sanei et al (2021)	Atacama, Chile.	Fontes de combustíveis, produção de insumos industriais são processos que contribuem para elevados níveis de concentração de mercúrio no ambiente.

Fonte: O autor (2023).

A avaliação de elementos traços em matrizes biológicas como sangue contribui para o entendimento dos impactos de Hg no ambiente (PALMER et al., 2006). Como a concentração pode depender do organismo, trabalhos de biomonitoração com sangue são empregados para monitorar e associar a exposição de Hg entre os seres vivos em níveis de fluidos biológicos (PALMER et al., 2006).

Na literatura brasileira, Santos (2007) determinou a concentração de Hg em sangue entre mulheres e recém-nascidos na Região do Pará, destacando que há necessidade do mapear a área de abrangência. Mckelvey et al (2007) verificou a concentração superior a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ em uma amostra populacional da cidade de Nova York, estimando que os níveis de mercúrio apresentaram valores maior a três vezes superiores ao nacional. Kuno (2010) analisou amostras de sangue de homens e mulheres da região metropolitana de São Paulo e determinou concentração média de $4,30 \mu\text{g L}^{-1}$.

O consumo de peixe e frutos do mar está fortemente ligado aos altos valores de concentração determinados em sangue de indivíduos que consomem derivados marinhos (UM ENVIRONMENT, 2018). De acordo com as concentrações endógenas, Brito; De Holanda; Moreira (2021) indicou que Hg é tóxico para humanos e animais, ocasionando impactos nos sistemas nervosos e cardiovascular, por exemplo. No ano de 2018, o Programa de Meio Ambiente das Nações Unidas divulgou em seu relatório um estudo comparativo das concentrações de mercúrio em sangue em indivíduos de 73 países diferentes (UNEP, 2018).

Vicentini (2020) determinou concentração de mercúrio $13,3 \mu\text{g L}^{-1}$ em sangue materno e os respectivos cordões umbilicais de mães participantes. Sanei et al. (2021) estimaram que fontes de combustíveis e produção de insumos industriais são processos que contribuem aumento dos níveis de mercúrio no ambiente. Moon et al. (2022) desenvolveram uma série de investigações na Coreia do Sul, associando doenças metabólicas à exposição de mercúrio.

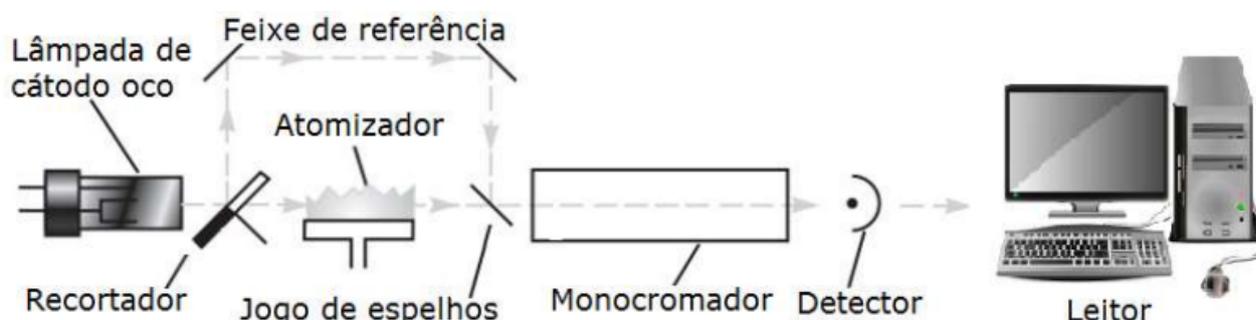
2.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A QUANTIFICAÇÃO DE MERCÚRIO

Há diversas técnicas espectrométricas aplicáveis à quantificação de Hg como a Espectrometria de Absorção Atômica - Atomic Absorption Spectrometry (AAS), a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP MS), a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) e a Espectrometria de Fluorescência Atômica - Atomic Fluorescence Spectrometry (AFS) (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

ICP-MS e ICP-OES são técnicas analíticas rápidas e sensíveis, porém demandam um alto custo capital e operacional (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009) e apresentam interferências de espécies oxidantes extinguindo os sinais (GARCIA; FIGUEROA; LAVILLA, 2006; LONG et al., 2012). Comumente, a determinação de elementos-traços é principalmente realizada por meio de AAS devido a rápida leitura, exatidão, precisão e baixo custo comparado com as demais.

A técnica AAS consiste na detecção de átomos gasosos no estado fundamental gerados por um atomizador e uma fonte que emite a radiação eletromagnética específico do Hg (BORGES, 2005). A técnica consiste basicamente em: 1) fonte que emite radiação com comprimento de onda do analito; 2) atomizador, responsável pela promoção do nível energético; 3) monocromador, responsável pela seleção espectral. A Figura 5 apresenta o esquema convencional de AAS com seus principais componentes (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

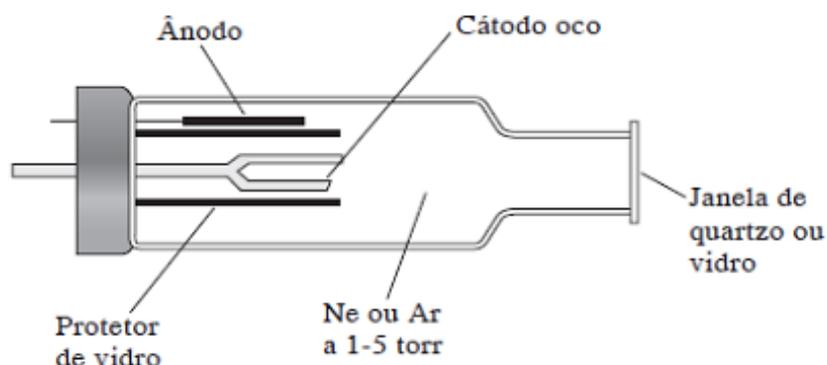
Figura 5 Esquema de um Espectrômetro de Absorção Atômica.



Fonte: Adaptado Holler, Skoog e Crouch (2009).

A fonte de radiação mais aplicada na AAS é uma lâmpada específica, composta por um ânodo de tungstênio e um cátodo contendo um filamento do metal do analito, e um gás inerte (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). A lâmpada (Figura 6) produz uma radiação com linha espectral contínua do elemento, que incidirá sobre os átomos da amostra e em seguida ocorrerá a absorção no mesmo comprimento de onda da radiação.

Figura 6 Lâmpada de cátodo oco.



Fonte: Adaptado de Hsoller, Skoog e Crouch (2009).

O equipamento utiliza comprimentos de onda específicos, em que uma diferença de potencial é aplicada na lâmpada de cátodo oco, promovendo a ejeção dos átomos do elemento químico de interesse. O atomizador é responsável pela promoção dos átomos de Hg no estado gasoso, estado no qual o átomo fica suscetível a absorver a radiação eletromagnética, transitando do estado fundamental ao excitado. O processo de atomização aplica uma fonte energética sobre a amostra proporcional a concentração do analito da amostra; os atomizadores de chama, grafite e quartzo originam variações analíticas pela técnica de absorção atômica (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

O monocromador realiza a seleção dos comprimentos de ondas que devem chegar ao detector, diferindo-o das linhas absorvidas, decodificando-as para energia elétrica e transmitindo a informação para a leitura (SOUZA; MORASSUTI; DE DEUS, 2018). O componente isola o fluxo de radiação pelo atomizador, em que redes de difração decompõe em comprimentos de onda discretos, facilitando a conversão no detector da radiação luminosa incidente, em que Fotomultiplicadores aceleram uma série de impulsos voltaicos, funcionando como uma rede de amplificação, registrando a absorbância do analito na amostra (WELZ; SPERING, 1999; BORGES; CURTIUS; WELZ, 2005).

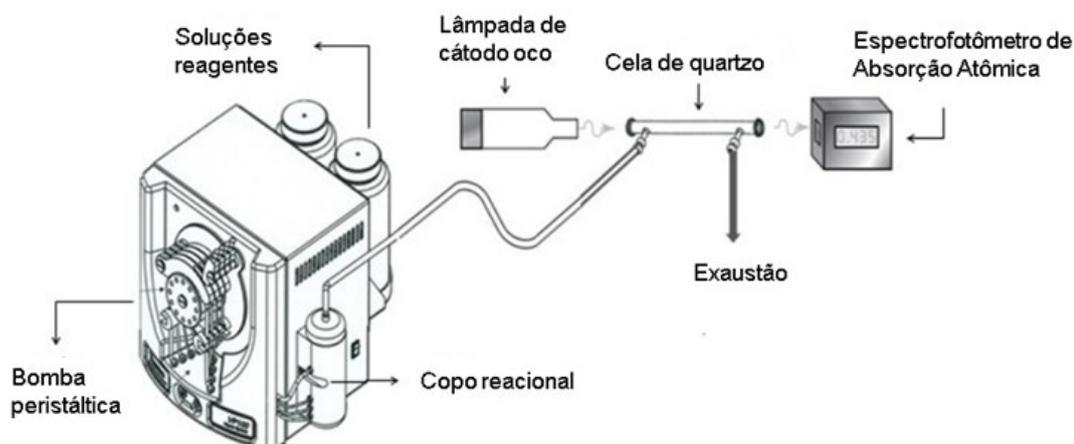
O espectrômetro pode ser ainda aperfeiçoado, utilizando diferentes formas de atomização como chama, forno de grafite e tubo de quartzo ou pela geração de

vapores em condições ambientais por tratamento químico, dando origem às técnicas de absorção atômica com chama (F), forno de grafite (GF), com tubo de quartzo (QTA) e a geração de hidretos (HG) (WELZ; SPERING, 2004; DA SILVA; DA COSTA; SILVA, 2019). A seguir será destacada a Espectrometria de Absorção Atômica acoplada à geração química de vapor (CVAAS).

2.5. CVAAS

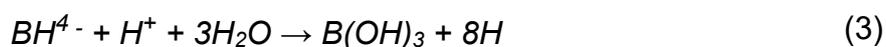
As principais técnicas analíticas aplicadas à quantificação de elementos-traço necessitam que a amostra esteja em solução para que o analito solúvel no meio seja determinado, exceto pelo GFAAS que permite a análise direta de sólidos. Entretanto, para a determinação do mercúrio em solução, devido à sua volatilidade, é necessária uma etapa de digestão em vaso fechado para diminuir o risco de contaminação e perdas de analito e uma técnica analítica capaz de converter o analito presente na amostra à forma volátil. Nesse sentido, a técnica de geração de Vapor frio - *Cold Vapor Generation* (POTES, 2018). A técnica se torna amplamente difundida, uma vez que apresenta algumas vantagens, como compatibilidade com diversas técnicas espectrométricas (AAS, AFS, ICP-OES, ICP-MS); eficiência na seletividade, reduzindo possíveis interferentes; tendo em vista que separa o analito em função aos seus estados oxidativos (POHL, 2004; YIN; LI; JIANG, 2011)..O procedimento por geração química de vapor (Figura 7) pode ser dividido em etapas: 1) geração de vapores atômicos, com reação química favorecendo o estado gasoso; 2) o transporte do analito; 3) Hg no atomizador para outros analitos como As, Se e Te, por exemplo..

Figura 7 Espectrômetro de Absorção Atômica com Geração de Vapor.



Fonte: Potes (2018).

A técnica analítica conhecida como “vapor frio” ocorre em duas etapas: a geração do vapor atômico (meio reacional) e o transporte ao detector. O método é bastante sensível e convencionalmente empregado para determinação de mercúrio (POTES, 2018) por evitar a perda de analito e contaminações externas. Entretanto, a geração da espécie de Hg^0 necessita de tratamento químico específico cuja conversão química de Hg^{+2} a Hg^0 ocorre por meio da redução com o emprego do tetraidroborato (Equação 3 e 4) ou cloreto estanhoso (Equação 5) (DOS SANTOS et al., 2005).



O tetraidroborato em meio ácido produz hidróxido de boro e hidrogênio monoatômico, sendo responsável pela derivação do hidreto, em que M expressa o estado de oxidação do analito, capaz de interagir com o hidrogênio livre formando o hidreto. Entretanto, o procedimento abordado pelo trabalho utilizou o cloreto estanhoso, sendo responsável pela redução do analito Hg^{+2} em Hg^0 (ALZHRANI et al., 2023).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Portugal (2022) desenvolveu um método de biomonitoração humana com nível de biossegurança para análises químicas de oligoelementos em sangue humano. Entretanto, evidenciou-se a necessidade de implementação de técnica analítica para quantificação de mercúrio em amostras de sangue humano. A implementação da técnica de CVAAS necessita de uma etapa de descontaminação da vidraria, e validação do método para garantir a qualidade do procedimento analítico a partir de ensaios de recuperação.

3.1. DESCONTAMINAÇÃO DA VIDRARIA

As vidrarias utilizadas para o acondicionamento das amostras sofreram uma descontaminação rigorosa. Seguindo o procedimento estabelecido no CRCN-NE, as vidrarias e demais materiais foram descontaminados por imersão em uma solução aquosa de detergente Extran® neutro a 5% por 24 horas, posteriormente lavados com água Ultrapura (Millipore; resistividade específica maior que 18,2 M Ω cm à 25 °C); em seguida foram imersos em uma solução de ácido nítrico (HNO₃) a 10% por 24 horas e enxaguados com água ultrapura, abundantemente.

Uma solução de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) foi adicionada aos frascos por aproximadamente 1 hora sob aquecimento à 70°C. Após o resfriamento, os materiais foram lavados com água Ultrapura abundantemente e, em seguida, foram lavados com uma solução de permanganato de potássio (KMnO₄) e água ultrapura em abundância, sendo aptos para utilização no acondicionamento dos reagentes, soluções padrões de Hg para curvas analíticas e soluções de amostras.

3.2. PREPARAÇÃO DE BRANCOS ANALÍTICOS

Os brancos analíticos foram preparados contendo todos os reagentes utilizados na análise, pois são de fundamental importância para o controle estatístico da qualidade. A análise dos brancos analíticos permite detectar interferentes do analito e de outras espécies na amostra (MOURA, 2018).

Para isso, os brancos foram preparados pela adição de 4 mL de HNO₃ destilado em tubos de centrífuga estéreis de 50 mL. Foram agitadas e deixadas em repouso por

24 h no interior de uma capela de fluxo laminar. Ao fim do repouso, os brancos foram submetidos a um processo de tratamento químico com auxílio de um banho ultrassônico (Figura 8), o mesmo procedimento aplicado por Portugal (2022) para o tratamento químico de amostras de sangue de pacientes hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva – UTI.

Figura 8 Banho ultrassônico - Elma Elmasonic P-180H.



Fonte: O autor (2023).

Os tubos foram dispostos em suportes para a imersão na cuba do equipamento (Figura 9), em que o tratamento ocorreu em 3 ciclos com duração de 1 hora à temperatura de 80°C, sob frequência de 37 kHz.

Figura 9 Processo do banho ultrassônico.



Fonte: O autor (2023).

Posteriormente, os recipientes foram deixados em descanso até atingir o equilíbrio térmico. Após o resfriamento, as soluções dos brancos analíticos foram direcionadas para a etapa de condicionamento de redução do analito. Para esse caso, uma alíquota com 1,2 mL de hidroxilamina 30% (v/v) foi adicionada aos tubos de centrifuga estéreis de 15 mL, sendo transferidos 2 mL da amostra. Em seguida, foi adicionado 1 mL de ácido clorídrico 12 mol L⁻¹ e avolumada a solução com água ultrapura o volume final de 8,0 mL. As soluções foram diretamente encaminhadas para análise por CVAAS.

3.3. CVAAS

Para a determinação de mercúrio nos brancos analíticos, utilizou-se do espectrômetro AA 220 FS da VARIAN® com Geração de Vapor VGA 77 da Agilent® (Figura 10). O equipamento foi calibrado com soluções secundárias (Merck ®) de concentrações conhecidas do elemento de interesse – padrões analíticos internos para construção da curva analítica com pontos de 0,3, 2,1, 4,1 6,1, 8,2 e 10,2 µg L⁻¹.

Figura 10 Espectrofotômetro de Absorção Atômica Acoplado ao Vapor Frio - spectrAA 220 FS da VARIAN® com Geração de Vapor VGA 77 da AGILENT®



Fonte: O autor (2023).

Os parâmetros instrumentais (CV AAS) para determinações de mercúrio estão descritos na Tabela 3. Argônio (Ar) foi utilizado como gás de arraste com pureza de 99,999% e uma célula de quartzo. O volume de aspiração dos reagentes foi ajustado em 2 mL por minuto, enquanto o das soluções das amostras foi aproximadamente 8 mL por minuto.

Tabela 3 Parâmetros operacionais do CV-AAS.

Parâmetro	Ajuste
Gás de arraste – Argônio	Vazão do Gás 75,0 mL min ⁻¹
Tempo de gravação	60 s
SnCl ₂ 25% em HCl 20%	Vazão de 2,0 mL min ⁻¹
Água ultrapura	Vazão de 2,0 mL min ⁻¹
Amostra	Vazão de 8,0 mL min ⁻¹
Comprimento de onda	253,7 nm

Fonte: O autor (2023).

3.4. PARÂMETROS ANALÍTICOS

No Brasil, a confiabilidade de ensaios analíticos segue o sistema de creditação do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), um sistema de Gestão e certificação ABNT NBR ISO/IEC 17011 (INMETRO, 2020). É necessário que os laboratórios possuam formas avaliativas criteriosas para expor a capacidade de execução de ensaios, os quais confirmam confiabilidade aos valores obtidos (INMETRO, 2020). Com a necessidade da validação, o presente estudo realizou verificações detalhadas, qualificando o procedimento e laboratório ao ensaio realizado. Para demonstrar a capacidade analítica para determinação de mercúrio total em sangue por CVAAS, foram aplicados ensaios seguindo os parâmetros de credibilidade analítica conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 Parâmetros de validação para a determinação de elementos traços.

Parâmetros	Qualitativo	Análise de elementos químicos traços
Precisão	-	X
Seletividade	X	X
Tendência/recuperação	-	X
Robustez	X	X
Sensibilidade/ linearidade / faixa de trabalho	-	X
Limite de detecção	X	X
Limite de quantificação	-	X

Fonte: INMETRO (2020).

3.4.1. Linearidade

A linearidade do procedimento foi inicialmente observada pela análise gráfica em função da concentração de mercúrio nos padrões internos pela absorbância da leitura, observando-se a equação por meio de ajuste de regressão linear simples (NOVAIS, 2015). Os padrões internos foram produzidos a partir de solução de Hg de 1000 mg L⁻¹ de alto nível metrológico, respeitando-se a faixa de trabalho entre 0,2 e 12 µg L⁻¹. A faixa de concentração para a curva analítica típica para a metodologia foi baseada no ensaio, em que 4 curvas analíticas testadas.

3.4.2. Limite de detecção e quantificação

A caracterização pelo desempenho do procedimento aplicado ao ensaio analítico garante a capacidade de detecção e de quantificação do procedimento. O mínimo valor detectável verificou a mínima concentração de Hg estimada na amostra, considerando os riscos (INMETRO, 2020). No presente estudo, o LD foi calculado segunda a Equação 8.

$$LD = X + t \cdot s \quad (8)$$

em que, X é a média dos valores dos brancos da amostra, s é o desvio padrão médio dos brancos da amostra e t é o valor da distribuição de Student (INMETRO, 2020). O mínimo valor quantificável testou a menor concentração aceitável do analito

encontrada nas soluções das amostras com exatidão (INMETRO, 2020), e foi calculado de acordo com a Equação 9.

$$LQ = X + 5.s \quad (9)$$

em que X é a média dos valores obtidos em repetições do branco, s é o desvio padrão dos brancos (INMETRO, 2020).

3.5. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

Devido à falta de material de referência para a quantificação de mercúrio em sangue humano, o presente estudo desenvolveu o método capaz de reproduzir dados confiáveis, garantindo exatidão e precisão. O método alternativo foi baseado na dopagem de amostras de sangue humano com concentrações conhecidas do analito (VICENTINI, 2020). O estudo verificou a repetitividade e a recuperação apresentada do método correlacionando a leitura em 10 amostras fortificadas com concentrações conhecidas (solução padrão de estoque) de Hg.

Após aprovado no Comitê de Ética de Pesquisas (Anexo I). O volume necessário de sangue foi tomado em pulsão intravenosa com seringa estéril de 10 mL de participante da pesquisa científica. Para as 10 amostras, foram retirados 1 mL de sangue e diretamente em 4 mL de ácido nítrico destilado (65%) contido em tubos de centrifugação de 50 mL. Cada amostra é composta por dois tubos contendo 2 mL de sangue. Todo o procedimento foi realizado em uma capela de fluxo laminar. Após isso, foram adicionados $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ em cada tubo utilizando $14 \mu\text{L}$ de uma solução padrão de 1000 mg L^{-1} Hg (Merck). Os tubos foram homogeneizados e passaram pelo tratamento químico e condicionamento químico aplicado na Seção 3.2. Os valores recuperados considerados confiáveis ao método são estabelecidos em função dos níveis do analito (AOAC, 2016), conforme mostra a Tabela 5.

Tabela 5 Recuperação do analito em função da concentração.

Analito (%)	Fração Mássica (C)	Unidade	Intervalo de Recuperação média (%)
100	1	100%	98 – 102
10	10 ⁻¹	10%	98 – 102
1	10 ⁻²	1%	97 – 103
0,1	10 ⁻³	0,1%	95 – 105
0,01	10 ⁻⁴	100 mg kg ⁻¹	90 – 107
0,001	10 ⁻⁵	10 mg kg ⁻¹	80 – 110
0,0001	10 ⁻⁶	1 mg kg ⁻¹	80 – 110
0,00001	10 ⁻⁷	100 µg kg ⁻¹	80 – 110
0,000001	10 ⁻⁸	10 µg kg ⁻¹	60 - 115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 µg kg ⁻¹	40 - 120

Fonte: Adaptado de AOAC (2022).

O cálculo da recuperação foi realizado de acordo com a Equação 10 para avaliar os efeitos e interferências de matriz em termos de exatidão e precisão, enquanto os valores preconizados para esse ensaio encontram-se na Tabela 5.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Valor observado}}{\text{Valor esperado}} \times 100\% \quad (10)$$

A capacidade de recuperação do método analítico mensura o desenvolvimento do procedimento aplicado, pode-se usar a recuperação como fator de correção – multiplicativo (BRASIL, 2011). Testes de confiança foram realizados para demonstrar a capacidade de quantificação do método incluindo incertezas e o limite de confiança. Ainda que, a validação metodológica do ensaio permite processar os dados estatisticamente, garantindo uma rota alternativa de avaliação da precisão e exatidão.

3.5.1. Avaliação estatística

Para a análise dos dados observados pelo presente trabalho, teste z (Equação 11) garantiu a concordância entre os valores obtidos e o valor de referência com 95% de confiança.

$$Z = \frac{X - U}{Su} \quad (11)$$

em que, X é o valor quantificado, U é o valor de referência e o Su é o desvio padrão do valor de referência. Neste trabalho, devido à falta de materiais de referência com concentrações de Hg, o valor médio proveniente do ensaio da recuperação e a estimativa de incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança. O método avaliativo seguiu os critérios, de acordo com a INMETRO (2020) (Tabela 6).

Tabela 6 Critérios de Decisão “Z”.

Índice z	Resultado
$ z \leq 2$	Resultado satisfatório
$2 < z < 3$	Resultado questionável
$ z \geq 3$	Resultado insatisfatório

Fonte: Adaptado de INMETRO (2020).

Os resultados das medições visaram avaliar o grau de concordância entre o resultado determinado e o valor do padrão interno (VIM, 2012), considerando as fontes de incerteza relacionadas exclusivamente à preparação das amostras.

3.5.2. Estimativa da incerteza

Para a determinação da incerteza analítica, foram estimadas as incertezas individuais para precisão e exatidão a partir dos resultados do ensaio de recuperação, que foram combinadas e expandidas em nível de 95% de confiança de acordo com o procedimento descrito conforme o EURACHEM / CITAC Guide CG (ELLISON; WILLIAMS, 2012).

3.6. ESTUDO DE CASO

Para a avaliação da aplicabilidade do método, soluções de amostras foram gentilmente cedidas. Lira (2021)¹ realizou a coleta de sangue em indivíduos, cuja pesquisa científica foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição (CAAE 36784520.5.0000.5200 e Parecer nº 4.306.921, ambos no Anexo 1). Toda a pesquisa foi executada dentro das normas a Resolução do Conselho Nacional de Saúde CNS Nº 466/12. Os dados e materiais do estudo¹ permanecerão sob responsabilidade do coordenador da pesquisa. A coleta das amostras seguiu todos os protocolos de segurança estabelecidos por Portugal (2022) para a amostragem de sangue humano em UTI. Foi desenvolvido um protocolo devido aos riscos de contaminação, a coleta das amostras se processou utilizando kit de coleta sanguíneo, compostos por seringas estéreis de 3 mL, álcool 70% (v/v), algodão e curativos. Anteriormente à coleta, aos tubos foi adicionado ácido nítrico destilado 65% (p.a) (HNO₃), procedimento este que inativa patógenos (PORTUGAL, 2022).

Foram cedidos aproximadamente 122 mL de solução de amostras, proporcionando 61 análises, respeitando o caráter restrito das amostras. As soluções de brancos analíticos preparadas com essas amostras também foram cedidas. O procedimento consistiu na mudança do meio químico conforme a Seção 3.2 para posterior análise de acordo com a Seção 3.3.

¹ LIRA, M. B. G. Biomonitoração de oligoelementos em sangue e cabelo de profissionais de saúde assintomáticos e/ ou recuperados da COVID-19. Seminário de Tese I. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares – PROTEN, UFPE/CNEN, 2021. Dados não publicados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico, são apresentados os resultados das análises químicas, os parâmetros avaliados seu respectivo controle estatístico da qualidade e o desempenho metodológico para determinação de mercúrio total em sangue utilizando a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio – CVAAS.

4.1. QUALIDADE DO PROCEDIMENTO ANALÍTICO

A qualidade do procedimento analítico para a determinação Hg em sangue total requer parâmetros confiáveis e estáveis, sua capacidade foi demonstrada a partir da análise estatística, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos. Os critérios de desempenho, incluindo linearidade, seletividade, brancos analíticos, precisão, exatidão e repetitividade.

4.1.1. Brancos analíticos

O controle estatístico da qualidade dos brancos analíticos é de extrema importância para obtenção de dados metrológicos confiáveis. Os ensaios com branco analítico permitem identificar possíveis influências de outras espécies nas amostras e traços de analito encontrados no meio externo em reagentes utilizados ao condicionamento das amostras (MOURA, 2018). O ensaio identificou concentrações de mercúrio em brancos analíticos por CVAAS (realizadas no segundo semestre do ano de 2022).

A Tabela 7 mostra os valores de concentração de mercúrio nos brancos analíticos entre junho e setembro de 2022. O desempenho do método empregado. O teste z (Equação 11) corroborou para que as observações estabeleçam confiança ao procedimento.

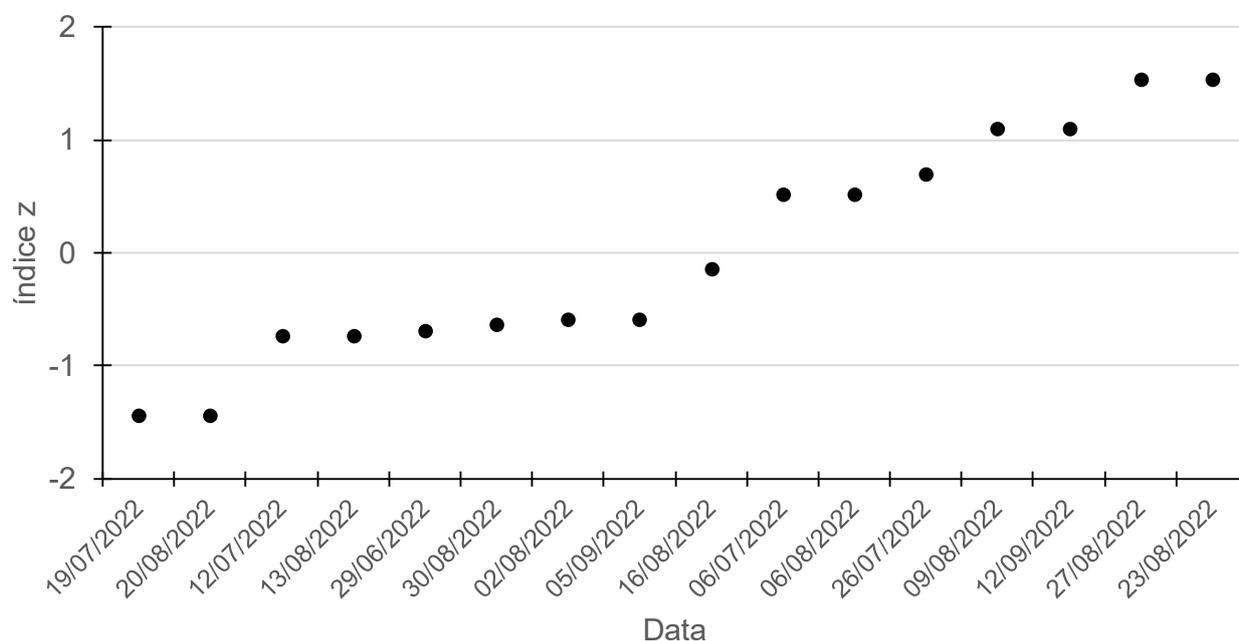
Tabela 7 Concentração de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) em brancos analíticos obtidos por CVAAS.

Sequência de leituras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
29/06/2022	0,307
06/07/2022	0,350
12/07/2022	0,305
19/07/2022	0,280
26/07/2022	0,356
02/08/2022	0,310
09/08/2022	0,370
16/08/2022	0,326
23/08/2022	0,386
30/08/2022	0,309
06/08/2022	0,350
13/08/2022	0,305
20/08/2022	0,280
27/08/2022	0,386
05/09/2022	0,310
12/09/2022	0,370
Média	0,331
Desvio-padrão	0,036
Coeficiente de variação	10,7%

Fonte: o autor.

A Figura 11 mostra os valores de índice z para os brancos analíticos preparados entre junho e setembro de 2022, em que todos os resultados se encontraram entre -2 e 2.

Figura 11 Índice z calculados para os brancos analíticos preparados entre junho e setembro de 2022



Fonte: O autor (2023).

Os valores detectados de mercúrio nos brancos indicam que ocorreram falhas no condicionamento químico das amostras possibilitando estudos futuros aos níveis de mercúrio disponíveis na atmosfera; além da determinação das concentrações de Hg em reagentes utilizados na digestão e redução do analito. A estatística z permitiu verificar que mesmo com a presença do elemento nos brancos analíticos todos os pontos estiveram em níveis satisfatórios.

Os parâmetros empregados para validação do método demonstram capacidade para a quantificação de Hg em sangue por CVAAS. Segundo o procedimento, foi determinado o mínimo valor detectável ao método de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e quantificável igual a $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$, os valores obtidos neste estudo foram coerentes, apresentando desvio padrão de 3% indicativo fundamental para o controle de qualidade.

4.1.2. Linearidade

A faixa de concentração foi definida observando valores médios de mercúrio ambiente e em seres humanos. O teste avaliou 4 diferentes curvas com

concentrações entre 0,2 e 12,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A Tabela 8 apresenta valores de concentração esperada, absorvância (ABS) e concentração ajustada para as curvas analíticas de Hg avaliadas.

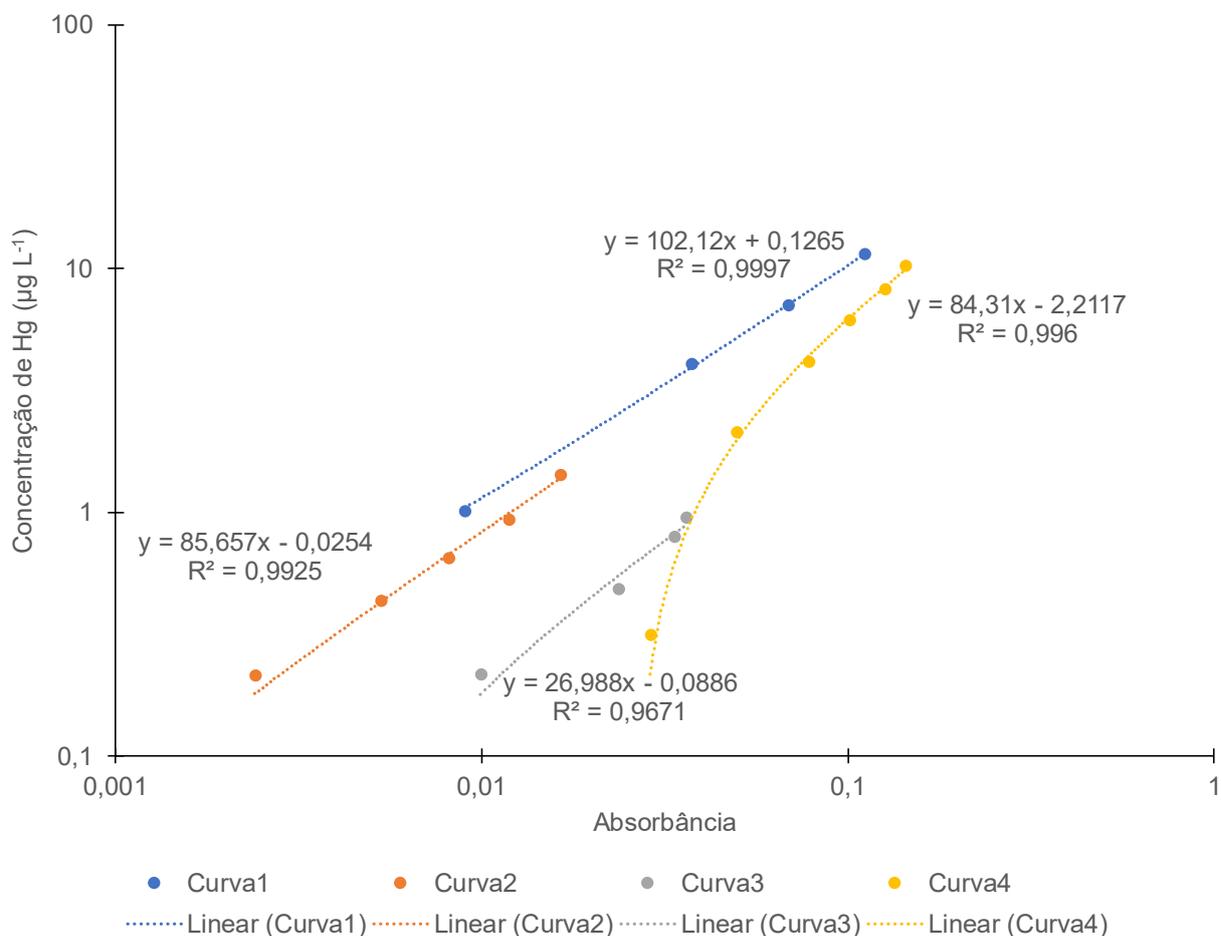
Tabela 8 Concentração esperada, absorvância (ABS) e concentração ajustada para curvas analíticas de Hg.

Curva analítica	Concentração esperada	ABS	Concentração ajustada	Resíduo	Razão
1	1,0045	0,0090	1,0456	-0,0411	0,96
	4,0493	0,0374	3,9458	0,1035	1,03
	7,0615	0,0687	7,1421	-0,0806	0,99
	11,4909	0,1111	11,4720	0,0189	1,00
2	0,2120	0,0024	0,1816	0,0304	1,17
	0,4297	0,0053	0,4300	-0,0003	1,00
	0,6430	0,0081	0,6698	-0,0268	0,96
	0,9315	0,0118	0,9868	-0,0553	0,94
	1,4256	0,0164	1,3808	0,0448	1,03
3	0,2144	0,0099	0,1786	0,0358	1,20
	0,4798	0,0236	0,5483	-0,0685	0,88
	0,7872	0,0335	0,8155	-0,0283	0,97
	0,9496	0,0362	0,8884	0,0612	1,07
4	0,3128	0,0288	0,2164	0,0964	1,45
	2,1312	0,0497	1,9785	0,1527	1,08
	4,1285	0,0781	4,3729	-0,2444	0,94
	6,1400	0,1006	6,2699	-0,1299	0,98
	8,2000	0,1261	8,4198	-0,2198	0,97
	10,2318	0,1435	9,8868	0,3450	1,03

Fonte: O autor (2023).

Aos valores observados, a linearidade foi estudada a partir dos melhores pontos observados em 4 curvas analíticas entre 0,2 e 12,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, excluindo-se o zero da curva de calibração e pontos fora do controle. Os valores permitiram identificar a melhor faixa de trabalho. A Figura 12 apresenta a linearidade das curvas testadas e ajustes lineares realizados das curvas analíticas para a determinação de Hg.

Figura 12 Ajustes lineares das curvas analíticas para a determinação de Hg.



Fonte: O autor.

A melhor faixa de trabalho foi determinada entre 0,3 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, apresentando valores confiáveis e coeficiente de correlação 0,99 e $r^2 > 0,99$. Os resultados estiveram de acordo com o recomendado pela INMETRO (2020), indicando coerência à leitura, excluindo erros associados ao método com relação à linearidade.

4.2. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

A seletividade foi testada com intuito de garantir para que não houvesse comprometimento nas análises decorrente do efeito de matriz. O procedimento avaliou a capacidade da recuperação da técnica analítica, a qual adicionou mercúrio nas amostras de sangue para a concentração estimada em 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores recuperados e esperados estão na Tabela 9, assim como os resultados de recuperação em %.

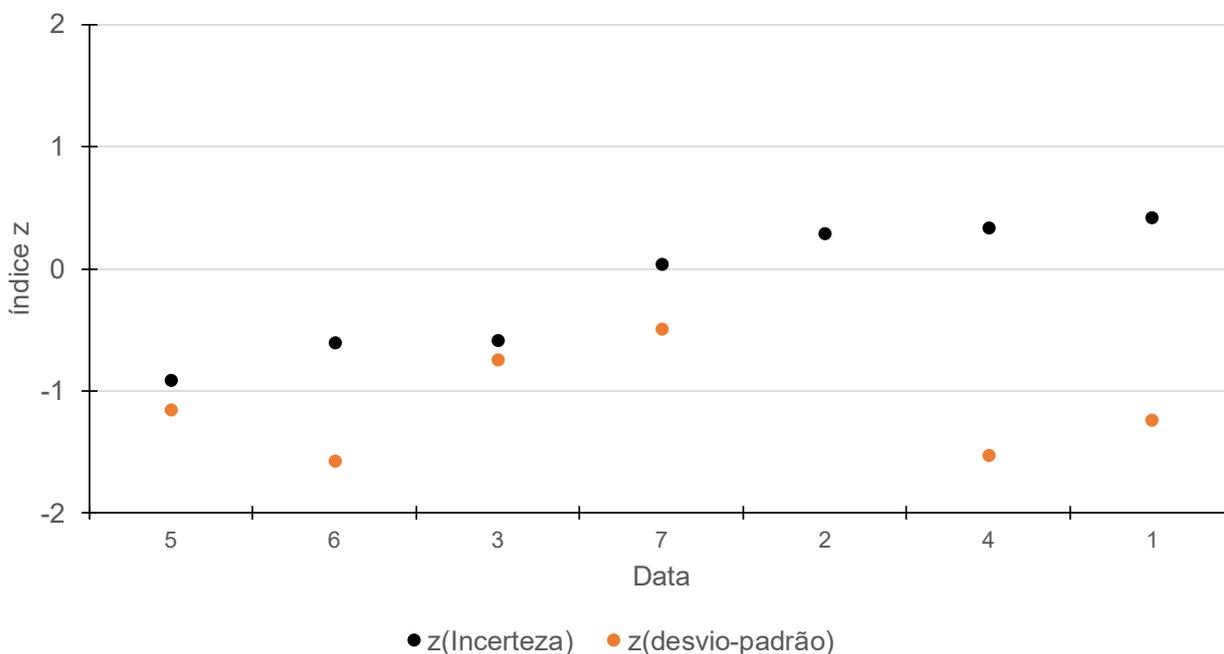
Tabela 9 Concentrações de mercúrio em amostras dopadas.

Leitura	Concentração obtida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração esperada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,5403	0,6188	87%
2	0,5259	0,6327	83%
3	0,4305	0,4810	90%
4	0,5310	0,5648	94%
5	0,3948	0,5480	72%
6	0,4287	0,5324	81%
7	0,4984	0,5821	86%
8	0,5425	0,6781	80%
9	0,5620	0,6821	82%
Média	0,4949	0,5911	0,84
Desvio padrão	0,0609	0,0676	0,0635

Fonte: O autor (2023).

Com os valores observados, foram calculados os valores de índice z (Figura 13) para constatar que o procedimento alcançou condições satisfatórias e a capacidade de gerar resultados exatos e precisos. Os valores calculados ficaram entre -2 e 2 que, combinado ao resultado de recuperação entre 60-115%, indicaram a qualidade na determinação de Hg segundo a AOAC (2022).

Figura 13 Índice z calculados para as amostras de sangue dopadas com Hg para a avaliação da recuperação.



Fonte: O autor.

4.3. ESTUDO DE CASO

Na Tabela 10, são apresentados valores médios, máximos e mínimos para as concentrações de Hg determinadas nas 61 soluções de amostras analisadas por CVAAS, assim como o coeficiente de variação (CV%) e a incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança. Como esperado, a variabilidade foi grande, atingindo CV de 81% para a faixa de concentração de Hg de 2,90 a 42,8 $\mu\text{g L}^{-1}$.

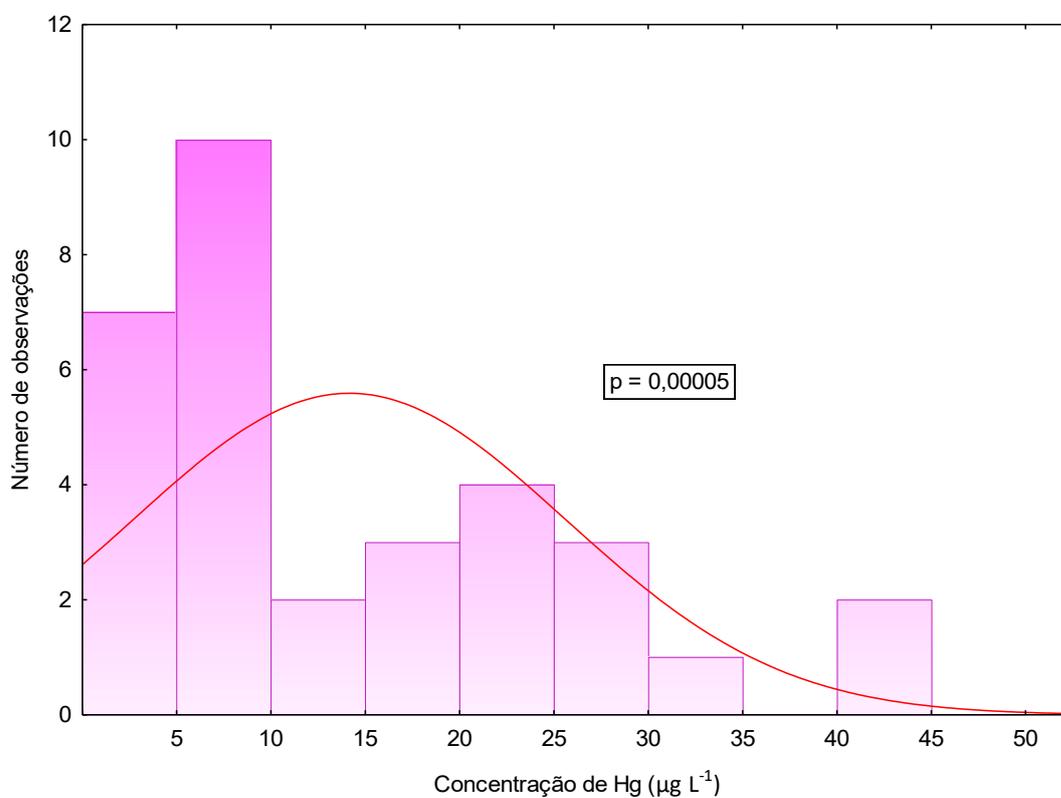
A média da concentração de Hg nas soluções das amostras de sangue foi 14,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, contudo, a distribuição estatística da Figura 14 foi bastante diferenciada, não tendo distribuição aproximada à normalidade em nível de 95% de confiança. Algumas amostras apresentaram concentrações inferiores ao mínimo valor quantificável, porém foram evidenciados valores superiores na ordem de 42,8 $\mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações de mercúrio no sangue indicam a magnitude da exposição a este elemento químico tóxico aos seres vivos (O'CONNOR, 2019). Considerando fator de diluição médio (FD = 7) típico para as análises de sangue total, a máxima concentração obtida seria 286 $\mu\text{g L}^{-1}$, o que se tornaria cerca de 29 vezes maior que o valor proposto por Mahaffey et al. (2009) entre 0 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 10 Estatística descritiva dos resultados obtidos para Hg nas amostras

Estatística descritiva	Resultados obtidos
Média ($\mu\text{g L}^{-1}$)	14,1
Máximo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	42,8
Mínimo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	<2,90
CV%	81
n	32
Incerteza (%)	21
LD	2,9
N	61

CV% = coeficiente de variação total; n = número de amostras com concentração superior ao limite de detecção (LD) estimado em $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$

Fonte: O autor (2023).

Figura 14 Histograma das concentrações obtidas de Hg nas soluções das amostras cedidas pelo LECC/CNEN

Fonte: O autor (2023).

A partir dos dados acima, o presente estudo demonstrou a capacidade de determinação de Hg em sangue total, porém, devido ao Comitê de Ética em Pesquisa, não se permitiu compilar os dados dos indivíduos, pois são de porte exclusivo do coordenador da pesquisa de caráter restrito (CAAE 36784520.5.0000.5200 e Parecer nº 4.306.921, ambos no Anexo 1).

Ainda assim, foi possível comprovar a aplicabilidade do método proposto por Portugal (2020) para, inclusive, a quantificação de mercúrio em sangue humano expressou caráter de biossegurança para análises químicas de Hg em sangue humano. A análise de brancos analíticos corroborou para o estudo da metodologia, ainda que não haja dados de materiais de referência do elemento em sangue humano, o ensaio de recuperação garantindo confiança analítica permitindo o estudo das concentrações de mercúrio.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste trabalho, sobre a implementação da Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio aplicada à determinação de mercúrio em sangue humano realizado no Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, foi possível evidenciar e concluir que:

- O estudo validou o procedimento analítico adequado para um tratamento químico nas amostras de sangue com segurança no procedimento e confiabilidade dos resultados;
- Ensaio analítico adequado a partir de sangue dopado com mercúrio possibilitaram a verificação de recuperação ao mercúrio presente nas amostras; e comprovou a quantificação de Hg em soluções de amostras de sangue total, recomendando-se uma futura investigação dessas concentrações, pois existem valores que podem estar muito superiores aos valores de referência disponibilizado pela OMS.

REFERÊNCIAS

- AWATA, H.; LINDER, S.; MITCHELL, L.E.; DELCLOS, G.L. Biomarker levels of toxic metals among Asian populations in the United States. **Neurochemistry International**. v. 125, p. 306–313. 2017.
- ALZHRANI, L.; EL-GHAMRY, A, H.; SABER, L, A.; MOHAMMED, I, G. Spectrophotometric determination of mercury(II) ions in laboratory and Zamzam water using bis Schiff base ligand based on 1,2,4-Triazole-3,5-diamine and *o*-Vaniline. **Arabian Journal of Chemistry**. v. 16., 2023.
- BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. **Química Nova**. v. 27, n. 4, p. 593–600., 2004.
- BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analítica**, v. 1, n. 18, p.58-67., 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 72p, 2011.
- BRITO, W. J. P.; DE HOLANDA, B. S; MOREIRA, F. Mercúrio no meio ambiente: uma revisão sobre seus efeitos toxicológicos e as principais fontes de emissão. **Revista DAE**. v. 69. n. 230. p. 127-139., 2021.
- DA SILVA, D. L. F.; DA COSTA. M. A. P.; SILVA., L. O. B.; DOS SANTOS, W. N. L.; Simultaneous determination of mercury and selenium in fish by CVG AFS. **Food Chemistry**, v.273. p. 24-30, 2019.
- DASH, H. R.; DAS, S. Bioremediation of mercury and the importance of bacterial mer genes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 207 – 213, 2013.
- DOS SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Evaluation of slurry preparation procedures for the simultaneous determination of Hg and Se in biological samples by axial view ICP OES using on-line chemical vapor generation. **Analytica Chimica Acta**. v. 548. p. 166-173, 2005.

EKINO, S.; SUSAKI, S.; NINOMIYA, T.; IMAMURA, K.; KITAMURA, T. Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. **Jornal of the Neurological Sciences**, v. 62, n. 2, p. 131-144., 2007.

ELLISON, S. L. R.; WILLIAMS, A. (Eds). **Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement**, e.3. 2012.

FRANCISCO, A. R. C. **Química e toxicidade do mercúrio**. Dissertação de Mestrado, Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia, p.13, 2021.

GARCIA, M.; FIGUEROA, R.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. On-line photoassisted vapour generation implemented in an automated flow-injection/stopped-flow manifold coupled to an atomic detector for determination of selenium. **Jornal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 21. n. 3. p. 582-587., 2006.

GIBB, J. P. H. Mercury: assessing the environmental burden of disease at national and local levels. Editor, Prüss-Üstün A. **World Health Organization**. n. 16. Geneva, 2008.

OFFICIAL ASSOCIATION OF AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. e.22. AOAC, 2022.

GUZMÁN, D. B. M. **Estudo da exposição ambiental ao mercúrio utilizando biomarcadores: uma contribuição para o estabelecimento de valores de referência em conscritos do Exército Cruz Brasileiro residentes no município do Rio de Janeiro-RJ**. Dissertação de mestrado, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, p. 50-55, 2020.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de análise instrumental. 6. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. p. 1056.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). Orientação sobre validação de métodos analíticos. e.27. INMETRO, 2020.

PENDIAS, K. Trace Elements in Soils and Plants. **American Journal of Plant Sciences**. v. 5. n. 15, p. 2016.

KUNO, R. **Valores de referência para chumbo, cádmio e mercúrio em população adulta da Região Metropolitana de São Paulo**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2010. p. 119-120.

KWON, S. Y.; BLUM, J. D.; YIN, R.; TSUI, M. T.K.; YANG, Y. H.; CHOI, J. Mercury stable isotopes for monitoring the effectiveness of the Minamata Convention on Mercury. **Earth-Science Reviews**. v. 203, p. 103-111, 2020.

LONG, Z.; LUO, Y.; ZHENG, C.; DENG, P.; HOU, X. Recent advance of hydride generation – analytical atomic spectrometry: Part I – technique development. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 47, n. 5, p. 382-413, 2012.

MAHAFFEY, K.R.; CLICKNER, R.P.; JEFFRIES, R. A. Methylmercury and omega-3 fatty acids: co-occurrence of dietary sources with emphasis on fish and shellfish. **Journal Environmental Research**. n. 8. p. 20-28, 2008.

MCKELVEY, W.; GWYNN, R. C.; JEFFERY, N.; KASS, D.; THORPE, L. E.; GARG, R.K.; PALMER C. D.; PARSONS, P. J. A biomonitoring study of lead, cadmium, and mercury in the blood of New York city adults. **Environmental Health Perspect**. v. 115, n. 10, p.1435-1438, 2007.

MOON, M. K.; LEE, I.; LEE, A.; PARK, H.; KIM, M. J.; KIM, S.; CHO, Y. H.; HONG, S.; YOO, J.; CHEON, G. J.; CHOI, K.; PARK, Y, J. Lead, mercury, and cadmium exposures are associated with obesity but not with diabetes mellitus: Korean National Environmental Health Survey. **Environmental Research**. v. 204. p. 1-11, 2022

MOURA, I. A. **Confiabilidade da técnica do contador proporcional de fluxo gasoso para a quantificação de Ra-226 e Ra-228 em água no CRCN-NE**. Dissertação mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2018. 57p.

PUBCHEM. Element Summary for Atomic. n. 80, 2023.

NOVAIS, A. L. F. **A linearidade do procedimento foi inicialmente observada pela análise gráfica em função da concentração de mercúrio nos padrões internos**

pela absorbância da leitura, observando-se a equação por meio de ajuste de regressão linear simples. Dissertação de Mestrado, Universidade Católica do Rio de Janeiro. P. 64-70, 2015.

O'CONNOR, D.; HOU, D.; OK, Y. S.; MULDER, J.; DUAN, L.; WU, Q.; RINKLEBE, J. Mercury speciation, transformation, and transportation in soils, atmospheric flux, and implications for risk management: A critical review. **Environment International**. v.126, p. 747–761, 2019.

PALMER, C. D.; JÚNIOR, L. M. E.; GERAGHTY, M. C.; BARBORA, J. F.; PARSONS, J. P. Determination of lead, cádmium and Mercury in blood for assesement of environmental exposure: A comparison between inductively couple plasma mass spectrometry and atomic absorption spectrometry, **Spectrochimica Acta**.v.61, p. 980-990, 2006.

POHL, P. Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 21-27, 2004.

PORTUGAL, W. M. **Biomonitorização de oligoelementos e elementos traços em sangue de pacientes infectados por COVID-19 internados em unidade de terapia intensiva.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco. p. 38-45. 2022

POTES, M. L. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de mercúrio e selênio utilizando técnicas de geração de vapor acopladas à Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

RICE, K. M.; WALKER, J. M. E.; WU, M.; GILLETTE, C.; BLOUGH, E.R. Environmental mercury and its toxic effects, **Journal of Preventive Medicine and Public Health**. v. 47, n. 2. p. 74–83, 2014.

SANEI, H., OUTRIDGE, P.M.; OGURI, K.; STERN, G. A.; THAMDRUP, B.; WENZHOFER, F.; WANG, F.; GLUD, R. N. High mercury accumulation in deep-ocean hadal sediments. **Scientific Reports**. v. 11. p. 1-8, 2021.

SANTOS, E. O.; DE JESUS, I. M.; CÂMARA, V. M.; BRABO, E. S.; ASMUS, C. I. R. F. Correlation between blood mercury levels in mothers and newborns in Itaituba, Pará State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 4. p. S622–S629, 2007.

SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y.; DE DEUS, W. B. Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **Acta Biomedica Brasiliensia**. v. 9, n. 3, p. 95-106, 2018.

United Nations Environment Programme (UNEP). Global Mercury Assessment UN Environment Programme Chemicals and Health Branch, Geneva. Switzerland, 2018.

VICENTINI, N. S.A. **Uso da Espectrometria de Masas com Plasma Indutivamente Acoplado na biomonitorização humana de As, Cd, Pb e Hg**. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz. p. 122-130, 2020.

VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE METROLOGIA (VIM). **Conceitos fundamentais e gerais e termos associados**. INMETRO, Rio de Janeiro. p. 94, 2012.

XU, F.; SHI, X.; QIU, X.; JIANG, X.; FANG, Y.; WANG, J.; ZHU, T. Investigation of the chemical components of ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) associated with in vitro cellular responses to oxidative stress and inflammation. **Environment International**. v. 136, 105475, 2020.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3a, Weinheim: Wiley-VCH, p. 965, 1999.

WHO, Environmental Health Criteria: 1. Mercury, **World Health Organization**, Geneva, 1976.

WHO, Manual de Políticas e Estratégias para a Qualidade dos Cuidados de Saúde, **World Health Organization**, Geneva, 2020.

YIN, Y.; LIU, J.; JIANG, G. High-Yield UV-Photochemical Vapor Generation of iron for sample introduction with Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal Trends in Analytical Chemistry**. v. 82. p. 2996–3001, 2011.

ANEXO 1

HOSPITAL OTÁVIO DE
FREITAS/ SES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Biomonitoração de oligoelementos em sangue e cabelo de profissionais de saúde assintomáticos e/ou recuperados da COVID19

Pesquisador: Lais de Carvalho Santos Bezerra

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 36784520.5.0000.5200

Instituição Proponente: SECRETARIA DE SAUDE

Patrocinador Principal: COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.306.921

Apresentação do Projeto:

Bem apresentado com bases teóricas para o desenvolvimento do estudo

Objetivo da Pesquisa:

Mapear os oligoelementos de profissionais de saúde sem a presença da infecção pelo coronavirus

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos são baixos, com a venopuntura sendo a principal ação que o pesquisado sofrerá

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Reconhecer níveis de oligoelementos em relação com a tempestade metabólica ocasionada pelo coronavirus

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos corretamente preenchidos

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Aprígio Guimarães S/N Sala CEP Departamento Pessoal
Bairro: Tejupó **CEP:** 50.920-640
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)3182-8635 **E-mail:** cep.hof@saude.pe.gov.br

HOSPITAL OTÁVIO DE
FREITAS/ SES



Continuação do Parecer: 4.306.921

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1615189.pdf	19/08/2020 18:20:27		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	proj_.pdf	19/08/2020 18:19:57	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Folha de Rosto	rosto_.pdf	19/08/2020 18:18:57	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	lattes_mbgl.pdf	19/08/2020 18:16:39	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	lattes_wmp.pdf	19/08/2020 18:16:12	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	lattes_gbcn.pdf	19/08/2020 18:14:52	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	lattes_lcsb.pdf	19/08/2020 18:14:26	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	lattes_ejf.pdf	19/08/2020 18:14:00	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	cart_aprese_.pdf	19/08/2020 18:10:24	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	quest.pdf	19/08/2020 15:01:18	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	cart_cmc.pdf	19/08/2020 15:00:34	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	confid.pdf	19/08/2020 15:00:00	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Outros	carta_anun.pdf	19/08/2020 14:59:41	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
Brochura Pesquisa	proj_.docx	19/08/2020 14:59:08	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_.pdf	19/08/2020 14:58:23	Lais de Carvalho Santos Bezerra	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Aprígio Guimarães S/N Sala CEP Departamento Pessoal
 Bairro: Tejo/Pló CEP: 50.920-640
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)3182-8635 E-mail: cep.hof@saude.pe.gov.br

HOSPITAL OTÁVIO DE
FREITAS/ SES



Continuação do Parecer: 4.306.921

RECIFE, 29 de Setembro de 2020

Assinado por:
Fernando Luiz Cavalcanti Lundgren
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Aprígio Guimarães S/N Sala CEP Departamento Pessoal
Bairro: Tejupó CEP: 50.920-640
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3182-8635 E-mail: cep.hof@saude.pe.gov.br