

# Determinação do teor de metais pesados (Fe, Zn e Cu) no fígado de ratos alimentados com diferentes dietas por Espectrometria de Absorção Atómica

Soraia Miranda João

Relatório apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Engenharia Biológica e Alimentar, realizado sob a orientação interna do Professor Luís Fernando Regalheiro Henriques, da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, e sob orientação externa do Professor Zbigniew Krejpcio, na Faculty of Human Nutrition and Hygiene da University of Life Sciences Poznan na Polónia.

## Agradecimentos

A realização deste trabalho foi possível devido à ajuda e apoio de pessoas especiais a quem devo agradecer.

\* \* \*

Ao Prof. Dr. Zbigniew Krejpcio, orientador de estágio na Division of Food Toxicology and Hygiene da University of Life Sciences Poznan (FTD - LSUP), na Polónia, que me permitiu realizar este projecto e com quem aprendi todos os dias. Um muito obrigado pela compreensão, dedicação, oportunidade e amizade.

\* \* \*

Ao Prof. Luís Fernando Regalheiro Henriques, orientador de estágio na Escola Superior Agrária, que sempre se mostrou disponível. Obrigado professor, pelo apoio, incentivo, dedicação e amizade.

\* \* \*

À Dr. Ewelina Król pela simpatia, amizade e disponibilidade para me ajudar na realização da parte experimental deste trabalho e ajuda na compreensão de protocolos.

\* \* \*

À Prof. Fátima Peres, pela disponibilidade de informação e pela amabilidade e simpatia no esclarecimento de dúvidas.

\* \* \*

À minha família, pelo apoio e motivação constantes em cada nova etapa.

\* \* \*

A todos aqueles que não referi anteriormente, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADA!

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de três dietas ricas em gordura com ou sem adição de extrato de *Morus alba* nos teores de três oligoelementos (Fe, Cu e Zn) em fígado de ratos. O estudo foi realizado num total de 28 cobaias e a análise dos metais feitas por espectrofotometria de absorção atômica (EAA) com atomização por chama.

A preparação das amostras de fígado e dos materiais de referência certificados foi feita por mineralização por via húmida em micro-ondas.

Os resultados obtidos permitem concluir que as dietas ricas em gordura diminuem os teores dos metais, no fígado das cobaias relativamente à dieta controlo. A adição de extrato *Morus Alba* à dieta rica em gordura não influenciou os teores de Fe e Cu mas aumenta significativamente o teor de Zn na matéria seca apenas para a concentração mais elevada (6 g/Kg de dieta).

## Palavras-chave

Oligoelementos, espectrofotometria de absorção atômica (EAA), atomização por chama, mineralização por via húmida, materiais de referência certificado

## **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the effects of three high-fat diets with or without addition of *Morus alba* extract in the contents of three trace elements (Fe, Cu and Zn) in liver of rats. The study was performed in a total of 28 rats and the analysis of metals made by atomic absorption spectrophotometry (AAS) with flame atomization.

The preparation of the samples of liver and certified reference materials was made by wet mineralization in a microwave.

The obtained results allow concluding that high-fat diets decrease the levels of metals in the liver of rats regarding the control diet. The addition of extract of *Morus Alba* high fat diet did not affect the levels of Fe and Cu but significantly increases the zinc content in the dry matter only for the highest concentration (6 g / kg diet).

## **Keywords**

Trace elements; Atomic absorption spectrophotometry (AAS); Flame atomization; Wet mineralization; Certified reference materials.

## Índice geral

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice geral.....	v
Índice de figuras.....	vii
Índice de tabelas.....	viii
Lista de abreviaturas.....	ix
1. Introdução .....	1
2. Relevância e toxicidade de metais.....	2
2.1. O Ferro na saúde humana .....	2
2.2. O Cobre na saúde humana.....	2
2.3. O Zinco na saúde humana .....	3
Análise Instrumental .....	4
por Espectrofotometria de Absorção Atômica .....	4
3.1. Fundamento .....	4
2.4. Lei de Beer.....	5
3.3. Calculo das concentrações.....	6
3.4. Atomização por chama .....	7
3.5. Equipamento .....	8
3.6. Mineralização de amostras por via húmida.....	9
4. Material e Métodos.....	11
4.1. Material biológico.....	11
4.2. Recolha de amostras.....	11
4.3. Materiais de referência certificados (MRC´s).....	11
4.4. Equipamento .....	12
4.5. Determinação do teor de matéria seca .....	13
4.6. Mineralização das amostras por micro-ondas.....	13
4.7. Preparação de soluções dos materiais de referência certificados.....	13
4.8. Preparação de soluções de metais .....	13
4.9. Determinação dos teores de metais (Fe, Cu e Zn) por EAA .....	14
4.10. Análise Estatística.....	14
5.2. Teores de Fe, Cu e Zn.....	15
a) Retas de Calibração .....	15
b) Concentração de metais .....	15
c) Materiais de Referência Certificados (MRC´s) .....	15

5.3. Efeitos das diferentes dietas alimentares nos teores de metais .....	16
6. Conclusão .....	19
Bibliografia .....	20
Anexos.....	22
Anexo I - Matéria seca .....	22
Anexo II - Concentrações dos metais .....	23
Anexo III - Retas de Calibração .....	26

## Índice de figuras

Figura 3.1 - Esquema das (duas primeiras) transições eletrônicas de um átomo com absorção de energia por um átomo.....	4
Figura 3.2 - As variáveis da lei de Beer em absorção atômica de atomização por chama.....	5
Figura 3.3 - Fenómenos físicos e químicos ocorrentes numa atomização por chama.....	7
Figura 3.4 - Esquema de um espectrómetro de absorção atômica com atomização por chama....	8
Figura 4.1 - Estufa modelo suszarka sup-30w .....	12
Figura 4.2 - Sistema de mineralização por micro-ondas da CEM Corporation USA, mod. MARS...12	
Figura 4.3 - Espectrofotómetro de absorção atômica da Carl Zeiss, Alemanha, mod AAS-30, Jena.....	12
Figura 5.1 - Concentração de Fe na matéria seca de fígado de ratos Wistar (média e desvio padrão) para as quatro dietas consideradas.....	16
Figura 5.2 - Concentração de Cu na matéria seca de fígado de ratos Wistar (média e desvio padrão) para as quatro dietas consideradas.....	17
Figura 5.3 - Concentração de Zn na matéria seca de fígado de ratos Wistar (média e desvio padrão) para as quatro dietas consideradas.....	18
Figura III.1 - Reta de calibração determinada para o Fe.....	26
Figura III.2 - Reta de calibração determinada para o Cu.....	27
Figura III.3 - Reta de calibração determinada para o Zn.....	27

## Índice de tabelas

Tabela 3.1 - Características fundamentais dos métodos de mineralização para determinação de oligoelementos.....	9
Tabela 4.1 - Parâmetros espectrais usados na determinação de Fe, Cu e Zn.....	14
Tabela 5.1 - Médias e desvios-padrão dos teores experimentais de Fe, Cu e Zn na matéria seca de fígado de ratos para diversas dietas.....	14
Tabela 5.2 - Percentagem da recuperação do material de referência para cada elemento estudado.....	15
Tabela I.1 - Determinação da matéria seca em amostras de fígado de ratos.....	22
Tabela II.1 - Cálculo da concentração do oligoelemento Fe na matéria seca de amostras de fígado de ratos alimentados com as quatro dietas consideradas .....	23
Tabela II.2 - Cálculo da concentração do oligoelemento Cu na matéria seca de amostras de fígado de ratos alimentados com as quatro dietas consideradas.....	24
Tabela II.3 - Cálculo da concentração do oligoelemento Zn na matéria seca de amostras de fígado de ratos alimentados com as quatro dietas consideradas.....	25
Tabela III.1 - Concentrações e absorvâncias medidas experimentalmente para a determinação das curvas de calibração dos metais (Cu, Zn e Fe).....	26

## Lista de abreviaturas

EAA	Espectrófotometria de Absorção Atômica
PTFE	Polytetrafluoroethylene
PFA	Perfluoralkoxy
MRC's	Materiais de referência certificados