



**Estudo comparativo da composição química das amêijoas disponíveis ao
consumidor final**

**Comparative study of the chemical composition of clams available to the
final consumer**



Maria de Lurdes Trindade Prisal

Orientado por: **Doutora Alexandra de Fátima Ludovico Marques**

Trabalho de Investigação

Porto, 2010

Começar?



Terminar!

(São Josemaria Escrivá – Porto, 6-I-1951)

DEDICATÓRIA

À minha mãe e a todos os que me apoiaram na
realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao IPIMAR, em especial à Engenheira Leonor Nunes e à Doutora Ana Leal pela disponibilidade e pela orientação prestada na identificação das espécies.

Ao Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa, pela disponibilização dos Laboratórios e materiais necessários, em especial à Presidente, Professora Doutora Maria Luísa de Carvalho, que permitiu a concretização deste estudo num ambiente de trabalho humano e muito agradável.

À Dra. Maria Manuel Mendes, da ASAE, pela disponibilidade e sugestões na realização deste trabalho.

Às minhas amigas, especialmente à Maria do Céu Albuquerque e Otília Ferrão, pela ajuda imprescindível.

À Doutora Olívia Pinho pela infinita compreensão.

À Dra. Ana Sofia Mil-Homens, minha orientadora de Estágio, pelo apoio incondicional.

Por fim, à minha co-orientadora, Doutora Alexandra Marques pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho e por me ensinar que um trabalho de investigação deve ser isento e independente.

ÍNDICE

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Lista de Abreviaturas	v
Resumo em Português e Inglês.....	vi
Palavras-Chave em Português e Inglês.....	viii
1. Introdução.....	1
1.1 Caracterização dos Moluscos Bivalves	2
1.1.1 Morfologia da Amêijoia	2
1.1.2 Caracterização Nutricional	4
1.2 Perigos Associados.....	6
1.2.1 Microbiológicos	6
1.2.2 Químicos.....	9
1.3 Elementos Químicos	11
2. Objectivos	15
2.1 Objectivo Geral.....	15
2.2 Objectivos Específicos	15
3. Material e Método	16
3.1 Descrição do Método	16
3.2 Calibração	21
3.3 Selecção da Amostra	23
3.4 Identificação das Espécies.....	24
3.5 Procedimento Experimental	25
3.6 Tratamento das Amostras	25

3.7 Análise por Espectroscopia	28
4. Resultados e Discussão	29
5. Conclusões Gerais.....	39
6. Referências Bibliográficas	41
7. Índice de Anexos	43

LISTA DE ABREVIATURAS

IPIMAR – Instituto de Investigação das Pescas e do Mar

ONU – Organização das Nações Unidas

PSP – Tóxina paralisante

EDXRF – Energie dispersive X-ray fluorescence (Energia dispersiva de fluorescência de raios-X)

SCOOP – Tarefas de Cooperação Científica

EU – União Europeia

CCAH – Comité Científico da Alimentação Humana

RESUMO

Em Portugal, a produção e apanha de moluscos bivalves assume particular importância no litoral e em várias zonas estuarino-lagunares ao longo da costa portuguesa. Os bivalves, para além do seu interesse gastronómico, apresentam também grande interesse nutricional. Com o presente estudo pretendeu-se fazer uma análise comparativa entre os resultados médios da composição de moluscos bivalves, designadamente amêijoas, constantes na Tabela de Composição de Alimentos Portugueses e os valores reais das amêijoas disponíveis no mercado, quer as produzidas nacionalmente, quer as importadas. Considerando o chumbo como um potencial perigo químico presente neste tipo de alimento, realizar a sua pesquisa como contaminante químico. Para a determinação dos diferentes elementos químicos foi utilizada a Técnica de Espectroscopia de Fluorescência de raios-X. De uma forma geral, os valores obtidos são diferentes dos constantes na Tabela de Composição, com excepção da água. Verificou-se que as quantidades de ferro são mais baixas nas amêijoas produzidas em Óbidos e Trafaria e que as amêijoas produzidas na Ria Formosa apresentam valores muito elevados de potássio e valores de cálcio inferiores ao limite de detecção. As amostras de amêijoas de Aljezur e Olhão apresentaram valores muito elevados de Cobre, sendo a quantidade de Cálcio e Ferro inferior aos apresentados na tabela de composição de alimentos. As amêijoas de Itália apresentaram valores mais elevados de cálcio. Praticamente em todas as amostras as concentrações de Chumbo encontravam-se dentro dos teores máximos permitidos, exceptuando-se as amêijoas produzidas em Olhão com valores fora dos limites legalmente permitidos.

ABSTRACT

In Portugal, production and harvesting of bivalve molluscs is particularly important in coastal and estuarine lagoon-multiple zones along the Portuguese coast. The bivalve, beyond its gastronomic interest, has also great nutritional importance. With the present study we intend to do a comparative analysis between the average results of the composition of bivalve molluscs, particularly clams, constant in the Portuguese Food Composition Table and the real values of clams available on the market, whether national or imported. Considering the lead as a potential danger chemical present in this type of food, we'll see how to carry out its search as chemical contaminant. For the determination of different chemical elements we have used the Fluorescence Spectroscopy Technique of X-rays. Generally, the values obtained are different from those listed in the Composition Table, with the exception of water. It was found that the quantities of iron are lower in clams produced in Óbidos and Trafaria and clams produced in Ria Formosa present very high values of potassium and calcium values below the detection limit. Samples of clams of Aljezur and Olhão showed very high copper values, being the amount of calcium and iron lower than the one shown in the Table of Food Composition. The clams from Italy showed higher values of calcium. Practically in all samples Lead concentrations were within the maximum allowed, except clams produced in Olhão with values outside the limits legally allowed.

PALAVRAS-CHAVE: amêijoas, enxofre, cloro, potássio, cálcio, ferro, cobre, arsénio, selénio, bromo, chumbo, bivalves, saúde pública, Espectroscopia, Fluorescência, raios-X, factores de risco

KEY-WORD: the clams, sulphur, chlorine, potassium, calcium, iron, copper, arsenic, selenium, bromine, lead, cadmium, molluscs, public health, Spectroscopy, Fluorescence, X-ray, risk factors

1. INTRODUÇÃO

Em Portugal, a produção e apanha de moluscos bivalves assume particular importância no litoral e em várias zonas estuarino-lagunares ao longo da costa portuguesa, sendo a Ria Formosa e a Ria de Aveiro as zonas em que se regista uma maior produção. Existem também em bancos naturais e viveiros, estimando-se que a produção média anual ultrapasse 10 000 toneladas¹.

Os bivalves, para além do seu interesse gastronómico, apresentam também grande interesse nutricional por serem ricos em vitaminas e minerais e ainda por apresentarem baixo teor de lípidos.

A coexistência de zonas de produção de bivalves com outras actividades geradoras de fontes de poluição, a que se associa o facto de estes organismos serem capazes de filtrar grandes volumes de água para obterem nutrientes e oxigénio, fazendo com que possam ser considerados vectores de diversos agentes nocivos, como os contaminantes químicos (mercúrio, cádmio, chumbo) e os contaminantes biológicos (bactérias, vírus, parasitas e microalgas produtoras de biotoxinas).

Com o presente estudo pretendeu-se fazer uma análise comparativa entre os resultados médios da composição de moluscos bivalves, designadamente amêijoas, constantes na Tabela de Composição de Alimentos Portugueses e os valores reais das amêijoas disponíveis no mercado, quer as produzidas nacionalmente, quer as importadas.

Fazem parte deste estudo todos os elementos químicos encontrados na análise a que foram sujeitas as amostras.

Considerando o chumbo como um potencial perigo químico presente neste tipo de alimento, foi também realizada a sua pesquisa como contaminante químico.

Para a determinação dos elementos foi utilizada a Técnica de Espectroscopia de Fluorescência de raios-X.

Na literatura revista não foi encontrada pesquisa de elementos químicos em moluscos bivalves através desta técnica.

1.1. Caracterização dos Moluscos Bivalves

1.1.1. Morfologia da Amêijoia

Sob a designação de marisco agrupam-se dois grupos de animais marinhos comestíveis: os moluscos e os crustáceos. Os moluscos são animais de corpo mole, cobertos por uma concha com uma ou duas valvas e são muito variados na sua forma e tamanho: da pequena amêijoia ao caracol marinho, passando pela ostra, o mexilhão, o berbigão, nas navalhas e as lapas. Os crustáceos integram um grupo formado por animais tão distintos como o camarão, as gambas, a sapateira, os caranguejos, os lavagantes, as lagostas e os lagostins. Têm o corpo coberto por uma carapaça que renovam várias vezes ao longo da vida. Neste trabalho apenas irão ser tratados os moluscos bivalves.

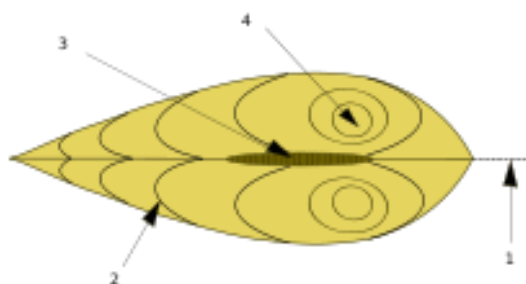


Figura 1 – Vista dorsal da Amêijoia.

1 – Plano sagital, 2 – linha de crescimento,
3 – ligamento, 4 – umbo

A concha dos bivalves é em primeira análise semelhante à dos braquiópodes, uma vez que é constituída por duas valvas. A principal diferença reside no facto de, nos braquiópodes, as duas valvas serem desiguais, mas simétricas em relação a um plano médio imaginário. Pelo contrário, nos bivalves, as valvas são iguais, estando o plano de simetria paralelo à charneira (Figura 1).

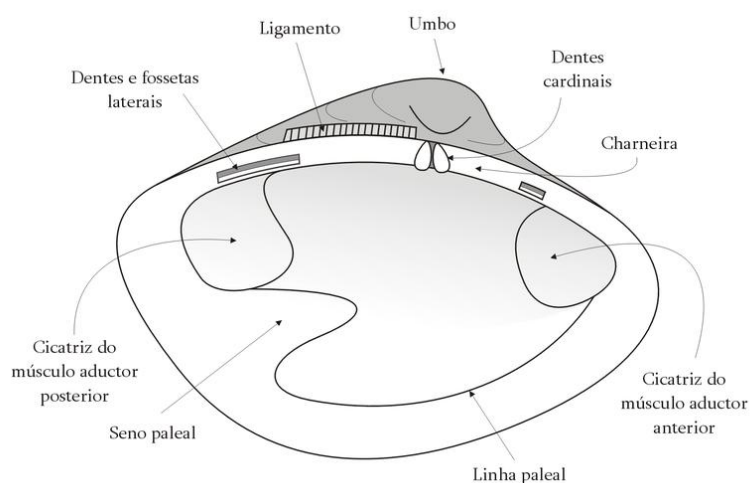


Figura 2 – Vista interna da valva de um bivalve

As duas valvas são unidas por *ligamentos* e *músculos adutores*. O ligamento, composto pelo resílio e tensílio, controla a abertura das valvas que se dá quando esta estrutura está em repouso. O bivalve fecha a concha através da contracção dos músculos adutores, que podem ser um ou dois, conforme a espécie. A geometria e distribuição das cicatrizes dos músculos adutores no interior da valva são um critério importante na classificação dos bivalves actuais e fósseis (Figura 2)².

1.1.2. Caracterização nutricional

Em termos de características nutricionais, os moluscos bivalves são ricos em proteínas, vitaminas e minerais ao mesmo tempo que apresentam um valor calórico modesto, em comparação com os outros produtos de origem animal. Nas tabelas seguintes apresenta-se a composição nutricional por 100g das amêijoas cruas, molusco alvo do presente estudo.

Energia

Componentes	por 100 g*	por porção recomendada
Energia, kcal	66	20
Energia, kJ	275	
* de parte edível		

Tabela 1 – *Amêijoia crua* – Valor Energético – Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses³

Macroconstituintes

Componentes	por 100 g*	por porção recomendada
Água, g	81,1	24,3
Proteína, g	11,7	3,5
Gordura total, g	0,9	0,3
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	2,6	0,8
Total de Hidratos de Carbono expresso em monossacáridos, g	2,9	0,9
Mono+dissacáridos, g	0	0
Ácidos orgânicos, g	0	0
Álcool, g	0	0
Amido, g	2,6	0,8
Oligossacáridos, g	0	0
Fibra alimentar, g	0	0
* de parte edível		

Tabela 2 – *Amêijoia crua* – Macroconstituintes – Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses³

Ácidos Gordos

Componentes	por 100 g*	por porção recomendada
Ácidos gordos saturados, g	0,2	0,1
Ácidos gordos monoinsaturados, g	0,1	0
Ácidos gordos polinsaturados, g	0,2	0,1
Ácidos gordos trans, g	0	0
Ácido linoleico, g	0	0

Colesterol

Componentes	por 100 g*	por porção recomendada
Colesterol, mg	44	13
* de parte edível		

Tabela 3 – *Amêijoia crua* – Ácidos Gordos – Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses³

Minerais

Componentes	por 100 g*	por porção recomendada
Cinza, g	1	0,3
Sódio (Na), mg	244	73
Potássio (K), mg	78	23
Cálcio (Ca), mg	51	15
Fósforo (P), mg	178	53
Magnésio (Mg), mg	103	31
Ferro (Fe), mg	8,5	2,5
Zinco (Zn), mg	2,1	0,6

* de parte edível

Tabela 4 – *Amêijoia crua* – Minerais – Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses³

Atendendo à sua composição nutricional, existem alguns benefícios para a saúde de quem opta pelo seu consumo.

As amêijoas apresentam uma constituição pobre em gorduras. E a gordura que têm é rica em ácidos gordos ómega 3. Por outro lado, relativamente aos minerais,

são uma boa fonte de fósforo e de potássio, ou seja para além de ajudar a adequada formação de ossos e dentes, ambos serão importantes para a regulação da função cardíaca⁴.

1.2 Perigos associados

1.1.2 Microbiológicos

Devido à reduzida mobilidade dos bivalves, a sua contaminação microbiológica é possível ser monitorizada através de contagem microscópica das espécies tóxicas conhecidas na água do mar concentrado, em simultâneo com testes de toxicidade a uma amostra de animais de uma dada zona. Estes dados servem por sua vez para alertar para o perigo da apanha de marisco dessa mesma zona.

O Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas – IPIMAR (INIAP/IPIMAR) é a autoridade nacional competente para a classificação e controlo das zonas de produção de bivalves, e realiza a Monitorização das Microalgas Tóxicas e de Biotoxinas Marinhas em Moluscos Bivalves

Os bivalves são analisados periodicamente no Laboratório Nacional de Referência de Biotoxinas Marinhas para a pesquisa das toxinas DSP, PSP e ASP, em simultâneo com a contagem das microalgas tóxicas na água do mar.

A “paralytic shellfish poisoning” (PSP) tem elevada taxa de mortalidade e tem uma distribuição mundial extremamente ampla⁵. A intoxicação caracteriza-se por um quadro neurológico de dormência ou formigueiro nas extremidades dos dedos das mãos e pés e posterior progressão das mesmas sensações para os braços, pernas e pescoço, tornando os movimentos voluntários muito difíceis, e ainda

uma sensação de flutuação. A morte por paralisia respiratória pode ocorrer desde algumas dezenas de minutos até algumas horas. A paralisia da musculatura respiratória torácica é a causa directa de morte por asfixia. São necessários entre 1 a 4mg de PSP para causar a morte⁶.

A “amnesic shellfish poisoning” (ASP) desencadeia um quadro gastrointestinal nas primeiras 24 horas: náuseas, vômitos, diarreia, cólicas abdominais. Ou dentro de 48 horas um quadro neurológico: reacção à dor aguda diminuída, vertigens, alucinações, confusão e perda de memória temporária, donde advém o nome desta intoxicação. Em pacientes idosos surgiram ainda lesões cerebrais, coma e morte.

O composto tóxico é um aminoácido invulgar: o ácido domoico (AD), produzido por uma diatomácea marinha *Pseudo-nitzschia pungens*. A descoberta de uma diatomácea envolvida na produção de biotoxinas que afectam o Homem foi uma surpresa, e continua a ser uma excepção no protagonismo ocupado pelos dinoflagelados. Um pouco por todo o mundo têm vindo a ser identificadas outras algas produtoras de AD pertencentes ao mesmo género o que significa que o risco de intoxicações humanas está bastante disseminado.

A “diarrhetic shellfish poisoning” (DSP) apresenta exclusivamente um quadro gastrointestinal: diarreia, vômitos, dores epigástricas, dores abdominais, fraqueza muscular, cefaleias. A DSP em humanos é provocada pela ingestão de bivalves contaminados tais como mexilhões, conquilhas, lingueirões, berbigões, amêijoas, vieiras ou ostras, já que as toxinas DSP lipossolúveis acumulam-se no tecido

gordo dos bivalves. Em Portugal os mexilhões e as conquilhas são os bivalves que atingem as concentrações mais elevadas de toxinas e também os que retêm a DSP por mais tempo⁵.

Conforme previsto no Decreto-Lei nº293/98 de 18 de Setembro, as zonas de produção em que é autorizada a colheita de moluscos bivalves vivos devem ser classificadas pela autoridade competente em três categorias, de acordo com o nível de contaminação fecal:

a) Zonas da classe A: zonas onde os moluscos bivalves vivos podem ser colhidos para consumo humano directo. Os moluscos bivalves vivos provenientes dessas zonas devem cumprir as regras sanitárias aplicáveis aos moluscos bivalves vivos referidas no Anexo II, Secção VII, Capítulo V do Regulamento (CE) n.º 853/2004, de 29 de Abril, que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.

b) Zonas da classe B: zonas onde os moluscos bivalves vivos podem ser colhidos, só podendo ser colocados no mercado para consumo humano após tratamento num centro de depuração ou após afinação, de modo a cumprir as regras sanitárias referidas na alínea a). Os moluscos bivalves vivos provenientes dessas zonas não devem exceder os limites, baseados num teste MPN (NPP) de 5 tubos e 3 diluições, de 6 000 coliformes fecais por 100 gramas de carne ou 4 600 E. coli por 100 gramas de carne em 90% das amostras.

c) Zonas da classe C: zonas onde os moluscos bivalves vivos podem ser colhidos, só podendo ser colocados no mercado após afinação durante um longo período (no mínimo, dois meses), combinado ou não com depuração, ou após um período de depuração intensiva a determinar nos termos do processo referido no *artigo 17º*, de modo a cumprir as regras sanitárias referidas na alínea a). Os

moluscos bivalves vivos provenientes dessas zonas não devem exceder o limite, baseado num teste MPN (NPP) de 5 tubos e 3 diluições, de 60 000 coliformes fecais por 100 gramas de carne⁶.

Para garantir o cumprimento dos critérios microbiológicos adoptados pelo Regulamento (CE) n.º 852/2004, relativo à higiene geral dos alimentos, os operadores do sector alimentar têm que assegurar que os moluscos bivalves vivos colocados no mercado para consumo humano cumprem determinadas regras específicas, designadamente as embalagens unitárias de moluscos bivalves vivos devem ser fechadas e permanecer fechadas depois de deixarem o centro de expedição até serem apresentados ao consumidor final ou serem utilizados numa unidade de restauração e bebidas. Por outro lado, é proibido proceder à reimersão ou ao aspergimento dos moluscos bivalves vivos com água depois de terem sido embalados para a venda no retalho e de terem saído dos citados centros de expedição e/ou zonas de afinação.

1.2.2. Químicos

Actualmente, conhecem-se mais de 10 milhões de compostos químicos, sendo cerca de 100 mil correntemente usados. Estima-se que na UE sejam vendidos aproximadamente 30 mil compostos a uma taxa de 1 tonelada por ano.

Da totalidade de químicos mais usados, apenas uma pequena parte foi rastreada para potenciais efeitos adversos para a saúde, como a toxicidade ao nível da reprodução ou do sistema imunitário ou acção carcinogénica. Destes, que são cerca de 15 mil compostos, poucos foram estudados em profundidade suficiente de modo a permitir uma correcta estimativa dos riscos potenciais de exposição, sobretudo no que se refere aos seus efeitos a longo prazo.

A prevalência de doença ou morte prematura causada por químicos, presentes nos alimentos, é difícil de demonstrar, devido ao período de tempo, geralmente longo, que decorre entre a exposição a estes agentes e o aparecimento dos efeitos^{7, 8}.

RASFF Portal^{9, 10}

Notifications list : 4 results

Created on 14.12.2010

Search criteria | Subject *LEAD* | Product type food | Product category bivalve molluscs and products thereof

date	reference	product type	notification type	notification basis	notified by	origin	subject	distribution	action taken	distribution status
bivalve molluscs and products thereof										
01-06-2007	2007.0364	food	alert	official control on the market	ITALY	from GREECE	lead (1.97+/-0.28 mg/kg - ppm) in live mussels (<i>Modiolus barbatus</i>) from Greece	ITALY, ITALY	recall from consumers	distribution on the market (possible)
17-09-2007	2007.0644	food	alert	official control on the market	ITALY	from GREECE	cadmium (2.19 mg/kg - ppm) and lead (2.19 mg/kg - ppm) in live mussels (<i>Modiola barbata</i>) from Greece	ITALY	reinforced checking	product already consumed
25-10-2007	2007.CLJ	food	information	official control on the market	ITALY	from GREECE	cadmium (1.7 mg/kg - ppm) and lead (3.19 mg/kg - ppm) in live mussels (<i>Modiola barbata</i>) from Greece	ITALY	no stock left	product past use-by date
07-11-2007	2007.CNL	food	information	official control on the market	ITALY	from GREECE	cadmium (1.68 mg/kg - ppm) and lead (3.48 mg/kg - ppm) in fresh live mussels (<i>Modiola barbata</i>) from Greece	ITALY	no stock left	product past use-by date

Tabela 5 – Sistema de Alerta Rápido (RASFF) – Moluscos Bivalves.

De acordo com os relatórios publicados pela Comissão Europeia, relativos ao Sistema de Alerta Rápido (RASFF), previsto pelo Regulamento (CE) n.º 178/2002 de 28 de Janeiro, o grupo de alimentos com maior número de notificação de alerta inclui o pescado, crustáceos e moluscos, nos quais os metais pesados são dos principais perigos reportados (Tabela 5). Tem-se verificado uma tendência de crescimento nas notificações para mercúrio, embora existam situações evidenciadas relativamente ao chumbo¹⁰.

O Comité Científico da Alimentação Humana adoptou, um parecer, 1992 que aprova a dose semanal admissível de 25 µg/kg de peso corporal¹¹. De acordo

com o Regulamento (CE) nº1881/2006, de 19 de Dezembro e suas alterações, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, para os moluscos bivalves, os teores máximos são de 1,5 mg/kg de peso fresco¹².

No que respeita ao conjunto bivalves, crustáceos e cefalópodes, os dados europeus reportados à Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), conforme se poderá verificar na Tabela 6, apontam como valor mais alto, de ingestão diária média da população adulta, 2,03 µg/dia para a Grécia, situando-se Portugal com 0,51 µg, precedido pela França (0,79 µg) e seguido da Irlanda (0,35 µg).

ALIMENTO	BE	DK	FI	FR	DE	HE	IR	IT	PT	SE	UK	Média
Bivalves, Crustáceos e Cefalópodes	0	0	0,04	0,79	0,08	2,03	0,35	0	0,51	0	0	0,71

Tabela 6 – *Chumbo*. Ingestão diária (µg/dia) pela média da população adulta, dos Estados-Membros da União Europeia.

1.3 Elementos Químicos

Alguns investigadores especialistas no estudo da significação biológica dos elementos vestígias (como Klaus Schwarz) sugerem que, provavelmente, todos os elementos da Tabela Periódica terão alguma função fisiológica. De qualquer modo, certos elementos tais como o cádmio, o chumbo e o arsénio sempre se caracterizarão pelas suas propriedades tóxicas e nocivas sobre o metabolismo humano¹³.

Uma melhor compreensão da importância deste tema advém do papel fisiológico e/ou tóxico destes elementos que, de seguida, descrevemos sumariamente:

- Elementos químicos maioritários:

Cálcio (Ca) – É o quinto elemento químico em ordem de abundância no organismo. Deste elemento, 99 % encontra-se no tecido ósseo. O restante encontra-se nos líquidos intra e extracelulares, desempenhando importantes funções. Intervém no processo de coagulação sanguínea, transmissão do impulso nervoso, contração muscular e, para o efeito de determinadas hormonas que necessitam de cálcio como segundo mensageiro.

Enxofre (S) – Desempenha funções estruturais muito importantes. Encontramo-lo em dois aminoácidos essenciais: cisteína e metionina. Forma parte das estruturas químicas dos glicaminoglicanos, sulfato de condroitina, sulfato de dermatano e ácido hialurónico. Responsáveis da estrutura coloidal de tipo gel característica dos líquidos extracelulares. Especialmente abundantes no tecido conjuntivo, por exemplo na cartilagem e na pele. Está presente na estrutura do glutatião, agente redutor de importância biológica e nas moléculas de diversas co-enzimas (co-enzima A) e vitaminas. Está associado, na sua forma oxidada (ião sulfato) a mucopolissacáridos. Este ião possibilita também a formação hepática de compostos metabólicos muito solúveis em água, facilitando a excreção urinária de metabolitos de hormonas esteróides e de muitos medicamentos. A biosíntese de mucopolissacáridos é especialmente importante nas épocas de crescimento e desenvolvimento corporal e em situações de reparação de tecidos.

Potássio (K) e Cloro (Cl) – O Potássio e o Cloro são dois dos três iões (juntamente com o Sódio), mais abundantes no organismo, constituindo as principais partículas em solução, responsáveis pela osmolaridade dos líquidos corporais. Intervêm na solubilidade das proteínas e outros compostos orgânicos corporais. Estão presentes em diferentes concentrações nos líquidos intra e

extracelulares, originando diferentes gradientes de concentração e eléctricos em ambos os lados da membrana¹³.

- Elementos químicos vestígiais:

O corpo humano contém e é capaz de incorporar quantidades vestígiais da maior parte – senão de todos – os elementos da Tabela Periódica.

A Tabela 7 resume os elementos vestígiais presentes no corpo humano e que se detectaram nas amostras analisadas.

Elemento (em ordem de abundância)	Conteúdo médio no organismo (70 Kg) (mg)	Facilidade de absorção a partir da dieta (%)	Concentração no plasma (μ /dl)	Combinação com proteínas plasmáticas	Órgãos de principal acumulação	Via principal de excreção	Determinação como essencial para o homem ou animal (ano)
Ferro (Fe) ^a	3 500-4500	5 - 15	100 (50 000) ^b	Transferrina Albumina	Fígado Baço	Bílis	Séc. XVII
Estrôncio (Sr)	340	<20	-	Metade unido Metade quelado	Osso	-	-
Bromo (Br)	200	99	300	lão livre	Nenhum	-	-
Chumbo (Pb) ^a	122	5	15 - 40	Unido a proteína? ^c	Osso	Bílis	1979
Cobre (Cu) ^a	60 - 80	30 - 60	100	Ceruloplasmina Albumina Aminoácidos	Fígado	Bílis	1928
Selénio (Se) ^a	21	35 - 85	7 - 30	Unido a proteína	Rim?	Urina (bílis, respiração)	1957
Arsénio (As) ^a	8 - 20	(5)	(10 - 64) ^b	-	Pele? Cabelo?	Urina, Bílis	1975

^a Determinados como essenciais (pelo menos em animais)

^b Valor em sangue total

^c Principalmente dentro dos eritrocitos

Tabela 7 – Elementos químicos vestígiais presentes nos seres humanos

Em resultado da aplicação de técnicas recentes, foi possível, por exemplo, estabelecer que metais que se supunham exclusivamente tóxicos para o organismo, tais como o chumbo, o arsénio e o selénio, têm determinadas funções

fisiológicas, e em alguns animais, podem mesmo ser considerados essenciais em pequenas concentrações.

2. OBJECTIVOS

2.1. Objectivo geral:

- Estudo da composição elementar das amêijoas, disponíveis no mercado nacional, com recurso à Técnica de Espectroscopia de Fluorescência de raios-X, e à comparação com os dados publicados na Tabela de Composição de Alimentos Portuguesa.

2.2. Objectivos específicos:

- Analisar os elementos químicos e minerais existentes nas amêijoas;
- Pesquisar um dos elementos químicos contaminantes: o chumbo;
- Enquadrar os resultados obtidos, tendo em conta a legislação existente e os pareceres da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA)

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Descrição do Método

Passamos seguidamente a descrever o dispositivo experimental utilizado: a Espectroscopia de Fluorescência de raios-X.

A escolha do método deve-se ao facto deste apresentar várias vantagens em relação a outros métodos de análise: a análise é simples clarividente, devido à simplicidade dos espectros de radiação X. Não é destrutiva. O material analisado pode ter formas diversas e estados diferentes (sólido, líquido, gasoso, pó, etc.), sendo independente da estrutura química. A preparação da amostra é fácil, e o sistema está adequado a amostras de várias formas e tamanhos e sem qualquer contaminação. Tem capacidade de analisar vários elementos em simultâneo; analisa desde elementos puros até uma concentração de 1 ppm; a fonte de excitação é simples e o sistema detector tem alta eficiência. Este método ainda tem a vantagem de ser pouco dispendioso, entre outros.

O espectrómetro de raios X, para análise elementar de uma dada amostra, é composto por duas partes fundamentais: o sistema de produção de raios X e o sistema de detecção da radiação característica. A Figura 3 revela os principais componentes de um sistema de espectroscopia de raios X dispersivo em energia.

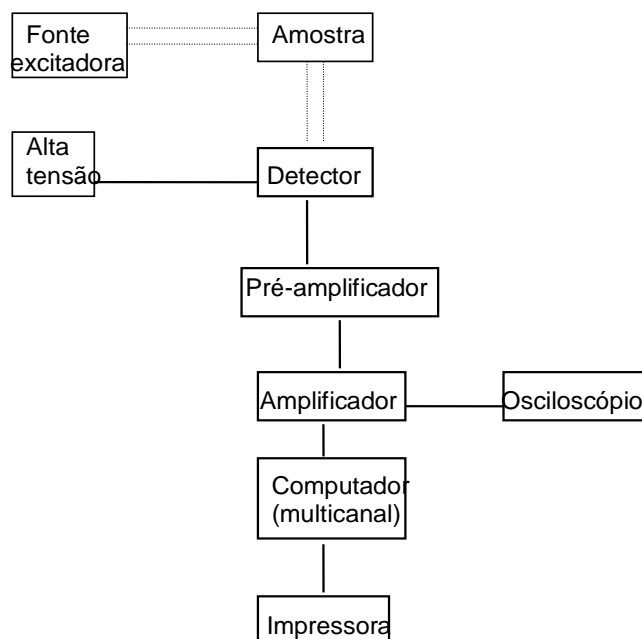


Figura 3 – Espectroscopia dispersiva em energia

Espectrómetro com geometria triaxial (EDXRF)

Este tipo de espectrómetro tem uma geometria que permite formar três eixos ortogonais, entre as direcções das radiações X emitidas pelo tubo de raios X, pelo alvo secundário e pela amostra, tal como se pode observar na Figura 4.

A utilização deste tipo de montagem tem por objectivo a diminuição, por polarização, da difusão dos raios X que são difundidos na amostra e que não tem interesse para a análise de fluorescência, apesar de ser detectada. Por outro lado, a radiação difundida por efeito de Compton tem um mínimo de intensidade para o ângulo de difusão igual a 90° ¹⁴.

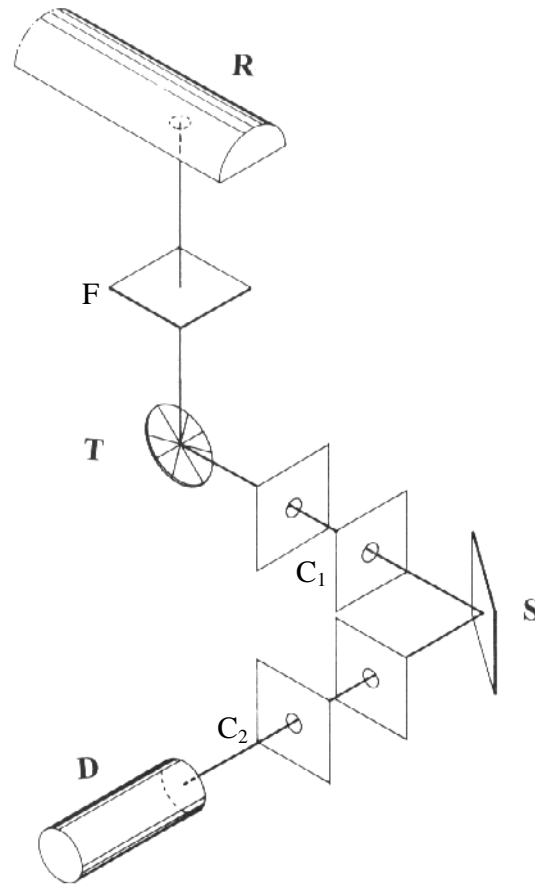


Figura 4 – Esquema da geometria triaxial do espectrômetro de raios X :

R - tubo de raios X; F - filtro; C_1 e C_2 - colimadores; T - alvo secundário; S - amostra; D - detector.

O tubo de raios X não emite radiação polarizada (sendo o eixo dos Z a direcção de incidência do feixe, o campo eléctrico vibrará no plano XY). Quando o feixe incide no alvo secundário, que funciona como polarizador, os electrões vão vibrar segundo as direcções do plano XY. A radiação difundida pelo polarizador na direcção do eixo YY só tem componente do campo eléctrico segundo o eixo dos XX, sendo absorvida a componente em YY. Assim, tem-se a polarização linear da radiação e o campo eléctrico da radiação que incide no detector tem as seguintes componentes: E_{zp} - proveniente da difusão das riscas de fluorescência do polarizador na amostra; E_{ya} e E_{za} - provenientes das riscas características da

amostra. Assim, toda a radiação X proveniente do tubo é absorvida, pois a componente XX do campo eléctrico é aqui eliminada devido à polarização ¹⁵.

O tubo de raios X é uma ampola comercial Philips PW 184, com ânodo de tungsténio, janela de berílio, com 13.3 mm de diâmetro e 1000 μm de espessura. O tubo é alimentado por um gerador de tensão Philips PW 140 com potência de 3000W correspondendo a um valor máximo de 100 keV e 80 mA de intensidade de corrente eléctrica.

Ainda para reduzir o fundo contínuo (da radiação primária, devido ao choque dos electrões no ânodo), é utilizado um filtro (prata, com espessura de 50 μm) que absorve a radiação de baixa energia (inferior a 10 KeV).

Outro factor que diminui a radiação de fundo é a utilização de radiação monocromática, produzida pelo alvo secundário (os átomos deste alvo ao serem bombardeados ionizam-se nos níveis internos, e ao voltarem ao estado fundamental emitem radiação X) ¹⁶. Este é constituído por um disco de molibdénio com 2 mm de espessura, e produz radiação correspondente às riscas $K\alpha$ (de 17.441 keV) e $K\beta$ (de 19.600 keV) do molibdénio. Este alvo secundário é escolhido de forma a que a radiação por ele emitida tenha energia suficiente para ionizar os níveis K de todos os elementos de baixo Z, e os níveis L dos elementos pesados (no entanto, não é adequado a amostras em que os elementos traço tenham $Z < 13$, pois para estes a secção eficaz de ionização é baixa). O molibdénio é seleccionado porque permite excitar eficazmente os elementos de número atómico entre 22 e 40, e para Z superior a 56 excita os níveis L, e com eficiência razoável excita os níveis K de $13 < Z < 22$ e os níveis L de $38 < Z < 56$. É esta a gama de elementos a analisar neste trabalho.

Os dois colimadores existentes encontram-se, um após o alvo secundário e o outro entre a amostra e o detector (ver a Figura 5). São de prata, visto que as riscas de molibdénio não conseguem excitar o nível K da prata e a secção eficaz de excitação do nível L é baixa. Têm como função aumentar o grau de polarização do feixe e garantir que apenas 90% da zona activa do cristal seja irradiada.

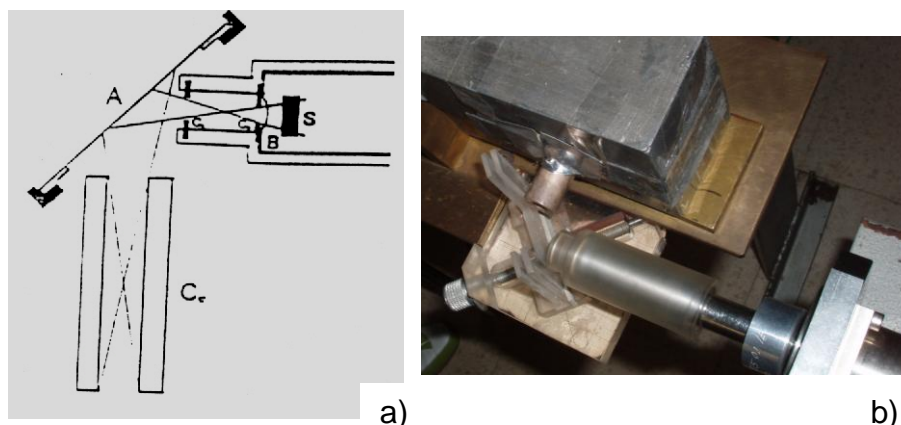


Figura 5 – a) Esquema de colimação da radiação X: C_F - colimador do feixe incidente na amostra; A - amostra; C_1 e C_2 - colimadores do detector; B - janela de berílio; S - cristal semiconductor do detector.
b) Fotografia exemplificativa da disposição dos colimadores.

O detector usado é de Si(Li), de elevada resolução, sendo as suas características: detector Si(Li) de 50 mm^2 de área de cristal, janela de berílio de $8 \mu\text{m}$ de espessura com contacto metálico de ouro ($\approx 200 \text{ \AA}$), camada de silício de $0.1 \mu\text{m}$, e resolução de 150 eV para a radiação $K\alpha$ do ferro (6.39 keV) – Figura 6.

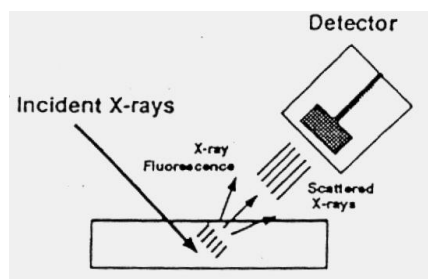


Figura 6 – Posição do detector no espectrómetro de geometria triaxial.

Este detector dispersivo em energia permite a detecção de radiação X numa grande gama de energias e tem uma eficiência muito elevada ¹⁷. O seu cristal semiconductor é constituído por um cristal de silício (tipo p), ao qual é adicionado lítio em excesso, do tipo n (os dois metais não se chegam a difundir).

Associado ao detector encontra-se o processador de impulsos Link 2040, o qual processa os sinais provenientes do pré-amplificador. Os espectros são registados com uma placa multicanal, Núcleos Personal Computer Analyser (PCA II da Camberra), associada a um computador PC.

3.2. Calibração

Este método não necessita da utilização de padrões internos por fazer a detecção de radiação característica de cada elemento ^{15,17}.

É uma das razões que leva à grande utilização deste método, pois não implica adulteração da amostra, diminuindo substancialmente a probabilidade de contaminação elementar (que no caso dos elementos vestígiais é fundamental que seja minimizada ao máximo) ^{15,17}.

Os seguintes resultados foram fornecidos pelo Centro de Física Atómica, e por implicarem alteração na geometria angular do detector só podem ser efectuados pelos investigadores do CFA, pelo que apenas me foi possível observar a sua realização.

A calibração do detector é realizada com materiais de referência da National Bureau of Standards, tendo-se neste caso utilizado “Orchard Leaves” – standart 1571. Este material de referência está certificado e é adequado para a calibração de aparelhos e métodos utilizados na análise de materiais biológicos de

elementos de maior ou menor constituição e elementos vestigiais. Os valores são certificados para amostras de aproximadamente 250 mg do material total liofilizado¹⁸.

Experimentalmente obteve-se o valor de 42.934 ± 3 ($\mu\text{g} / \text{g} \pm \%$ erro)¹⁴ para a concentração de chumbo existente neste material de referência “Orchard Leaves” (Figura 7). O valor certificado NBS é 45.3 ($\mu\text{g} / \text{g} \pm \%$ erro)¹⁸. Por comparação destes valores pode-se afirmar que o detector utilizado é adequado à investigação de vários elementos vestigiais existentes em espécies biológicas.

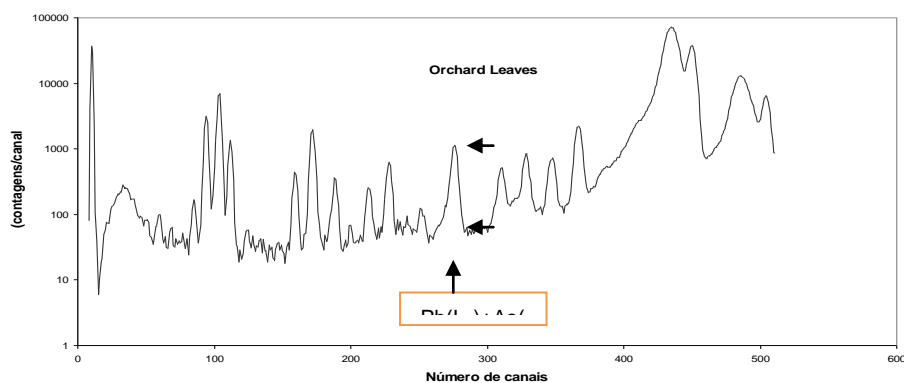


Figura 7 – Orchard Leaves

De seguida determina-se a razão pico/fundo para o pico de $\text{Pb}(L_{\alpha}) + \text{As}(K_{\alpha})$ [pico correspondente à banda (L_{α}) do chumbo e (K_{α}) do arsénio], ou seja dividiu-se o número de contagens deste pico pelo número de contagens correspondentes ao fundo. A optimização desta razão pico/fundo é necessária para melhorar os limites mínimos de detecção. Tal optimização faz-se por acerto directo dos vários ângulos de incidência e recepção da radiação característica¹⁶.

Por análise do espectro desta amostra (NBS standart 1571 “orchard leaves”; $\approx 30 \text{ mg/cm}^2$) determinou-se experimentalmente a razão pico/fundo, a qual é aproximadamente 35.93 para o pico de $\text{Pb}(L_{\alpha})+\text{As}(K_{\alpha})$ a 10.5 keV. Estes valores podem ser comparados com os publicados ¹⁹, os quais são: aproximadamente 40 para o pico de $\text{Pb}(L_{\alpha})+\text{As}(K_{\alpha})$ a 10.5 keV. O resultado obtido para a razão pico/fundo é considerado bastante bom para este tipo de dispositivo pelo que se pode considerar o processo de calibração finalizado.

3.3. Selecção da amostra

A realização do trabalho decorreu entre Fevereiro e Junho de 2010, tendo as amostras sido obtidas através da compra em mercados locais ou apanhadas por pescadores especificamente para o estudo. A recolha decorreu durante os meses de Fevereiro e Março, com excepção da amostra colhida em Aveiro, que foi obtida em Junho.

As amostras provenientes do estrangeiro foram compradas congeladas, as restantes foram adquiridas frescas. No entanto para se poderem conservar, enquanto decorreu o estudo, congelaram-se também as amostras que se adquiriram frescas.

A análise foi, portanto, feita a partir de todas as amostras de amêijoas congeladas.

O estudo abrangeu amêijoa nacional e proveniente de outros países, designadamente França, Itália, Turquia e Vietname. Foi considerado como quantidade de amostra global 1 kg de amêijoa. As amostras colhidas na Ria Formosa eram provenientes de produção de aquacultura.

3.4. Identificação das Espécies

Após a obtenção das amostras, e antes de se realizar a análise, procedeu-se à sua identificação. Foi realizada no IPIMAR (Figura 8) em Algés (Av. de Brasília/1469-006 Lisboa) pela Doutora Ana Leal que gentilmente aceitou ao pedido do Centro de Física Atómica da Universidade de Lisboa.



Figura 8 – IPIMAR, em Algés

A lista seguinte trata da identificação das espécies, cujas amostras foram utilizadas nas análises realizadas:

Amêijoa boa – *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) – (Aveiro)

Amêijoa boa – *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) – (Ria Formosa-Aquacultura)

Amêijoa macha – *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) – (Costa da Caparica – Fonte da Telha)

Amêijoa macha – *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) – (Aveiro)

Amêijoa macha – *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) – (Óbidos)

Amêijoa macha – *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) – (Trafaria)

Amêijoa branca – *Spisula solida* (Linnaeus, 1758) – (Olhão)

Amêijoa branca – *Spisula solida* (Linnaeus, 1758) – (Aljezur)

Amêijoa vermelha – *Paphia rhomboides* (Pennant, 1977) – (Norte de França)

Amêijoa japonesa – *Ruditapes philipinarum* (Adams & Reeve, 1850) – (Itália)

Amêijoa japonesa – *Ruditapes philipinarum* (Adams & Reeve, 1850) – (Turquia)

Amêijoa do Vietname – *Meretrix Lyrata* (Sowerby, 1851) – (Vietname)

3.5. Procedimento Experimental

Depois de concluídas as fases de preparação das amostras, selecção e identificação, passou-se à sua análise.

O procedimento a seguir descrito foi realizado no Centro de Física Atómica (Figura 9), da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.



Figura 9 – Centro de Física Atómica, em Lisboa

3.6. Tratamento das amostras

Foram analisadas 11 amostras de amêijoas, cada uma analisada três vezes, adquiridas no mercado nacional e identificada comercialmente a sua origem e correspondendo às espécies:

- Amostra 1 – Costa Norte de França
- Amostra 2 – Turquia (Mediterrâneo)
- Amostra 3 – Ria Formosa (Aquacultura)
- Amostra 4 – Trafaria
- Amostra 5 – Fonte da Telha
- Amostra 6 – Vietname

Amostra 7 – Olhão-Portimão

Amostra 8 – Itália

Amostra 9 – Aljezur

Amostra 10 – Óbidos

Amostra 11 – Aveiro

Iniciou-se o procedimento experimental com a remoção da concha das amêijoas e pesagem do miolo (peso fresco) – Figura 10.



Figura 10 – Colheita e pesagem.

As amostras foram liofilizadas a baixas temperaturas ($- 80^{\circ}$) e a baixas pressões (para evitar a decomposição orgânica e a volatilização de alguns elementos) – Figura 11.

Seguiu-se nova pesagem (peso seco) após a liofilização. A diferença entre as pesagens permite estabelecer o teor de água contido nas amêijoas.



Figura 11 – Liofilizador

Depois, procedeu-se à moagem dos miolos liofilizados. A moagem foi manual, num almofariz – Figura 12. As amostras foram guardadas em recipientes plásticos num excicador (para evitar a reabsorção de água).



Figura 12 – Moagem manual

O passo seguinte é a prensagem em pequenas pastilhas, numa prensa à pressão de 10000 kg (dentro do suporte da prensa coloca-se uma pequena quantidade de amostra entre dois cilindros polidos de tântalo). Estas pastilhas são, então, colocadas num filme em suporte de diapositivos, coladas e identificadas com um número de controlo – Figura 13. Foram preparadas três pastilhas (N=3), por amostra, de forma a diminuir o erro por heterogeneidade. As amostras a analisar devem ser preparadas nos suportes no próprio dia em que se procede à análise.

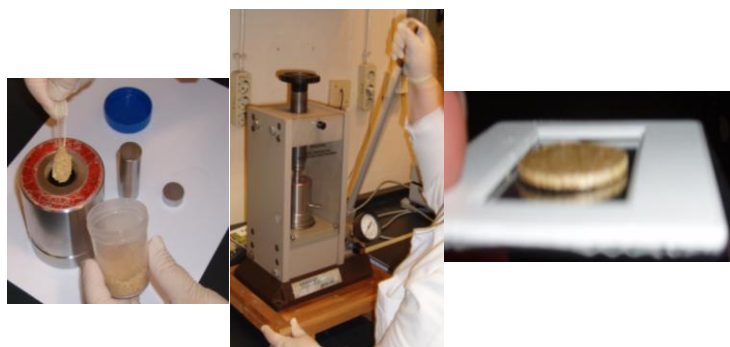


Figura 13 – Prensagem e fixação da pastilha ao filme de suporte.

3.7. Análise por espectroscopia

Após a preparação das amostras procedemos de seguida à sua análise.

Antes de se ligar o aparelho de raios X abre-se a torneira de fornecimento de água, para o arrefecimento do tubo de raios X.

A amostra foi, então colocada, no aparelho, em suporte próprio – Figura 14. Deve, agora, ligar-se o aparelho, regulando-o a 20 mA e 50 kV. Nesta fase é importante que se tenha verificado convenientemente a protecção de chumbo que separa o aparelho da zona de tratamento de dados, para evitar contaminações de radiação no utilizador.

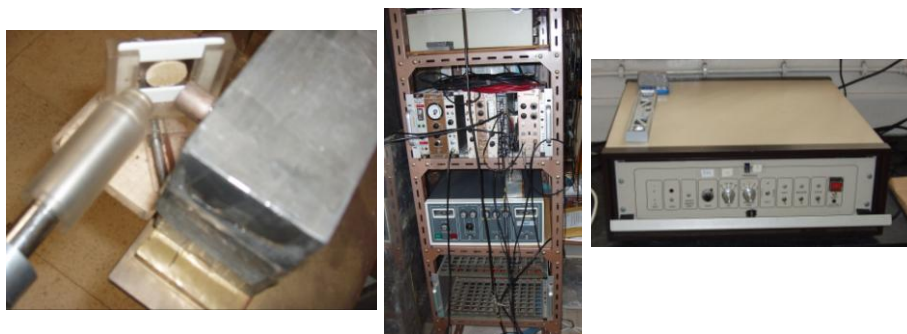


Figura 14 – Aparelho de raios-X.

Uma vez, que o aparelho se encontra associado a um computador, basta dar a este a ordem de inicio da análise, esperar 1000 s para se obter o espectro da radiação característica – Figura 15. Todas as análises efectuadas são registadas num caderno laboratorial, com os dados referentes a cada uma

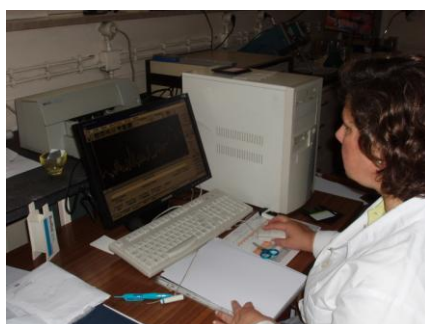


Figura 15 – Obtenção e análise do espectro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos pesos medidos, determinou-se a percentagem de Água de cada amostra. Esta relação pode ser observada na Tabela 6. Constata-se que, a nível nacional, a amêijoa com maior percentagem de água é a amêijoa macha: entre 82 e 86 %. Comparando-as a nível Internacional, verifica-se que a *amêijoa japonesa* apresenta quantidades de água díspares consoante é apanhada na Itália ou na Turquia, no entanto como não se conhece o tratamento a que foram sujeitas não é possível tirar conclusões a este respeito.

As amêijoas que apresentam menor quantidade de água são as de Olhão e Aljezur. Como são ambas da mesma espécie e não temos outras para comparar noutra localidade, não se consegue tirar uma relação a este respeito. A média de água encontrada para as amêijoas nacionais é de 80,5%, praticamente similar à da Tabela Composição dos Alimentos.

Local	Espécies	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Quantidade de água (%)
Aveiro	Amêijoa macha	37,187	5,986	84
Óbidos	Amêijoa macha	17,006	2,717	84
Fonte Telha	Amêijoa macha	8,283	1,564	81
Trafaria	Amêijoa macha	7,398	1,066	86
Aljezur	Amêijoa branca	13,710	2,981	78
Olhão	Amêijoa branca	4,402	1,580	64
Ria Formosa	Amêijoa boa	21,428	3,294	85
França	Amêijoa vermelha	40,135	8,793	78
Itália	Amêijoa japonesa	7,260	1,861	74
Turquia	Amêijoa japonesa	44,087	7,021	84
Vietname	Amêijoa do Vietname	12,726	2,250	82

Tabela 8 – Quantidade relativa de água.

Nas Tabelas seguintes (9 e 10) encontram-se os resultados obtidos em relação elementos químicos maioritários. Alguns valores obtidos foram inferiores ao limite de detecção, pelo que não foi possível determinar a sua concentração.

Local	Aveiro	Óbidos	Fonte Telha	Trafaria	Aljezur	Olhão	Ria Formosa	Erro (%)	Desvio padrão médio (µg/g)
Elemento	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3		
S	16 932,5	18 577,8	15 775,6	13 331,3	15 372,1	14 078,6	15 033,2	6,4	612,5
Cl	47 331,4	53 222,5	48 118,6	36 804,0	21 929,6	35 747,2	42 552,2	1,7	673,0
K	9 834,6	9 201,1	6 912,2	5 308,9	7 358,5	8 732,6	7 529,9	1,5	58,4
Ca	2 338,8	3 281,3	4 674,1	6 217,1	6 956,3	5 143,9	<LD	1,3	327,6
Fe	656,75	205,6	553,7	136,2	806,3	523,0	435,6	0,9	48,9
Cu	10,3	9,9	9,7	10,0	43,4	39,8	7,4	2,0	1,1
As	27,1	27,2	25,8	25,8	13,1	13,5	22,0	2,5	0,6
Se	2,9	4,3	3,5	4,0	2,7	2,1	<LD	10,6	0,2
Br	194,8	255,8	251,7	239,1	155,6	158,8	192,8	0,5	4,3
Sr	30,3	54,6	63,7	116,8	74,5	45,4	354,0	0,9	1,5
Pb	<LD	<LD	<LD	4,8	7,0	5,3	5,7	8,8	0,5

Legenda: S – Enxofre, Cl – Cloro, K – Potássio, Ca – Cálcio, Fe – Ferro, Cu – Cobre, As – Arsénio, Se – Selénio, Br – Bromo, Sr – Estrôncio, Pb – Chumbo, LD – Limite de Detecção

Tabela 9 – Concentrações elementares obtidas nas amêijoas recolhidas na costa Portuguesa (peso seco).

Local	França	Itália	Turquia	Vietname	Portugal	Erro (%)	Desvio padrão médio (µg/g)
Elemento	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3	Conc. (µg/g) N=3		
S	13 593,7	14 329,8	14 085,9	7 451,8	15 361,5	6,0	606,6
Cl	43 134,5	53 772,1	36 043,7	20 127,9	39 729,0	1,3	711,1
K	6 250,2	9 316,6	8 667,8	3 632,2	7 507,2	1,5	97,1
Ca	7 437,7	11 294,7	3 659,4	3 534,0	5 254,5	1,1	563,3
Fe	223,9	236,8	445,2	242,8	443,4	1,4	30,6
Cu	11,7	6,6	8,1	9,9	20,0	8,0	0,3
As	16,7	16,0	21,3	12,1	21,2	2,5	2,6
Se	1,2	1,9	2,8	1,8	3,3	10,8	0,2
Br	358,3	219,2	170,6	83,7	209,0	0,5	3,8
Sr	56,2	106,7	44,6	45,9	70,0	0,7	4,2
Pb	<LD	4,6	4,1	5,0	5,7	10,9	0,8

Legenda: S – Enxofre, Cl – Cloro, K – Potássio, Ca – Cálcio, Fe – Ferro, Cu – Cobre, As – Arsénio, Se – Selénio, Br – Bromo, Sr – Estrôncio, Pb – Chumbo, LD – Limite de Detecção

Tabela 10 – Concentrações elementares obtidas nas amêijoas recolhidas em diferentes zonas Internacionais (peso seco)

Nas tabelas 9 e 10 são também apresentados os erros médios relativos à detecção de cada elemento (erro de medição do detector) e os desvios padrão associados às medições das três pastilhas (homogeneidade da amostra).

Considerando que na Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses apenas estão descritos os elementos Potássio, Cálcio e Ferro, tendo em conta os valores da Tabela 11, relativa à conversão dos referidos elementos de µg/g a mg/100g, verificou-se que as amêijoas produzidas na Ria formosa apresentam valores muito elevados de potássio (1130,0mg/100g) e valores de cálcio inferiores aos limites de detecção. Estes valores poderão estar associados ao facto de estas amêijoas serem de produção de aquacultura. As amêijoas provenientes de Aljezur

e Olhão (apresentam valores superiores de cálcio (153,9 mg/100g e 185,2mg/100g) e ferro (17,7 mg/100g e 18,8mg/100g), quando comparados com a Tabela de Composição de Alimentos.

Local	Aveiro 84 % (H ₂ O)	Óbidos 84 % (H ₂ O)	Fonte Telha 81 % (H ₂ O)	Trafaria 86 % (H ₂ O)	Aljezur 78 % (H ₂ O)	Olhão 64 % (H ₂ O)	Ria Formosa 85 % (H ₂ O)	Tabela de Composição dos Alimentos
Elemento	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	(mg/100g)
K	157,4	147,2	131,3	74,3	161,9	314,4	1130,0	78,0
Ca	37,4	52,5	89,0	87,0	153,0	185,2	<LD	51,0
Fe	10,5	3,3	10,5	1,9	17,7	18,8	6,5	8,5

Tabela 11 – Conversão dos elementos K, Ca e Fe de $\mu\text{g/g}$ a $\text{mg}/100\text{g}$ nos resultados das amêijoas recolhidas em diferentes zonas nacionais (peso fresco)

Ao nível dos resultados obtidos com as amostras internacionais (Tabela 12), quando comparados com a média dos valores obtidos nas amostras de amêijoas provenientes de produção nacional, verifica-se variação na composição, que poderá ser relativa ao facto de se tratar de diferentes espécies, de cada espécie estar sujeita a diferentes tipos de alimentação e habitats. No entanto salienta-se a título de exemplo, que os valores de Ferro (Fe), de todos os tipos de amêijoa internacional, são inferiores à média nacional, e que a que Itália apresenta os maiores valores de Cálcio (Ca), quer comparando com a média das amostras produzidas em Portugal (102,5 mg/100 g) quer tendo como referência a Tabela de Composição de Alimentos³ (51,0 mg/100 g).

Local	França 78 % (H ₂ O)	Itália 74 % (H ₂ O)	Turquia 84 % (H ₂ O)	Vietname 82 % (H ₂ O)	Portugal 80,5 % (H ₂ O)
Elemento	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)	Conv. Conc. Peso fresco (mg/100g)
K	137,5	242,2	138,7	65,4	146,4
Ca	163,6	293,7	58,6	63,6	102,5
Fe	4,9	6,2	7,1	4,4	8,7

Tabela 12 - Conversão dos elementos K, Ca e Fe de $\mu\text{g/g}$ a $\text{mg}/100\text{g}$ nos resultados das amêijoas recolhidas em diferentes zonas internacionais (peso fresco)

É interessante verificar os valores de Enxofre, Cloro Potássio e Cálcio, obtidos nas amêijoas de zonas próximas, designadamente as amêijoas produzidas na Costa da Caparica (Fonte da Telha) e as amêijoas provenientes da Trafaria (Gráfico A). Se para o Enxofre (S), Potássio (K) e Cálcio (Ca) apresentam valores similares, o mesmo não se verifica em relação ao cloro, onde devido à diferença do meio aquático em que se desenvolveram, a Trafaria, sujeita a águas de estuário, apresenta concentração de Cloro (Cl) inferior à amêijoia produzida na Fonte da Telha, já no oceano.

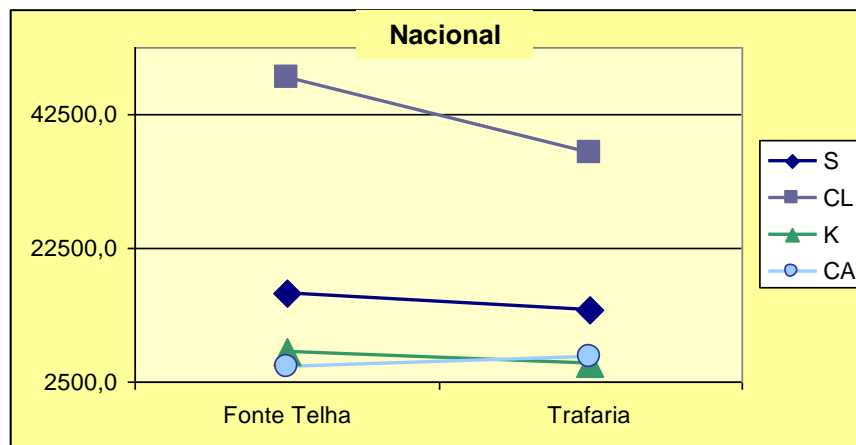


Gráfico A – Distribuição dos elementos S, Cl, K, e Ca nas amêijoas produzidas na Fonte da Telha e na Trafaria.

Relativamente aos elementos vestígiais, o Selénio (Se) e o Chumbo (Pb) encontram-se em baixas concentrações e dentro do mesmo intervalo de valores para as amêijoas nacionais (Gráfico B). O mesmo acontece com o Cobre (Cu), excepto para as amêijoas produzidas de Aljezur e Olhão, onde há um incremento destes elementos. Este facto poderá indiciar uma eventual contaminação ambiental (Gráfico B).

Os dados obtidos indicam uma provável correlação negativa entre o Cobre (Cu) e o Arsénio (As), pois a acumulação de Cobre é paralela à diminuição da concentração de Arsénio (amêijoas brancas). O que poderá significar que a acumulação de Cobre poderá levar à inibição da absorção ou acumulação de Arsénio. No entanto, para se poder estabelecer essa relação seria necessário aumentar o número de espécimes analisados, e se possível a realização de um estudo *in vivo*, colocando as amêijoas em águas com concentrações diferentes destes elementos e analisando as alterações provocadas (Gráfico B).

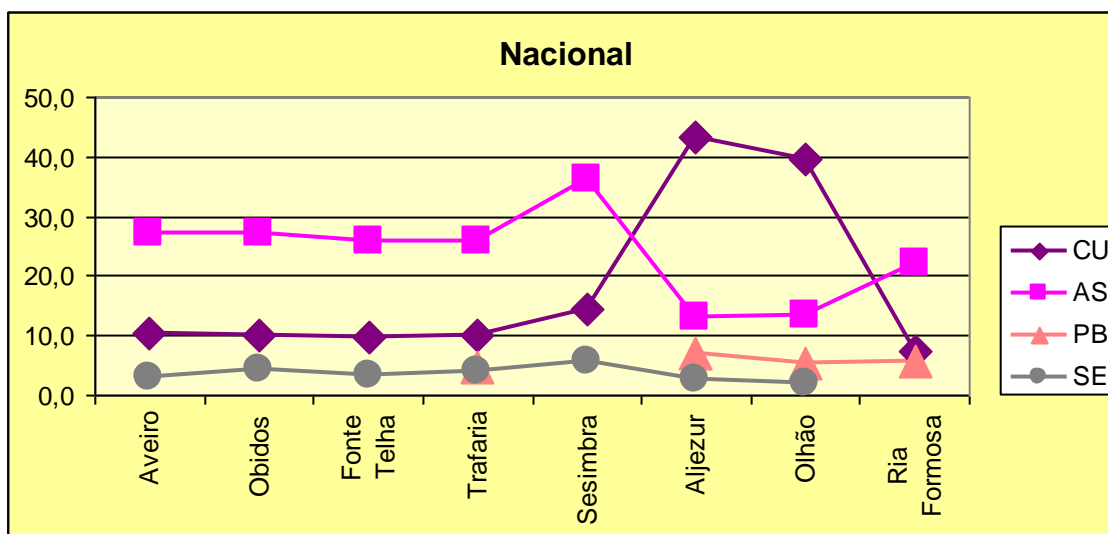


Gráfico B – Distribuição dos elementos Cu, As, Pb, Se nas amêijoas pescadas na costa portuguesa

As concentrações de Cobre (Cu) e Arsénio (As) detectado nas amêijoas nacionais são ligeiramente superiores aos das amêijoas internacionais (Gráfico C). Para os restantes elementos, Chumbo (Pb) e Selénio (Se), os valores não apresentam diferenças significativas.

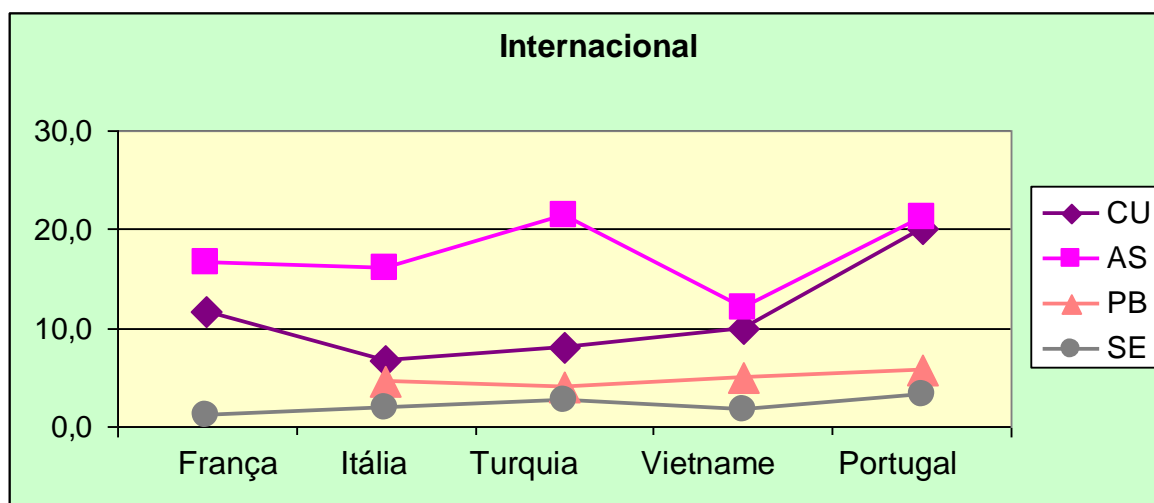


Gráfico C – Distribuição dos elementos Cu, As, Pb, Se nas amêijoas pescadas na zona internacional.

Quer a nível nacional quer a nível internacional, na maioria das amostras, a concentração de Chumbo (Pb) detectada encontra-se dentro dos teores máximos permitidos (1,5mg/kg de peso fresco), exceptuando-se as amêijoas produzidas em Olhão, onde se detectou um valor de 1,9 mg/kg (Tabelas 13 e 14). Este valor mais elevado poderá estar associado à localização geográfica ou ao facto da sua produção ser de aquacultura.

Local	Trafaria	Aljezur	Olhão	Ria Formosa
Elemento	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Pb	0,7	1,5	1,9	0,9

Tabela 13 – Concentrações de Chumbo, obtidas nas amêijoas recolhidas nas diferentes zonas nacionais.

Local	Itália	Turquia	Vietname	Portugal
Elemento	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Pb	1,18	0,62	0,9	1,1

Tabela 14 – Concentrações de Chumbo, obtidas nas amêijoas recolhidas em diferentes zonas internacionais, comparadas com média dos valores obtidos para as nacionais

O Bromo (Br) é um elemento que está associado à vida marinha, o que poderá justificar os elevados níveis obtidos nas amêijoas. O estreito intervalo de concentração de Bromo (Br) nas amêijoas nacionais poderá revelar um ambiente

aquático semelhante na Costa Portuguesa (Gráfico D). No entanto no estudo a nível internacional constata-se diferença no meio marinho, porque há uma variação da concentração de Bromo (Br) (Gráfico E).

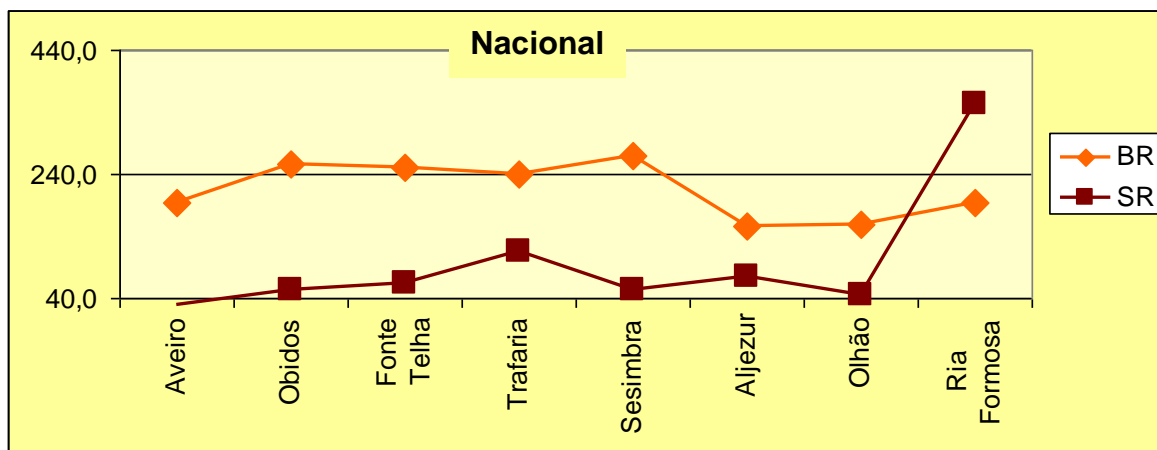


Gráfico D – Distribuição dos elementos Br e Sr nas amêijoas pescadas na costa Portuguesa

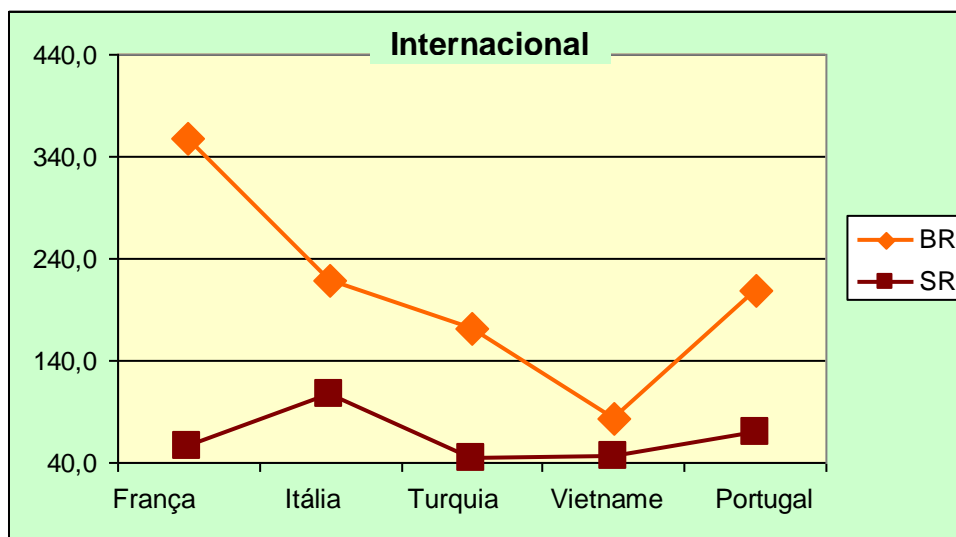


Gráfico E – Distribuição dos elementos Br e Sr nas amêijoas pescadas a nível internacional.

Os níveis de Estrôncio (Sr) são idênticos para a costa nacional e internacional (Gráficos D e E). A exceção são as amêijoas produzidas na Ria Formosa, que,

inexplicavelmente, apresenta concentrações, sete vezes maiores dos que os demais valores obtidos. No entanto, para se poder formular uma hipótese explicativa para esta variação, seria necessário realizar um estudo toxicológico das águas e um estudo *in vivo*.

Relativamente à identificação das espécies, realizada no IPIMAR, verificou-se que a maioria das amêijoas produzidas na Fonte da Telha apresentava a valva lascada. Esta anomalia não é espectável que ocorra, uma vez que se trata de espécie nova e pescada viva. Um outro aspecto importante a salientar é o facto de existirem cada vez mais cruzamentos de espécies nacionais com internacionais, dificultando a classificação da amêijoia nacional.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Ao concluir a análise elementar das amêijoas produzidas a nível nacional e internacional, o mais interessante foi confrontar os resultados obtidos com a Tabela de Composição de Alimentos Portugueses, sendo que alguns elementos são importantes quer sob o ponto de vista nutricional quer sob o ponto de vista funcional. A referida Tabela constitui uma informação rigorosa e detalhada dos diferentes constituintes dos alimentos e uma mais-valia para quem tem de determinar a composição nutricional de um esquema alimentar. Verificou-se, de uma forma geral, que os valores obtidos são diferentes dos constantes na Tabela de Composição, com excepção da água. Da análise dos demais elementos, verificou-se que as quantidades de Ferro (Fe) são mais baixas nas amêijoas produzidas em Óbidos e Trafaria, as amêijoas produzidas na Ria Formosa apresentam valores muito elevados de Potássio (K), sendo os valores de Cálcio (Ca) inferior ao limite de detecção. As amostras de amêijoas de Aljezur e Olhão apresentaram valores muito elevados de Cobre (Cu), sendo a quantidade de Cálcio (Ca) e Ferro (Fe), destas amêijoas, inferior aos apresentados na Tabela de Composição de Alimentos. A nível internacional, as amêijoas provenientes de Itália apresentaram valores mais elevados de Cálcio (Ca) e a maioria apresentou valores de Ferro (Fe) inferiores à média nacional.

No que respeita à verificação do Chumbo (Pb) como contaminante químico das amêijoas verificou-se, quer a nível nacional quer a nível internacional, que praticamente em todas as amostras as concentrações de Chumbo (Pb) se encontram dentro dos teores máximos permitidos, exceptuando-se as amêijoas produzidas em Olhão, que apresentavam valores fora dos limites legalmente

permitidos, encontrando-se assim em infracção ao previsto pelo Regulamento (CE) n.º 1881/2006 ²⁰.

Outro factor interessante é verificar que as amêijoas pescadas em Aveiro, contaminadas com PSP, apresentam níveis elementares idênticos aos restantes espécimes estudados.

Por último pode concluir-se que este estudo não se esgota nesta fase, pois os resultados obtidos permitem partir para a formulação de múltiplas hipóteses e desenvolver novas investigações não só no campo da quantificação dos elementos químicos como no campo da determinação de perigos biológicos, confrontando com os requisitos legalmente impostos a este sector, de forma a garantir as amêijoas disponibilizadas ao consumidor são seguras, uma vez por exemplo foi interessante verificar a facilidade, enquanto consumidora, com que se adquiriu amêijoas produzidas em Aveiro, apesar de estarem interditas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IPIMAR. Divulgação. Folheto n.º 10. Março de 2000
2. Wikipedia. http://pt.wikipedia.org/wiki/Molusco_bivalve
3. Tabela de Composição de Alimentos, Instituto de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2006
4. Benefícios para a saúde das ameijoas <http://translate.google.pt/translate?hl=pt-PT&langpair=en%7Cpt&u=http://lifestyle.iloveindia.com/lounge/health-benefits-of-clams-6922.html>
5. Website DGS (2010). Biotoxinas marinhas e moluscos bivalves. <http://www.dgs.pt/aaaDefault.aspx?f=1&back=1&codigono=552055526245AAA AAAAAAAAAA>
6. Vale, P. Biotoxinas Marinhas, Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (2004) 99 (549) 03-18
7. VEIGA, A., LOPES, A., CARRILHO, E., SILVA, L., DIAS, M.B., SEABRA, M.J., BORGES, M., FERNANDES, P., NUNES, S. Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal. ASAE. 2009
8. ASAE. Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal. Abril 2009
9. RASFF. http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/rasff_portal_database_en.htm
10. Rapid Alert System for Food and Feed. <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>
11. Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States, Report on tasks for scientific cooperation, Report of experts participating in Task 3.2.11, March 2004
12. Regulamento (CE) n.º 1881/2006 de 20 de Dezembro, Anexo I – Secção 3: Metais – 3.1 Chumbo – 3.1.7. Moluscos Bivalves
13. LINDER, M.C: Nutrición – Aspectos Bioquímicos, metabólicos y clínicos. EUNSA 1988
14. MARQUES, A.F: Estudo da toxicologia de metais pesados no organismo humano por Fluorescência de raios-X: patologias clínicas e contaminação

ambiental. Tese de Doutoramento não publicada, Universidade de Lisboa, Departamento de Física da Faculdade de Ciências, Lisboa 2003

15. BERTIN, E: Principles and practice of X-ray spectrometric analysis (2nd Ed). New York: Plenum Press 1960

16. MARQUES, A.F: Análise Elementar por Espectroscopia de Raios-X em tecidos humanos. Tese de Mestrado não publicada, Universidade de Lisboa, Departamento de Física da Faculdade de Ciências, Lisboa 2000

17. CARVALHO, M. L., MARQUES, A. F. "X-ray fluorescence technique on trace element determination in biological samples" *Cell Biology and Toxicology* 2009; 25, 197-200.

18. National Bureau of Standards (1971). U. S. Department of Commerce. *Certificate of Analysis: Standard Reference Material 1571, Orchard Leaves*. Washington, D.C. 20234

19. Standzenies, P., Selin, E. (1979). Background Reduction of X-Ray Fluorescence Spectra in a Secondary Target Energy Dispersive Spectrometer. *Nuclear Instruments and Methods*, 165, 63-65.

20. Regulamento (CE) n.º 1881/2006 de 20 de Dezembro. Considerando 39

7. ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.....	a1
Anexo 2.....	a5

Anexo 1

Legislação Consultada

1 – Princípios da Legislação Alimentar Geral

- **Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro**, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios (alterado por: Regulamento (CE) n.º 1642/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de Julho, Regulamento (CE) n.º 575/2006 da Comissão de 7 de Abril e Regulamento (CE) n.º 202/2008 da Comissão de 4 de Março).

2 – Legislação base relativa ao Controlo Oficial

- **Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril**, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais.

2 – Legislação base relativa à Higiene nos Géneros Alimentícios

- **Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril**, que estabelece as regras gerais destinadas aos operadores das empresas do sector alimentar no que se refere à higiene nos géneros alimentícios (alterado por: Regulamento (CE) n.º 1019/2008 da Comissão de 17 de Outubro).

- **Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril**, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal (alterado por: Regulamento (CE) n.ºs 2074/2005 e 2076/2005 da Comissão de 5 de Dezembro. Regulamento (CE) n.º 1662/2006 da Comissão de 6 de Novembro, Regulamento (CE) n.º 1791/2006 do Conselho de 20 de Novembro, Regulamento (CE) n.º 1243/2007 da Comissão de 24 de Outubro, Regulamento (CE) n.º 1020/2008 da Comissão de 17 de Outubro).

3 – Legislação relativa aos Critérios Microbiológicos

- **Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão, de 15 de Novembro**, relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, alterado pelo Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro.

4 – Legislação relativa a Contaminantes

- **Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro** que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.
- **Regulamento (CE) n.º 629/2008 da Comissão de 2 de Julho**, que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

Elementos contaminantes legislados

Os considerandos 39, 40 e 41, todos do Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro, dizem respectivamente:

- que no que se refere ao **chumbo**, o CCAH adoptou, em 19 de Junho de 1992, um parecer que aprova a dose semanal admissível provisória (DSAP) em 25 µg/kg de peso corporal proposta pela OMS em 1986. O CCAH concluiu no seu relatório que o nível médio presente nos géneros alimentícios não parece colocar um risco imediato.
- que no âmbito da Directiva 93/5/CEE, foi efectuada e concluída em 2004 a tarefa SCOOP 3.2.11 “Avaliação da exposição alimentar ao arsénio, cádmio, chumbo e mercúrio da população dos Estados-Membros da EU”. À luz desta avaliação e do parecer emitido pela CCAH, é adequado tomar

medidas destinadas a reduzir o mais possível a presença de **chumbo** nos alimentos.

- que no que se refere ao cádmio, o CCAH aprovou no seu parecer de 2 de Junho de 1995, a DSAP de 7 µg/kg peso corporal e recomendou que se envidassem maiores esforços no sentido de reduzir a exposição alimentar ao cádmio, uma vez que os géneros alimentícios são a principal fonte de ingestão de cádmio pelos seres humanos. A tarefa SCOOP 3.2.11 efectuou uma avaliação da exposição alimentar. À luz desta avaliação e do parecer emitido pelo CCAH, é adequado tomar medidas destinadas a reduzir o mais possível a presença de cádmio nos alimentos.

O n.º 3.1.7 da Secção 3 do Anexo ao Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro, alterado pelo Regulamento (CE) n.º 629/2008 da Comissão de 2 de Julho, fixa o teor máximo de **Chumbo** (Pb) para os moluscos bivalves em **1,5 mg/kg (1,5 µg/g) de peso fresco**.

O n.º 3.2.10 da Secção 3 do Anexo ao Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro, alterado pelo Regulamento (CE) n.º 629/2008 da Comissão de 2 de Julho, fixa o teor máximo de Cádmio (Cd) para os moluscos bivalves em 1,0 mg/kg (1,0 µg/g) de peso fresco.

Anexo 2

Fluorescência de raios-X

1. Estrutura do Átomo

1.1. Modelo Atómico de Bohr

Quando Bohr iniciou o estudo dos espectros de emissão, os físicos (a partir de trabalhos realizados por Thomson, Rutherford, Geiger, Madersden, Chadwick, entre outros) já sabiam que o átomo continha electrões e protões. E conheciam o átomo como uma entidade na qual os electrões giravam à volta do núcleo em órbitas circulares a altas velocidades. Este era um modelo atraente porque se assemelhava aos movimentos já compreendidos dos planetas à volta do Sol.

Visto que cada órbita tem uma determinada energia associada, a restrição de Bohr significa que as energias associadas com o movimento do electrão nas órbitas permitidas tinham um valor fixo - isto é, eram quantificadas.

A emissão de radiação de um átomo excitado de hidrogénio podia então ser explicada em termos do decaimento do electrão de uma órbita de maior energia para uma de menor energia e com a formação de um quantum de energia (um fóton) na forma de luz (Figura 1).

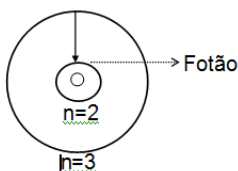


Figura 1 – O processo de emissão numa excitação do átomo de hidrogénio: um electrão passa de uma orbita de elevada energia ($n=3$) para uma de menor energia ($n=2$), e como resultado um fóton de energia $h\nu$ é libertado.

Usando argumentos baseados na interacção electrostática e nas leis do movimento de Newton, Bohr mostrou que as energias que um electrão de um átomo de hidrogénio pode possuir são dadas por

$$E_n = - R_H (1/n^2) \quad (1)$$

onde R_H é a constante de Rydberg, e tem o valor $2,18 \times 10^{-18} \text{ J}$; n é um número inteiro denominado número quântico principal, e tem os valores $n = 1, 2, 3, \dots$ (o qual será explicado no tópico seguinte).

O sinal negativo da equação (1) pode parecer estranho, porque implica que todas as energias permitidas ao electrão sejam negativas. No entanto, este sinal foi estabelecido por convenção arbitrária; e significa que a energia do electrão no átomo é mais baixa que a energia de um electrão livre, ou seja, um electrão que está infinitamente afastado do núcleo. À energia de um electrão livre é arbitrariamente atribuído o valor zero. Matematicamente, isto corresponde a estabelecer n igual a infinito, na equação (1), para que $E_\infty = 0$.

À medida que o electrão se aproxima do núcleo (à medida que n decresce), E_n torna-se maior em valor absoluto, mas também mais negativo. O valor mais negativo é então atingido quando $n = 1$, que corresponde à órbita mais estável. Esta situação é designada estado fundamental, e refere-se ao estado de menor energia de um sistema. A estabilidade de um electrão do átomo de hidrogénio diminui para $n = 2, 3, \dots$, e cada um destes estados é chamado de estado excitado, pois tem uma energia superior à do estado fundamental.

A teoria de Bohr do átomo de hidrogénio permite explicar o espectro de riscas deste átomo. A energia radiante absorvida pelo átomo obriga o electrão a mover-se de uma órbita de menor energia (caracterizada por um menor valor de n) para uma órbita de maior energia (com um maior valor de n). Inversamente, a energia

radiante (na forma de um fóton) é emitida quando o electrão se move de uma órbita de maior energia para uma de menor energia. A quantidade de energia necessária para mover um electrão no átomo de Bohr depende da diferença entre os níveis dos estados inicial e final:

$$\Delta E = E_f - E_i \quad (2)$$

Da equação (1), resulta

$$\Delta E = R_H (n_i^{-2} - n_f^{-2}) \quad (3)$$

Como esta transição resulta na emissão de um fóton de frequência ν e energia $h\nu$, pode-se escrever

$$\Delta E = R_H (n_i^{-2} - n_f^{-2}) = h\nu \quad (4)$$

Quando um fóton é emitido $n_i > n_f$. Assim, o termo entre parêntesis é negativo e ΔE é negativa (a energia é perdida para o meio envolvente). Quando a energia é absorvida $n_i < n_f$ e o termo entre parêntesis é positivo, pelo que ΔE é positiva (a energia é absorvida do meio). Cada risca no espectro de emissão corresponde a uma certa transição num átomo de hidrogénio. Quando se estuda um grande número de átomos de hidrogénio, observamos todas as transições possíveis e portanto as correspondentes riscas espectrais. O brilho de uma dada risca espectral depende de quantos fótons são emitidos com esse comprimento de onda.

Bohr contribuiu significativamente para a nossa compreensão dos átomos e a sua proposta de que a energia de um electrão num átomo é quantificada permanece válida. No entanto, a sua teoria não fornece uma descrição completa do comportamento electrónico dos átomos. Actualmente existem teorias mais completas e exactas, mas neste trabalho vou recorrer à teoria de Bohr para a

representação esquemática do átomo, devido à sua simplicidade - e sempre que necessário recorrerei a outras teorias chamando à atenção para esse facto.

1.2. Modelo Quântico

Erwin Schrodinger formulou uma equação que descreve os comportamentos e as energias das partículas, ou seja esta equação inclui tanto o comportamento corpuscular, em termos da massa, como o comportamento ondulatório, em termos da função de onda ψ , que depende da localização do sistema no espaço (tal como um electrão num átomo). A função de onda, por si só, não tem qualquer significado físico, mas a probabilidade de encontrar o electrão numa certa região do espaço é proporcional ao quadrado da função de onda, ψ^2 .

De acordo com o modelo quântico do átomo, concluiu-se que são necessários três números quânticos para descrever a distribuição dos electrões em qualquer átomo. Estes números resultam da solução matemática da equação de Schrodinger para o átomo de hidrogénio. São denominados número quântico principal, número quântico de momento angular (ou azimutal) e número quântico magnético. Estes números quânticos são usados para descrever as órbitas atómicas e para caracterizar os electrões que nelas se encontram. Um quarto número quântico – número quântico de spin - descreve o comportamento específico de cada electrão e completa a descrição dos electrões nos átomos.

O número quântico principal (n) pode ter como valores os números inteiros. Está relacionado com a distância média do electrão ao núcleo numa determinada orbital. Quanto maior for n , maior é a distância média de um electrão numa orbital ao núcleo e portanto maior é a orbital (e menos estável é).

Pela teoria fundamental, o número quântico principal tem a seguinte designação convencional: K para $n = 1$; L para $n = 2$; M para $n = 3$; N para $n = 4$; etc...

O número quântico de momento angular (ℓ), ou azimutal, informa-nos acerca da “forma” das orbitais. Os valores de ℓ dependem do valor do número quântico principal (n). Para cada n , ℓ pode ter como valores possíveis os números inteiros de 0 a $n-1$. Se $n = 1$, da seguinte forma:

ℓ	0	1	2	3	4	5
Designação da orbital	s	p	d	f	g	h

Figura 2 – Designação dos Orbitais

O Número Quântico Magnético (m_ℓ) descreve a orientação da orbital no espaço. Dentro de uma sub camada, o valor de m_ℓ depende do valor do número quântico de momento angular, ℓ . Para um dado valor de ℓ , há $(2\ell + 1)$ valores inteiros de m_ℓ , cujos valores são: $-\ell, (-\ell + 1), \dots, 0, (\ell + 1), +\ell$

Experiências em espectros de emissão revelaram que as riscas do espectro podiam ser desdobradas pela aplicação de um campo magnético externo. Daqui resulta que os electrões se comportam como pequenos “ímãs”. O número quântico de spin electrónico (s) tem em conta o movimento giratório do electrão (spin electrónico), e tem valores de $+1/2$ ou $-1/2$.

É de referir que por vezes um quinto número quântico é definido, e que resulta do acoplamento do momento ℓ com o s : $j = \ell + s$ e que se designa por momento total.

A próxima tabela expõe as possíveis combinações dos números quânticos.

Camada	n	ℓ	m	s	j	Orbital	Número máximo de electrões ($2n^2$)
K	1	0	0	$\pm 1/2$	1/2	1s	2
L	2	0	0	$\pm 1/2$	1/2	2s 2p	8
		1	+1	$\pm 1/2$	$1/2$ e $3/2$		
		1	0	$\pm 1/2$			
		1	-1	$\pm 1/2$			

Tabela 1 – Relação entre os números Quânticos, $n = 1$ e 2 e as camadas correspondentes.

2. Espectros de Raios X

2.1. Produção de Raios X

Wilhelm Rontgen, em 1895, observou que quando raios catódicos incidiam sobre vidro e metais era produzida uma nova e estranha radiação. Estes raios eram muito energéticos e atravessavam com facilidade a matéria (marcavam, por exemplo, placas fotográficas protegidas) e produziam luminescência em várias substâncias; não eram desviados por campos magnéticos, pelo que, ao contrário dos raios catódicos, não eram constituídos por partículas carregadas. Por não conhecer bem a sua natureza o físico alemão chamou-lhes “raios X”.

Os raios X são ondas electromagnéticas de alta energia, com comprimentos de onda de 10^{-10} a 10^{-12} m (o que corresponde a uma frequência de 10^{17} a 10^{19} Hz).

Se um elemento é bombardeado com electrões de alta energia, ocorre uma interacção entre os electrões incidentes e os do próprio átomo. Qualquer interacção envolve variações de energia para o átomo regressar ao estado original - através da emissão de radiação. Entre os vários tipos de interacção temos:

- Desvio dos electrões bombardeados;

Mudança do nível electrónico, sem remoção de electrões do átomo. Esta interacção dá origem a um processo de excitação que pode envolver:

- a transferência de um electrão a uma camada vaga, com regresso à sua posição original com a emissão de radiação (pode ser a radiação ultravioleta);
- a oscilação dos electrões das camadas exteriores, ou seja, os electrões recebem energia mas não alteram a sua posição;
- Arrancamento de electrões do átomo: para que ocorra a remoção do electrão do átomo é necessário que se forneça uma energia de valor superior à da energia de ligação desse electrão. Por sua vez, quando um electrão de nível superior é transferido para a camada vaga ocorre uma perda de energia, sob a forma de radiação electromagnética, equivalente à diferença de energia entre as duas camadas:

$$E_x = E_i - E_f \quad , \quad (5)$$

onde as energias E_i e E_f são as energias do electrão durante a transição. A emissão desta radiação é designada por “fluorescência”.

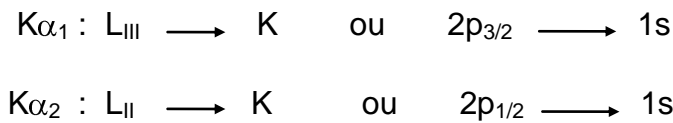
O fóton emitido tem dupla característica: comporta-se como partícula, que pode ser detectada e a sua energia determinada; e comporta-se como onda, caracterizada pelo comprimento de onda, λ , sendo

$$E = h c / \lambda \quad , \quad (6)$$

onde h é a constante de Planck e c a velocidade.

O nível de onde é arrancado o electrão determina a série detectada (série K, L, ...). A “linha” mais forte numa dada série é chamada de α , e as seguintes β , γ , δ , Por exemplo, a transição $2p \longrightarrow 1s$, pode dar origem a mais do que um “pico”, uma vez que os electrões $2p$ a serem transferidos têm dois estados de spin. Onde o spin é $-1/2$, o número quântico j é $+1/2$, uma vez que $\ell = 1$. Assim a

nomenclatura espectroscópica é $2p_{1/2}$. Similarmente se o spin for $+1/2$, j será $+3/2$, e a nomenclatura será $2p_{3/2}$. Assim surgem as linhas $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$. Como os números quânticos l e j são usados para definir o estado de cada electrão, é possível construir “níveis” entre os electrões que são transferidos. O número de níveis é $(2n-1)$, pelo que há 1K, 3L, 5M, As $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$ podem ser explicadas por:



Na prática, milhões de átomos estão envolvidos na excitação de uma espécie e todas as des-excitações têm de ser tomadas em conta. As transições normais são definidas por três regras simples: $\Delta n \geq 1$; $\Delta l = \pm 1$; $\Delta j = \pm 1$ ou 0; Para além destas regras, existem ainda transições proibidas.

Quando um electrão K é removido, o átomo diz-se no estado K^+ , mas se for um electrão L a ser removido já se diz que ficou no estado L^+ . Se dois electrões forem removidos simultaneamente, o átomo diz-se duplamente ionizado, e indica-se KK, KL, LL, etc. A remoção do primeiro electrão (1s) conduz ao estado K^+ e o átomo irá regressar ao estado fundamental com, por exemplo, a transferência de um electrão do nível L para o K, envolvendo uma troca de estado de K^+ para L^+ ; e assim sucessivamente até o átomo regressar ao estado fundamental, em que o último electrão a ser transferido é o da camada de valência. No entanto, também pode haver uma única transferência para o nível K, entre outras possíveis.

O átomo pode regressar ao estado fundamental, ainda, por uma transição não radiativa, pela qual a energia correspondente à transição do electrão do nível exterior para o inicialmente ionizado não é emitida para o exterior, mas vai

originar o arrancamento de um outro electrão do mesmo átomo. Este processo é designado por “efeito Auger” (é, também, designado por “auto-ionização”).

2.2. Processos de Interação da radiação electromagnética com a Matéria

2.2.1 Efeito Fotoeléctrico

O processo de emissão de raios X pelo átomo, tem de ser precedida pela absorção fotoeléctrica. Este processo requer um mínimo de energia igual à energia que liga o electrão ao átomo. A energia da radiação incidente é totalmente utilizada, pois parte desta serve para remover o electrão, e a restante energia é usada na forma de energia cinética para a saída do electrão do átomo.

2.2.2 Efeito de Rayleigh

Este efeito é um processo onde os fotões da radiação emitida são dispersos pelos electrões ligados ao átomo e em que nenhuma ionização ou excitação é possível. Esta interacção verifica-se quando a energia do fotão é inferior à energia de ligação dos electrões atómicos. Como os electrões do átomo não absorvem energia a radiação é re-emitada, mais ou menos, com a mesma direcção original, e com, aproximadamente, a mesma energia cinética (menos uma pequena quantia que cede sob a forma de energia de recuo). As condições da difusão elástica são favorecidas para fotões de baixas energias e números atómicos elevados, onde os electrões estão mais ligados.

2.2.3 Efeito de Compton

Este fenómeno de difusão tem natureza não elástica. Os fotões colidem com os electrões do átomo, como se fossem electrões livres (pois como a energia da radiação é tão grande, a energia de ligação torna-se cada vez menos importante), perdendo alguma energia e alterando a sua direcção. As condições de difusão não elástica são beneficiadas para fotões de alta energia, sendo a probabilidade desta difusão proporcional a Z (pois está relacionada com o número de electrões “livres”).

2.3. Absorção da Radiação X

Quando um feixe de raios X atravessa um alvo, a intensidade do feixe transmitido I é atenuada logaritmicamente. De acordo com a equação de absorção clássica, se o feixe incidente, de intensidade I_0 , percorre uma distância x , então o coeficiente de atenuação é

$$\mu = - (1/x) \ln (I/I_0) \quad (7)$$

Sendo a unidade de μ cm^{-1} , pelo que representa a atenuação do feixe por unidade de comprimento, e é designado por coeficiente de atenuação linear. Por outro lado, é um facto de que depende da energia dos raios X, do número atómico dos átomos constituintes, e do seu estado de agregação, ou seja, depende da quantidade de átomos por unidade de volume. Assim a sua determinação torna-se complicada, sendo mais conveniente usar o coeficiente mássico de atenuação, μ_m , que é independente do estado físico da matéria,

$$\mu_m = \mu / \rho \quad \text{onde } \rho \text{ é a densidade da amostra.} \quad (8)$$

Se a atenuação do feixe for devida a vários tipos de interacção, então μ_m é a soma dos coeficientes correspondentes,

$$\mu_m = \mu / \rho = \mu_f / \rho + \mu_R / \rho + \mu_c / \rho \quad (9)$$

sendo μ_f do efeito fotoeléctrico, μ_R da interacção de Rayleigh, e μ_c de interacção de Compton. E se existir mais do que um elemento, como cada elemento tem o seu coeficiente de atenuação para a mesma radiação,

$$\mu_m = \sum C_i \mu_{m_i} \quad \text{onde } C_i \text{ é a concentração de cada elemento} \quad (10)$$

Assim, podemos escrever a intensidade em função do coeficiente mássico de atenuação,

$$I = I_0 e^{-\mu_m \rho x} \quad (11)$$

ou de outra forma,

$$I = I_0 e^{-(\mu_f + \mu_R + \mu_c) x} \quad (12)$$

Como os coeficientes de atenuação são funções monótonas do comprimento de onda da radiação incidente, λ , e do número atómico do meio atenuante, Z (sendo excepção o efeito fotoeléctrico), na ausência de discontinuidades,

$$\mu_m = K \lambda^3 Z^4 \quad \text{sendo } K \text{ uma constante} \quad (13)$$

3. Determinação das concentrações elementares

Após a função do analisador multicanal, o espectro detectado é representado analogicamente num monitor, e, então, determina-se a concentração dos diferentes elementos na amostra. Para a realização deste objectivo é preciso efectuar os seguintes passos:

- determinar a energia correspondente a cada pico observado no espectro;
- identificar cada elemento, por comparação da energia dos picos detectados com as energias teóricas correspondentes aos diferentes elementos;

- determinar a intensidade de cada radiação a partir do número total de contagens obtidas por integração da área correspondente a cada pico, subtraída do fundo;
- determinar a concentração dos elementos detectados.

Este último passo é conseguido através da resolução da expressão:

$$I_i = I_0 K_i c_i m C_i \quad (14)$$

onde I_i é a intensidade para o elemento i ; I_0 é a intensidade inicial da radiação; K_i é um factor de calibração experimental; c_i é a concentração do elemento i ; m é a massa superficial da amostra (g cm^{-2}); C_i é um factor de atenuação, que é função dos coeficientes de atenuação e das energias críticas dos diferentes elementos e da geometria do feixe.

Um feixe de radiação incide na amostra com um ângulo θ_1 , e a fracção fluorescente deixa a amostra com um ângulo θ_2 (ver Figura 3). Estes raios percorrem uma distância x , cujo valor é determinado pelo coeficiente de absorção para aquele comprimento de onda. E a radiação fluorescente, de energia E_i tem origem a uma profundidade, d , da superfície da amostra, dada por $d = x \sin \theta_2$. Durante este percurso, a radiação (incidente e fluorescente) é absorvida pela amostra até chegar à superfície.

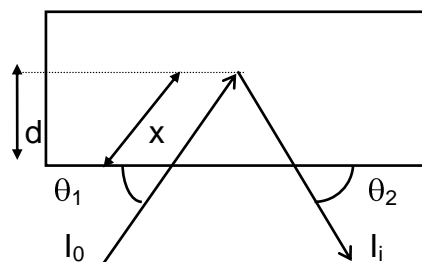


Figura 3 – Esquema da radiação incidente e emitida na amostra.

4. Limites de detecção

A sensibilidade do processo de análise pode ser definida pelo limite mínimo de detecção, ou seja a concentração mínima de cada elemento que é possível

detectar numa amostra. Assim, análise será tanto melhor quanto menor for este limite.

Para determinar a concentração de um elemento numa dada amostra, o processo baseia-se na contagem do número de raios X característicos em cada pico do espectro, N_p (este obtém-se da subtracção das contagens de fundo, N_f , ao número total de contagens, N_T). A precisão dos resultados é conseguida com uma análise estatística.

O limite mínimo de detecção, para uma probabilidade de 99%, vem dado por:

$$\text{LMD} = 3 (N_f)^{1/2} / N_p \quad (15)$$

Desta expressão resulta que o LMD depende do tempo de contagem e da intensidade da radiação de fundo (se aumentar o tempo ou se diminuir a intensidade, o LMD diminui - sendo uma vantagem para elementos de baixas concentrações na amostra).

5. Análise de Espectros

A figura seguinte mostra um espectro de uma amostra de tecidos animais, que contem elementos traço. Este tipo de espectro pode-se dividir em três regiões, as quais estão assinaladas na Figura 4.

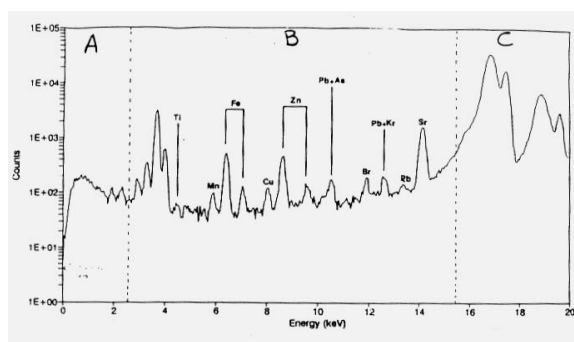


Figura 4 - Espectro obtido com material biológico.

Como se pode observar, a região B contém os picos que estão identificados em função do respectivo elemento. Esta identificação tem por base as energias de ionização características a cada elemento, tratando-se de transições L e K. Estes picos encontram-se sobrepostos com a radiação de fundo, a qual tem origem em : sobreposição da radiação fluorescente com a radiação excitadora; contaminação com radiação correspondente à excitação dos materiais que constituem o espectrómetro; difusão da radiação excitadora na amostra.

A região A contém o efeito de Compton no próprio detector (gama de baixas energias), enquanto a região C é composta por dois picos: o de maior energia correspondente à difusão fluorescente do molibdénio (risca $K\beta$ e $K\alpha$); e o outro pico corresponde ao máximo de intensidade da radiação difundida por efeito de Compton (com um ângulo de 90°) e por difusão elástica.