

e quantitativo e o moinho criogênico disponível no CRA será empregado para essa finalidade.

O método de varredura para pelos e penas será baseado na extração ácida ou alcalina usando HNO₃ ou TMAH e análise por TXRF. Para otimização, amostras brancas lavadas e moídas serão fortificadas com concentrações conhecidas dos elementos de interesse. Após a fortificação, as amostras serão secas e utilizadas para a otimização do método. As variáveis avaliadas serão: massa de amostra, volume e concentração de TMAH, tempo de contato, tipo e concentração do padrão interno. Planejamento de experimentos também será utilizado visando diminuir o número de experimentos e tempo necessário para a otimização. A melhor condição será validada e aplicada para a análise das amostras coletadas de animais da região impactada.

Pretende-se desenvolver e validar um único método quantitativo que possa ser utilizado para análise de penas e pelos. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado e aplicado para as amostras dos animais da região impactada.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais para extração e digestão das amostras	X	X				
Validação do método quantitativo e varredura para análise de pelos e penas		X				
Análise dos pelos e penas dos animais			X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Giovani Duarte Lanza

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao pré-tratamento e preparo das amostras de fígado, rins e músculo, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos (ultra-turrax e micro-ondas), planejamento dos experimentos e se possível acompanhará as análises por ICP-MS. Ele auxiliará também no tratamento estatístico dos dados e participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra usando planejamentos experimentais;
- realizar o pré-tratamento das amostras de fígado, rins e músculo utilizando o Ultra-turrax) e auxiliar no preparo das amostras no forno de micro-ondas.
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

As amostras de fígado, rins e musculo serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. A pasta obtida será armazenada em freezer. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. O bolsista de



IC auxiliará na moagem da amostras e na otimização do procedimento de digestão por micro-ondas. Durante a aplicação do método nas amostras dos animais, o bolsista participará do preparo de todas as amostras e também auxiliará no tratamento dos dados.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Pré-tratamento das amostras	X	X	X	X		
Otimização do procedimento de digestão para rins, fígado e músculo		X				
Digestão das amostras de fígado, rins e músculo		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Gustavo Gonzaga Monteiro Elyseu

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao pré-tratamento e preparo das amostras de fígado (procedimento de extração para varredura) e leite (procedimento de digestão) com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos (ultra-turrax e micro-ondas), planejamento dos experimentos e se possível acompanhará as análises por ICP-MS e TXRF. Ele auxiliará também no tratamento estatístico dos dados e participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra usando planejamentos experimentais;
- realizar o pré-tratamento das amostras de fígado utilizando o Ultra-turrax e auxiliar no preparo das amostras (extração em meio ácido ou alcalino);
- auxiliar no preparo das amostras de leite no forno de micro-ondas;
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida



No estudo de varredura as amostras de fígado serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. O método de varredura para amostras de fígado será baseado na extração em meio ácido ou alcalino, e análise por TXRF. Para otimização do método, a amostra triturada será fortificada com concentração conhecida dos analitos, homogeneizada e armazenada à -10 °C. Uma pequena massa (entre 50 e 100 mg) será pesada e será adicionado um pequeno volume (de 200 a 500 µL) de HNO₃ 65% ou de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A mistura será homogeneizada em vortex e então serão adicionados água ultrapura e o padrão interno. Após homogeneização, uma alíquota do extrato será depositada nos discos de quartzo do TXRF e analisados. Nas análises por TXRF, o aluno acompanhará os pós-doutorandos.

O método quantitativo para análise de leite será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. O bolsista de IC auxiliará na otimização e aplicação do procedimento de digestão para as amostras de leite e acompanhará, quando possível, as análises no ICP-MS.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Pré-tratamento das amostras de fígado	X	X	X			
Otimização e aplicação do procedimento de extração para fígado		X	X	X		
Otimização e aplicação do procedimento de digestão das amostras de leite em forno de MW		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: A definir

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao preparo das amostras de sangue (procedimento de diluição para método quantitativo) com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista auxiliará na limpeza dos materiais, descontaminação de vidrarias, tratamento estatístico dos dados. Se possível, ele acompanhará as análises por ICP-MS. Ele participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos para análise de sangue
- auxiliar na validação do método para análise das amostras de sangue;
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- auxiliar na análise das amostras de sangue e soro;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

O do método de diluição para amostras de sangue será inicialmente avaliado e validado. As amostras serão diluídas numa proporção de 1:10 usando um diluente formado por butanol, TMAH, TX-100, EDTA e água. Serão avaliados vários parâmetros de mérito para verificar se o método é adequado para a finalidade pretendida. Após a validação, o método



será empregado para inúmeras amostras de sangue, tanto de animais silvestres quanto de animais domésticos.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Avaliação do método de diluição para sangue	X	X				
Validação do método de diluição para sangue		X				
Aplicação do método para análise de sangue e soro de animais silvestres e domésticos		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



PROJETO BRUMADINHO-UFMG

CHAMADA PÚBLICA INTERNA INDUZIDA Nº 25/2020

PLANO DE TRABALHO DOS BOLSISTAS

DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO PARAÓPEBA

Coordenadora: Profa. Clésia Cristina Nascentes (DQ-ICEx)

Bolsistas: Profa. Clésia Cristina Nascentes (Professor/Pesquisador P2), Prof. Guilherme Dias Rodrigues (Professor/Pesquisador P2), Prof. Marcelo Martins de Sena (Professor/Pesquisador P2), Profa. Elionai Cassiana de Lima Gomes (Professor/Pesquisador P2), Profa. Maria José Nunes de Paiva (Professor/Pesquisador P2), Dr. Thiago Linhares Marques (pós-doutorado 1), MSc. Ana Beatriz Santos da Silva (pós-doutorado 2), MSc. Igor Forattini Prates Carvalhais Noronha (doutorado 1), MSc. Cassiano Lino Santos Costa (doutorado 2), MSc. Ana Gabriella Carvalho Miguita (doutorado 3), Bolsista de doutorado 4 (a definir), Guilhermina de Oliveira Souza (mestrado 1), Amanda Cristina Soares Coelho (mestrado 2), Giovani Duarte Lanza (iniciação científica 1), Gustavo Gonzaga Monteiro Elyseu (iniciação científica 2), Bolsista de iniciação científica 3 (a definir)

Belo Horizonte, 16 de julho de 2020.



CONTEXTUALIZAÇÃO

Além do impacto direto do desenvolvimento do projeto proposto à comunidade ribeirinha da Bacia Hidrográfica do Rio Paraopeba e instituições envolvidas, um dos objetivos estratégicos deste trabalho é a formação de recursos humanos. Neste contexto, todos os bolsistas envolvidos na equipe executora irão participar de todas as etapas do projeto, respeitando seus respectivos níveis de formação e cargas horárias para dedicação.

Os professores têm funções mais específicas que serão explicitadas nos planos de trabalho.

Os bolsistas de pós-doutorado, doutorado, mestrado e iniciação científica realizarão atividades diversas, típicas da rotina de um laboratório e do projeto proposto, dentre elas:

- limpeza de materiais, preparo de soluções, planejamento e preparo de materiais para realização dos experimentos;
- preparo de amostras (moagem, digestão, extração e diluição);
- treinamento, calibração e operação de equipamentos, como por exemplo pHmetros, TXRF, ICP-MS;
- desenvolvimento e validação dos métodos de varredura e quantitativos
- tratamento de dados e apresentação de resultados para confecção de relatórios parciais e final;
- reuniões semanais com a equipe do projeto.

Os professores envolvidos no projeto serão responsáveis pela orientação e acompanhamento dos outros bolsistas, auxiliando para que todas as etapas propostas sejam cumpridas no prazo estabelecido.

Além disso, a avaliação dos estudantes será realizada por monitoramento direto da participação de cada um no laboratório, resultados apresentados e assiduidade. A partir disso, ao término do projeto, os orientadores irão emitir um parecer sobre a atuação de cada envolvido durante o período de execução do trabalho.

As atividades específicas de cada bolsista estão discriminadas abaixo. Vale ressaltar que alguns membros estarão envolvidos nas mesmas partes do projeto, porém trata-se de um trabalho muito amplo. Assim, a demanda por recursos humanos é fundamental e, de acordo com a dedicação/carga horária e formação de cada bolsista, a contribuição efetiva deles será diferente. Neste contexto, pretende-se estabelecer a dinâmica de realização do projeto com equipes responsáveis por objetivos específicos, assim como discriminado no item 6 da presente proposta.



Nome: Profa. Clésia Cristina Nascentes

Nível da Bolsa: P2 (Professor/Pesquisador)

Carga Horária Semanal: 7 horas

1. Atividades previstas

- Realizar os pedidos de compra dos consumíveis, materiais permanentes e contratação de serviços necessários para a execução do projeto.
- Responder à questionamentos das partes e do Juiz, referentes ao projeto.
- Realizar reuniões com a equipe permanente do CRA-UFMG para definir cronograma de atividades, uso de equipamentos, normas a serem seguidas, etc.
- Realizar reuniões com o supervisor do projeto e os membros das equipes de coleta para obter informações das amostras e discutir resultados.
- Realizar reuniões semanais com a equipe do projeto para estabelecer metas e acompanhar a execução.
- Sempre que necessário, treinar os membros da equipe do projeto, no uso dos equipamentos do CRA-UFMG.
- Planejar, em conjunto com os outros bolsistas os experimentos de otimização e validação dos métodos propostos.
- Planejar, em conjunto com os outros bolsistas as análises das amostras da área de estudo.
- Acompanhar o desenvolvimento e validação dos métodos, bem como das análises das amostras.
- Discutir os resultados obtidos e elaborar relatórios parciais e final.
- Receber chamadas externas.

2. Cronograma

O bolsista realizará as atividades descritas anteriormente de acordo com o cronograma à seguir.



Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Aquisição de consumíveis, materiais permanentes e serviços	X	X	X			
Reuniões com equipe do projeto	X	X	X	X	X	X
Reuniões com equipe CRA-UFMG	X					
Reuniões com equipe de coleta e supervisor	X	X	X	X	X	X
Treinamento da equipe no uso dos equipamentos	X					
Planejamento e acompanhamento das etapas de otimização e validação dos métodos	X	X				
Planejamento e acompanhamento das análises das amostras		X	X	X	X	X
Discussão dos resultados	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais e final		X	X	X	X	X



Nome: Prof. Guilherme Dias Rodrigues

Nível da Bolsa: P2 (Professor/Pesquisador)

Carga Horária Semanal: 6 horas

1. Atividades previstas

- Realizar reuniões com a equipe permanente do CRA-UFMG para definir cronograma de atividades, uso de equipamentos, normas a serem seguidas, etc.
- Realizar reuniões com o supervisor do projeto e os membros das equipes de coleta para obter informações das amostras e discutir resultados.
- Realizar reuniões semanais com a equipe do projeto para estabelecer metas e acompanhar a execução.
- Planejar, em conjunto com os outros bolsistas os experimentos de otimização e validação dos métodos propostos.
- Planejar, em conjunto com os outros bolsistas as análises das amostras da área de estudo.
- Acompanhar o desenvolvimento e validação dos métodos, bem como das análises das amostras.
- Discutir os resultados obtidos e elaborar relatórios parciais e final.

2. Cronograma

O bolsista realizará as atividades descritas anteriormente de acordo com o cronograma à seguir.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Reuniões com equipe do projeto	X	X	X	X	X	X
Reuniões com equipe CRA-UFMG	X					



Reuniões com equipe de coleta e supervisor	X	X	X	X	X	X
Planejamento e acompanhamento das etapas de otimização e validação dos métodos	X	X				
Planejamento e acompanhamento das análises das amostras		X	X	X	X	X
Discussão dos resultados	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais e final		X	X	X	X	X



Nome: Prof. Marcelo Martins de Sena

Nível da Bolsa: P2 (Professor/Pesquisador)

Carga Horária Semanal: 4 horas

1. Atividades previstas

- Realizar reuniões com a equipe permanente do CRA-UFMG para definir cronograma de atividades, uso de equipamentos, normas a serem seguidas, etc.
- Realizar reuniões semanais com a equipe do projeto para estabelecer metas e acompanhar a execução.
- Avaliar e estabelecer as ferramentas quimiométricas mais adequadas para tratamento dos dados.
- Realizar o treinamento da equipe na utilização de softwares para tratamento quimiométrico dos dados.
- Acompanhar e orientar a bolsista responsável pelo tratamento quimiométrico dos dados.
- Discutir os resultados obtidos e auxiliar na elaboração dos relatórios parciais e final.

2. Cronograma

O bolsista realizará as atividades descritas anteriormente de acordo com o cronograma à seguir.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Reuniões com equipe do projeto	X	X	X	X	X	X
Reuniões com equipe CRA-UFMG	X					
Avaliar e estabelecer as ferramentas quimiométricas mais adequadas para tratamento dos dados	X	X				



Realizar o treinamento da equipe na utilização de softwares para tratamento quimiométrico dos dados	X	X				
Acompanhar e orientar a bolsista responsável pelo tratamento quimiométrico dos dados	X	X	X	X	X	X
Discussão dos resultados	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais e final		X	X	X	X	X



Nome: Profa. Elionai Cassiana de Lima Gomes

Nível da Bolsa: P2 (Professor/Pesquisador)

Carga Horária Semanal: 4 horas

1. Atividades previstas

- Realizar reuniões semanais com a equipe do projeto para estabelecer metas e acompanhar a execução.
- Realizar reuniões com a equipe permanente do CRA-UFMG para definir cronograma de atividades, uso de equipamentos, normas a serem seguidas, etc.
- Auxiliar no tratamento estatístico dos resultados e conferência de planilhas.
- Discutir os resultados obtidos com as equipes.
- Produzir informações e conteúdos sobre o subprojeto para publicação no site da Plataforma Brumadinho.
- Auxiliar na elaboração dos relatórios parciais e final.

2. Cronograma

O bolsista realizará as atividades descritas anteriormente de acordo com o cronograma à seguir.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Reuniões com equipe do projeto	X	X	X	X	X	X
Reuniões com equipe CRA-UFMG	X					
Auxiliar no tratamento estatístico dos resultados e conferência de planilhas	X	X	X	X	X	X
Discutir resultados com as equipes	X	X	X	X	X	X
Produzir informações e conteúdos sobre o subprojeto para publicação na Plataforma Brumadinho		X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais e final		X	X	X	X	X



Nome: Profa. Maria José Nunes de Paiva

Nível da Bolsa: P2 (Professor/Pesquisador)

Carga Horária Semanal: 2 horas

1. Atividades previstas

- Ofertar um mini-curso sobre aspectos gerais da toxicologia para os membros da equipe.
- Realizar reuniões quinzenais com a equipe do projeto para discussão de resultados sob o aspecto toxicológico.
- Auxiliar na avaliação dos resultados e comparação com valores de referência.
- Auxiliar na elaboração dos relatórios parciais e final.

2. Cronograma

O bolsista realizará as atividades descritas anteriormente de acordo com o cronograma à seguir.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Reuniões com equipe do projeto	X	X	X	X	X	X
Ofertar minicurso sobre toxicologia para a equipe	X					
Discussão dos resultados sob o aspecto toxicológico		X	X	X	X	X
Auxiliar na avaliação dos resultados e comparação com valores de referência		X	X	X	X	X
Auxiliar na elaboração de relatórios parciais e final		X	X	X	X	X



Nome: Dr. Thiago Linhares Marques

Nível da Bolsa: P4 (Bolsista pós-doutorado júnior)

Carga Horária Semanal: 40 horas

1. Introdução

Devido à maior disponibilidade e formação acadêmica, o referido bolsista estará envolvido em diferentes partes do projeto, como estudar diferentes tipos de matrizes e métodos de análise. Neste caso em específico, o bolsista participará do desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise das amostras de sangue, fígado, rins e músculo, com dedicação de 40 (quarenta) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados, acompanhamento de outros bolsistas de pós-graduação e graduação e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios, com toda a equipe do projeto e individualmente com os orientadores/supervisores.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- otimizar as condições experimentais de extração e digestão das amostras de sangue, fígado, rins e músculo, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- otimizar e validar o método quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto;
- organizar todos os resultados obtidos no desenvolvimento do projeto e discussões



para preparação do relatório final.

3. Metodologia Resumida

As amostras de fígado, rins e musculo serão trituradas e homogeneizadas em Ultraturrax tube. A pasta obtida será armazenada em freezer. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Inicialmente o método será desenvolvido para fígado, sendo otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado de acordo com o descrito no item 3.4.2. Para as matrizes de rim e musculo será avaliada a possibilidade de se realizar uma ampliação de escopo do método desenvolvido e validado para fígado.

Por se tratar de uma matriz menos complexa, pretende-se realizar a análise das amostras de sangue e leite homogeneização manual. O método quantitativo para sangue será baseado no guia de preparo para amostras clínicas para análise por ICP-MS (Agilent, 2020). Por ser um método relativamente simples, optou-se por realizar diretamente o método quantitativo, sem utilizar a estratégia de selecionar as amostras por um método de varredura. O método consiste em diluir as amostras com uma solução aquosa contendo 4% de butanol, 0,01% de EDTA, 0,01% de Triton X-100 e 1% de TMAH, adicionando também o padrão interno. Após a diluição e homogeneização, a amostra pode ser analisada diretamente por ICP-MS. O método será validado de acordo com o procedimento descrito no item 3.4.2, utilizando amostras brancas de sangue bovino e o MRC de sangue bovino (ERM - CE196).

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais para digestão ácida	X	X				
Validação e aplicação do método quantitativo para análise de rins, fígado e			X			



músculo						
Realização de estudos preliminares para verificar a viabilidade do emprego da diluição para análise direta	X					
Otimização e validação do método quantitativo para análise de sangue	X	X				
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Análises das amostras			X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: MSc. Ana Beatriz Santos da Silva

Nível da Bolsa: P4 (Bolsista pós-doutorado júnior)

Carga Horária Semanal: 40 horas

1. Introdução

Devido à maior disponibilidade e formação acadêmica, a referida bolsista estará envolvida em diferentes partes do projeto, como estudar diferentes tipos de matrizes e métodos de análise. Neste caso em específico, a bolsista participará do desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para fígado e penas/pelo e quantitativo para análise de amostras de pelo/penas e leite, com dedicação de 40 (quarenta) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, acompanhamento de outros bolsistas, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios, com toda a equipe do projeto e individualmente com os orientadores/supervisores.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- desenvolver o método de varredura para análise de fígado, penas e pelos envolvendo TXRF;
- otimizar as condições experimentais de extração e digestão das amostras de leite, pelos e penas, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- otimizar e validar o método quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- analisar as amostras de fígado, pelos e penas dos animais
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto;



- organizar todos os resultados obtidos no desenvolvimento do projeto e discussões para preparação do relatório final.

3. Metodologia Resumida

No estudo de varredura as amostras de fígado serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. A pasta obtida será armazenada em freezer.

O método de varredura para amostras de fígado será baseado na extração em meio ácido ou alcalino, e análise por TXRF. Para otimização do método, a amostra triturada será fortificada com concentração conhecida dos analitos, homogeneizada e armazenada à -10 °C. Uma pequena massa (entre 50 e 100 mg) será pesada e será adicionado um pequeno volume (de 200 a 500 µL) de HNO₃ 65% ou de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A mistura será homogeneizada em vortex e então serão adicionados água ultrapura e o padrão interno. Após homogeneização, uma alíquota do extrato será depositada nos discos de quartzo do TXRF e analisados. Algumas condições serão otimizadas utilizando planejamento de experimentos: massa de amostra, volume e tipo de extrator, tipo e concentração do padrão interno. A melhor condição será validada.

As amostras de penas e pelos requerem uma etapa de pré-tratamento para remover contaminantes exógenos que podem ficar aderidos as amostras e conduzir a resultados superestimados. Para lavagem dos pelos será utilizado um procedimento padronizado recomendado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) que utiliza acetona e água. As amostras de pena também serão lavadas com água e acetona. Após a etapa de lavagem as amostras serão secas em capela de fluxo laminar. As amostras de pelo e penas também precisam ser cominuídas para os métodos de varredura e quantitativo. Nesse sentido será avaliada a viabilidade de moagem utilizando o moinho criogênico disponível no CRA.

O método de varredura para pelos e penas será baseado na extração ácida ou alcalina usando HNO₃ ou TMAH e análise por TXRF. Para otimização, amostras brancas lavadas e moídas de acordo com os procedimentos descritos no item 3.2 serão fortificadas com concentrações conhecidas dos elementos de interesse. Após a fortificação, as amostras serão secas e utilizadas para a otimização do método. As variáveis avaliadas serão: massa de amostra, volume e concentração de TMAH, tempo de contato, tipo e concentração do padrão interno. Planejamento de experimentos também será utilizado visando diminuir o número de experimentos e tempo necessário para a otimização. A melhor condição será validada e aplicada para a análise das amostras coletadas de animais da região impactada.



Pretende-se desenvolver e validar um único método quantitativo que possa ser utilizado para análise de penas e pelos. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado.

O método quantitativo para análise de leite será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais do TXRF para varredura das amostras de fígado, pelos e penas	X	X				
Validação do método de varredura empregando TXRF para análise das amostras de fígado, pelos e penas		X				
Aplicação dos métodos de varredura para as amostras coletadas			X	X	X	X
Otimização das condições experimentais para o método quantitativo para amostras de leite, pelos e penas		X				
Validação e aplicação do método quantitativo para análise de leite, pelos e penas			X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: MSc. Igor Forattini Prates Carvalhais Noronha

Nível da Bolsa: D1 (Bolsista estudante de doutorado)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente de todo o desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise das amostras de sangue, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- otimizar as condições experimentais de preparo das amostras de sangue, investigando a viabilidade de se aplicar diluição para simplificar o processo de preparo;
- otimizar e validar o método quantitativo de análise de metais na matriz citada, com a determinação das principais figuras de mérito;
- analisar as amostras de sangue dos animais
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados.
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

Por se tratar de uma matriz menos complexa, pretende-se realizar a análise das amostras de sangue e leite homogeneização manual. O método quantitativo para sangue será baseado no guia de preparo para amostras clínicas para análise por ICP-MS (Agilent, 2020). O método consiste em diluir as amostras com uma solução aquosa contendo 4% de butanol, 0,01% de EDTA, 0,01% de Triton X-100 e 1% de TMAH, adicionando também o padrão interno. Após a diluição e homogeneização, a amostra pode ser analisada



diretamente por ICP-MS. O método será validado utilizando amostras brancas de sangue bovino e o MRC de sangue bovino (ERM - CE196).

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Realização de estudos preliminares para verificar a viabilidade do emprego da diluição para análise direta	X					
Otimização e validação do método quantitativo para análise de sangue		X				
Análise das amostras de sangue		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: MSc. Cassiano Lino Santos Costa

Nível da Bolsa: D1 (Bolsista estudante de doutorado)

Carga Horária Semanal: 15 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente de todo o desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura e quantitativo para análise de amostras de pelo e penas, com dedicação de 15 (quinze) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- otimizar as condições experimentais de extração (varredura) e digestão (quantitativo) das amostras de pelo e penas, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- validar os métodos de varredura e quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- analisar as amostras de pelos e penas dos animais;
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados.
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

Para lavagem dos pelos será utilizado um procedimento padronizado recomendado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) que utiliza acetona e água. As amostras de pena também serão lavadas com água e acetona. Após a etapa de lavagem as amostras serão secas em capela de fluxo laminar. As amostras de pelo e penas



também precisam ser cominuídas para os métodos de varredura e quantitativo. Nesse sentido será utilizado o moinho criogênico disponível no CRA.

O método de varredura para pelos e penas será baseado na extração ácida ou alcalina usando HNO₃ ou TMAH e análise por TXRF. Para otimização, amostras brancas lavadas e moídas de acordo com os procedimentos descritos no item 3.2 serão fortificadas com concentrações conhecidas dos elementos de interesse. Após a fortificação, as amostras serão secas e utilizadas para a otimização do método. As variáveis avaliadas serão: massa de amostra, volume e concentração de TMAH, tempo de contato, tipo e concentração do padrão interno. Planejamento de experimentos também será utilizado visando diminuir o número de experimentos e tempo necessário para a otimização. A melhor condição será validada e aplicada para a análise das amostras dos animais da região impactada.

Pretende-se desenvolver e validar um único método quantitativo que possa ser utilizado para análise de penas e pelos. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais para extração e digestão das amostras		X				
Validação do método quantitativo e varredura para análise de pelos e penas		X	X			
Aplicar os métodos validados para análise das amostras de pelos e penas dos animais			X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: MSc. Ana Gabriella Carvalho Miguita

Nível da Bolsa: D1 (Bolsista estudante de doutorado)

Carga Horária Semanal: 15 horas

1. Introdução

O bolsista participará do tratamento quimiométrico dos dados gerados por todos os grupos, com dedicação de 15 (quinze) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- aplicar ferramentas quimiométricas, como Análise por Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) para análise dos resultados obtidos;
- analisar os gráficos obtidos (escores e pesos para PCA e dendogramas para HCA) visando correlacionar os teores de metais e metalóides assim como o perfil das amostras;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

Todo o tratamento dos dados da validação (curvas de calibração, precisão, veracidade, cálculo de incertezas etc.) será realizado no Excel. O tratamento dos dados das amostras analisadas será realizado nos softwares dos equipamentos utilizados (TXRF e ICP-MS) e no Excel. Correlações de Pearson também serão avaliadas buscando estabelecer correlações entre os metais e metalóides encontrados nas diferentes matrizes.

Considerando o grande número de amostras e possivelmente de analitos é importante utilizar estratégias adicionais para interpretação dos dados. Assim, além do tratamento estatístico convencional, serão utilizadas algumas ferramentas quimiométricas exploratórias visando avaliar principalmente a similaridade entre amostras e correlação entre variáveis. Dentre essas ferramentas destaca-se a Análise por Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA).



As análises dos gráficos obtidos (escores e pesos para PCA e dendogramas para HCA) permitirão estimar a influência de cada variável em cada amostra, assim como avaliar e correlacionar os as amostras, em função do tipo de animal, local de amostragem etc. O tratamento de dados será feito empregando o software Matlab e o pacote PLS toolbox.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Auxílio no planejamento dos experimentos que envolverão tratamento quimiométrico	X	X				
Uso de PCA para tratamento e interpretação dos resultados			X	X	X	
Aplicação de HCA para tratamento e interpretação dos resultados			X	X	X	
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Bolsista de doutorado 4 (a definir)

Nível da Bolsa: D1 (Bolsista estudante de doutorado)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente de todo desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para análise de amostras de fígado e quantitativo para amostras de leite, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- desenvolver o método de varredura para análise de fígado envolvendo TXRF;
- otimizar as condições experimentais de extração e digestão das amostras de leite, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- validar o método quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- analisar as amostras dos animais da região impactada
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados.
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

No estudo de varredura as amostras de fígado serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube e armazenadas em freezer.

O método de varredura para amostras de fígado será baseado na extração em meio ácido ou alcalino, e análise por TXRF. Para otimização do método, a amostra triturada será



fortificada com concentração conhecida dos analitos, homogeneizada e armazenada à -10 °C. Uma pequena massa (entre 50 e 100 mg) será pesada e será adicionado um pequeno volume (de 200 a 500 µL) de HNO₃ 65% ou de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A mistura será homogeneizada em vortex e então serão adicionados água ultrapura e o padrão interno. Após homogeneização, uma alíquota do extrato será depositada nos discos de quartzo do TXRF e analisados. Algumas condições serão otimizadas utilizando planejamento de experimentos: massa de amostra, volume e tipo de extrator, tipo e concentração do padrão interno. A melhor condição será validada e aplicada para análise das amostras.

O método quantitativo para análise de leite será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado e aplicado para a análise das amostras.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X	X				
Otimização das condições experimentais para TXRF, extração e digestão das amostras		X	X			
Validação do método quantitativo e varredura para análise de leite e fígado, respectivamente			X	X	X	
Análise das amostras dos animais da região impactada						
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Guilhermina de Oliveira Souza

Nível da Bolsa: M1 (Bolsista estudante de mestrado)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente de todo o desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise de metais e metaloides em fígado, rins e músculo, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- otimizar das condições experimentais de extração e digestão das amostras de fígado, rins e músculo, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- validar o método quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- aplicar o método para as amostras dos animais da região impactada;
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

As amostras de fígado, rins e musculo serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. A pasta obtida será armazenada em freezer. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e análise por ICP-MS. Inicialmente o método



será desenvolvido para fígado, sendo otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado. Para as matrizes de rim e musculo será avaliada a possibilidade de se realizar uma ampliação de escopo do método desenvolvido e validado para fígado.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais para extração e digestão ácida	X	X				
Validação do método quantitativo para análise de rins, fígado e músculo		X	X			
Análise das amostras dos animais da região impactada		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Amanda Cristina Soares Coelho

Nível da Bolsa: M1 (Bolsista estudante de mestrado)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente de todo o desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura e quantitativo para análise de amostras de pelo e penas, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais de atividades. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos, planejamento dos experimentos, preparo de amostras, tratamento de dados e reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra e validação;
- otimizar das condições experimentais de extração e digestão das amostras de pelo e penas, como tipo e concentração de ácido ou base, temperatura e tempo de contato;
- validar os métodos de varredura e quantitativo de análise de metais nas matrizes citadas, com a determinação das principais figuras de mérito;
- analisar as amostras de pelos e penas dos animais da região impactada;
- realizar o tratamento estatístico de todos os dados obtidos, através da criação de planilhas padronizadas para posterior apresentação dos resultados.
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

As amostras de penas e pelos serão lavadas utilizando um procedimento padronizado recomendado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) que utiliza acetona e água. Após a etapa de lavagem as amostras serão secas em capela de fluxo laminar. As amostras de pelo e penas também precisam ser cominuídas para os métodos de varredura



e quantitativo e o moinho criogênico disponível no CRA será empregado para essa finalidade.

O método de varredura para pelos e penas será baseado na extração ácida ou alcalina usando HNO₃ ou TMAH e análise por TXRF. Para otimização, amostras brancas lavadas e moídas serão fortificadas com concentrações conhecidas dos elementos de interesse. Após a fortificação, as amostras serão secas e utilizadas para a otimização do método. As variáveis avaliadas serão: massa de amostra, volume e concentração de TMAH, tempo de contato, tipo e concentração do padrão interno. Planejamento de experimentos também será utilizado visando diminuir o número de experimentos e tempo necessário para a otimização. A melhor condição será validada e aplicada para a análise das amostras coletadas de animais da região impactada.

Pretende-se desenvolver e validar um único método quantitativo que possa ser utilizado para análise de penas e pelos. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Serão otimizados o volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado e aplicado para as amostras dos animais da região impactada.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Otimização das condições experimentais para extração e digestão das amostras	X	X				
Validação do método quantitativo e varredura para análise de pelos e penas		X				
Análise dos pelos e penas dos animais			X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Giovani Duarte Lanza

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao pré-tratamento e preparo das amostras de fígado, rins e músculo, com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos (ultra-turrax e micro-ondas), planejamento dos experimentos e se possível acompanhará as análises por ICP-MS. Ele auxiliará também no tratamento estatístico dos dados e participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra usando planejamentos experimentais;
- realizar o pré-tratamento das amostras de fígado, rins e músculo utilizando o Ultra-turrax) e auxiliar no preparo das amostras no forno de micro-ondas.
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

As amostras de fígado, rins e musculo serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. A pasta obtida será armazenada em freezer. O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. O bolsista de



IC auxiliará na moagem da amostras e na otimização do procedimento de digestão por micro-ondas. Durante a aplicação do método nas amostras dos animais, o bolsista participará do preparo de todas as amostras e também auxiliará no tratamento dos dados.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Pré-tratamento das amostras	X	X	X	X		
Otimização do procedimento de digestão para rins, fígado e músculo		X				
Digestão das amostras de fígado, rins e músculo		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: Gustavo Gonzaga Monteiro Elyseu

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao pré-tratamento e preparo das amostras de fígado (procedimento de extração para varredura) e leite (procedimento de digestão) com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista participará de treinamento nos equipamentos (ultra-turrax e micro-ondas), planejamento dos experimentos e se possível acompanhará as análises por ICP-MS e TXRF. Ele auxiliará também no tratamento estatístico dos dados e participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos de preparo de amostra usando planejamentos experimentais;
- realizar o pré-tratamento das amostras de fígado utilizando o Ultra-turrax e auxiliar no preparo das amostras (extração em meio ácido ou alcalino);
- auxiliar no preparo das amostras de leite no forno de micro-ondas;
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida



No estudo de varredura as amostras de fígado serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube. O método de varredura para amostras de fígado será baseado na extração em meio ácido ou alcalino, e análise por TXRF. Para otimização do método, a amostra triturada será fortificada com concentração conhecida dos analitos, homogeneizada e armazenada à -10 °C. Uma pequena massa (entre 50 e 100 mg) será pesada e será adicionado um pequeno volume (de 200 a 500 µL) de HNO₃ 65% ou de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A mistura será homogeneizada em vortex e então serão adicionados água ultrapura e o padrão interno. Após homogeneização, uma alíquota do extrato será depositada nos discos de quartzo do TXRF e analisados. Nas análises por TXRF, o aluno acompanhará os pós-doutorandos.

O método quantitativo para análise de leite será baseado na digestão ácida (ácido nítrico) assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. O bolsista de IC auxiliará na otimização e aplicação do procedimento de digestão para as amostras de leite e acompanhará, quando possível, as análises no ICP-MS.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Pré-tratamento das amostras de fígado	X	X	X			
Otimização e aplicação do procedimento de extração para fígado		X	X	X		
Otimização e aplicação do procedimento de digestão das amostras de leite em forno de MW		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



Nome: A definir

Nível da Bolsa: IX (Bolsista estudante de graduação/iniciação)

Carga Horária Semanal: 20 horas

1. Introdução

O bolsista participará principalmente das atividades relacionadas ao preparo das amostras de sangue (procedimento de diluição para método quantitativo) com dedicação de 20 (vinte) horas semanais. Além disso, o bolsista auxiliará na limpeza dos materiais, descontaminação de vidrarias, tratamento estatístico dos dados. Se possível, ele acompanhará as análises por ICP-MS. Ele participará de reuniões para discussão dos resultados com apresentação de relatórios.

2. Objetivos

- pesquisar constantemente a literatura para criar embasamento suficiente na realização dos experimentos para análise de sangue
- auxiliar na validação do método para análise das amostras de sangue;
- auxiliar na limpeza e descontaminação dos materiais;
- auxiliar no preparo das soluções e diluições das amostras;
- auxiliar na análise das amostras de sangue e soro;
- realizar tratamento estatístico dos dados;
- elaborar relatórios parciais para apresentação dos resultados em reuniões da equipe do projeto.

3. Metodologia Resumida

O do método de diluição para amostras de sangue será inicialmente avaliado e validado. As amostras serão diluídas numa proporção de 1:10 usando um diluente formado por butanol, TMAH, TX-100, EDTA e água. Serão avaliados vários parâmetros de mérito para verificar se o método é adequado para a finalidade pretendida. Após a validação, o método



será empregado para inúmeras amostras de sangue, tanto de animais silvestres quanto de animais domésticos.

4. Cronograma de Atividades

O bolsista realizará as atividades presenciais de acordo com o cronograma abaixo. Todas essas etapas serão supervisionadas pelos professores pesquisadores.

Atividades	Bimestre					
	1	2	3	4	5	6
Treinamentos nos equipamentos	X					
Avaliação do método de diluição para sangue	X	X				
Validação do método de diluição para sangue		X				
Aplicação do método para análise de sangue e soro de animais silvestres e domésticos		X	X	X	X	X
Pesquisa da literatura	X	X	X	X	X	X
Tratamentos estatísticos	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatórios parciais					X	X



ATA DA REUNIÃO DE JULGAMENTO DA CHAMADA



ATA DA REUNIÃO DE JULGAMENTO DA CHAMADA 25/2020 “DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO PARAÓPEBA” NO DIA 09.07.2020

No dia 9 de julho de 2020, às 9 horas, reuniram-se virtualmente os membros do Comitê Técnico-Científico do “Projeto Brumadinho-UFMG”, Fabiano Teodoro Lara, Ricardo Machado Ruiz, Adriana Monteiro da Costa, Carlos Augusto Gomes Leal, Claudia Carvalhinho Windmöller, Efigênia Ferreira e Gustavo Ferreira Simões e o Secretário Executivo do “Projeto Brumadinho-UFMG”, Tiago Barros Duarte. Ausente, justificadamente, a Professora Claudia Mayorga.

Tendo sido previamente encaminhado o Subprojeto para exame, foi avaliada a PROPOSTA submetida pela professora **Clésia Nascentes** para a Chamada 25/2020. Foi identificado que o Subprojeto apresentado cumpriu os requisitos formais de submissão. Examinado e discutido o mérito, a proposta foi avaliada como relevante e cientificamente robusta e com equipe executora experiente e apta à execução do projeto. Verificou-se, portanto, que a proposta preenche o objetivo completamente, com elevada qualidade, concluindo, por unanimidade pela APROVAÇÃO COM AJUSTES. Observou-se necessidade de adequações, tendo sido identificadas as seguintes recomendações a serem realizadas pela proponente:

- 1) Pág. 2., segundo parágrafo: reescrever a primeira frase “nesse contexto...”, uma vez que “surge uma grande preocupação” não seria considerado um fato concreto, mas sim uma ideia a ser discutida.
- 2) Pág. 9, Item e: inserir no texto “...saúde humana oriunda da ingestão de produtos de origem animal.”
- 3) Objetivos específicos: considerar a inserção, já nos objetivos específicos, dos elementos prioritários a serem analisados. Seriam os que foram citados na introdução?
 - Item e) completar: ...tendo como referência a área atingida pelo rompimento da Barragem B1 da Mineradora Vale em Brumadinho.
 - Item e) reescrever o objetivo como, por exemplo: “discutir os resultados obtidos nesta proposta com os dados obtidos de outros subprojetos, como, por exemplo, metais em águas, sedimentos, solos, rejeitos, ecotox e outros.”
- 4) Metodologia: a proponente descreve análise de amostras branca e amostras controle. Não seria suficiente apenas amostras brancas, ou melhor, as amostras brancas não podem ser também amostras controle?
- 5) Pág. 9, Item 3.1.1: esclarecer se a amostra certificada MRC cabelo humano (ERM-DB001) pode ser considerada e aceita cientificamente como amostra de referência para validação de métodos para análise de pelos animais.
- 6) Pág. 9, Item 3.1.2: reescrever com tópico de acordo com a recomendação “Amostras da área de estudo”.
- 7) Pág.10, I: segundo a proposta, o método quantitativo para mercúrio usando análise direta será desenvolvido apenas para as amostras que apresentarem valores altos do metal em sangue. Uma vez que os pelos guardam mais informação de acumulação de mercúrio, não poderia acontecer de haver uma baixa concentração em sangue a alta nas penas e pelos?



- 8) Pág. 10, Item 3.1.2, I: recomenda-se que a equipe proponente considere a possibilidade e viabilidade de inclusão de análises de varredura/screening nas amostras de fezes. A análise dessa matriz poderá complementar a avaliação de eventual contaminação dos animais. Essa permitirá, além da avaliação de intoxicação aguda (sangue) e crônica (pelos e penas), a detecção de eventuais contaminantes que os animais estão sendo expostos via água e/ou alimento, mas ainda não se apresentam como tóxicos a níveis sistêmicos, por questões de absorção e baixa concentração de exposição. Adicionalmente, os proponentes devem considerar que, dentre os animais silvestres, alguns não possuem penas e pelos, como anfíbios e reptéis, sendo possível nesses casos somente a avaliação de intoxicação aguda, reduzindo o nº total de avaliação de penas/pelos.
- 9) Pág. 10, 11, 15 e 16, Item 3.1.2: recomenda-se, conforme a chamada, que os proponentes discutam com o CTC, a respeito das seleções metodológicas (pp. 10-12 e pp. 15-16), a saber: o não uso de métodos de varredura para pré-seleção, no caso das amostras de animais silvestres; se, para as amostras de animais post-mortem, a proposta do pool de amostras apresentado é suficiente; a justificativa sobre o conteúdo estomacal (CE) e a pertinência da análise de outras matrizes, dessas amostras, somente se houver valores elevados, nos fígados. O mesmo é válido para o pool de amostras/propriedade, no caso dos animais de produção/espécie e, por consequência, a análise individualizada, somente se houver concentrações anormais dos analitos. As mesmas avaliações decorrem para o pré-tratamento das amostras (se suficientemente adequados); para os métodos de varredura e quantitativos, aparentemente, coerentes e de acordo com a literatura apresentada e para a determinação de Hg.
- 10) Pág. 11, Item 3.1.2, II: esclarecemos à equipe proponente que os animais mortos serão submetidos a necropsia no âmbito do Subprojeto 6. Durante essa avaliação, os profissionais realizarão uma avaliação detalhada dos órgãos e tecidos, incluindo o conteúdo do estômago e trato digestório. Assim, as informações do conteúdo estomacal, bem como do animal de origem, estarão disponíveis para eventual avaliação da presença de metais e metalóides.
- 11) Pág. 12, Item 3.2: revisar o fragmento “As amostras de fezes (...) serão homogêneas no Ultraturax”, visto a demanda supramencionada de análise dessa matriz.
- 12) Pág. 13, Item 3.3: revisar o fragmento “...e não necessitam ter elevada veracidade e precisão.” Independentemente do método (varredura ou screening), esse deve apresentar parâmetros técnicos adequados. Ainda na pág. 13, Item 3.3: incluir a descrição do processo de extração das amostras de fezes para análise de varredura, de acordo com a recomendação supracitada de inclusão de análise dessa matriz em animais silvestres.
- 13) Pág. 13, Item 3.3.1: revisar o fragmento “...armazenada à -10°C”. Os equipamentos adquiridos pelo CRA-UFMG são freezers -20°C.
- 14) Pág. 14, Item 3.4.2: solicita-se aos proponentes que o método de avaliação de metais e metalóides em rim e músculo sejam necessariamente validados, para permitir, em eventual necessidade, a análise dessas matrizes dentro do escopo do Projeto Brumadinho UFMG.
- 15) Pág. 18: incluir nos produtos uma discussão dos resultados obtidos comparados com a norma AVC/UPEI – Canadá, 2020, trabalhos anteriores gerados pelas partes envolvidas no processo e ainda trabalhos científicos disponíveis.
- 16) Pág. 18: revisar o cronograma apresentando as atividades em meses, para facilitar o monitoramento e acompanhamento das etapas de execução do projeto.



- 17) Pág. 19: as amostras oriundas de animais mortos (Subprojeto 6) serão coletadas ao longo da execução do Projeto Brumadinho UFMG, não havendo uma coleta, armazenamento e repasse das amostras de maneira conjunta. Assim, os proponentes podem prever tais análises mais distribuídas, principalmente, no segundo semestre de execução da proposta.
- 18) Pág. 19: a equipe executora deve incluir a confecção e entrega de relatórios parciais de resultados do Subprojeto durante o período de vigência.
- 19) Pág., 19, Item 6: atribuir a designação “pesquisadores” a todos os bolsistas e/ou substituir “5 pesquisadores” por “5 professores”. Todos os bolsistas envolvidos no subprojeto são pesquisadores. Com isso, apresentar o plano de trabalho dos professores no documento que se encontra após as referências.
- 20) Pág. 19, Item 6: informar se haverá a distribuição dos cinco professores por dentro as quatro equipes ou, ainda, se todos os professores estão vinculados a todas as equipes (com efeito de acompanhamento). Ou seja, cada equipe estará a cargo de um grupo ou de um professor específico(s)?
- 21) Pág. 23: corrigir nº de meses da Professora Maria José Nunes de Paiva, que, pelo valor total das bolsas, refere-se a uma participação de 12 meses, ao invés de 2, como apresentado na proposta.
- 22) Pág. 24: descrever individualmente os itens “Acessórios ICP-MS” e justificar a necessidade da compra, uma vez que o equipamento do CRA-UFMG foi recentemente adquirido e, a priori, com todos os periféricos.
- 23) Pág. 22: no quadro de pesquisadores, pede-se: (a) informar o real vínculo da Professora Maria José Nunes de Paiva. O Lattes da pesquisadora, na apresentação e endereços, afirma que ela é servidora da UFSJ, ao passo que o período de atuação profissional, no currículo, findou em 2017 – mesmo ano em que aparece vinculada à UFMG. Pede-se a correção apenas a título de conhecimento claro para todas as partes, considerando que a equipe atendeu ao requisito dos 2/3 de pesquisadores (na equipe) sendo da UFMG. (b) Esclarecer sobre os pesquisadores Thiago Marques e Ana Beatriz: ambos estarão em Belo Horizonte para a dedicação integral ao Subprojeto da Chamada 25?
- 24) Pág. 26: a possibilidade de alocação física de mais uma geladeira no CRA-UFMG deve ser avaliada.
- 25) Pág. 28, Tabela 7.5, Orçamento consolidado: ajustar o valor correspondente ao subtotal e, por consequência, os valores para a Resolução 10/95, os quais devem ser distribuídos para a UFMG e para o Departamento. Por fim, corrigir o valor total do Subprojeto.
- 26) Pág. 33: solicita-se que a coordenadora indique um responsável por (a) produzir informações/conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho e (b) receber demandas externas, de modo a atender à Chamada (p. 8/33).
- 27) As estratégias sugeridas pela proponente inferem a necessidade de uma comunicação eficiente com o supervisor do Subprojeto e/ou membros da equipe de coleta, para que informações necessárias para escolha dos pools de amostras sejam precisas. Considerar a inserção no Subprojeto de reuniões com o supervisor para ajuste desses detalhes.
- 28) A proposta é bastante arrojada e desafiadora em termos de números de técnicas analíticas e número de amostras a serem analisadas. A Coordenadora desenhou uma estratégia de trabalho com pool de amostras e utilização do TXRF como método de screening bastante adequada para que as metas sejam atingidas com sucesso. Uma ponderação importante é que, como o método de



screening será desenvolvido e validado, caso apresente alguma limitação em termos de quantificação para os elementos tóxicos prioritários, recomenda-se que seja inserida a possibilidade de uso do ICP-OES como técnica de apoio.

29) Revisar e reescrever os trechos onde são feitas afirmações genéricas sem a devida comprovação por referências bibliográficas cientificamente reconhecidas, bem como retirar afirmações que tragam qualquer juízo de valor.

Encerrou-se a reunião às 10 horas. Eu, Tiago Barros Duarte, Secretário-Executivo do Comitê Técnico-Científico do “Projeto Brumadinho-UFMG” lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais. Belo Horizonte, 9 de julho de 2020.

Adriana Monteiro da Costa

Carlos Augusto Gomes Leal

Claudia Carvalhinho Windmöller

Fabiano Teodoro Lara

Gustavo Ferreira Simões

Ricardo Machado Ruiz

Efigênia Ferreira

Tiago Duarte



RECURSOS E ADEQUAÇÕES



Respostas às questões levantadas pelos membros do CTC-Projeto Brumadinho-UFMG

1) Pág. 2., segundo parágrafo: reescrever a primeira frase “nesse contexto...”, uma vez que “surge uma grande preocupação” não seria considerado um fato concreto, mas sim uma ideia a ser discutida.

R. O parágrafo foi reescrito, conforme sugerido.

2) Pág. 9, Item e: inserir no texto “...saúde humana oriunda da ingestão de produtos de origem animal.”

R. Texto inserido no item e, conforme sugerido.

3) Objetivos específicos: considerar a inserção, já nos objetivos específicos, dos elementos prioritários a serem analisados. Seriam os que foram citados na introdução?

R. Os metais e metaloides que serão priorizados nas análises das matrizes biológicas foram citados nos itens a e b dos objetivos específicos.

- Item e) completar: ...tendo como referência a área atingida pelo rompimento da Barragem B1 da Mineradora Vale em Brumadinho.

R. O texto sugerido foi acrescentado no item e).

- Item e) reescrever o objetivo como, por exemplo: “discutir os resultados obtidos nesta proposta com os dados obtidos de outros subprojetos, como, por exemplo, metais em águas, sedimentos, solos, rejeitos, ecotox e outros.”

R. Para não deixar o item “e” muito extenso e confuso, criou-se outro item (f) para destacar a discussão conjunta de resultados obtidos em diferentes subprojetos.

4) Metodologia: a proponente descreve análise de amostras branca e amostras controle. Não seria suficiente apenas amostras brancas, ou melhor, as amostras brancas não podem ser também amostras controle?

R - As amostras brancas serão utilizadas para a otimização dos métodos e são requeridas em quantidades maiores (uma vez que são necessários vários experimentos no processo de otimização do método) e devem ser obtidas, preferencialmente, de animais criados em situações controladas para evitar possíveis contaminações. As amostras controle seriam obtidas de animais criados numa região próxima à área impactada e analisadas nas mesmas condições que as amostras da área de estudo. Nesse caso, o objetivo seria obter valores de referência para comparação com os valores obtidos das amostras coletadas de animais da área de estudo. Como não se sabe se será viável a coleta dessas amostras, optou-se por retirá-las da proposta e serão utilizados valores de referência internacionais disponíveis na literatura.

5) Pág. 9, Item 3.1.1: esclarecer se a amostra certificada MRC cabelo humano (ERM-DB001) pode ser considerada e aceita cientificamente como amostra de referência para validação de métodos para análise de pelos animais.

R. Não estão disponíveis comercialmente materiais de referência certificados (MRC) de pelo e penas. A composição química de pelos e penas de animais e cabelos humanos é semelhante, sendo constituídos majoritariamente por queratina. Desta forma, na validação do método para



penas e pelos será utilizado o MRC de cabelo humano (ERM-DB001). Vários trabalhos da literatura reportam o uso de MRC de cabelo humano para validação de métodos para análise de pelos e penas. Essa informação e as referências foram adicionadas ao item 3.1.1.

6) Pág. 9, Item 3.1.2: reescrever com tópico de acordo com a recomendação “Amostras da área de estudo”.

R. O termo “Amostras da região impactada” foi substituído por “Amostras de área de estudo”, como sugerido.

7) Pág.10, I: segundo a proposta, o método quantitativo para mercúrio usando análise direta será desenvolvido apenas para as amostras que apresentarem valores altos do metal em sangue. Uma vez que os pelos guardam mais informação de acumulação de mercúrio, não poderia acontecer de haver uma baixa concentração em sangue a alta nas penas e pelos?

R. O projeto foi alterado e todas as amostras de pelos, penas e fezes dos animais silvestres serão analisadas no DMA, considerando que o número de amostras não será tão elevado.

8) Pág. 10, Item 3.1.2, I: recomenda-se que a equipe proponente considere a possibilidade e viabilidade de inclusão de análises de varredura/screening nas amostras de fezes. A análise dessa matriz poderá complementar a avaliação de eventual contaminação dos animais. Essa permitirá, além da avaliação de intoxicação aguda (sangue) e crônica (pelos e penas), a detecção de eventuais contaminantes que os animais estão sendo expostos via água e/ou alimento, mas ainda não se apresentam como tóxicos a níveis sistêmicos, por questões de absorção e baixa concentração de exposição. Adicionalmente, os proponentes devem considerar que, dentre os animais silvestres, alguns não possuem penas e pelos, como anfíbios e répteis, sendo possível nesses casos somente a avaliação de intoxicação aguda, reduzindo o nº total de avaliação de penas/pelos.

R. O desenvolvimento e validação de um método, mesmo sendo para uma análise de *screening*, demanda um tempo considerável. Além disso, para animais silvestres é esperada uma grande variação entre os tipos de animais (aves, mamíferos, répteis, anfíbios, etc) e é mais difícil estabelecer um procedimento de *screening* (que neste caso, seria um procedimento de extração, mais brando) que atenda satisfatoriamente a amostras com características distintas. Diante disto, para atender a solicitação do CTC, as amostras de fezes dos animais silvestres serão analisadas pelos métodos quantitativos (digestão ácida com análise por ICP-MS e DMA para Hg) cujo desenvolvimento e validação já estavam previstos.

9) Pág. 10, 11, 15 e 16, Item 3.1.2: recomenda-se, conforme a chamada, que os proponentes discutam com o CTC, a respeito das seleções metodológicas (pp. 10-12 e pp. 15-16), a saber: o não uso de métodos de varredura para pré-seleção, no caso das amostras de animais silvestres; se, para as amostras de animais post-mortem, a proposta do pool de amostras apresentado é suficiente; a justificativa sobre o conteúdo estomacal (CE) e a pertinência da análise de outras matrizes, dessas amostras, somente se houver valores elevados, nos fígados. O mesmo é válido para o pool de amostras/propriedade, no caso dos animais de produção/espécie e, por consequência, a análise individualizada, somente se houver concentrações anormais dos analitos. As mesmas avaliações decorrem para o pré-tratamento das amostras (se suficientemente adequados); para os métodos de varredura e quantitativos, aparentemente, coerentes e de acordo com a literatura apresentada e para a determinação de Hg.



R. A proponente conversou com o Prof. Carlos Leal o qual solicitou que a escolha das estratégias propostas fosse descrita de forma mais clara no projeto. Visando atender a essa solicitação, algumas alterações foram realizadas, com inclusão de fluxogramas (Anexos IA, IB e IC) com uma descrição sucinta das etapas do projeto. Vale destacar que para viabilizar a execução desta proposta, considerando a grande diversidade e número de amostras e o tempo disponível para a execução, foi necessário priorizar inicialmente matrizes que devem apresentar os resultados mais relevantes. Além disso, para amostras *post mortem* (cerca de 900 animais) e de animais domésticos vivos (cerca de 12.000 animais) foi necessário lançar mão de métodos para uma avaliação preliminar e pré-seleção de amostras. Nesse sentido foram propostos os métodos de *screening* para fígado (post mortem) e pelos (animais domésticos) e também a análise de amostras compostas para sangue de animais de uma mesma propriedade. Acredita-se que com as essas estratégias será possível identificar possíveis intoxicações e nos casos identificados, a análise de todas as amostras será realizada por métodos quantitativos.

10) Pág. 11, Item 3.1.2, II: esclarecemos à equipe proponente que os animais mortos serão submetidos a necropsia no âmbito do Subprojeto 6. Durante essa avaliação, os profissionais realizarão uma avaliação detalhada dos órgãos e tecidos, incluindo o conteúdo do estômago e trato digestório. Assim, as informações do conteúdo estomacal, bem como do animal de origem, estarão disponíveis para eventual avaliação da presença de metais e metaloides.

R. A análise do conteúdo estomacal será realizada sempre que houver necessidade, considerando-se as informações do relatório de necropsia, sendo este direcionamento acrescentado no item 3.1.2, II.

11) Pág. 12, Item 3.2: revisar o fragmento “As amostras de fezes (...) serão homogeneizadas no Ultra-turrax”, visto a demanda supramencionada de análise dessa matriz.

R. O fragmento foi revisado e alterado, conforme sugerido.

12) Pág. 13, Item 3.3: revisar o fragmento “...e não necessitam ter elevada veracidade e precisão.” Independentemente do método (varredura ou *screening*), esse deve apresentar parâmetros técnicos adequados. Ainda na pág. 13, Item 3.3: incluir a descrição do processo de extração das amostras de fezes para análise de varredura, de acordo com a recomendação supracitada de inclusão de análise dessa matriz em animais silvestres.

R. O fragmento foi revisado e alterado conforme sugerido. Não foi incluído o método de *screening* para as fezes, pois como mencionado na resposta da questão 7, optou-se por desenvolver e aplicar apenas o método quantitativo para essa matriz.

13) Pág. 13, Item 3.3.1: revisar o fragmento “...armazenada à -10°C”. Os equipamentos adquiridos pelo CRA-UFMG são freezers -20°C.

R. O fragmento foi revisado e a temperatura correta (-20°C) foi adicionada.

14) Pág. 14, Item 3.4.2: solicita-se aos proponentes que o método de avaliação de metais e metaloides em rim e músculo sejam necessariamente validados, para permitir, em eventual necessidade, a análise dessas matrizes dentro do escopo do Projeto Brumadinho UFMG.



R. O método para análise de rins e músculo será inicialmente validado considerando a extensão de escopo, conforme sugerido pelo Guia de Garantia de Qualidade do MAPA. Na expansão de escopo, apenas alguns parâmetros de mérito são avaliados. Caso na validação fique constatado que o método que foi desenvolvido para fígado não apresenta resultados satisfatórios para rins e músculo, o método de digestão será ajustado para essas matrizes e a validação completa será realizada. Essas informações foram explicitadas no item 3.4.2.

15) Pág. 18: incluir nos produtos uma discussão dos resultados obtidos comparados com a norma AVC/UPEI – Canadá, 2020, trabalhos anteriores gerados pelas partes envolvidas no processo e ainda trabalhos científicos disponíveis.

R. Um relatório com essa discussão foi acrescentado nos produtos (Pág. 19).

16) Pág. 18: revisar o cronograma apresentando as atividades em meses, para facilitar o monitoramento e acompanhamento das etapas de execução do projeto.

R. O cronograma foi revisado e modificado de acordo com o sugerido (Pág. 20).

17) Pág. 19: as amostras oriundas de animais mortos (Subprojeto 6) serão coletadas ao longo da execução do Projeto Brumadinho UFMG, não havendo uma coleta, armazenamento e repasse das amostras de maneira conjunta. Assim, os proponentes podem prever tais análises mais distribuídas, principalmente, no segundo semestre de execução da proposta.

R. Essa alteração foi realizada no cronograma (Pág. 20).

18) Pág. 19: a equipe executora deve incluir a confecção e entrega de relatórios parciais de resultados do Subprojeto durante o período de vigência.

R. Foi previsto a entrega de dois relatórios parciais com os resultados obtidos no projeto após 4 e 8 meses de execução e o relatório final. Se for necessária a elaboração e entrega de relatórios parciais com periodicidade menor, favor informar (Pág. 21).

19) Pág., 19, Item 6: atribuir a designação “pesquisadores” a todos os bolsistas e/ou substituir “5 pesquisadores” por “5 professores”. Todos os bolsistas envolvidos no subprojeto são pesquisadores. Com isso, apresentar o plano de trabalho dos professores no documento que se encontra após as referências.

R. Foi feita a substituição de “5 pesquisadores” por “5 professores”. O plano de trabalho dos 5 professores foi incluído no Anexo II.

20) Pág. 19, Item 6: informar se haverá a distribuição dos cinco professores por dentre as quatro equipes ou, ainda, se todos os professores estão vinculados a todas as equipes (com efeito de acompanhamento). Ou seja, cada equipe estará a cargo de um grupo ou de um professor específico(s)?

R. O acompanhamento rotineiro do trabalho das equipes será realizado principalmente pela coordenadora (Profa. Clésia Nascentes) e pelo Prof. Guilherme Dias Rodrigues. O Prof. Marcelo Martins de Sena ficará responsável pelo tratamento quimiométrico dos dados e acompanhará as atividades da bolsista Ana Gabriella Miguita. A Profa. Elionai Gomes ficará responsável por produzir informações/conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho e auxiliar na elaboração dos relatórios parciais e finais. A Profa.



Maria José vai auxiliar na discussão dos resultados sob o ponto de visto toxicológico. Essas informações foram detalhadas nos planos de trabalho.

21) Pág. 23: corrigir nº de meses da Professora Maria José Nunes de Paiva, que, pelo valor total das bolsas, refere-se a uma participação de 12 meses, ao invés de 2, como apresentado na proposta.

R. Obrigada pela correção. Realmente, foi erro de digitação.

22) Pág. 24: descrever individualmente os itens “Acessórios ICP-MS” e justificar a necessidade da compra, uma vez que o equipamento do CRA-UFMG foi recentemente adquirido e, a priori, com todos os periféricos.

R. O detalhamento dos acessórios do ICP-MS foi realizado na tabela 7.2 e uma justificativa foi acrescentada no texto, logo abaixo da tabela. Apesar de o equipamento ser novo e possuir quase todos os periféricos (com exceção da tocha para introdução de orgânicos e do nebulizador MiraMist que não são acessórios que vem de fábrica, pois são para aplicações específicas) é importante se ter acessórios para reposição. Esse equipamento é o coração do projeto e temos que garantir seu perfeito funcionamento durante toda a execução do projeto. Esses acessórios sofrem desgaste e precisam ser periodicamente trocados, principalmente em condições de uso intenso do equipamento, como ocorrerá nesse subprojeto. Como será um equipamento de uso compartilhado, caso o CRA possua outros recursos para reposição de peças ou ainda se a aquisição desses mesmos acessórios foi prevista em outros subprojetos, pode-se reavaliar os itens solicitados. Inicialmente, os orçamentos dos acessórios para o ICP-MS foram feitos para compra nacional. Visando desonerar um pouco o projeto, foi realizado novo orçamento para importação direta, o que resultou numa redução do valor total.

23) Pág. 22: no quadro de pesquisadores, pede-se: (a) informar o real vínculo da Professora Maria José Nunes de Paiva. O Lattes da pesquisadora, na apresentação e endereços, afirma que ela é servidora da UFSJ, ao passo que o período de atuação profissional, no currículo, findou em 2017 – mesmo ano em que aparece vinculada à UFMG. Pede-se a correção apenas a título de conhecimento claro para todas as partes, considerando que a equipe atendeu ao requisito dos 2/3 de pesquisadores (na equipe) sendo da UFMG. (b) Esclarecer sobre os pesquisadores Thiago Marques e Ana Beatriz: ambos estarão em Belo Horizonte para a dedicação integral ao Subprojeto da Chamada 25?

R. A Profa. Maria José Nunes de Paiva é professora da Faculdade de Farmácia da UFMG desde 2017. Ela atualizou o Lattes e as informações agora estão corretas. Os pesquisadores Thiago Linhares Marques e Ana Beatriz Santos da Silva não residem atualmente em Belo Horizonte, mas ambos tem disponibilidade para se mudarem para nossa cidade e se dedicarem integralmente ao subprojeto. Essa informação foi acrescentada no quadro de pesquisadores.

24) Pág. 26: a possibilidade de alocação física de mais uma geladeira no CRA-UFMG deve ser avaliada.

R. A Prof. Cláudia Carvalhinho foi consultada e informou que existe espaço físico para alocação da geladeira solicitada no projeto.

25) Pág. 28, Tabela 7.5, Orçamento consolidado: ajustar o valor correspondente ao subtotal e, por consequência, os valores para a Resolução 10/95, os quais devem ser distribuídos para a UFMG e para o Departamento. Por fim, corrigir o valor total do Subprojeto.



R. Os ajustes foram realizados após a troca dos orçamentos dos acessórios para o ICP-MS para importação direta.

26) Pág. 33: solicita-se que a coordenadora indique um responsável por (a) produzir informações/conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho e (b) receber demandas externas, de modo a atender à Chamada (p. 8/33).

R. A Profa. Elionai Gomes ficará responsável por produzir informações/conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho e a Profa. Clésia ficará responsável por receber as demandas externas, como consta no quadro do item 6 e também no plano de trabalho das referidas professoras.

27) As estratégias sugeridas pela proponente inferem a necessidade de uma comunicação eficiente com o supervisor do Subprojeto e/ou membros da equipe de coleta, para que informações necessárias para escolha dos pools de amostras sejam precisas. Considerar a inserção no Subprojeto de reuniões com o supervisor para ajuste desses detalhes.

R. As reuniões com o supervisor, membros das equipes de coleta e da equipe do CRA foram incluídas no cronograma.

28) A proposta é bastante arrojada e desafiadora em termos de números de técnicas analíticas e número de amostras a serem analisadas. A Coordenadora desenhou uma estratégia de trabalho com pool de amostras e utilização do TXRF como método de screening bastante adequada para que as metas sejam atingidas com sucesso. Uma ponderação importante é que, como o método de screening será desenvolvido e validado, caso apresente alguma limitação em termos de quantificação para os elementos tóxicos prioritários, recomenda-se que seja inserida a possibilidade de uso do ICP-OES como técnica de apoio.

R. Em relação à sensibilidade, de uma forma geral a técnica TXRF é melhor que a ICP-OES. Além disso, para introdução das amostras no ICP-OES seria necessário digerir as amostras no forno de micro-ondas. Desta forma, considero que a inclusão do ICP-OES não seria viável. Existem alternativas para se melhorar os limites de quantificação no TXRF, como pré-concentrar a amostra no *sampler* ou aumentar o tempo de análise. Caso necessário, essas estratégias serão adotadas.

29) Revisar e reescrever os trechos onde são feitas afirmações genéricas sem a devida comprovação por referências bibliográficas cientificamente reconhecidas, bem como retirar afirmações que tragam qualquer juízo de valor.

R. O texto foi revisado.





PROJETO BRUMADINHO-UFMG

CHAMADA PÚBLICA INTERNA INDUZIDA Nº 25/2020

DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO PARAÓPEBA

Coordenadora: Profa. Clésia Cristina Nascentes
Departamento de Química - Instituto de Ciências Exatas

Belo Horizonte, 12 de julho de 2020.



INTRODUÇÃO

Em 25 de janeiro de 2019, a Barragem I da Mina “Córrego do Feijão”, em Brumadinho, Minas Gerais, se rompeu. O fato ocasionou o falecimento de 259 pessoas e 11 pessoas permanecem desaparecidas, segundo números apurados até janeiro de 2020. Além das perdas humanas registrou-se uma série de consequências e impactos pessoais, sociais, ambientais, econômicos e em patrimônios por longa extensão territorial, em especial na Bacia do Rio Paraopeba [CTC-Projeto Brumadinho-UFMG, 2020].

Dentre os vários impactos resultantes deste desastre, destaca-se nesse projeto os danos causados à animais silvestres e domésticos da região atingida. O espalhamento da lama causou, inicialmente, a morte de inúmeros animais terrestres e aquáticos. De acordo com informações publicadas um ano após o rompimento pelos órgãos estaduais, a área total ocupada pelos rejeitos, que vai desde a barragem até o encontro com o Rio Paraopeba, foi de 292,27 hectares. Deste total, a área da vegetação impactada representa 150,07 hectares. Além disso, na Área de Proteção Ambiental (APA) Sul foram impactados 10,68 hectares e também parte da zona de amortecimento do Parque Estadual da Serra do Rola Moça, totalizando 225,20 hectares. Com relação à fauna, foram encontradas 348 carcaças de animais silvestres terrestres e 420 de animais domésticos, sendo 47 não identificadas. Dentre os animais aquáticos foram encontradas 3404 carcaças de peixes, sendo 3040 nativos, 230 exóticos e 134 carcaças não identificadas. Muitos animais silvestres e domésticos foram resgatados com vida e alguns vieram a óbito posteriormente [SEMAD, 2020].

Além disso, a dispersão dos rejeitos nos diversos compartimentos ambientais (águas, sedimentos, solos, plantas e ar) da região resultaram no aumento das concentrações de contaminantes ambientais (CA), que são substâncias introduzidas no ambiente, acidentalmente ou deliberadamente, por fontes naturais ou atividades antropogênicas e que tem potencial para causar danos às pessoas, animais selvagens, animais domésticos e plantas [Environmental Contaminants, 2018].

Ainda de acordo com a publicação da SEMAD, os impactos sobre a fauna e seus habitats ainda não foram definidos e os danos causados a médio e longo prazo ainda não podem ser estimados [SEMAD, 2020]. De acordo com a Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 64 propriedades rurais situadas ao longo do Rio Paraopeba em 20 municípios atingidos foram monitoradas, sendo coletadas



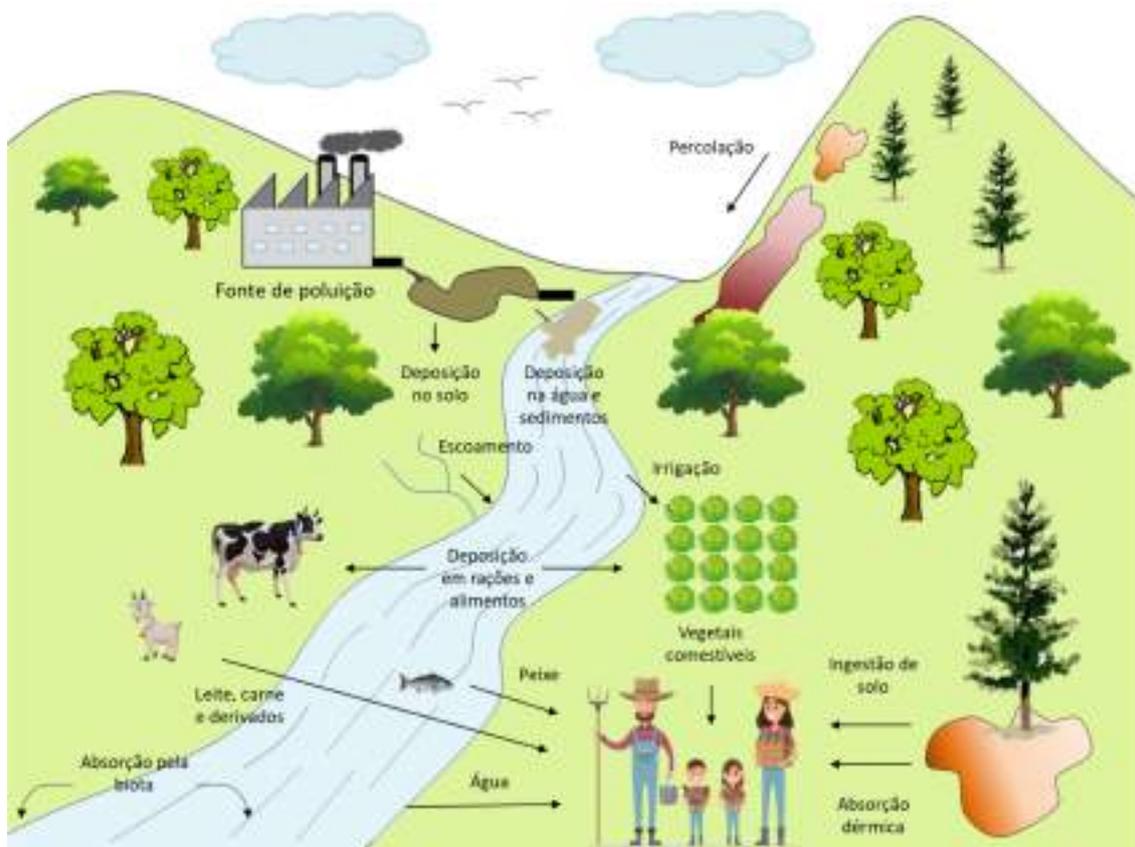
amostras de sangue, urina e leite de bovinos, além de amostras de água utilizadas para dessedentação dos animais que vivem nesses locais. Entretanto os resultados das análises ainda não haviam sido entregues à Secretaria [Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020]. Não foram encontradas informações sobre a avaliação de outros animais como porcos, ovinos, etc.

Neste contexto, uma avaliação sistemática da concentração de metais e metalóides em tecidos e fluídos de animais silvestres e domésticos da área atingida é importante, pois, considerando as características do rejeito, esses contaminantes podem ter sido inseridos nos diversos compartimentos ambientais. Vale ressaltar que esses metais e metalóides estão entre os contaminantes mais persistentes no meio ambiente, pois não podem ser decompostos [Green et al. 2014] e sofrem bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica. A bioacumulação se refere ao acúmulo de uma substância tóxica nos tecidos de um organismo particular e a biomagnificação é o aumento progressivo na concentração de uma substância tóxica de um nível trófico para outro na cadeia alimentar [Ali & Khan, 2019]. A bioacumulação pode resultar em toxicidade crônica, onde a exposição contínua de organismos vivos à pequenas quantidades dos elementos tóxicos podem causar danos à saúde, resultando por exemplo em problemas neurológicos e reprodutivos [Lehner et al., 2013]. A biomagnificação aumenta a exposição da população local que se alimenta de carnes e vegetais produzidos em regiões contaminadas e estende essa exposição para pessoas de outras localidades, que podem consumir esses produtos alimentícios contaminados.

Animais e humanos podem ser expostos à contaminantes ambientais presentes no ar, água e alimentos por meio de múltiplas rotas incluindo oral, dérmica e pulmonar (Figura 1), resultando em toxicidade crônica. Em termos práticos, a toxicidade crônica pode ser mais grave, pois muitas vezes os sintomas não são diretamente associados com a fonte de exposição. Desta forma, a fonte de exposição não é removida e após meses ou anos de exposição podem surgir doenças como câncer, problemas neurológicos, infertilidade, dentre outros.



Figura 1 – Possíveis rotas de exposição ambiental de plantas, animais e humanos a partir de uma fonte de poluição. Adaptado de Paustenbach, 2001.



Desta forma, a determinação de metais e metaloides em tecidos e fluidos de animais da região impactada pelo rompimento da Barragem B1 pode auxiliar na avaliação do grau de exposição e contaminação da fauna terrestre. Diversos trabalhos na literatura reportam diferenças nas concentrações de metais tóxicos entre grupos de animais expostos e não expostos à contaminantes ambientais e relatam os efeitos destes toxicantes no organismo [Green et al., 2014; Reis et al., 2010; De Francisco et al., 2003]. A seguir são apresentadas informações a respeito da toxicidade para animais dos principais metais e metaloides encontrados em rejeitos da mineração de ferro.

a) **Alumínio** – toxicidade aguda de Al em animais é rara, mas exposições crônicas podem causar vários efeitos tóxicos. O Al atravessa facilmente a barreira hematoencefálica e a barreira placentária, e por isso pode apresentar neurotoxicidade e a alterações no desenvolvimento embrionário. Os efeitos tóxicos do Al dependem do órgão alvo e podem estar relacionados com a deposição ou substituição de elementos com funções fisiológicas com cálcio, magnésio e ferro. Alterações causadas



por Al podem ocorrer: (1) nos ossos, interferindo na síntese do grupo heme e levando à anemia, (2) no miocárdio, podendo causar um infarto do miocárdio e (3) no cérebro, com efeitos neurotóxicos. Al pode ser medido no sangue, urina, fezes e pelos, mas somente a análise da urina pode indicar se ocorreu uma exposição recente a níveis altos de alumínio. Elevadas concentrações de Al nos ossos, fígado e baço refletem bioacumulação [Yokel, 1997].

b) **Arsênio** – é um elemento tóxico e diferentes espécies químicas estão relacionadas com doenças específicas. As espécies inorgânicas e orgânicas de arsênio trivalente causam problemas no trato gastrointestinal. Os compostos orgânicos de arsênio pentavalente causam uma síndrome neurológica. Uma vez que esses compostos são absorvidos, a distribuição é feita através do sangue para todos os órgãos do corpo. O arsênio se acumula inicialmente no fígado e é distribuído lentamente para os outros tecidos. O baço, os rins e os pulmões são capazes de acumular grandes quantidades de As. Alguns trabalhos com macacos e hamsters demonstraram que As pode atravessar a barreira placentária [Garland, 2007]. Em casos de exposição crônica, As pode ser estocado nos ossos, na pele e em outros tecidos queratinizados como cabelos, unhas e cascos [Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1990].

c) **Chumbo** – é um elemento tóxico que interfere em vários processos bioquímicos no corpo, ligando-se ao sulfidril e a outros grupos funcionais nucleofílicos, causando inibição de várias enzimas e alterações no metabolismo do cálcio / vitamina D. O Pb também contribui para o estresse oxidativo e interfere na rota sintética do grupo heme. A absorção de chumbo pelo trato gastrointestinal depende muito do tipo de animal, idade e dieta. Dietas ricas em gordura e deficientes em minerais (Ca, Zn, Fe) podem aumentar a absorção de Pb em 7 e 20 vezes, respectivamente. Animais jovens absorvem cerca de 90% do Pb a partir do trato gastrointestinal, sendo mais susceptíveis à intoxicação que animais adultos [Thompson, 2007]. O Pb é amplamente distribuído no corpo e pode atravessar a barreira hematoencefálica [Seimiya et al., 1991]. Nos tecidos moles, o chumbo se acumula por interagir com várias proteínas e com a metalotioneína, e se acumula também nos ossos, que serve como um reservatório relativamente inerte de chumbo no corpo, de onde pode ser liberado durante os períodos de gestação e lactação ou desmineralização dos ossos [De Francisco et al, 2003]. A taxa de excreção de Pb nas fezes e urina é muito baixa. Os principais danos do Pb no organismo são nos sistemas neurológico e hematológico. Equinos são mais susceptíveis a intoxicação crônica por Pb que bovinos.



d) **Cobre** – é um elemento essencial em baixas concentrações. Intoxicações agudas causam irritação gastrointestinal e pode causar erosão da mucosa. Intoxicações crônicas em ovinos são causadas pela inabilidade das ovelhas em aumentar a excreção biliar de cobre quando ocorre uma maior ingestão. O cobre então pode acumular-se no fígado, inicialmente sem causar sintomas [Bremner, 1998]. Se o acúmulo persistir, o animal pode desenvolver necrose hepática. O acúmulo de Cu pode ocorrer também nos rins, comprometendo o funcionamento desse órgão. Bovinos e cães também são afetados por intoxicações crônicas de cobre [Du *et al.*, 1996].

e) **Cromo** - é um elemento essencial em níveis traço e desempenha funções em processos metabólicos incluindo o metabolismo da glicose, lipídeos e aminoácidos. O cromo hexavalente é mais tóxico que a forma trivalente, uma vez que Cr(VI) entra nas células mais facilmente que Cr(III) e é, eventualmente, reduzido para Cr(III) [Jaishankar *et al.* 2014]. Intoxicações crônicas por cromo têm sido associadas com gastroenterite e dermatite. O Cr pode acumular nos testículos [Marouani *et al.*, 2012], e um estudo de Wise e colaboradores [Wise *et al.*, 2015] mostra que a exposição ao cromo [Cr(VI)] é citotóxica e genotóxica para fibroblastos de testículos de mamíferos. Estudos em humanos mostraram exposição crônica ao Cr(VI) correlaciona-se com a diminuição da aptidão e mobilidade espermática [Li *et al.*, 2001], embora o mecanismo definitivo não tenha sido elucidado. Assim, esses dados sugerem que a exposição ao Cr(VI) pode causar disfunção reprodutiva em mamíferos.

e) **Ferro** – é um elemento essencial para animais e plantas e funciona como carreador de oxigênio na hemoglobina/mioglobina. Está envolvido em vários processos biológicos em reações de oxidação-redução, incluindo a fotossíntese. O excesso de ferro pode causar sobrecarga de ferro e danos aos órgãos, enquanto a oxidação do Fe(II) à Fe(III) na hemoglobina resulta em metemoglobinemia e incapacidade dos glóbulos vermelhos de transportar o oxigênio [Hooser, 2007]. Existem muitas evidências de que depósitos excessivos de ferro no cérebro e alterações no metabolismo do ferro desempenham um papel importante em doenças neurodegenerativas [Connor *et al.*, 1995; Lan e Jiang, 1997; Fredriksson *et al.*, 1999; Dal-Pizzol *et al.*, 2001]. Hemossiderose e hemocromatose têm sido relatadas em várias espécies diferentes de animais. Hemocromatose é o acúmulo patológico de ferro nos tecidos, enquanto hemossiderose é o acúmulo não patológico de ferro. Nas aves, o acúmulo de ferro tem sido relatado em aves silvestres como mynah, tucano e quetzal. Os sintomas clínicos são dispneia, insuficiência hepática e em alguns casos morte [Hooser, 2007].



f) **Manganês** – é um elemento essencial e de baixa toxicidade, que desempenha um importante papel no metabolismo de lipídios em animais [Reis *et al.*, 2010]. Porém, seu consumo excessivo pode causar envenenamento e não deve ser ingerido em doses superiores a 1.000 mg/kg para bovinos e ovinos e 400 mg/kg em equinos e suínos [Reis *et al.* 2010]. Apresenta efeitos mais deletérios por via oral, apesar de que a inalação de poeira contendo óxidos de manganês (MnO_2 e MnO_4) pode levar à inflamação do pulmão e facilitar o surgimento de infecções pulmonares em animais [Willians M. & Peter, 2012]. Exposição ao Mn altera as funções cardíacas, inibindo a contração do miocárdio, dilatando os vasos sanguíneos e reduzindo a pressão arterial [O’Neal & Zheng, 2015]. Absorção oral de duração intermediária podem causar danos à reprodução e em doses muito elevadas pode causar efeitos neurocomportamentais em ratos [Willians M. & Peter, 2012]. Os distúrbios neurológicos estão relacionados à diminuição da liberação de dopamina e promovem a redução da pigmentação da massa cinzenta [Reis *et al.* 2010]. Outros sintomas relacionados à exposição por Mn são a redução do crescimento e ganho de peso de animais, anemia, lesões gastrointestinais e aumento de ésteres e triglicerídeos no sangue [Reis *et al.* 2010]. O Mn apresenta baixo tempo de meia-vida no sangue, não acumula em órgãos como coração, rins e músculos, tem uma excreção preferencial pelas fezes após ser metabolizado no fígado e eliminado pela vesícula biliar e se acumula no fígado e ossos [O’Neal & Zheng, 2015, Reis *et al.*, 2010]. Portanto, amostras de sangue, urina, músculos e rins não são adequadas para avaliação de contaminação por Mn, sendo neste caso utilizadas amostras de fígado [O’Neal & Zheng, 2015, Reis *et al.*, 2010].

g) **Mercúrio** – é um elemento altamente tóxico, sendo liberado ao meio ambiente na sua forma elementar ou inorgânica, onde é posteriormente convertido a sua forma orgânica predominante de metilmercúrio (MeHg) por ação de bactérias redutoras de sulfato e ferro [Bampidis *et al.*, 2013, Basri *et al.*, 2017, Evers, 2018]. Sua toxicidade e toxicocinética são altamente dependentes da espécie que se encontra esse elemento [Bampidis *et al.*, 2013]. Por exemplo, a espécie elementar (Hg^0) é preferencialmente absorvida por vias aéreas (80%), enquanto as inorgânicas são pouco absorvidas (10-30%) por via oral e o MeHg é altamente absorvido (>80%) no sistema gastrointestinal [Bampidis *et al.*, 2013]. Bem como, após absorção o Hg^0 é oxidado na corrente sanguínea a $Hg(II)$, o qual se acumula principalmente nos rins e em menor extensão no fígado, sendo excretado pela urina ou pelas fezes [Bampidis *et al.*, 2013]. Entretanto, a taxa de conversão de MeHg a $Hg(II)$ é baixa nos glóbulos vermelhos e em diversos tecidos, o que leva a sua bioacumulação, especialmente nos rins e conseqüentemente a sua biomagnificação através da cadeia alimentar [Bampidis *et al.*, 2013, Basri *et al.*, 2017, Evers, 2018]. A excreção do MeHg não é eficiente, uma



vez que é eliminado através na bile, mas é reabsorvido no intestino, o que leva a circulação entero-hepática do MeHg [Bampidis *et al.*, 2013]. Dentre todas as espécies, o MeHg tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e placentária, causando sérios danos ao cérebro e embriões como observado em bezerros com polioencefalomalácia (apatia, descoordenação, cegueira progressiva e convulsões) [Bampidis *et al.*, 2013]. Os gatos estão entre os animais mais sensíveis à toxicidade ao MeHg, apresentando sintoma como: salivação excessiva, marcha atáxica, convulsões e alteração de comportamento, que também ocorrem em outros animais como porcos e cachorros [Bampidis *et al.*, 2013, Beck *et al.*, 2020]. Além de acumular nos rins, que acarreta na sua falência, o mercúrio também se acumula no fígado, nos pelos e no sangue de mamíferos, matrizes que podem ser utilizadas na avaliação da exposição dos animais às espécies de mercúrio [Basri *et al.*, 2017].

h) **Zinco** – é um elemento essencial e importante em muitos processos biológicos, sendo considerado pouco tóxico à bovinos, ovinos e suínos, apesar de haverem relatos de casos naturais de toxicidade por Zn nestes animais e em macacos e furões [Reis *et al.*, 2010, Allen *et al.*, 1983]. Os sintomas dependem da fonte e tempo de exposição, podendo variar de desidratação, desequilíbrio eletrolítico, náuseas, letargia, descoordenação motora, artrite, claudicação, anemia, anorexia e perda de peso [Hill & Shannon, 2019, Reis *et al.*, 2010]. O aumento relativo de Zn foi observado no plasma, bile, coração, músculos, rins e fígado de bezerros expostos a uma dose de 1000 mg/kg [Reis *et al.*, 2010]. Dentre os órgãos, o pâncreas é o mais afetado devido à excreção preferencial de Zn no suco pancreático, porém são observadas lesões nos rins apesar deste elemento ser pouco observado na urina [Allen *et al.*, 1983, Straube *et al.*, 1980]. Os danos aos rins estão relacionados à capacidade deste de acumular Zn em enzimas metal-ligantes específicas conhecidas como metaloteínas que também estão presentes na mucosa do intestino e do fígado [Straube *et al.*, 1980]. Neste contexto, amostra de fígado e rins são as preferencialmente utilizadas na confirmação do intoxicação de animais por Zn [Reis *et al.* 2010].

A determinação destes metais em amostras biológicas é importante devido à toxicidade que apresentam para animais. Os resultados dessas análises químicas podem corroborar observações histopatológicas e assim, estabelecer relações causa/efeito. Entretanto, alguns destes contaminantes podem ter diferentes origens (por exemplo, o uso de rações, suplementos e medicamentos para animais domésticos) e isso dificulta o estabelecimento de umnexo causal entre a intoxicação e uma fonte de contaminação específica. Por isso, é interessante avaliar a presença de outros elementos que possam ser utilizados como traçadores químicos para associar



uma possível intoxicação com a origem dos contaminantes ambientais. Dentre estes elementos pode-se citar Li, U, V e os elementos terras raras (La, Eu, Gd, Lu, etc) que podem ser encontrados em rejeitos de mineração de ferro e são menos associados a outras fontes de contaminação. Se necessário, estratégias mais sofisticadas como as análises de razão isotópica poderão ser utilizadas para complementar os estudos aqui propostos.

Destaca-se que amostras biológicas diferentes são utilizadas para avaliar exposições de curto prazo (recentes) e de médio e longo prazo (crônicas). O sangue é um sistema de transporte e circulação, fornecendo minerais, elementos traço e metais tóxicos aos tecidos. Em animais de porte médio, os metais circulam na corrente sanguínea por aproximadamente 72 horas, sendo então naturalmente excretados ou depositados em vários tecidos do animal (bioacumulados) [Ramaiah & Nabity, 2007]. De uma forma geral, o tempo é dependente da espécie e porte, mas a concentração de metais no sangue está relacionada com exposições de curto prazo. Para exposições de médio e longo prazo, quando possível/disponível são utilizados órgãos de acúmulo (fígado, rins) ou pelos e penas, que a medida que crescem retêm as espécies tóxicas em sua estrutura e fornecem um histórico da exposição.

2. OBJETIVO GERAL

Determinar a presença e concentração de metais e metalóides em amostras biológicas coletadas de animais silvestres e domésticos na bacia do Rio Paraopeba.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Desenvolver e validar métodos de “varredura” para detecção (identificação) de metais e metalóides (prioritariamente Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Fe, Mn, Ni, V, U e Zn), nas seguintes matrizes biológicas coletadas de animais silvestres e domésticos: fezes, fígado, pelos e penas.

b) Desenvolver e validar métodos analíticos para quantificação de metais e metalóides (prioritariamente Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Fe, Mn, Ni, V, U, Zn e elementos terras raras) nas seguintes matrizes biológicas coletadas de animais silvestres e domésticos: fezes, pelos, penas, sangue, soro, leite, fígado, rim e músculo.

c) Determinar a presença e concentração de metais e metalóides nas matrizes biológicas coletadas de animais silvestres e domésticos (pelos, penas, fezes, sangue, soro, leite, fígado, rim e músculo) nas chamadas de coleta nº 5/2019, 6/2019 e 7/2019.



d) Utilizar ferramentas quimiométricas para auxiliar na interpretação dos resultados e na avaliação de possíveis correlações entre amostras e elementos determinados.

e) Avaliar e estimar possíveis interferências da contaminação por metais e metaloides na vida de animais silvestres, na saúde dos animais domésticos e na saúde humana oriunda da ingestão de produtos de origem animal, tendo como referência a área atingida pelo rompimento da Barragem B1 da Mineradora Vale em Brumadinho.

f) Discutir os resultados obtidos nesta proposta conjuntamente com aqueles obtidos de outros subprojetos relacionados à determinação de metais e metaloides em outras matrizes (águas, sedimentos, solos, rejeitos e material particulado).

3. METODOLOGIA

3.1. Amostras e materiais de referência certificados (MRC)

3.1.1. Amostras brancas e MRCs

Para o desenvolvimento e validação dos métodos de varredura e métodos quantitativos serão utilizadas amostras brancas (tecidos e fluídos obtidos de animais não expostos à contaminação). Essas amostras serão cedidas por professores da Escola de Veterinária da UFMG e/ou pelo Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Pedro Leopoldo.

Na etapa de validação, para avaliar a veracidade dos métodos propostos serão utilizados os seguintes MRC's: fígado bovino (ERM - BB185 e NIST SRM-1577c), rim suíno (ERM - BB186), sangue bovino (ERM-CE196), músculo bovino (BOVM-1), sangue caprino (NIST SRM-955C) e leite em pó (ERM-BD151). Não estão disponíveis comercialmente materiais de referência certificados (MRC) de pelo e penas. A composição química de pelos e penas de animais e cabelos humanos é semelhante, sendo constituídos majoritariamente por queratina. Desta forma, na validação do método para penas e pelos será utilizado o MRC de cabelo humano (ERM-DB001). Trabalhos da literatura reportam o uso de MRC de cabelo humano para validação de métodos para análise de pelos e penas [Madejo, Domínguez & Murillo, 2009; Borghesi et al. 2017].



3.1.2. Amostras da área de estudo

As amostras analisadas neste projeto serão fornecidas pelo CTC, após coletas realizadas por outros 3 projetos. O número estimado de animais e matrizes coletadas em cada projeto são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Número da chamada, número estimado de animais

Chamada	Número estimado de animais	Tipo de animal	Amostras biológicas coletadas
05/2019	125	Animais Silvestres	Pelos, penas, sangue, soro, leite e fezes
06/2019	900	Animais silvestres e domésticos	Fígado, rim, músculo e conteúdo estomacal
07/2019	11194	Animais domésticos	Pelos, sangue, soro, leite e fezes
Total	12219		

Fonte: Edital da Chamada Induzido N° 25

Considerando o grande número e diversidade de amostras e o curto tempo disponível, a equipe propõe algumas estratégias para viabilizar a execução da proposta. Uma síntese das estratégias (fluxograma) é apresentada nos Anexos IA, IB e IC. Serão priorizadas para uma avaliação inicial matrizes que possam ser relacionadas com diferentes tempos de exposição (curto e médio-longo prazos), Para as exposições de curto prazo serão analisados sangue (animais vivos) e conteúdo estomacal (animais mortos). Para avaliação da exposição de médio-longo prazo, serão analisados tecidos onde ocorre bioacumulação dos metais: pelos ou penas para animais vivos e fígado para animais mortos.

Além disso, para amostras post mortem (cerca de 900 animais) e de animais domésticos vivos (cerca de 12.000 animais) será necessário lançar mão de métodos para pré-seleção de amostras. Nesse sentido foram propostos os métodos de *screening* para fígado (post mortem) e pelos (animais domésticos). Os métodos de *screening* (ou varredura) são métodos rápidos usados para uma avaliação preliminar e visam identificar e selecionar, a partir de um grande conjunto inicial, as amostras que contêm um ou mais analitos acima de um nível de concentração pré-estabelecido. O objetivo destes métodos é minimizar procedimentos preliminares demorados e a necessidade do uso permanente de instrumentos mais sofisticados, permitindo assim a análise de um grande número de amostras em tempo hábil. Desta forma, somente as amostras para as quais o *screening* forneceu uma resposta positiva confiável, serão analisadas pelos métodos analíticos convencionais, que por sua vez fornecerão resultados quantitativos [Nascentes, 2002]. Vale ressaltar que além de serem rápidos,



os métodos de *screening* devem possuir sensibilidade adequada para detectar baixas concentrações dos contaminantes, sendo capazes de identificar qualquer nível de intoxicação dos animais.

Outra estratégia proposta para a análise de amostras de sangue e pelos dos animais de produção será a análise de amostras compostas, que é uma forma tecnicamente viável para avaliação de um grande número de amostras em tempo hábil, considerando também a utilização dos equipamentos do CRA-UFMG por outros subprojetos. As amostras compostas (*pool*) serão formadas por sangue e pelo de animais ($n \leq 10$) criados em uma mesma propriedade rural e, a princípio, expostos às mesmas fontes de contaminação. Se concentrações maiores do que o esperado (considerando-se a diluição das amostras e os valores de referência para cada elemento) forem obtidas, todas as amostras que compuserem o *pool* serão analisadas individualmente.

Acredita-se que essas estratégias serão eficientes para identificar possíveis contaminações e intoxicações nos animais avaliados.

I – Amostras coletadas a partir de animais silvestres vivos (estimativa de 125 animais) Como neste caso a diversidade de animais deve ser maior, serão analisados sangue (exposição recente) e pelos ou penas (exposição prolongada) de todos os animais. Os métodos quantitativos (diluição para sangue e digestão ácida para pelos/penas, com posterior análise por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado - ICP-MS) serão utilizados. As amostras de fezes serão analisadas para os animais que não tem pelos ou penas (como reptéis e anfíbios) para complementar a avaliação de uma eventual contaminação desses animais. Neste caso também será utilizado o método quantitativo (digestão ácida e análise por ICP-MS). Será desenvolvido também um método quantitativo para determinação de Hg em matrizes biológicas empregando analisador direto de mercúrio (DMA) que será utilizado para análise de pelos, penas e fezes de todos os animais silvestres. Não é tecnicamente recomendada a utilização de procedimentos de digestão para determinação de mercúrio, devido à baixa temperatura de volatilização. As outras matrizes disponíveis (como soro, leite e fezes dos animais com pelos e penas) poderão ser analisadas para os animais que apresentarem níveis elevados de algum elemento nas matrizes analisadas inicialmente. Para essas amostras não serão utilizados métodos de varredura para pré-seleção. Ver Anexo IA.



II – Amostras coletadas a partir de animais silvestres e domésticos, *post-mortem* (estimativa de 900 carcaças): a princípio, as amostras de fígado de todos os animais serão submetidas ao método de **screening** por fluorescência de raios-X por reflexão total (TXRF). As amostras que apresentarem valores elevados de algum dos elementos avaliados serão analisadas pelos métodos quantitativos (ICP-MS e DMA para Hg). Caso na análise quantitativa do fígado se verifique níveis elevados de algum elemento, as outras matrizes (rim e músculo) também serão analisadas. A análise do conteúdo estomacal (CE) é muito utilizada em casos de envenenamento e intoxicação aguda, quando muitas vezes é possível identificar fragmentos do agente tóxico no CE. Para isso, a coleta tem que ser realizada de forma criteriosa e o registro realizado na ficha da amostra. **Desta forma, a análise do CE será realizada sempre que solicitada pela equipe do subprojeto 6 que realizará a necropsia e nestes casos, será empregado o método quantitativo que envolverá digestão ácida em micro-ondas e análise por ICP-MS. Ver Anexo IB**

III – Animais domésticos (estimativa de 11194 animais) – Os animais domésticos são divididos em animais de companhia (cães e gatos) e animais de produção (bovinos, equinos, suínos, caprinos e ovinos).

III.a. Animais de companhia (425, sendo 1/domicílio) - Neste caso, é importante que as amostras de todos os animais sejam analisadas, pois as fontes de exposição podem ser diferentes. As amostras de sangue serão submetidas ao método quantitativo (diluição e análise por ICP-MS) e as de pelo serão submetidas ao método de varredura por TXRF. As amostras de pelo que apresentarem níveis elevados dos analitos, serão analisadas pelos métodos quantitativos (ICP-MS e DMA). **Ver Anexo IC.**

III.b. Animais de produção (10769 animais) – A distribuição de animais por espécie está apresentada no Quadro 2.

Quadro 2 – Número de animais de produção que serão coletados por espécie.

Espécie	Número de animais a serem coletados
Bovinos	8599
Equinos	1346
Suínos	539
Ovinos	14
Total	10769



As amostras dos animais de produção serão coletadas em diferentes propriedades, sendo que o número de animais/propriedade depende do tamanho do rebanho. Considerando a inviabilidade de analisar todas as amostras (por limitações de tempo, custo e equipamentos) e que animais de mesma espécie e mesma propriedade devem estar sujeitos as mesmas fontes de exposição, sugere-se inicialmente preparar um *pool* entre amostras coletadas de uma mesma propriedade. O *pool* será preparado com no máximo 10 amostras (sempre de uma mesma propriedade), em quantidades iguais. Por exemplo, para compor um *pool* de amostras de sangue, serão misturados 100 uL de 10 diferentes amostras (perfazendo 1,0 mL), que serão homogeneizados em vortex e encaminhados para análise por ICP-MS. A mesma estratégia será utilizada para amostras de pelo, mas nesse caso a mistura será feita em massa e não volume. Quando a análise do *pool* indicar concentrações relevantes/anormais dos analitos, todas as amostras que compuseram o *pool* serão analisadas individualmente. As análises dos *pools* de sangue serão realizadas pelo método quantitativo (diluição e análise por ICP-MS) e das amostras de pelo por extração e TXRF (método de varredura). As análises individuais de sangue e pelo serão realizadas pelos métodos quantitativos (ICP-MS e DMA). **Ver Anexo IC.**

3.2. Pré-tratamento das amostras

Algumas amostras precisam ser submetidas a pré-tratamentos antes das análises. Esses procedimentos serão realizados com uma quantidade de amostra suficiente para as análises tanto pelos métodos de varredura quanto pelos métodos quantitativos. As amostras brancas também serão submetidas aos mesmos procedimentos.

As amostras de fígado, rins e músculo serão trituradas e homogeneizadas em Ultra-turrax tube com esferas de vidro (que permite trabalhar com pequenas quantidades, sem risco de contaminação das amostras por partes metálicas normalmente presentes em outros moinhos). A pasta obtida será armazenada em freezer.

As amostras de penas e pelos requerem uma etapa de pré-tratamento para remover contaminantes exógenos que podem ficar aderidos a elas e conduzir a resultados superestimados. Para lavagem dos pelos será utilizado um procedimento padronizado recomendado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) que utiliza acetona e água (IAEA, 1978). As amostras de pena também serão lavadas com água e acetona, de acordo com procedimento descrito por J. Burger et al., 1993. Após a etapa de lavagem as amostras serão secas em capela de fluxo laminar.



As amostras de pelos e penas também precisam ser cominuídas para os métodos de varredura e quantitativo. Nesse sentido será avaliada a viabilidade de moagem utilizando o moinho criogênico disponível no CRA. Acessórios serão adquiridos para possibilitar um aumento da frequência analítica, pois o sistema (tubo e barra magnética) tem que ser descontaminado entre uma amostra e outra.

As amostras de fezes poderão ser homogeneizadas manualmente com espátulas de plástico ou no Ultra-turrax, dependendo do tipo de animal, aspecto, consistência e quantidade de amostra disponível.

As amostras de sangue, soro e leite serão analisadas após homogeneização em vortex.

3.3. Métodos de *Screening*

Como já mencionado, os métodos de *screening* devem ser mais rápidos que os métodos quantitativos e são utilizados quando se tem um grande número de amostras, sem informações prévias da presença ou não dos analitos. Neste projeto esses métodos serão utilizados para amostras que requerem digestão ácida em forno de micro-ondas, que é a etapa limitante do processo analítico, em termos de tempo e também de custos. Assim, foram propostos métodos de *screening* para as amostras de fígado, penas e pelos.

3.3.1. Amostras de Fígado

O método de varredura para amostras de fígado será baseado na extração em meio ácido ou alcalino, e análise por TXRF. Para otimização do método, a amostra branca será triturada e homogeneizada em Ultra-turrax tube e fortificada com concentração conhecida dos analitos, novamente homogeneizada e armazenada à -20 °C. Uma pequena massa (entre 50 e 100 mg) será pesada em microtubos de 2,0 mL nos quais será adicionado um pequeno volume (de 100 a 500 µL) de HNO₃ 65% ou de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH). A mistura será homogeneizada em vortex e então serão adicionados água ultrapura e o padrão interno. Após homogeneização, uma alíquota do extrato será depositada nos discos de quartzo, que serão secos em estufa e analisados por TXRF. Algumas condições serão otimizadas empregando planejamento de experimentos: massa de amostra, volume e concentração de TMAH ou HNO₃, tipo e concentração do padrão interno. A melhor condição será validada de acordo com o descrito no item 3.4.1.



3.3.2. Amostras de pelo e penas

O método de varredura para pelos e penas será baseado na extração ácida ou alcalina usando HNO_3 ou TMAH e análise por TXRF. Para otimização, amostras brancas lavadas e moídas de acordo com os procedimentos descritos no item 3.2 serão fortificadas com concentrações conhecidas dos elementos de interesse. Após a fortificação, as amostras serão secas e utilizadas para a otimização do método. As variáveis avaliadas serão: massa de amostra, volume e concentração de TMAH e HNO_3 , tempo de contato, tipo e concentração do padrão interno. Planejamento de experimentos também será utilizado visando diminuir o número de experimentos e tempo necessário para a otimização. A melhor condição será validada (item 3.5.1) e aplicada para a análise das amostras coletadas de animais da região impactada, de acordo com o descrito anteriormente.

3.4. Métodos quantitativos

3.4.1 Sangue

O método quantitativo para sangue será baseado no guia de preparo para amostras clínicas para análise por ICP-MS (Agilent, 2020). Por ser um método relativamente simples, optou-se por realizar diretamente o método quantitativo, sem utilizar a estratégia de selecionar as amostras por um método de varredura. O método consiste em diluir as amostras (fator de diluição de 10 vezes) com uma solução aquosa contendo 4% de butanol, 0,01% de EDTA, 0,01% de Triton X-100 e 1% de TMAH, adicionando também o padrão interno. Após a diluição e homogeneização, a amostra pode ser analisada diretamente por ICP-MS. O método será validado de acordo com o procedimento descrito no item 3.5.2, utilizando amostras brancas de sangue bovino e o MRC de sangue bovino (ERM - CE196).

3.4.2 – Fígado, rins, músculo, penas, pelos, leite e fezes

O método quantitativo para as essas matrizes será baseado na digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e posterior análise por ICP-MS. Para isso serão adquiridos pelo projeto dois rotores com 40 frascos de 25,0 mL que são compatíveis com o forno de micro-ondas disponível do CRA (Micro-ondas MARS in touch 6+ - CEM). Esse rotor apresenta boa frequência analítica (40 amostras/rodada) e permite digerir pequenas massas de amostra (em torno de 100 mg), consequentemente reduzindo o volume de ácido nítrico necessário para a digestão (1,0 a 2,0 mL). Para



análises por ICP-MS, os digeridos não devem ter acidez elevada, para não danificar o equipamento, sendo necessário muitas vezes aplicar um alto fator de diluição para adequar a acidez da amostra. Esse rotor permitirá trabalhar com uma diluição menor do que seria necessário nos rotores disponíveis no CRA, que têm frascos de 100,0 mL e são mais indicados para massas e volumes de ácido maiores. Diluições menores resultam em limites de quantificação do método mais baixos, o que é desejável para determinação de elementos traço em materiais biológicos.

Inicialmente o método será desenvolvido para fígado, sendo otimizados os parâmetros: volume de ácido e o programa de aquecimento (tempo e temperatura de digestão). Após a otimização o método será validado de acordo com o descrito no item 3.5.2. Para as matrizes de rim e músculo será avaliada a possibilidade de se realizar uma extensão de escopo do método desenvolvido e validado para fígado, **de acordo com o estabelecido pela Guia de Garantia da Qualidade do MAPA (MAPA, 2011). Caso os parâmetros de validação para rim e músculo não atendam aos critérios de aceitabilidade, o método de digestão será ajustado para essas amostras e o método será completamente validado.**

Métodos de digestão ácida e análise por ICP-MS também serão otimizados e validados para leite e fezes separadamente, por se tratarem de amostras com composições distintas.

Pretende-se desenvolver e validar um único método de digestão que possa ser utilizado para análise de penas e pelos, **considerando que são amostras com composição química semelhante.**

3.4.3. Método de análise direta para determinação de Hg

Os procedimentos de digestão ácida não são indicados para determinação de Hg, pois a baixa temperatura de volatilidade deste elemento pode resultar em perdas e valores subestimados. Como o CRA dispõe de um DMA, será desenvolvido um método quantitativo para Hg empregando essa técnica, que permite análise direta de amostras sólidas, pastosas e líquidas. Para isso, serão otimizados: massa da amostra, o tempo e a temperatura da etapa de secagem da amostra, tempo e temperatura da etapa de pirólise da amostra. A vantagem do uso desta técnica será a possibilidade de otimização desses parâmetros para utilização em todas as matrizes a serem estudadas, o que não é, geralmente, possível com outras técnicas. Vale destacar ainda que o instrumento analítico DMA-80 apresenta diversas vantagens como, menor utilização de reagentes para digestão das amostras e geração de resíduos; possui baixos limites de detecção e quantificação, dentre outras.



A calibração do equipamento é realizada partindo de solução padrão de 1000 mg L⁻¹ de Hg²⁺. Dessa, duas outras soluções são preparadas: 10 e 100 µg L⁻¹. Volumes apropriados desses padrões são inseridos no DMA-80, obtendo uma concentração absoluta em ng. A curva analítica, portanto, é construída em faixa de menor concentração, concentração intermediária e concentração alta.

3.5. Validação dos métodos

A validação dos métodos visa garantir a qualidade metrológica dos resultados analíticos, conferindo-lhes rastreabilidade, comparabilidade e confiabilidade. Para isso, é importante também que todas as análises sejam realizadas seguindo protocolos do sistema de gestão de qualidade (equipamentos e materiais de medição calibrados por laboratórios certificados, uso de padrões de referência rastreáveis, controle e registro contínuo de condições ambientais e desempenho dos equipamentos, dentre outros). Para isso foram previstos no orçamento do projeto serviços de calibração e certificação, serviços de manutenção de equipamentos, além da aquisição de vidrarias calibradas, equipamentos de medição de condições ambientais, padrões de referência rastreáveis, materiais de referência certificados, etc. A confiabilidade, comparabilidade e rastreabilidade de resultados analíticos é importante em diversas situações, mas em casos que envolvam tomadas de decisão e questões judiciais, como o presente projeto, é *conditio sine qua non*.

Para execução deste projeto, o Manual de Garantia da Qualidade Analítica em Resíduos e Contaminantes de Alimentos, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011) será utilizado para a validação dos métodos quantitativos. Para os métodos de varredura, a validação será baseada na Diretiva da Comunidade Europeia Commission Decision 2002/657/EC (EC, 2010).

3.5.1. Métodos de Varredura

De acordo com a Diretiva da Comunidade Europeia Commission Decision 2002/657/EC a validação para os métodos de varredura estabelece os seguintes critérios (EC, 2010):

- 1 – seletividade
- 2 - capacidade de detecção
- 3 – limite de corte
- 4 - aplicabilidade
- 5 - robustez



Para estabelecer os limites de corte, valores considerados normais e abaixo dos quais não será necessário realizar a análise quantitativa, serão utilizados valores de referência como os reportados pelo Atlantic Veterinary College da Universidade de Prince, Canada (ANEXO II) e de outros trabalhos científicos disponíveis na literatura.

3.5.2. Métodos Quantitativos

Os parâmetros a serem calculados durante o processo de validação dos métodos quantitativos de sangue, fígado, leite e penas/pelos são (MAPA, 2011):

1. Linearidade;
2. Seletividade e Efeito de Matriz;
3. Limite de detecção;
4. Limite de quantificação;
5. Precisão (repetitividade e reprodutibilidade intralaboratorial);
6. Recuperação/veracidade;
7. Robustez;
8. Incerteza de Medição.

As otimizações e validações iniciais serão sempre realizadas com a matriz mais abundante (maior número de animais coletados ou maior número de análises requeridas). Por exemplo, para sangue serão utilizadas as amostras de bovinos. Após a validação, será realizada a extensão de escopo para o sangue de outros animais e para soro. A extensão de escopo também será realizada para rins e músculo, a partir do método desenvolvido e validado para fígado. Para a inclusão de novas matrizes em procedimentos analíticos validados serão avaliados os parâmetros: seletividade/efeito de matriz, veracidade/recuperação e repetitividade, como preconizado pelo manual do MAPA (MAPA, 2011)

3.6. Análise das amostras da região impactada

Após o desenvolvimento e validação dos métodos, as amostras disponibilizadas pelo CTC serão analisadas de acordo com as estratégias descritas no item 3.2.

Vale ressaltar que todas as análises serão realizadas dentro dos requisitos do Sistema de Qualidade previstos pela ISO 17025.

3.7. Tratamento estatístico dos dados

Todo o tratamento dos dados da validação (curvas de calibração, precisão, veracidade, cálculo de incertezas, etc) será realizado no Excel. O tratamento dos



dados das amostras analisadas será realizado nos softwares dos equipamentos utilizados (TXRF e ICP-MS) e também no Excel. Correlações de Pearson também serão avaliadas buscando estabelecer correlações entre os metais e metalóides encontrados nas diferentes matrizes.

Considerando o grande número de amostras e possivelmente de analitos é importante utilizar estratégias adicionais para interpretação dos dados. Assim, além do tratamento estatístico convencional, serão utilizadas algumas ferramentas quimiométricas exploratórias visando avaliar principalmente a similaridade entre amostras e a correlação entre variáveis. Dentre essas ferramentas destaca-se a Análise por Componentes Principais (PCA) e a Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA).

As análises dos gráficos obtidos (scores e pesos para PCA e dendogramas para HCA) permitirão estimar a influência de cada variável em cada amostra, assim como avaliar e correlacionar as amostras, em função do tipo de animal, local de amostragem, etc. O tratamento de dados será feito empregando o software Matlab (MathWorks, Natick, EUA) e o pacote PLS toolbox (Eigenvectors Research Inc., Manson, EUA).

4. PRODUTOS

Todos os dados produzidos no escopo do projeto observarão as especificações técnicas para a produção e entrega de documentos para publicação que constam no Anexo III desta chamada.

a) Relatório do desenvolvimento e validação dos ensaios de detecção e quantificação de metais e metalóides para cada analito e matriz biológica analisada.

b) Relatório técnico descrevendo a detecção e concentração de metais e metalóides nos espécimens biológicos de animais silvestres e domésticos analisados. Esse será consubstanciado e descreverá se os níveis de metais e metalóides encontrados estão acima do normal e conferem risco aos animais e as pessoas que fizerem a ingestão dos produtos de origem animal (leite, carne etc.), oriundos desses.

c) Relatório com discussão consubstanciada apresentando a comparação das concentrações obtidas nas amostras coletadas de animais da região impactada com tabelas de referência (como da Atlantic Veterinary College da Universidade de Prince, Canada e de outros trabalhos científicos); e correlação entre as concentrações dos



metais e metaloides nas matrizes biológicas e outras matrizes ambientais da região em estudo, que já tenham sido divulgadas por outros subprojetos (água, solo, material particulado, etc).

d) Relatório com os resultados consolidados para a equipe do CTC e as partes interessadas, em linguagem de texto e/ou de imagem, e/ou som adequada a públicos não especializados.

5. CRONOGRAMA

Atividades	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Aquisição de materiais	X	X										
Treinamento da equipe nos equipamentos do CRA	X											
Reuniões com supervisor, equipes de coleta e equipe do CRA ^a	X		X		X		X		X		X	
Pré-tratamento das amostras de penas, pelos, fígado, músculos e rins	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Desenvolvimento e validação do método quantitativo para sangue		X	X									
Desenvolvimento e validação do método de varredura para fígado		X	X									
Desenvolvimento e validação do método de varredura para pelos e penas			X	X								
Desenvolvimento e validação do método quantitativos para figado, rins e músculo			X	X								
Desenvolvimento e validação do método quantitativo para pelos e penas			X	X								
Desenvolvimento e validação dos métodos quantitativos para leite e			X	X	X							



fezes													
Análise das amostras de animais silvestres vivos				X	X	X							
Análise das amostras post-mortem de animais domésticos e silvestres				X		X		X	X	X	X		
Análise das amostras de animais domésticos de companhia (cães e gatos)						X	X						
Análise das amostras de animais domésticos de produção					X	X	X	X	X	X	X		
Elaboração de relatórios de validação		X	X	X	X								
Elaboração e entrega de relatórios técnicos consubstanciados				X				X					X
Elaboração de relatório com resultados consolidados				X				X					X

^a Essas reuniões visam ajustar detalhes que garantam a execução do projeto, como obtenção de informações sobre as amostras, organização para uso compartilhado da infraestrutura do CRA-UFMG; atendimento aos requisitos do Sistema de Gestão de Qualidade, etc.

6 - EQUIPE

Para execução da proposta, a equipe será formada por 5 **professores**, 2 pós-doutores, 4 alunos de doutorado, 2 alunos de mestrado e 3 alunos de iniciação científica. O projeto envolve o desenvolvimento e validação de vários métodos (varredura e quantitativo para diferentes matrizes) e posteriormente a análise de um grande número de amostras, como descrito na metodologia. Para execução deste projeto em 12 meses, muitos métodos terão que ser desenvolvidos e aplicados simultaneamente e para isso propõe-se a formação de 4 grupos:

1º - Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise das amostras de sangue e soro

Thiago Marques Linhares (pós-doc), Igor Forattini P. C. Noronha (doutorado), bolsista à definir (IC)

2º – Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura e quantitativo para análise de amostras de pelo e penas



Ana Beatriz Santos da Silva (pós-doc), Cassiano Lino dos Santos Costa (doutorado) e Amanda Cristina Soares Coelho (mestrado)

3º Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise de fígado, rins e músculo

Thiago Marques Linhares (pós-doc), Guilhermina de Oliveira Souza (mestrado), Giovani Duarte Lanza (IC)

4º – Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para análise de amostras de fígado e quantitativo para amostras de leite

Ana Beatriz Santos da Silva (pós-doc), bolsista de doutorado (a definir) e Gustavo Gonzaga Monteiro Elyseu (IC)

Além dos grupos acima, a equipe contará com uma bolsista (Ana Gabriella Carvalho Miguita) para auxiliar no tratamento quimiométrico dos dados gerados por todos os grupos.

O acompanhamento rotineiro do trabalho das equipes será realizado principalmente pela coordenadora (Profa. Clésia Nascentes) e pelo Prof. Guilherme Dias Rodrigues. O Prof. Marcelo Martins de Sena ficará responsável pelo tratamento quimiométrico dos dados e acompanhará as atividades da bolsista Ana Gabriella Miguita. A Profa. Elionai Gomes ficará responsável por produzir informações/conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho e auxiliar na elaboração dos relatórios parciais e finais. A Profa. Maria José vai auxiliar na discussão dos resultados sob o ponto de visto toxicológico

Os planos de trabalho dos bolsistas (ANEXO III) detalha as atividades que serão realizadas por cada um.

Nome	Nível	Atividades	CHS
Profa. Clésia Cristina Nascentes http://lattes.cnpq.br/0354323372008275 Departamento de Química - UFMG	Pesquisadora (Coordenadora)	Coordenar compras, contratação de serviços de terceiros, treinamento da equipe, acompanhamento das atividades de desenvolvimento e validação de métodos e análises das amostras, orientação dos alunos, elaboração de relatórios,	7



		receber demandas externas	
Prof. Guilherme Dias Rodrigues http://lattes.cnpq.br/8226609855788662 Departamento de Química - UFMG	Pesquisador	Acompanhamento das atividades de desenvolvimento e validação de métodos e análises das amostras, orientação dos alunos,	6
Prof. Marcelo Martins de Sena http://lattes.cnpq.br/7050638697696950 Departamento de Química - UFMG	Pesquisador	Acompanhamento e orientação da estudante responsável pelo tratamento quimiométrico dos dados	4
Profa. Elionai Cassiana de Lima Gomes http://lattes.cnpq.br/2765845361461091 Departamento de Química - UFMG	Pesquisadora	Produção de informações/ conteúdos sobre o Subprojeto que serão publicadas no site da Plataforma Brumadinho, conferência de planilhas de dados, elaboração de relatórios	4
Profa. Maria José Nunes de Paiva http://lattes.cnpq.br/3220121649467009 Departamento de Análises Toxicológicas – Faculdade de Farmácia-UFMG	Pesquisadora	Avaliação e discussão dos resultados obtidos considerando aspectos toxicológicos	2
Dr. Thiago Linhares Marques ^a http://lattes.cnpq.br/0207548032522769	Pós-doc júnior	Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise das amostras de sangue, fígado, rins e músculo	40
MSc. Ana Beatriz Santos da Silva ^{a,b} http://lattes.cnpq.br/5816161183502861	Pós-doc júnior	Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para fígado e penas/pelo e quantitativo para análise de amostras de pelo/penas e leite	40
MSc. Igor Forattini Prates Carvalhais Noronha	Doutorado	Desenvolvimento, validação e aplicação do	20



http://lattes.cnpq.br/6014200816202529		método quantitativo para análise das amostras de sangue e soro	
MSc. Cassiano Lino Santos Costa http://lattes.cnpq.br/2389064143962142	Doutorado	Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura e quantitativo para análise de amostras de pelo e penas	15
MSc. Ana Gabriella Carvalho Migueta http://lattes.cnpq.br/0238992764652780	Doutorado	Tratamento dos dados gerados por todos os grupos, utilizando ferramentas quimiométricas	15
Bolsista de doutorado A definir	Doutorado	Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para análise de amostras de fígado e quantitativo para amostras de leite e fezes.	20
Guilhermina de Oliveira Souza http://lattes.cnpq.br/0086786142093130	Mestrado	Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise de fígado, rins e músculo	20
Amanda Cristina Soares Coelho http://lattes.cnpq.br/9277303338235094	Mestrado	Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura e quantitativo para análise de amostras de pelo e penas	20
Giovani Duarte Lanza http://lattes.cnpq.br/8658142745094993	Iniciação Científica	Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para análise de fígado, rins e músculo	20
Gustavo Gonzaga Monteiro Elyseu http://lattes.cnpq.br/4305145183037884	Iniciação Científica	Desenvolvimento, validação e aplicação do método de varredura para análise de amostras de fígado e quantitativo para amostras de leite	20
Bolsista à definir	Iniciação Científica	Desenvolvimento, validação e aplicação do método quantitativo para	20



		análise das amostras de sangue	
--	--	--------------------------------	--

^a Os pesquisadores Thiago Linhares Marques e Ana Beatriz Santos da Silva não residem atualmente em Belo Horizonte, mas tem disponibilidade para se mudar para a cidade para se dedicarem integralmente à execução deste subprojeto.

^bA pesquisadora Ana Beatriz Soares da Silva está com defesa de doutorado prevista para setembro de 2020.

7- ORÇAMENTOS

Tabela 7.1. Despesas com recursos humanos

Equipe	CHS	Meses	Valor Mensal (R\$)	Valor total (R\$)
Profa. Clésia Cristina Nascentes (Professor Pesquisador)	7	12	8.201,75	98.421,02
Prof. Guilherme Dias Rodrigues (Professor Pesquisador)	6	12	7.030,07	84.360,87
Profa. Elionai C. de Lima Gomes (Professor Pesquisador)	4	12	4.686,72	56.240,58
Prof. Marcelo Martins de Sena (Professor Pesquisador)	4	12	4.686,72	56.240,58
Prof. Maria José Nunes de Paiva (Professor Pesquisador)	2	12	2343,36	28.120,29
Dr. Thiago Linhares Marques (Pós doutorando)	40	12	8.386,75	100.641,00
MSc. Ana Beatriz Santos da Silva (Pós doutorando)	40	12	8.386,75	100.641,00
MSc. Igor Forattini P. C. Noronha Bolsista Estudante de Doutorado	20	12	6.314,74	75.776,88
MSc. Ana Gabriella C. Miguita Bolsista Estudante de Doutorado	15	12	4.736,06	56.832,66
MSc. Cassiano L. Santos Costa Bolsista Estudante de Doutorado	15	12	4.736,06	56.832,66
A definir Bolsista Estudante de Doutorado	20	12	6.314,74	75.776,88
A definir Bolsista Estudante de Mestrado	20	12	4.420,32	53.043,84
Amanda C. dos Santos Coelho Bolsista Estudante de Mestrado	20	12	4.420,32	53.043,84
Giovani Duarte Lanza Bolsista Estudante de Graduação	20	12	1.458,71	17.504,52
Gustavo G. Monteiro Elyseu	20	12	1.458,71	17.504,52



Bolsista Estudante de Graduação				
À definir Bolsista Estudante de Graduação	20	12	1.458,71	17.504,52
Total				962.545,80

Tabela 7.2 Materiais de consumo necessários para execução do projeto

Item	Quant.	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)	Descrição
Rotor de microondas (CEM) com 40 frascos de 25 mL de digestão ^a	2	61.407,50	122.815,00	Digestão ácida de pequenas massas de material biológico
Discos de quartzo para TXRF (pacotes com 25 unid) ^a	3	11.055,00	33.165,00	Discos para análise de fígado, penas e pelos por TXRF
Cassete para limpeza dos discos de quartzo ^a	2	3.740,00	7.480,00	Limpeza dos discos de quartzo utilizados no TXRF
Tocha de quartzo com 1,5 mm di para introdução de orgânicos no ICP-MS ^{a,b}	2	5.626,50	11.253,00	Tocha utilizada no equipamento durante a análise de amostras de sangue diluídas em butanol.
Tocha de quartzo com 2,5 mm di para ICP-MS ^{a,b}	2	3.261,50	6.523,00	Tocha utilizada no equipamento durante análise de amostras digeridas
Nebulizador MiraMist ^{a,b}	2	8.393,00	16.786,00	Introdução de amostras com alto teor de sólidos dissolvidos no ICP-MS
Nebulizador MicroMist ^{a,b}	1	4818,00	4.818,00	Introdução de amostras com baixo teor de sólidos dissolvidos no ICP-MS
Câmara de nebulização duplo-passo em quartzo para ICP-MS ^{a,b}	1	3.256,00	3.256,00	Sistema de introdução de amostras no ICP-MS
Bonet de quartzo ^{a,b}	1	1.732,50	1.732,50	Proteção do tubo de quartzo no ICP-MS
Conector de quartzo para tocha ^{a,b}	1	885,50	885,50	Conexão do nebulizador com tubo de quartzo no ICP-MS
Cone de amostragem para ICP-MS ^{a,b}	2	3.784,00	7.568,00	Peça de reposição para ICP-MS
Skimmer para ICP-MS ^{a,b}	1	3.685,00	3.685,00	Peça de reposição para ICP-MS



Anilhas de grafite para ICP-MS ^{a,b}	2	444,50	889,00	Peça de reposição para ICP-MS
Solução de Tuning (500 mL) para ICP-MS ^{a,b}	1	1.826,00	1.826,00	Ajuste dos parâmetros do ICP-MS
Solução de verificação de calibração ^{a,b}	1	4.724,50	4.724,50	Checagem de desempenho do ICP-MS
Frascos para amostrador automático ^{a,b}	2	1.633,50	3.267,00	Porta amostras para análises usando o amostrador automático
Tubos de bombeamento amostrador automático ^{a,b}	2	649,00	1.298,00	Tubos para conexão entre o amostrador automático e o sistema de nebulização do ICP-MS
Líquido refrigerador para Chiller ^{a,b}	2	1.468,50	2.937,00	Manutenção do Chiller
Filtro Chiller ^{a,b}	2	319,38	638,77	Manutenção do Chiller
Filtro para limpeza do gás ^{a,b}	2	4.064,50	8.129,00	Remoção de umidade e oxigênio do gás argônio
Óleo para bomba de vácuo do ICP-MS ^b	4	259,00	1.036,00	Manutenção da bomba de vácuo do ICP-MS
Soluções de referência para ICP-MS e TXRF (mono e multielementares)	Diversos		24.500,00	Preparo de curvas de calibração para ICP-MS, soluções de padrões internos para TXRF, estudos de adição e recuperação
Reagentes para preparo das amostras e limpeza de materiais	Diversos		65.000,00	Reagentes ácidos, alcalinos, solventes, surfactantes e sais (todos de alta pureza) que serão utilizados no preparo de todas as amostras de material biológico e na limpeza dos frascos e vidrarias utilizados na manipulação das amostras.
Balões volumétricos, pipetas e provetas calibrados com certificado da RBC	Diversos		25.000,00	Vidraria calibrada para preparação de amostras e curvas analíticas, de acordo com a ISO 17025
Frascos de centrífuga Corning de 15 mL	2	2.800,00	5.600,00	Preparo de solução e acondicionamento das amostras para leitura
Dispensadores de ácido para frascos	4	2.500,00	10.000,00	Manipulação de HNO ₃ com maior segurança
Micropipetas de	8	1.500,00	12.000,00	Preparo de soluções,



volumes variados				diluição de amostras
Frascos com bolas de vidro para o Ultra-Turrax (pacotes com 25)	2	3.500,00	7.000,00	Moagem das amostras de fígado, rins e músculo
Acessórios para moinho criogênico (kit)	1	7.000,00	7.000,00	Moagem das amostras de penas e pelos
Consumíveis para DMA	Diversos		35.000,00	Análises de Hg por DMA nos materiais biológicos.
Gases para ICP-MS (argônio, hélio)	Diversos		60.000,00	Gases para adequado funcionamento do ICP-MS
Colunas para purificador de água (ELGA)	3	2.500,00	7.500,00	Obtenção de água ultrapura para prepare de soluções e amostras
EPI's diversos (luvas, óculos, jalecos, tocas, máscaras)	Diversos		10.000,00	Proteção para os membros da equipe, na manipulação de produtos químicos e amostras biológicas.
Luva criogênia (par)	2	2.500,00	5.000,00	Proteção durante a manipulação de nitrogênio líquido
Ponteiras para micropipetas (pacote)	20	120,00	2400,00	Tomada de alíquotas de soluções e amostras
Vidrarias comuns de laboratório	Diversos		10.000,00	Béqueres, erlenmeyers, vidro de relógio, termômetros, espatulas, etc para manuseio de amostras e soluções.
Microtubos de volumes variados e frascos para armazenar amostras	Diversos		4.000,00	Manipulação e armazenamento de amostras e de digeridos.
Materiais de referência certificados de sangue bovino, fígado bovino, rim suíno,	Diversos		30.000,00	Material para verificação de veracidade dos métodos desenvolvidos
Bombonas para descarte de resíduos (diferentes tamanhos)	Diversos		3.000,00	Acondicionamento correto de resíduos químicos e biológicos para descarte
Material de escritório (folhas, pastas, etiquetas, marcadores para vidro, toner, etc)	Diversos		2.000,00	Organização de documentos, organização laboratorial, elaboração de relatórios, etc.



Frascos plásticos para armazenar soluções, pissetas, caixas plásticas para preparo de banhos ácidos parafilm, escovas de limpeza, fitas de pH, etc	Diversos		5.000,00	Armazenamento de soluções, frascos lavadores, etc.
Materiais para adequação do laboratório às normas do Sistema de Gestão de Qualidade (17025)	Diversos		8.000,00	Termômetros, pesos para balanças, termohigrômetros, materiais para identificação e organização, etc.
TOTAL			581.676,27	

^a Materiais para importação direta, valores em reais com a conversão pela cotação média dos últimos dias (1 US\$ = R\$ 5,50)

^b Justificativa para compra de acessórios para o ICP-MS: O equipamento é novo e possui parte dos periféricos. Entretanto, estão sendo solicitados tochas e nebulizadores específicos para análise de sangue após diluição e acessórios para reposição, que são extremamente importantes. O ICP-MS é o coração do projeto e temos que garantir seu perfeito funcionamento durante toda a execução da proposta. Esses acessórios sofrem desgaste e precisam ser trocados periodicamente, principalmente em condições de uso intenso do equipamento, como ocorrerá nesse subprojeto. Como será um equipamento de uso compartilhado, caso o CRA possua outros recursos para reposição de peças ou ainda se a aquisição desses mesmos acessórios foi prevista em outros subprojetos, pode-se reavaliar os itens solicitados.

Obs: Alguns dos materiais solicitados tem durabilidade maior do que o prazo de execução desta proposta e poderão ser úteis em outros projetos.

Tabela 7.3 Materiais permanentes solicitados para execução do projeto

Item	Quant.	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)	Descrição
Refrigerador de laboratório (~300 L)	1	10.000,00	10.000,00	Armazenamento de soluções de referencia, materiais de referencia certificados e amostras digeridas
Ultra-turrax tube drive	1	17.240,00	17.240,00	Moagem das amostras de fígado, rim e músculo
Estufa de aquecimento	1	3.500,00	3.500,00	Secagem de vidraria e amostras depositadas nos discos de quartzo para análise por TXRF
Agitadores Vortex	3	1.500,00	4.500,00	Homogeneização das



				amostras de sangue, de extratos das amostras sólidas e soluções em geral.
Chapa de aquecimento com agitação	2	2.000,00	4.000,00	Aquecimento e preparo de soluções, limpeza dos discos de quartzo para TXRF, etc.
Container para N2 líquido	1	6.000,00	6.000,00	Transportar nitrogênio líquido para o moinho criogênico
Microcomputador com monitor LCD, teclado e mouse	1	6.000,00	6.000,00	Tratamento de dados, elaboração de relatórios
Dessecador dry box	2	7.000,00	14.000,00	Armazenamento de MRC, de reagentes higroscópicos, etc.
Destilador de água	1	15.000,00	15.000,00	Produção de água destilada para limpeza de vidrarias e outros materiais
TOTAL			80.240,00	

Justificativa para aquisição de materiais permanentes:

Refrigerador – Apesar de o CRA dispor de refrigeradores e freezers, eles serão utilizados para o armazenamento das amostras brutas. A geladeira requerida será utilizada para armazenar as soluções de referência dos metais e metaloides e também amostras digeridas. Essas soluções são ácidas e não devem ser armazenadas conjuntamente com amostras brutas, para evitar possíveis riscos de contaminação.

Ultra-turrax tube drive – esse equipamento será utilizado para a trituração das amostras de fígado, rins e músculo de forma rápida e sem risco de contaminação (pois não tem partes metálicas). O CRA ainda não dispõe desse tipo de equipamento.

Estufa de aquecimento – o CRA não dispõe desse equipamento que é fundamental para a execução do projeto. A estufa será utilizada para secagem de materiais, limpeza de frascos do micro-ondas e secagem dos discos de quartzo contendo amostras, para análise por TXRF.

Agitadores vortex – o CRA não dispõe desses equipamentos, que serão utilizados para homogeneizar amostras líquidas e soluções.

Chapa de aquecimento – serão utilizadas para aquecimento de soluções visando solubilização e também limpeza de materiais.



Container para nitrogênio líquido – ainda não está disponível no CRA e será utilizado para transportar N2 líquido para uso no moinho criogênico

Microcomputador – será utilizado para tratamento de dados, elaboração de protocolos, etiquetas, relatórios e etc. A impressora não está sendo solicitada, pois será adquirida no projeto de coleta de águas subterrâneas.

Dessecador dry box – ainda não está disponível no CRA e será utilizado para armazenar materiais de referência certificados que não podem ser armazenados em geladeira e sais higroscópicos.

Destilador de água – o CRA dispõe de 2 purificadores de água que produzem água ultrapura. Essa água é utilizada para preparo de soluções e diluição de amostras. Entretanto, necessitamos também de água destilada para limpeza de vidrarias e outros materiais. O grande consumo de água necessário e o custo da água ultrapura inviabilizam sua utilização para limpeza.

Tabela 7.4. Despesas com serviços de terceiros e aquisição de software

Descrição	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor Total (R\$)
Calibração/qualificação de equipamentos (balanças, micropipetas, vidrarias, termômetros, pHmetros, etc) para atender aos requisitos de qualidade (ISO 17025)	Diversos	45.000,00	45.000,00
Manutenção de equipamentos (capelas de fluxo laminar, ar condicionados, nobreaks, etc)	Diversos	24.000,00	24.000,00
Licença MOffice	1	1.000,00	1.000,00
Despesas de importação (20% do valor dos rotores do micro-ondas e discos de quartzo e cassete para o TXRF e acessórios para o ICP-MS)	1	48.735,254	48.735,254
Total			118.735,25



Tabela 7.5. Orçamento consolidado do projeto considerando as taxas administrativas da UFMG, ICEX, Departamento de Química e FUNDEP.

Descrição	Valor (R\$)
Material de consumo	581.676,27
Material permanente	80.240,00
Despesas com serviços de terceiro	118.735,25
Bolsas/recursos humanos	962.545,80
Sub-total	1.743.197,32
Taxa UFMG (2%)	39.618,12
Taxa Unidade – ICEX (2%)	39.618,12
Taxa Departamento de Química (8%)	158.472,48
Total	1.980.906,04



8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Arsenic Toxicity, Case Studies in Environmental Medicine. Washington, DC: US Department of Health and Human Services; 1990.

Ali, H. and Khan, E. Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of nonessential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs—Concepts and implications for wildlife and human health. *Human and Ecological Risk Assessment*, 25(6) 1353–1376, 2019.

Allen, J.G.; Masters, H.G.; Peet, R.L.; Mullins, K.R.; Lewis, R.D.; Skirrow, S.Z.; Fry, J. Zinc toxicity in Ruminants. *Journal of Comparative Pathology*, v. 93(3), p. 363-377, Jul. 1983.

Bampidis, V.A.; Nistor, E.; Nitas, D. Arsenic, Cadmium, Lead and Mercury as Undesirable Substances in Animal Feeds. *Animal Science and Biotechnologies*, v. 46(1), p. 17-22, 2013.

Basri; Sakakibara, M.; Sera, K.; Kurniawan, I.A.; Mercury Contamination of Cattle in Artisanal and Small-Scale Gold Mining in Bombana, Southeast Sulawesi, Indonesia. *Geosciences*, v. 7 (133) p. 1-10, Dez. 2017.

Beck, A.C.; Lash, E.M.; Hack, J.B. Environmental toxic exposures using companion animals as an indicator of Human toxicity: A case report and discussion. *The Journal of Emergency Medicine*, In Press, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2020.04.026>.

Borghesi, F., Migani, F., Andreotti, A., et al. Metals and trace elements in feathers: A geochemical approach to avoid misinterpretation of analytical responses. *Science of the Total Environment* 544:476–494, 2016.

Bremner I. Manifestations of copper excess. *Am J Clin Nutr*. 67:1069S–1073, 1998.

Bro, R., Smilde, A. K. Principal component analysis. *Anal. Methods* 6:2812-2820,2014.

Connor, J.R, Pavlick, G., Karli, D., et al. A histochemical study of iron-positive cells in the developing rat brain. *J Comp Neurol* . 355:111–123,1995.

CTC-Brumadinho-UFMG, Comitê Técnico Científico do Projeto Brumadinho-UFMG, CHAMADA PÚBLICA INTERNA INDUZIDA No. 25/2020. Disponível em: <http://www.projetoBrumadinho.ufmg.br/chamadasabertas> Acessado em 25 de junho de 2020.

Dal-Pizzol, F., Klamt, F., Frota, M.L.C., et al. Neonatal iron exposure induces oxidative stress in adult Wistar rat. *Develop Brain Res*.130:109–114, 2001.



De Francisco, N., Ruiz Troya, J.D., Agüera, E.I. Lead and lead toxicity in domestic and free living birds. *Avian Pathology*, 32:3-13, 2003.

Du, Z., Hemken, R.W., Harmon, R.J. Copper metabolism of Holstein and Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate. *J Dairy Sci.* 79:1873–1880, 1996.

Evers, D. The Effects of Methylmercury on Wildlife: A Comprehensive Review and Approach for Interpretation. *Encyclopedia of the Anthropocene*, v. 5, p. 181-194, 2018.

European Commission – EC. Community Reference Laboratories residues (CRLs). Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines (initial validation and transfer). Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/Guideline_Validation_Screening_en.pdf. Acessado em 28 de junho de 2020.

Fredriksson, A., Schröder, N., Eriksson, P., et al. Neonatal iron exposure induces neurobehavioural dysfunction in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 155:25–30, 1999.

Garland, T. Arsenic, In: *Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*, Gupta, R.C. (ed). Academic Press, Nova York, 2007.

Green, I.D., Boughey, K., Diaz, A. Potentially Toxic Metals in Historic Landfill Sites: Implications for Grazing Animals. *Water Air Soil Pollut.* 225:2110-2115, 2014.

Hill, G.M. & Shannon, M.C. Copper and Zinc Nutritional Issues for Agricultural Animal Production. *Biological Trace Element Research*, v. 188 (1), p. 148-159, Jan. 2019.

Hooser, S. B. Iron. In: *Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*, Gupta, R.C. (ed). Academic Press, Nova York, 2007.

J. Burger, S. Seyboldt, N. Morganstein and K. Clark, *Environ. Monit. Assess.*, 1993, 28, 189.

Lan, J., Jiang, D.H. Excessive iron accumulation in the brain: a possible potential risk of neurodegeneration in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 104:649–660, 1997.

Lehner, A. F., Rumbelha, W., Shlosberg, A., Stuart, K., Johnson, M., Domenech, R., Langner, H. Diagnostic Analysis of Veterinary Dried Blood Spots for Toxic Heavy Metals Exposure, *J. Anal. Toxicol.* 37:406–422, 2013.

Li, H., Chen, Q., Li, S., et al. Effect of Cr(VI) exposure on sperm quality: human and animal studies. *Ann Occup Hyg.* 45(7): 505–11, 2001.



MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Manual de Garantia da Qualidade Analítica em Resíduos e Contaminante de Alimentos-MAPA, Brasília, 2011.

Madejo P., Domínguez, M. T., Murillo, J. M. Evaluation of pastures for horses grazing on soils polluted by trace elements. *Ecotoxicology* 18:417–428, 2009

Marouani, N., Tebourbi, O., Mahjoub, S., et al.: Effects of hexavalent chromium on reproductive functions of male adult rats. *Reprod Biol.* 12(2): 119–33, 2012.

O'Neal, S.L. & Zheng, W. Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*, v. 2(3), p. 315–328, Set. 2015.

Ramaiah, S.K., Nabity, M.B. Blood and boné marrow toxicity. In: *Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*, Gupta, R.C. (ed). Academic Press, Nova York, 2007.

Reis, L.S.L.S.; Pardo, P.E.; Camargos, A.S.; Oba, E. Mineral element and heavy metal poisoning in animals. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, v. 1(12), p. 560-579, Dez. 2010.

Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, Disponível em: <http://www.agricultura.mg.gov.br/index.php/component/gmg/story/3671-governo-de-minas-completa-um-ano-de-apoio-as-vitimas-e-de-aco-es-de-reparacao-apos-rompimento-de-barragem-da-vale-em-brumadinho>. Acessado em 25 de junho de 2020.

SEMAD - Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, Caderno 1 Ano, Rompimento das Barragens da Vale em Brumadinho, 2020. Disponível em: http://www.meioambiente.mg.gov.br/images/stories/2020/ACOES_RECUPERACAO_PARAOPEBA/Caderno1anoRompimento_das_barragens_de_Brumadinho.pdf. Acessado em 24 de junho de 2020.

Seimiya, Y., Itoh, H., Ohshima K.-I. Brain lesions of lead poisoning in a calf. *J Vet Med Sci.* 53:117–119. 1991

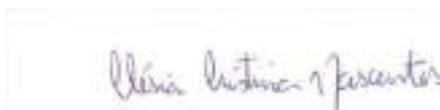
Sena, M.M., Frighetto, R.T.S., Valarini, P.J., Tokeshi, H., Poppi, R. J. Discrimination of management effects on soil parameters by using principal component analysis: a multivariate analysis case study. *Soil Till. Res.* 67:171-181, 2002.

Thompson, L.J. Lead. In: *Veterinary Toxicology, Basic and Clinical Principles*, Gupta, R.C. (ed). Academic Press, Nova York, 2007.

Wise, C.F., Wise, S.S., Thompson, W.D., et al.: Chromium Is Elevated in Fin Whale (*Balaenoptera physalus*) Skin Tissue and Is Genotoxic to Fin Whale Skin Cells. *Biol Trace Elem Res.* 166(1): 108–17, 2015.



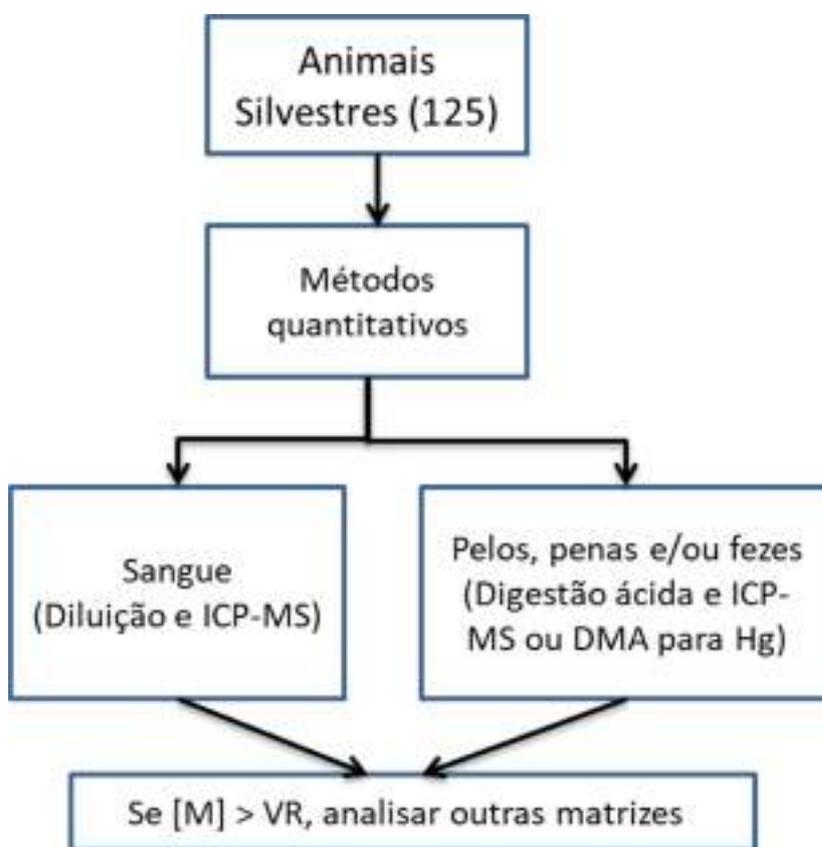
Yokel, R.A. The metabolism and toxicokinetics of aluminum relevant to neurotoxicity. In: Yasui, M., Strong, M.J., Ota K., Verity, A.M. (eds). Mineral and Metal Neurotoxicology. BocaRaton, FL: CRC Press; 1997:81–89.



Profa. Clésia Cristina Nascentes
Proponente



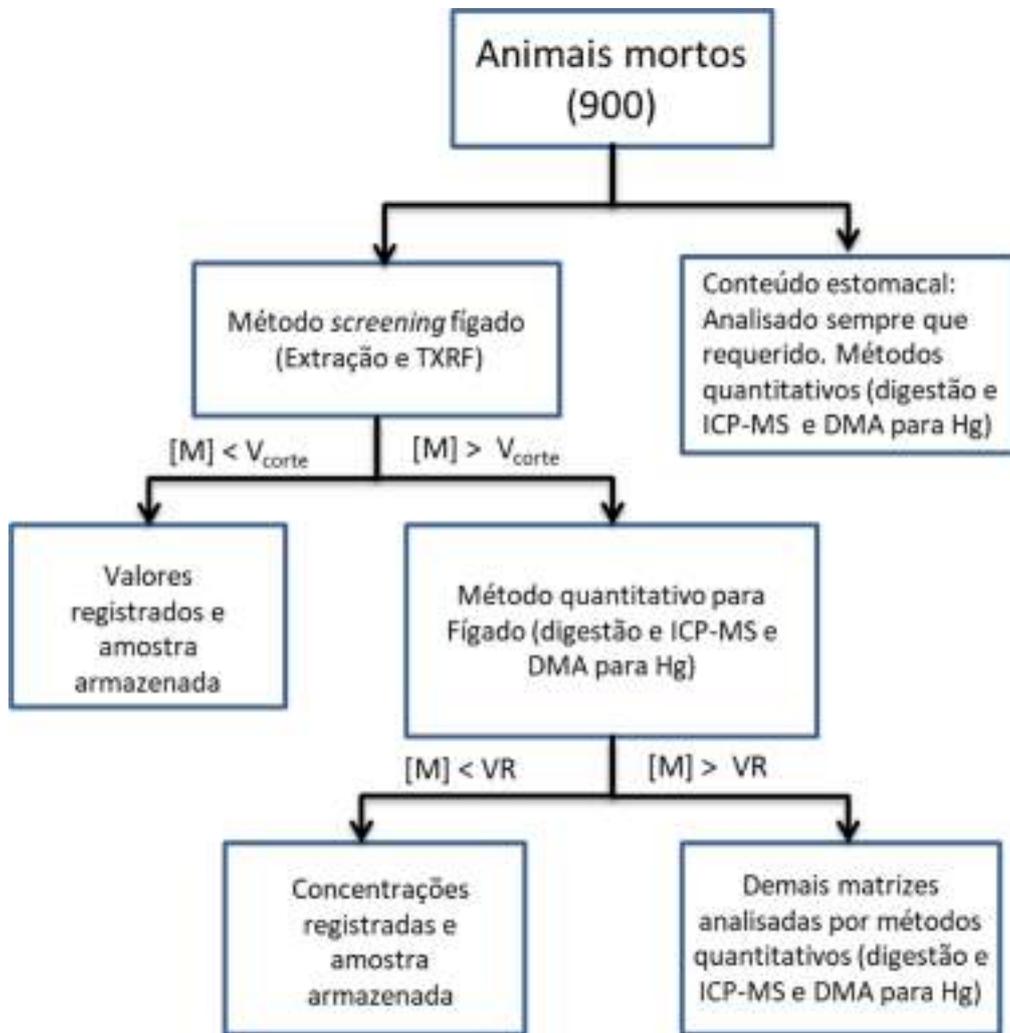
ANEXO IA



Anexo IA – Estratégias adotadas para análise das amostras biológicas coletadas de animais silvestres. [M] = concentração dos metais e metaloide; VR – valor de referência

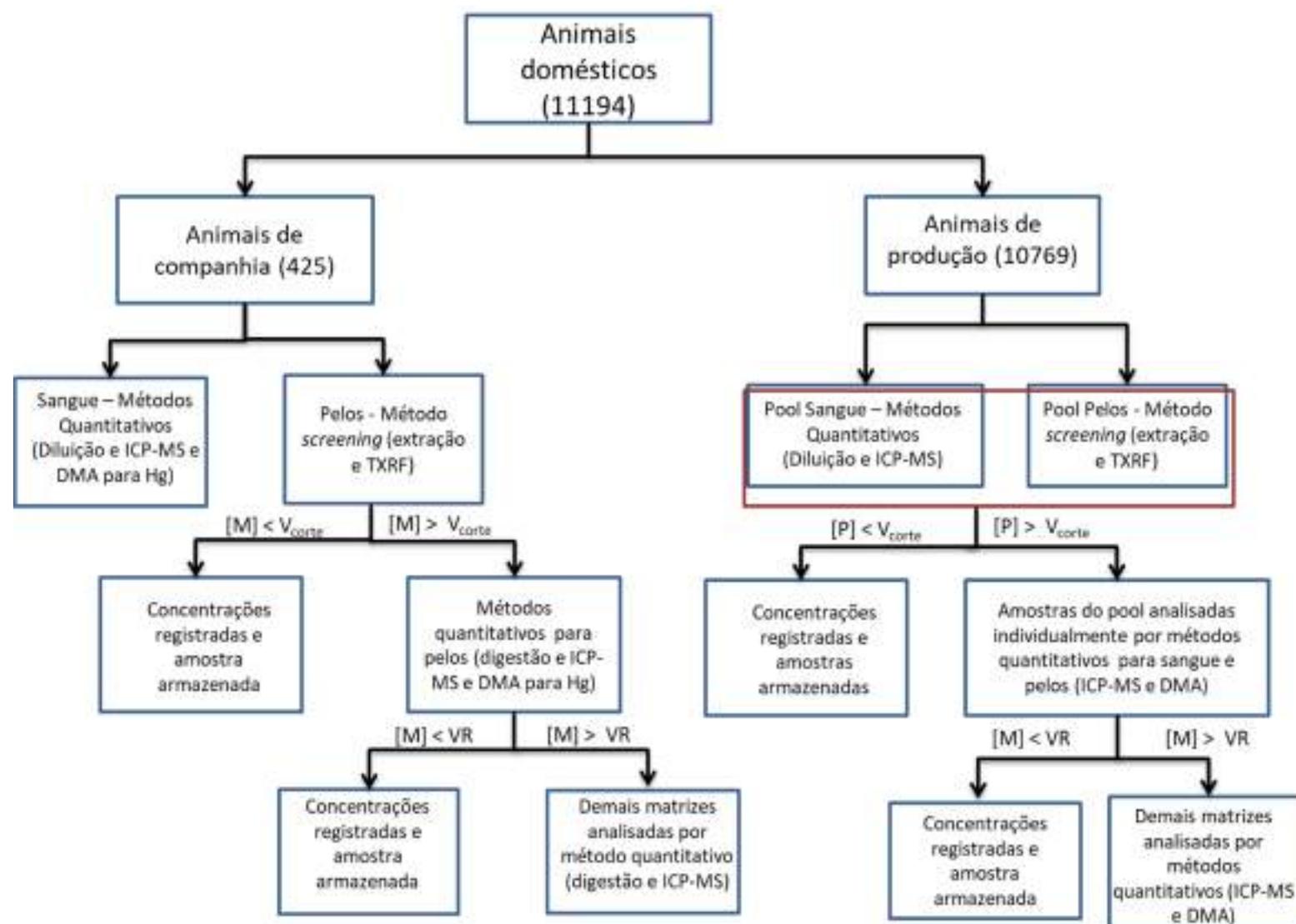


ANEXO IB



Anexo IB – Estratégias adotadas para análise de amostras biológicas coletadas de animais mortos. [M] = concentração dos metais e metaloide; V_{corte} = valor de corte estabelecido para o método de *screening*; VR = valor de referência.





Anexo IC – Estratégias adotadas para análise de amostras biológicas de animais domésticos. [M] = concentração de metais e metaloide; V_{corte} = valor de corte para método de *screening*; VR = valor de referência



ANEXO II: Valores referencias dos teores de As, Cu, Pb e Zn em diferentes criações domésticas dadas em mg/kg de amostra fresca (AVC/UPEI - Canada, 2020).

Elemento	Valor de Referência	Bovino			Equino			Ovino			Suíno		
		Fígado	Rim	Sangue	Fígado	Rim	Sangue	Fígado	Rim	Sangue	Fígado	Rim	Sangue
Arsênio	Normal	0,004-0,40	0,018-0,40	0,03-0,05 ^a	< 0,4	< 0,4	-	0,01-0,20	0,01-0,30	0,01-0,08 ^a	0,003-0,2	0,03-0,1	0,01 ^a
	Alto	1-50	1,5-5,0	-	1-5	-	-	4-8	1-6	0,04-0,50 ^a	-	-	-
	Tóxico (agudo)	2-15	3,5-38	0,17-6,7 ^a	7-15	> 10	-	10-50	10-40	5,0-14,5 ^a	-	-	-
	Tóxico (crônico)	7-100	5-53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobre	Deficiente	0,5-10,0	1-5	0,02-1,00 ^b	< 3,5	< 4	0,6-0,8 ^b	0,5-4,0	3-4	0,10-1,00 ^b	0,3-1,0	2-4	0,1-0,4 ^b
	Baixo	5-25	3,0-5,5	0,55-1,20 ^b	-	-	-	5-20	4-5	0,40-1,00 ^b	4-7	4-7	0,4-1,5 ^b
	Normal	25-100	4-6	0,8-1,5 ^b	4,0-7,5	7,3-9,3	0,85-2,0 ^b	25-100	4,0-5,5	0,70-2,0 ^b	5-25	7-10	1,3-3,0 ^b
	Alto	200-550	5-7	2,5-4,0 ^b	1000-1500	30-50	-	100-500	4-10	1-5 ^b	15-200	12-25	1,7-3,0 ^b
	Tóxico	250-800	10-122	4-11 ^b	-	-	-	250-1000	18-260	3,3-20 ^b	150-15000	300-1200	4,5-77 ^b
Chumbo	Normal	0,1-1,0	0,2-2,0	0,01-0,20 ^a	0,08-1,40	0,03-1,30	0,04-0,25 ^a	0,03-0,80	0,1-0,8	0,02-0,25 ^a	-	-	-
	Alto	2-10	3-20	0,3-0,4 ^a	3-5	3-5	0,3-0,6 ^a	5-25	5-100	0,7-0,9 ^a	-	-	-
	Tóxico (crônico)	5-300	5-700	0,35-32 ^a	4-50	5-140	0,33-1,4 ^a	10-100	5-200	1-5 ^a	-	-	-
	Tóxico (agudo)	-	-	-	10-500	20-200	0,6-2,5 ^a	-	-	-	-	-	-
Zinco	Deficiente	<20-40	16-20	0,2-0,4 ^b	-	-	< 0,5 ^b	20-30	15-30	0,22-0,45 ^b	9,6-25	-	0,18-0,25 ^b
	Baixo	25-40	16-20	0,5-0,6 ^b	-	-	0,5-0,6 ^b	-	-	0,4-0,8 ^b	25-35	-	0,4-0,8 ^b
	Normal	25-100	18-25	0,8-1,4 ^b	40-125	20-50	0,6-1,7 ^b	30-75	20-40	0,8-1,2 ^b	40-90	15-30	0,7-1,5 ^b
	Alto	300-500	50-140	2-5 ^b	160-500	65-150	1,6-3,5 ^b	100-400	50-1000	4-5 ^b	>200	-	-
	Tóxico	120-500	130-480	3-15 ^b	1300-1900	295-580	1,0-3,5 ^b	> 400	240-1600	30-50 ^b	500-31000	190-367	1,4-2,8 ^b

Observações: a – heparenizado e b – soro.



ATA DA REUNIÃO DE JULGAMENTO DE RECURSO E RESULTADO FINAL



ATA DA REUNIÃO DE JULGAMENTO DOS RECURSOS DA CHAMADA 25/2020 “DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO PARAÓPEBA” NO DIA 20.07.2020

No dia 20 de julho de 2020, às 16h30, reuniram-se virtualmente os membros do Comitê Técnico-Científico do “Projeto Brumadinho-UFMG”, Fabiano Teodoro Lara, Ricardo Machado Ruiz, Adriana Monteiro da Costa, Carlos Augusto Gomes Leal, Claudia Carvalhinho Windmüller, Efigênia Ferreira e Gustavo Ferreira Simões e o Secretário Executivo do “Projeto Brumadinho-UFMG”, Tiago Barros Duarte. Ausente, justificadamente, Claudia Mayorga.

A divulgação do resultado preliminar da Chamada 25/2020 ocorreu no dia 9 de julho, tendo sido informado à professora **Clésia Cristina Nascentes** a APROVAÇÃO COM AJUSTES de sua proposta. A proponente não interpôs recursos contra as recomendações do Comitê, enviando novo Subprojeto com atendimento aos ajustes sugeridos. A proposta foi reexaminada e decidiu-se, por unanimidade, por sua APROVAÇÃO PARA RECOMENDAÇÃO.

Sendo assim, o Comitê Técnico-Científico requererá a divulgação do RESULTADO FINAL na forma prevista na Chamada 25/2020. Encerrou-se a reunião às 18h30. Eu, Tiago Barros Duarte, Secretário-Executivo do Comitê Técnico-Científico do “Projeto Brumadinho-UFMG” lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais. Belo Horizonte, 20 de julho de 2020.

Ricardo Machado Ruiz

Adriana Monteiro da Costa

Carlos Augusto Gomes Leal

Claudia Carvalhinho Windmüller

Gustavo Ferreira Simões

Fabiano Teodoro Lara

Efigênia Ferreira

Tiago Barros Duarte



CHAMADA PÚBLICA INTERNA INDUZIDA N. 25/2020

DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO PARAÓPEBA

Resultado Final

Proponente	Unidade	Resultado
Clésia Cristina Nascentes	Instituto de Ciências Exatas da UFMG	Proposta aprovada





PROPOSTA DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS

Fundep GNP 328468

Projeto Brumadinho – Chamada 25

Subprojeto:

“DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMOSTRAS
BIOLÓGICAS DE ANIMAIS SILVESTRES E DOMÉSTICOS NA BACIA DO RIO
PARAOPEBA ”

UFMG

Instituto de Ciências Exatas

Coordenação: Profa. Clésia Cristina Nascentes

Julho 2020



Sumário

PROPOSTA DE PRESTAÇÃO DE SERVIÇOS	1
1. DADOS CADASTRAIS	3
2. HISTÓRICO	4
3. DESCRIÇÃO DA PROPOSTA	7
3.1. Objeto	7
3.2. Justificativa	7
3.3. Detalhamento dos Serviços.....	7
4. RESPONSABILIDADE TÉCNICA	9
5. VALOR DA PROPOSTA.....	9
6. PRAZO DE EXECUÇÃO	9
7. APROVAÇÃO DA PROPOSTA	9
8. VALIDADE DA PROPOSTA	9



1. DADOS CADASTRAIS

Denominação

Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa – Fundep

Endereço

Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – Pampulha Cep 31 270-901 – Caixa Postal 6990 - Belo Horizonte – MG

Telefone: (31) 3409.6572

E-mail: novosprojetos@fundep.ufmg.br

Home page: <http://www.fundep.ufmg.br>

Dirigente

Prof. Alfredo Gontijo de Oliveira – Presidente

Constituição

A Fundep é uma entidade de direito privado, sem fins lucrativos, com sede e foro na cidade de Belo Horizonte. Foi instituída por escritura pública em 28 de fevereiro de 1975, no Cartório do 1º Ofício de Notas (Tabelião Ferraz), à folha 01 do livro 325 B, devidamente aprovada pela Curadoria de Fundações (Ministério Público) em 30 de janeiro de 1975. Registrada no Cadastro Nacional da Pessoas Jurídica, sob o número 18.720.938/0001-41 e com registro no Cartório Jero Oliva, no Livro A 42, Folhas 83v., sob o número de ordem 29.218, em 13 de fevereiro de 1975.

Declarada de “Utilidade Pública” pela Lei nº 7.075, do Governo do Estado de Minas Gerais, de 28.09.77 e pela Lei nº 2.958, da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, rege-se pelas normas de seu estatuto.

