

# DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE INGESTÃO DIETÉTICA DOS ELEMENTOS ARSÊNIO, ANTIMÔNIO, CÁDMIO, TÓRIO, TUNGSTÊNIO E URÂNIO EM DIETAS DE CRIANÇAS PELO MÉTODO DA PORÇÃO EM DUPLICATA

Vera A. Maihara e Marina B.A. Vasconcellos

Supervisão de Radioquímica - TFR  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN-SP  
Caixa Postal: 11049  
05422-970, São Paulo, SP, Brasil  
e-mail: vmaihara@ih0.ipen.br

## RESUMO

Um estudo com 19 crianças de idade pré-escolar da creche central da USP foi realizado com o objetivo de avaliar o conteúdo dos elementos tóxicos presentes em dietas coletadas pelo método da porção em duplicata. Empregou-se o método de análise por ativação com separação radioquímica para a análise de 6 elementos traço, baseado na retenção de Cd, Sb, Th, U e W na resina quelante Chelex 100 em meio de HAc-NH<sub>4</sub>Ac 0,1M, seguida da retenção de As no trocador inorgânico TDO em meio de HCl 6M.

## INTRODUÇÃO

O aumento da atividade industrial nas últimas décadas tem levado a um aumento de elementos tóxicos no meio ambiente, que pode ser vista na cadeia alimentar [1].

O estudo da ingestão dietética de elementos tóxicos e potencialmente tóxicos é de grande importância devido principalmente aos efeitos prejudiciais que esses elementos provocam nas funções vitais do organismo dos seres humanos. Afetam marcadamente a absorção e a biodisponibilidade dos elementos essenciais, como ferro, cálcio, cobre, selênio e zinco, pela competição por ligantes nos sistemas biológicos [2-3].

Um dos maiores problemas quando se estuda os níveis de ingestão de elementos essenciais e tóxicos em uma determinada população é a obtenção de dados confiáveis do consumo real de alimentos.

A análise direta de dietas alimentares constitui o principal modo de avaliar os níveis de ingestão dietética de nutrientes e contaminantes, que serão absorvidos pelo organismo [4]. Dentre os métodos disponíveis para se fazer esse tipo de estudo, a técnica da porção em duplicata é a mais indicada, pois reflete melhor o consumo alimentar do grupo de população que se deseja estudar. Na técnica da porção em duplicata solicita-se a um grupo de pessoas a separar uma duplicata de toda refeição efetuada (após preparação), incluindo bebidas e lanches. Os pratos com os alimentos devem ser pesados antes e após o término de cada refeição. Desse modo, excluem-se as porções não consumidas. As porções coletadas durante um período, que

pode variar de 1 a 7 dias, são misturadas de modo a formar uma dieta completa. Desse modo, a avaliação dietética é feita em réplicas dos alimentos que serão realmente consumidos pelos indivíduos, durante o período de estudo.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar os níveis de ingestão dietética de alguns elementos que apresentam propriedades potencialmente tóxicas, mesmo a níveis extremamente baixos, como As, Cd, Sb, Th, U e W, em dietas de crianças de idade pré-escolar. Comparou-se esses níveis com os valores máximos permissíveis estabelecidos por organismos de saúde pública.

Para a determinação desses elementos, empregou-se o método de análise por ativação com separação radioquímica, que consistiu na retenção de Cd, Sb, U, Th e W na resina quelante CHELEX-100, na forma NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em meio de HAc-NH<sub>4</sub>Ac 0,1M a pH 4,8, seguida da retenção de As no trocador inorgânico dióxido de estanho (TDO) em meio HCl 6M [5].

## PARTE EXPERIMENTAL

**Coleta das dietas.** Dezenove dietas de crianças de idade pré-escolar da Creche Central da Universidade de São Paulo (idade média de 5,1 anos) foram coletadas pelo método de amostragem da porção em duplicata. Todas as duplicatas dos alimentos consumidos durante três dias consecutivos foram coletadas e colocadas em recipientes de polietileno e mantidas em freezer.

**Preparação das dietas para a análise.** As etapas da preparação das dietas são descritas em detalhes num trabalho anterior [6]. Resumidamente, as dietas foram primeiramente trituradas num liquidificador, adaptado com lâminas de titânio e com todas as partes metálicas revestidas de teflon. Em seguida, foram liofilizadas a uma pressão de 0,1 a 0,3 mmHg por 24 horas e novamente trituradas no liquidificador para obter uma maior homogeneização.

#### Análise por Ativação com Separação Radioquímica:

**Irradiação das dietas e do padrão.** Foi utilizada uma solução multielementar padrão de As, Cd, Sb, Th, U e W a partir da diluição a volumes apropriados de soluções padrão elementares da BDH (British Drug House).

Cerca de 150 mg de dieta e 400 µL da solução padrão foram irradiadas em ampolas de quartzo, previamente lavadas com ácido nítrico, por 8 horas em fluxos de  $10^{13}$  n cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> no reator IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP.

**Procedimento de Separação Radioquímica.** Após 2 dias de decaimento radioativo, as ampolas de quartzo foram resfriadas em nitrogênio líquido, antes de serem abertas. As amostras foram então transferidas para um béquer de teflon com 5 mL de ácido nítrico e 100 µL de soluções de carregadores (com cerca de 100 a 500 µg de cada elemento de interesse). O béquer de teflon foi colocado em uma bomba de aço inox (Bomba Parr) e esse conjunto foi deixado numa estufa a 150 °C por 10 horas. Após o resfriamento a temperatura ambiente, 1 mL de HF foi adicionado à solução, para eliminar possíveis resíduos de sílica. A solução foi seca à 60 °C e evitou-se a perda de elementos voláteis através do controle de temperatura. O resíduo foi retomado com 10 mL de ácido acético-acetato de amônio 0,1M. Essa solução tamponada foi percolada na coluna de resina Chelex 100, previamente condicionada com 50 mL da solução tampão e, na coluna do trocador inorgânico dióxido de estanho (TDO), colocadas em série.

Os elementos Cd, Sb, Th, U e W foram retidos quantitativamente na Chelex 100, enquanto o arsênio foi retido na coluna de TDO. A resina Chelex e o trocador TDO foram transferidos para frascos de cintilação para contagens no espectrômetro de raios gama.

Os espectros de raios gama foram analisados por um espectrômetro composto por um detector de Ge hiperpuro modelo PopTop da EG&ORTEC com resolução de 1,9 keV no pico de 1332 keV do <sup>60</sup>Co, uma placa ACE CARD modelo 916 MCB com 8192 canais e eletrônica associada. As contagens foram efetuadas por 15 horas após 1 a 2 dias da separação radioquímica.

A análise dos espectros foi feita utilizando programa Vispect, em linguagem Turbo Basic, desenvolvido por D.Piccot, do laboratório de Pierre Sue, Centro de Estudos de Saclay, França.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Análise dos Materiais de Referência.** A validação de todo procedimento analítico é feita preferencialmente via a análise de materiais de referência certificados. Assim, foram analisados 4 materiais biológicos do NIST: Apple Leaves SRM 1515, Peach Leaves SRM 1547, Total Diet SRM 1548 e Spinach SRM 1570a, nas presentes condições de análises. A Tabela 1 mostra os valores obtidos para os elementos As, Cd, Sb, Th, U e W presentes nestes materiais, após a separação radioquímica, juntamente com os valores de referência certificados [7-10].

TABELA 1. Resultados das análises de As, Cd, Sb, Th, U e W nos materiais de referência

Elemento (ng/g)		Material Certificado (Média ± DP) <sup>a</sup>			
		Apple Leaves	Peach Leaves	Total Diet	Spinach
As	VT <sup>b</sup>	40±5	67±7	97±20	113±7
	VC <sup>c</sup>	(38) <sup>d</sup>	60±18	-	68±12
Cd	VT	14±2	28±5	24,7±0,4	2600±26
	VC	(14)	(30)	28±4	2890±7
Sb	VT	-	15±1	8,0±0,6	14 ±2
	VC	(13)	(20)	-	13±2
Th	VT	34±5	50±7	65±6	51±4
	VC	(30)	(50)	-	48±3
U	VT	9,9±0,6	16±2	3,9±0,7	143±10
	VC	(6)	(15)	-	-
W	VT	8±2	24±3	14±3	16±3
	VC	-	-	-	-

a : Média e desvio padrão de 3 determinações individuais

b: valor obtido neste trabalho

c: valor certificado pelo NIST

d: valor de informação dado pelo NIST

Pelos dados analíticos mostrados na Tabela 1, pode-se observar que os resultados obtidos para a maioria dos elementos determinados estão em concordância com os valores certificados e com os valores de informação fornecidos pelo NIST, exceto para arsênio no material Spinach, onde o erro relativo foi de 66%. Para os outros materiais de referência os erros relativos para o arsênio ficaram em torno de 10%.

Uma vez comprovada a validade do procedimento da separação radioquímica para a análise desses elementos em materiais biológicos, foram efetuadas as suas determinações nas dietas das crianças, coletadas durante 3 dias. Com os valores das concentrações em peso seco por dia e do consumo de alimento de cada criança (em torno de 200 g de dieta seca/dia), foram calculadas as ingestões diárias para cada elemento analisado. Os valores médios das concentrações e das ingestões dietéticas para todas as 19 dietas analisadas são mostrados respectivamente nas Tabelas 2 e 3, juntamente com os valores mínimos e máximos e as medianas.

TABELA 2. Resultados das concentrações dos elementos tóxicos nas dietas das crianças da creche da USP

Elemento (ng/g)	Média±DP (n)	Intervalo de concentração	Mediana
As	61,6±41,4 (19)	9,3 - 161	64,7
Cd	20,8±18,8 (18)	6,1 - 82,6	14,5
Sb	5,3±5,1 (19)	1,2 - 19,4	3,7
Th	14,0±22,3 (14)	1,6 - 87,8	6,1
U	6,7±5,0 (18)	1,8 - 21,7	5,4
W	34,6±37,1 (19)	3,4 - 166	29,7

n: número de dietas analisadas

TABELA 3. Valores das ingestões dietéticas diárias dos elementos tóxicos nas dietas das crianças

Elemento (µg/d)	Média±DP	Intervalo	Mediana
As	12,4±9,0	1,6 - 37	12,1
Cd	4,1±3,9	1,4 - 17	3,0
Sb	1,1±1,1	0,2 - 4,5	0,73
Th	2,6±3,7	0,3 - 14	1,1
U	1,4±1,1	0,4 - 4,5	0,73
W	6,7±6,7	0,7 - 29	5,4

A Tabela 4 mostra os valores dos limites de detecção e de determinação calculados para uma amostra de dieta, de acordo com o critério de Currie [11] nas condições analíticas do presente trabalho. Esses valores são fortemente influenciados tanto pelos parâmetros analíticos, tais como fluxo de nêutrons, tempos de irradiação, decaimento e medida, assim como também pela própria composição das amostras.

TABELA 4. Valores dos limites de detecção e de determinação para os elementos tóxicos analisados nas dietas das crianças

Elemento (ng/g)	Limite de Detecção	Limite de Determinação
As	1,79	6,07
Cd	4,70	24,6
Sb	0,28	1,69
Th	1,58	4,95
U	1,83	4,13
W	1,96	6,34

**Antimônio.** Atualmente poucos dados são disponíveis a respeito dos níveis de antimônio no meio ambiente e nos alimentos. A FDA (Food and Drug Administration) dos EUA estabelece o valor de 2 µg/g como limite máximo tolerável para o Sb em alimentos [12]. Os valores obtidos neste trabalho estiveram muito abaixo desse valor.

**Arsênio.** Os efeitos carcinogênicos do As em seres humanos são bastantes conhecidos há muitos anos e sabe-se que os compostos inorgânicos podem causar câncer de

pele e de pulmão. Muitos países têm estabelecido níveis máximos para o As em diversos alimentos. No Brasil a legislação estabelece como limite máximo de 1 µg/g para alimentos e a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabelece um valor de ingestão tolerável semanal provisória (PTWI) de 15 µg de As por peso corpóreo (pc) ou 2,1 µg de As/kg pc como ingestão diária aceitável (ADI) [13]. Para as dietas das crianças a ingestão diária variou de 1,6 a 37 µg/d, com uma média de 12,4 µg/d, representando cerca de 29% da ADI para uma criança de 20 kg, que é de 43 µg/d.

**Cádmio.** A exposição ao Cd é altamente tóxica, podendo provocar descalcificação nos ossos, disfunções hepática e renal. A legislação brasileira estabelece o limite máximo de 1,0 µg/g para os alimentos e seu valor de ADI é de 1 µgCd por kg de peso corpóreo. Extrapolando esse valor para uma criança de 20 kg o valor de ADI é de 20 µg/d. A ingestão média de 4,1 µg/d determinada nas dietas das crianças corresponde a 21% do valor de ADI.

**Tório.** A absorção do Th pelo organismo humano se dá via inalação a partir do solo e minério ou por alimentos e fluidos. A ingestão diária de Th pelos alimentos é estimada pela Comissão Internacional de Radioproteção (ICRP-1979) como sendo de 3 µg [14]. O valor médio da ingestão diária obtido neste trabalho de 2,6 µg/d está concordante com o estimado pela ICRP.

**Tungstênio.** Não existem muitas informações a respeito da toxicidade dos compostos de tungstênio e dos níveis de ingestão dietética. Os níveis de ingestão dietética de W obtidos apresentaram uma ampla variação, de 0,7 a 29 µg/d.

**Urânio.** Como todos os radioisótopos de U são radioativos o perigo da ingestão desse elemento é redobrado, devido a sua toxicidade química e aos danos radiológicos. O órgão mais crítico quanto a sua toxicidade química é o rim. Altas doses também afetam a corrente sanguínea, induzindo danos ao fígado e ao tecido muscular. O limite limiar no homem é de 70 µg por kg de peso corpóreo [15]. Segundo Yamamoto e col. [16] os níveis de ingestão dietética do urânio em áreas normais no mundo apresentam uma faixa ampla, que vai de 0,55 a 69,3 µg/d. Os resultados apresentados nas dietas das crianças encontram-se dentro desta faixa de valores, cuja média obtida foi de 1,4 µg/d.

## CONCLUSÃO

O método da porção em duplicata aliada ao procedimento analítico, mostrou-se adequado para uma avaliação do conteúdo de elementos tóxicos presentes em dietas alimentares. Os elementos tóxicos e potencialmente tóxicos analisados nas dietas das crianças, como As, Cd, Sb, Th e U, apresentaram teores de ingestão abaixo dos valores limites estabelecidos. Acredita-se que esses valores servirão como medida de comparação para trabalhos futuros.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, a Indústria Liotécnica e ao COSEAS/USP.

## REFERÊNCIAS

- [1] Abdulla, M.R., **Public Health/Clinical Significance of Inorganic Chemical Elements**, *Experimental Supplements*, vol. 44, p. 339-355, 1983.
- [2] Abdulla, M. e Chmielnicka, J., **New Aspects on the Distribution and Metabolism of Essential Trace Elements after Dietary Exposure Toxic Metals**, *Biological Trace Element Research*, vol. 23, p.25-53, 1990.
- [3] Mertz, W., Albersnott, C.O. e Olin, S.S., **Risk Assessment of Essential Elements**, ILSI Press, Washington, 1994.
- [4] Food and Drug Administration (FAO) and World Health Organization (WHO), **Guidelines for the Study of Dietary Intakes of Chemical Contaminants**, Geneva: WHO Offset Publication, n.87, 1985.
- [5] Maihara, V.A., Gallorini, M. e Vasconcellos, M.B.A., **Radiochemical Separation for the Certification of Some Trace Elements in Biological Reference Materials by Neutron Activation Analysis**, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles*, vol. 198:2, p.343-348, 1995.
- [6] Maihara, V.A., San Miguel, A.T. e Vasconcellos, M.B.A., **Determinação de Elementos Traço Essenciais em Dietas de Crianças de Idade Pré-Escolar**, *Anais do III Encontro de Aplicações Nucleares-ENAN*, vol.II, p.1248-1253, 1995.
- [7] National Institute of Standards & Technology (NIST), **Certificate of Analysis: Apple Leaves SRM 1515**, Washington DC, July 2, 1991.
- [8] National Institute of Standards & Technology (NIST), **Certificate of Analysis: Peach Leaves SRM 1547**, Washington DC, July 2, 1991.
- [9] National Institute of Standards & Technology (NIST), **Certificate of Analysis: Total Diet SRM 1548**, Washington DC, July 2, 1991.
- [10] Zeisler, R., Becker, D.A. e Gills, T.E., **Certifying the Chemical Composition of a Biological Material - a Case Study**, *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, vol. 352, p.111-115, 1995.
- [11] Currie, L.A., **Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination**, *Analytical Chemistry*, vol.40:3, p.586-592, 1968.
- [12] Iffland, R., **Antimony**, In: Seiller, H.G., Sigel, H. (Eds), **Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds**, New York, N.Y.: Marcel Dekker Inc., p. 67-75, 1988.
- [13] World Health Organization (WHO), **General Standard for Contaminants and Toxins in Foods, CX/FAC 95/12**, The Netherlands: Codex Alimentarius Commission, Dezembro 1994.
- [14] Metivier, H.J., **Thorium**, In: Seiller, H.G., Sigel, H. (Eds), **Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds**, New York, N.Y.: Marcel Dekker Inc., p.689-694, 1988.
- [15] Fisher, D.R., **Uranium**, In: Seiller, H.G., Sigel, H. (Eds), **Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds**, New York, N.Y.: Marcel Dekker Inc., p. 739-748, 1988.
- [16] Yamamoto, M., Shiraishi, K., Komura, K. E Ueno, K., **Measurement of Uranium in Total Diet Samples: Daily Intake for Japanese**, *Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry, Articles*, vol.15:1, p.183-192, 1994.

## ABSTRACT

A study was made with a group of 19 pre-school children at the central nursery of the University of São Paulo with the aim of evaluating the toxic elements contents present in diets of this group. The diet samples were collected by duplicate portion method. A radiochemical separation was applied to the determination of Cd, Sb, Th, U and W by means of retention of these elements in the chelating resin Chelex 100, in 0,1M HAc-NH<sub>4</sub>Ac medium, followed by retention of As in the inorganic exchanger tin dioxide, in HCl 6M medium.