

# DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO ESSENCIAIS EM DIETAS DE CRIANÇAS DE IDADE PRÉ ESCOLAR

Vera Akiko Maihara, Américo T. San Miguel e Marina Beatriz A. Vasconcellos

Divisão de Radioquímica - TFR  
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares- IPEN-CNEN/SP  
Caixa Postal 11049  
05422-970, São Paulo, SP, Brasil

## ABSTRACT

The contents of Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, Mn, Na, Rb, Se and Zn in the 19 diet samples taken from pre-school children were determined by neutron activation analysis. The diet samples were collected by duplicate portion method. The daily intake values obtained were compared with the RDA (Recommended Dietary Allowance) values. The precision and accuracy were evaluated by analyzing two biological reference materials.

## INTRODUÇÃO

A importância que os elementos traço desempenham nos processos fisiológicos e bioquímicos a nível celular nos organismos humano e animal já está bem estabelecida nos dias atuais. Atualmente são conhecidas várias doenças facilmente diagnosticadas por seus sinais clínicos evidentes, que são causadas por uma grande deficiência de alguns elementos traço, tais como a anemia, bócio e retardamento no crescimento devidos a deficiência severa de ferro, iodo e zinco, respectivamente<sup>(1)</sup>.

Entretanto deficiências suaves de alguns elementos traço essenciais, como Cu, Se, Cr, Co, Zn entre outros, são mais difíceis de serem diagnosticadas. As suas ingestões inadequadas podem causar perda de peso, crescimento e desenvolvimento deficitários, podendo levar a uma disfunção celular e fisiológica. O risco de se ter uma deficiência mineral específica depende de uma variedade de fatores, tais como as práticas de processamento dos alimentos, a presença de outras substâncias que podem afetar a biodisponibilidade do elemento, e finalmente a saúde do indivíduo<sup>(2)</sup>.

Portanto, é importante monitorar periodicamente o conteúdo de elemento traço nas dietas humanas e avaliar as ingestões desses elementos e compará-las com os valores já estabelecidos por organismos internacionais de Saúde Pública, como o "Food and Nutritional Board of the National Research Council" da Academia Nacional de Ciência dos EUA, que estabeleceu os valores de RDA (Necessidades Dietéticas Recomendadas)<sup>(3)</sup>, que são aceitos universalmente como guia ou medida de comparação e avaliação de dietas para grupos populacionais e/ou para indivíduos. São três os métodos de avaliação dos nutrientes: 1) método de dieta total (WHO/1973), que considera uma cesta básica de alimentos para representar o consumo total de uma determinada população; 2) estudos seletivos de alimentos individuais e, 3) método da porção em duplicata, onde a dieta é composta a partir de duplicata de todo alimento e bebida consumidos durante o período de estudo<sup>(4)</sup>.

O presente trabalho tem como objetivo determinar o maior número de elementos traço essenciais presentes em amostras de dietas de crianças de idade pré escolar (4 a 6 anos), que permaneceram o tempo integral na Creche da Universidade de São Paulo. As dietas foram coletadas pelo método da porção em duplicata. Essa metodologia foi a escolhida por ser a que melhor reflete o consumo alimentar do grupo que se quer estudar. Foram determinados os teores dos elementos Ca, Cl, K, Na a níveis de mg/g, Br, Mn, Fe e Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) e Co, Cs, Cr e Se ( $\text{ng/g}$ ) pelo método de análise por ativação puramente instrumental, que apresenta uma grande sensibilidade para a maioria dos elementos de interesse nutricional.

## PARTE EXPERIMENTAL

**Coleta e Preparação das Dietas :** No início do estudo foi realizada uma reunião com os pais interessados em participar, onde estavam presentes também as responsáveis e as funcionárias da creche. Durante esta reunião foram passadas as instruções necessárias para que a coleta fosse realizada da forma mais precisa. Recomendou-se aos pais que separassem uma porção exatamente igual de todo alimento e bebidas ingeridas pela criança durante o período de estudo (3 dias), e colocassem nos recipientes próprios, fornecidos na semana anterior à coleta, e que os guardassem na geladeira ou freezer.

As 19 famílias que aceitaram participar do estudo foram divididas em 4 grupos, onde a coleta para cada 5 crianças foi efetuada no período de 21/9/92 a 12/11/92. A maior parte das crianças permaneceu na creche durante o período integral, efetuando duas refeições completas (almoço e jantar) e 2 lanches.

Para a preparação das dietas tomou-se o cuidado de separar a mesma quantidade dos alimentos fornecida às crianças e desprezar as quantidades rejeitadas pelas mesmas. Os alimentos foram separados, pesados e guardados em recipientes de polietileno, previamente limpos com ácido e água deionizada e destilada. Após a coleta, os alimentos foram mantidos em um freezer.

Terminado o período de coleta (3 dias) para cada grupo de crianças, todos os alimentos ingeridos dentro e fora da creche, incluindo bebidas, foram misturados num único recipiente de polietileno. As partes duras, como carnes, feijão, arroz e frutas foram trituradas num liquidificador, adaptado com lâminas de titânio e com todas as partes metálicas (como parafusos) revestidas com teflon. Esse cuidado foi tomado para evitar a contaminação dos alimentos pelas partes metálicas do aparelho. Após a trituração dos alimentos sólidos, as bebidas foram adicionadas formando assim uma pasta homogênea. Esta pasta foi posteriormente liofilizada em um liofilizador industrial. As dietas foram primeiramente mantidas em freezers por 48 horas e depois submetidas a alto vácuo (pressão de 0,1 a 0,3 mmHg) por 24 horas. Esse procedimento foi realizado para todas as dietas, totalizando 19 amostras.

Após a liofilização as dietas foram novamente trituradas no liquidificador, para obter uma maior homogeneização. Separou-se uma parte para a esterilização na fonte de Cobalto, nas seguintes condições: taxa de dose de 94,2 Krad/h a 15 cm de distância da fonte panorâmica de  $^{60}\text{Co}$  e um tempo de exposição de 26,5 horas. No final do tratamento foram obtidas amostras homogêneas, prontas para serem analisadas. A homogeneidade foi testada analisando várias alíquotas de uma dieta, determinando-se os teores de Na, Mn e K.

**Preparação da Solução Padrão Multielementar:** Foram preparadas soluções padrão multielementares de Na, Cl, Mn para irradiações curtas de 5 minutos, de K e Br (irradiações de 15 minutos) e Ca, Cr, Co, Cs, Fe, Rb, Se e Zn para irradiações de 8 horas. Pipetaram-se alíquotas apropriadas em papel de filtro Whatman 41, que foram secas em lâmpada infra-vermelha ou à temperatura ambiente, dependendo da volatilidade do elemento que compõe o padrão.

**Irradiação das Dietas e Padrão:** Cerca de 100 a 200 mg de dieta foram pesadas em polietileno, previamente limpo, e irradiadas juntamente com o padrão multielementar em várias condições de irradiação: de 5 a 15 minutos em sistemas pneumáticos com fluxos de nêutrons da ordem de  $10^{12}$  n  $\text{cm}^{-2}$   $\text{s}^{-1}$ , e 8 horas em fluxos de  $10^{13}$  n  $\text{cm}^{-2}$   $\text{s}^{-1}$  no reator IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP.

**Equipamento de Contagem:** A detecção das atividades nas amostras e padrão foram feitas em um detector de Ge hiperpuro modelo POP TOP da EG&G ORTEC, com uma resolução de 1.9 KeV para o fotopico de  $^{60}\text{Co}$ , acoplado a uma eletrônica associada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra os valores médios e os desvios padrão e os intervalos das concentrações dos elementos maiores Ca, Cl, K e Na (mg/g) e dos elementos traço Br, Fe, Mn, Rb e Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) e Cr, Co, Cs e Se (ng/g), obtidas nas análises das 19 dietas das crianças da Creche da USP pelo método de análise por ativação puramente instrumental. As concentrações variaram de 27,5 mg/g para o Cl a 23,2 ng/g para o Co, para as 19 dietas consumidas pelas crianças durante 3 dias de coleta. 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 ingestões diárias são apresentados na Tabela 2, juntamente com os valores mínimos e máximos.

TABELA 1 - Resultados das Análises das Dietas da Creche da USP pelo Método de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental - peso seco

Elemento	Média $\pm$ DP	Intervalo de Concentração
Cl mg/g	13,5 $\pm$ 5,1	4,6 - 27,5
Na mg/g	7,6 $\pm$ 1,7	5,0 - 10,6
K mg/g	7,1 $\pm$ 1,3	5,1 - 9,4
Ca mg/g	2,2 $\pm$ 0,7	1,3 - 4,0
Fe $\mu\text{g/g}$	26,6 $\pm$ 3,8	22,4 - 37,3
Zn $\mu\text{g/g}$	24,5 $\pm$ 4,4	18,6 - 33,3
Rb $\mu\text{g/g}$	12,0 $\pm$ 2,6	7,5 - 18,6
Br $\mu\text{g/g}$	9,2 $\pm$ 2,9	5,5 - 16,6
Mn $\mu\text{g/g}$	7,3 $\pm$ 2,6	4,6 - 14,8
Se ng/g	132,5 $\pm$ 30,8	87,9 - 223,4
Cr ng/g	98,5 $\pm$ 44,0	29,9 - 198,2
Cs ng/g	85,4 $\pm$ 24,1	58,6 - 154,3
Co ng/g	50,8 $\pm$ 15,4	23,2 - 84,1

TABELA 2 - Valores Médios das Ingestões Diárias das Dietas da Creche da USP

Elemento	Média ± DP	Intervalo de Concentração
Cl mg/d	2734 ± 1260	971 - 6258
Na mg/d	1502 ± 397	872 - 2407
K mg/d	1408 ± 331	946 - 2176
Ca mg/d	438 ± 140	241 - 777
Fe mg/d	5,25 ± 0,96	4,19 - 7,45
Zn mg/d	4,84 ± 1,04	3,32 - 7,44
Rb mg/d	2,35 ± 0,50	1,59 - 3,13
Br mg/d	1,82 ± 0,62	0,98 - 3,71
Mn mg/d	1,45 ± 0,55	0,76 - 2,64
Se µg/d	26,3 ± 7,1	15,9 - 39,7
Cr µg/d	19,2 ± 8,4	6,2 - 38,8
Cs µg/d	16,6 ± 4,3	10,6 - 25,6
Co µg/d	10,2 ± 4,0	4,1 - 19,6

Na Tabela 3 os valores de ingestão diária dos elementos Co, Zn e Fe são comparados com os valores de RDA (Recommended Daily Allowance), que são valores recomendados para os elementos essenciais, e também com os valores obtidos em diferentes dietas<sup>(5-7)</sup>

TABELA 3: Valores de Ingestões Diárias de Diversas Dietas:

Elemento	Este trabalho	Abdulla <sup>5</sup> (Suécia)	Gibson <sup>6</sup> (Canadá)	Clemente <sup>7</sup> (Itália)	RDA
Cl mg/d	971 - 6258	na	na	na	-
Na mg/d	872 - 2407	368 - 6000	na	na	-
K mg/d	946 - 2176	200 - 4100	na	na	-
Ca mg/d	241 - 777	na	na	na	800
Fe mg/d	4,19 - 7,45	4,7 - 42	7,3 - 13,5	4,2 - 20	10
Zn mg/d	3,32 - 7,44	3,4 - 16,3	5,3 - 9,2	4,3 - 16,3	10
Mn µg/d	756 - 2641	500 - 3200	2400 - 4800	na*	600 - 1000*
Se µg/d	15,9 - 39,7	22 - 130	53,2 - 95,6	9,6 - 44,8	20
Cr µg/d	6,2 - 38,8	na	na	38,5 - 436	-
Co µg/d	4,1 - 19,6	na	na	5,8 - 20,7	-

na : elemento não analisado

\* : Valor de RDA provisório

A precisão e a exatidão do método empregado foram avaliadas pela análise dos materiais de referência biológicos: Total Diet SRM 1548 e Oyster Tissue SRM 1566a, ambos do NIST, cujos resultados são apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 : Análise dos Materiais de Referência Oyster Tissue SRM 1560a e Total Diet SRM 1548 (peso seco)

Média ± DP (n)*				
Elemento	Oyster Tissue (SRM 1560a)		Total Diet (SRM 1548)	
	Este Trabalho	Valor Certificado	Este Trabalho	Valor Certificado
Cl %	0,974 ± 0,010	0,829 ± 0,014		0,87 ± 0,04
Na %	0,425 ± 0,067	0,417 ± 0,01	0,669 ± 0,057	0,625 ± 0,026
K %	0,752 ± 0,014	0,790 ± 0,043	0,587 ± 0,089	0,606 ± 0,028
Ca %	0,168 ± 0,003	0,196 ± 0,019	0,185 ± 0,030	0,174 ± 0,007
Fe µg/g	501 ± 17	539 ± 15	30,9 ± 2,1	32,6 ± 3,6
Zn µg/g	801 ± 51	830 ± 57	30,9 ± 0,6	30,8 ± 1,1
Rb µg/g	2,5 ± 0,3	(3)	4,9 ± 0,21	
Br µg/g	55,5 ± 2,3	(55)	8,6 ± 0,4	
Se µg/g	2,16 ± 0,13	2,21 ± 0,24	0,251 ± 0,010	0,245 ± 0,005
Cr µg/g	1,48 ± 0,08	1,43 ± 0,04	0,060 ± 0,010	
Cs µg/g	0,021 ± 0,004	(0,02)	0,017 ± 0,009	(0,014)
Co µg/g	0,576 ± 0,089	0,57 ± 0,11	0,036 ± 0,013	

\* Média e Desvio Padrão de 5 determinações individuais

( ) Valores não certificados

As necessidades dos elementos minerais variam grandemente. Os elementos Ca, K, P, Na e Cl são necessários em quantidades superiores a 100 mg/d, enquanto Fe, Zn, I, Cr e Co são necessários em quantidades inferiores a 15 mg/d. O "Food and Nutritional Board", da Academia Nacional de Ciência dos EUA (NAS/NRC)<sup>(3)</sup> estabelece ingestões recomendadas para Ca, P, I, Fe, Mg, Zn e Se, conforme a faixa etária. As necessidades específicas para os outros elementos ainda não foram estabelecidas devido a falta de informações suficientes para se basearem as recomendações, enquanto para o Mn existe apenas valor provisório. Os valores de ingestão diária obtidos para os elementos Ca, Fe e Zn, no presente trabalho, foram inferiores aos valores de RDA, o que pode-se observar é que as dietas ingeridas pelas crianças da Creche durante o período de estudo não atenderam as exigências nutricionais referentes as ingestões desses elementos, segundo a NAS/NRC.

O método de análise por ativação com nêutrons instrumental mostrou-se bastante eficaz para a análise de dietas, permitindo a determinação de 13 elementos importantes sob o ponto de vista da nutrição humana, em uma ampla faixa de concentração (mg/g a ng/g). Os valores encontrados nas análises dos materiais de referência foram bastante concordantes com os valores certificados, com erros relativos abaixo de 10%.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento parcial do trabalho, a Industria Liotécnica por ceder as instalações para a liofilização das dietas e por último ao COSEAS/USP por permitir a coleta das amostras na Creche Central da Universidade.

### REFERÊNCIAS

- [1] KRAUSE & MAHAN Foods, Nutrition and Diet Therapy. 6.ed. W.B.Saunders Company, 1985.

- [2] DIPLOCK, A.T. Trace elements in human health with special reference to selenium. Am.J.Nutrients v.45,p.1313-22, 1987.
- [3] NATIONAL ACADEMY PRESS Recommended dietary allowances 10.ed. National Research Concl/Washington, 1989.
- [4] BRÖ, S., SANSDSTRÖM, B., HEYDORN,K. Intake of essential and toxic trace elements in a random sample of Danish men as determined by duplicate portion sampling technique. J.Trac.Elem.Elean.Healt.Dis. v.3, p.1417-55, 1990.
- [5] ABDULLA, M., SVENSSON, S., OCKERMAN, P.A., SRINIVAS, U., MARTINEN, I. Inorganic chemical elements in prepared meals- Intake levels in the diet of teen-agers in Sweden- analysis by ICP and Absortion Spectrometry. in: Progress Report of Coordinated Research Programme on human daily intakes of nutritionally important trace elements as measured by nuclear and other techniques, Annex17, Vienna, Austria, 15-18April, 1986.
- [6] GIBSON, R.S., MARTINEZ, O.B. Dietary trace elements intakes of a selected sample of free-living Canadian elderley women. in: Fifty International Conference on Nuclear Methods in Environmental and Energy Research, p.226-27, Mayaguez, Porto Rico, 1994.
- [7] CLEMENTE, G.F., CIGNA, L., SANTARONI, G.P. Trace element intake and excretion in the Italian population. J.Radioanal..Nucl.Chem.,v.37,p.549-55, 1977.