

GUILHERME VIEIRA MARCOLINO

**DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM LEITE INTEGRAL CRU
DE VACAS CRIADAS NO AGRESTE MERIDIONAL DO ESTADO
DE PERNAMBUCO**

GARANHUNS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES

GUILHERME VIEIRA MARCOLINO

DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM LEITE INTEGRAL CRU
DE VACAS CRIADAS NO AGRESTE MERIDIONAL DO ESTADO
DE PERNAMBUCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes

Orientador: Dr. Pierre Castro Soares

Co-orientadores: Dra. Carla Lopes de Mendonça

Dr. Nivaldo de Azevedo Costa

GARANHUNS

2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES**

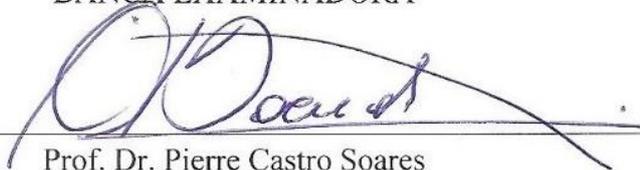
**DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM LEITE INTEGRAL CRU
DE VACAS CRIADAS NO AGRESTE MERIDIONAL DO ESTADO
DE PERNAMBUCO**

Dissertação elaborada por

GUILHERME VIEIRA MARCOLINO

Aprovada em 31/07/2014

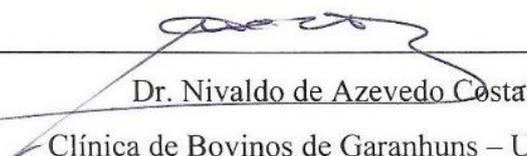
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Pierre Castro Soares
Presidente da Banca – Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Eldiné Gomes de Miranda Neto
Universidade Federal de Campina Grande



Dr. Nivaldo de Azevedo Costa

Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE



Prof. Dr. Omer Cavalcanti de Almeida
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Gervásio e Delma, dedico a essência deste trabalho. Pois, seus exemplos de trabalho duro, perseverança e, acima de tudo, caráter foram as maiores motivações que eu poderia ter no decurso de minha carreira profissional.

AGRADECIMENTOS

Quando uma dissertação se aproxima do fim, o trabalho acumulado e a sensação de que não vamos conseguir se maximizam. E dentre essa crescente tensão fica evidente o envolvimento de uma equipe que, como nós, se esforça para que as metas sejam cumpridas e tudo dê certo!

Antes de tudo, agradeço a Deus por ter me provido energia para continuar em ritmo cada vez mais intenso durante todo o transcurso deste mestrado.

Agradeço, especialmente, a meus pais e irmãos por me manterem motivado e pelo apoio incondicional, mesmo nos momentos mais nebulosos, e também a por aturarem toda a carga de estresse, sempre vibrando a cada sucesso.

Sou grato aos professores das disciplinas que cursei no programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, por terem adicionado tanto neste percurso, além de terem me dado subsídios para analisar as situações com visões mais amplas.

Sem dúvidas tem minha gratidão toda à equipe da Clínica de Bovinos por terem dado o mais irrestrito apoio no seguimento deste mestrado. Em particular a Dra. Carla Lopes de Mendonça, Dr. José Augusto Bastos Afonso e Dr. Nivaldo de Azevedo Costa, por terem esclarecido todas as dúvidas, por importantes contribuições para a redação desta dissertação, pela contribuição para o desenvolvimento do experimento e pelo legítimo interesse e disposição em ajudar, sempre que possível.

Ao professor Dr. Pierre Castro Soares o mérito por ter me orientado, um esteio acadêmico com quem pude contar em todos os momentos, uma fonte contínua de aprimoramento, um dos grandes responsáveis pelo meu desenvolvimento acadêmico e profissional durante o período desta pós-graduação.

A minha equipe do Banco do Brasil, a qual, em meio a todas as dificuldades, pôde ajudar a chegar ao termino desta etapa sem ter que me desligar da Instituição, compreendendo as faltas, atrasos e mudanças de horários além dos dias trabalhados sob o ritmo de noites mal dormidas em função da dedicação a pesquisa.

Não podendo esquecer todos os orientadores que participaram de minha formação acadêmica e na construção dos conhecimentos que me trouxeram até aqui: Daniela Oliveira, Ana Carolina Faraldo (*in memoriam*), Horasa Andrade, Epaminondas Borges e Pedro Falcão. Grande parte do que me trouxe até aqui, devo a vocês!

A todos os proprietários que foram receptivos em suas fazendas e forneceram o leite a ser usado em minha pesquisa.

Ao quadro do CENAPESC e do DEPA pelo apoio crucial no momento de análise das amostras coletadas. Com especial agradecimento ao futuro mestrando, e companheiro de orientador, Emanuel Oliveira. Destacando a atuação de meu anjo acadêmico de última hora, Cristiane Scavuzzi, a quem não tenho palavras para expressar minha gratidão. Sem esquecer também da compreensão, e valorosa contribuição, prestada pelo Professor Omer Cavalcanti de Almeida.

E também a todos os meus amigos, os quais me deram apoio em momentos complicados, toleraram as ausências, e que sempre deram motivação. Em especial a Marcos Junior, que me provou que “há amigos mais chegados que um irmão”.

Nestes dois anos tive o privilégio de ter contado com pessoas que, juntamente comigo, se dedicaram para assegurar que os objetivos propostos fossem cumpridos e, embora não tenha citado o nome de todos que me acompanharam nesta jornada, gostaria de agradecer a todos que tiveram alguma parcela de envolvimento no desempenho desta pesquisa, pois sem esta sinergia o resultado jamais teria seguido ao longo desta dissertação.

“The final objective of veterinary medicine does not lie... in the animal species that the veterinarian commonly treats. It lies very definitely in man and above all in humanity.”

M. Martinez Baez

RESUMO

A produção de leite representa uma das mais importantes cadeias produtivas do agronegócio brasileiro e, contemporaneamente, há uma demanda progressiva pelo aumento da produtividade, representada pela elevação de tecnificação, bem como fornecimento de suplementos diversos. Diante deste cenário tem ocorrido a contaminação ambiental antropogênica por metais pesados, com elevado potencial tóxico a saúde animal e pública. Este trabalho se propõe a determinar a concentração de chumbo, cádmio, cobre, ferro e zinco em leite bovino integral cru produzido no Agreste Meridional do estado de Pernambuco. Foram coletadas 147 amostras de 15 ml cada, em 14 propriedades distribuídas aleatoriamente, entre a primavera e o verão de 2013, o que levou a 735 determinações analíticas. As amostras coletadas foram refrigeradas a -4°C , para posterior digestão em micro-ondas seguida de análise em espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente, as quais foram analisadas em duplicata, a média calculada e os resultados expressos em mg/L. As variáveis estudadas foram descritas por meio das respectivas medidas de tendência central: médias, medianas, desvios – padrão, percentis de 25 e 75. Os dados foram analisados por meio de dispersão de frequências por metodologia descritiva. Nas amostras de leite cru provenientes do Agreste Meridional de Pernambuco foram determinados os níveis de Pb ($0,090\pm 0,040$ mg/L), Cd ($0,015\pm 0,013$ mg/L), Cu ($0,043\pm 0,038$ mg/L), Zn ($1,293\pm 0,814$ mg/L) e Fe ($0,109\pm 0,089$ mg/L). Houve uma variação dos níveis dos metais de acordo com os municípios analisados. O tipo de ordenha influenciou os níveis de Pb, Cd e Zn. Maiores índices de Pb e Zn foram obtidos nas amostras de propriedades com presença de efluentes. A proximidade das rodovias elevou os índices de Pb, Cd e Cu. Foi possível determinar a presença dos metais Chumbo, Cádmio, Zinco, Cobre e Ferro no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, tendo o Chumbo como o metal pesado presente em níveis acima do limite de tolerância estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

PALAVRAS-CHAVE: Digestão por micro-ondas, Espectrometria de emissão atômica, Leite bovino, Metais pesados.

ABSTRACT

Milk production is one of the most important Brazilian agribusiness production chains and contemporaneously, there is an increasing demand by increasing productivity, represented by the rise of technological improvement as well as providing various supplements. Given this scenario has occurred anthropogenic environmental contamination by heavy metals with high toxic potential animal and public health. This study aims to determine the concentration of lead, cadmium, copper, iron and zinc in completely raw bovine milk produced in Southern Wasteland of the state of Pernambuco. 147 samples of 15 ml each were collected from 14 farms randomly distributed between the spring and summer of 2013, which led to 735 analytical determinations. The samples were refrigerated at -4°C for later microwave digestion followed by analysis of atomic emission spectrometer for inductively coupled plasma. Samples were analyzed in duplicate, averaged and the results expressed in mg / l. The variables were described by means of the measures of central tendency: mean, median, deviation - standard, 25th and 75th percentiles Data were analyzed using frequency dispersal by descriptive methodology. In raw milk samples from the Southern Wasteland of Pernambuco were certain levels of Pb (0.090 ± 0.040 mg / L), Cd (0.015 ± 0.013 mg / L), Cu (0.043 ± 0.038 mg / L), Zn (1.293 ± 0.814 mg / L), Fe (0.109 ± 0.089 mg / L). There was variation in the levels of metals in accordance with the analyzed cities. The type of milking influenced the levels of Pb, Cd and Zn. Higher levels of Pb and Zn were obtained from samples of properties with the presence of effluents. The proximity of highways raised the rates for Pb, Cd and Cu. It was possible to determine the presence of metals Lead, Cadmium, Zinc, Copper and Iron in raw milk from cows originating from Southern Wasteland of the State of Pernambuco, with the Lead as the heavy metal present at levels above the tolerance limit established by the National Health Surveillance.

KEYWORDS: Microwave Digestion, Atomic Emission Spectrometry, Bovine Milk, Heavy Metals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Mapa do Estado de Pernambuco, com a região Agreste Meridional em destaque. 18

Figura 2 Capacidade analítica de alguns métodos.....30

Artigo I

Figura 1 Correlação entre a concentração de Pb e Cd em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil 51

Figura 2 Correlação entre a concentração de Fe e Zn em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Propriedades do Leite.....20

Tabela 2 Ingestão diária de Fe, Zn e Cu recomendada para lactantes, crianças e adultos.29

Artigo I

Tabela 1 Valores médios das concentrações de Pb, Cd, Cu, Zn e Fe em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil. 49

Tabela 2 Fatores de variação e níveis de significância da análise de variância das concentrações de Pb, Cd, Cu, Zn e Fe em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil 50

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag	Prata
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
As	Arsênico
CBG	Clínica de bovinos de Garanhuns
Cd	Cádmio
CENAPESQ	Centro de Apoio a Pesquisa
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DEPA	Laboratório de Química de Solos
EU	União Europeia
F-AAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com chama)
Fe	Ferro
GF-AAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite)
Hg	Mercúrio
HG-AAS	Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos)
ICP – OES	Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo)
IDR	Ingestão Diária Recomendada
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
Mn	Manganês
Mo	Molibdênio
Ni	Níquel
Pb	Chumbo

PGSRR	Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes
ppb	Partícula por bilhão
ppm	Partícula por milhão
ppt	Partícula por trilhão
PVC	Poli Vinyl Chloride Policloreto de vinila
S	Enxofre
Se	Selênio
Sn	Estanho
Ti	Titânio
U	Urânio
U\$	Dólares americanos
WHO	WORLD HEALTH ORGANIZATION (Organização Mundial da Saúde)
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos Gerais	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1. Caracterização do espaço amostral	18
3.2. O Leite bovino	19
3.3. Metais Pesados.....	20
3.3.1. Chumbo	23
3.3.2. Cádmiio	24
3.3.3 Cobre	26
3.3.4 Ferro	27
3.3.5 Zinco.....	28
3.4. Técnicas de quantificação de Metais	29
4. REFERÊNCIAS	32
5. ARTIGO CIENTÍFICO.....	41
5.1. Artigo I.....	41
DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM LEITE BOVINO	41
NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO	42
MÉTODOS	45
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	47

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento industrial e também demográfico, muitos problemas acompanharam esse processo, particularmente no que diz respeito ao nível crítico de contaminantes ambientais e de alimentos oferecidos a população humana (PERES et al. 2005). No âmbito do agronegócio, sabe-se que existe uma grande demanda de oferta de alimentos, como carne, leite e derivados; porém para se atingir níveis zootécnicos de alta produção, os animais muitas vezes recebem dietas com grande variedade de componentes que podem estar contaminados e apresentar risco à saúde animal e saúde humana (SILVA et al., 2012). Com o advento da tecnologia do agronegócio, existe uma preocupação quanto ao meio ambiente, aos alimentos e aos animais, formando uma tríade dinâmica com elevado grau de inter-relação (PEREIRA & MANGUALDE, 2011). Neste contexto, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas objetivando uma melhor administração e controle da qualidade ambiental, da qualidade dos alimentos oferecidos aos animais e qualidade dos produtos de origem animal, particularmente o leite (JOBIM, 2001).

De todas as cadeias produtivas do setor agropecuário, e a que mais se transformou, nos últimos anos, foi a do leite. O leite bovino é um alimento que oferece diferentes nutrientes aos seres humanos, como por exemplo, minerais e proteína, especialmente para crianças em crescimento (PATRA et al., 2008). A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes do complexo agroindustrial brasileiro. Movimenta anualmente cerca de U\$10 bilhões, empregando três milhões de pessoas, das quais acima de um milhão são produtores, e produz aproximadamente 20 bilhões de litros de leite por ano, provenientes de um dos maiores rebanhos do mundo, com grande potencial para abastecer o mercado interno e exportar (IBGE, 2009).

Entre 1990 e 2000, a produção nacional de leite cresceu 37%, enquanto na Região Centro-Oeste o crescimento foi de 81% e, em especial o Estado de Goiás, 105%. A Região Centro-Oeste abriga 35% do rebanho bovino nacional, com uma das principais concentrações de indústrias de laticínios do País (VILELA et al., 1999). O estado de Pernambuco também acompanhou essa fase de crescimento, passando de 313 milhões de litros em 1990 para 747 milhões de litros em 2007 (CNA, 2007).

Já em relação ao agronegócio do leite na região Nordeste do Brasil é produzido apenas 14% do leite no Brasil, sendo que na região semiárida se encontram suas principais

bacias leiteiras, embora os principais centros consumidores estejam localizados ao longo da faixa litorânea (CARVALHO & RIOS, 2006).

Segundo dados do último censo agropecuário foram produzidos nacionalmente, em 2006, 20.567.500 mil litros de leite, enquanto o estado de Pernambuco foi responsável por 468.329 litros e destes, 356.214 litros foram provenientes do Agreste do Estado Pernambucano (IBGE, 2009). Ressaltando que nos últimos anos a produção leiteira do Agreste Meridional Pernambucano cresceu 23%, representando 73% da produção leiteira do Estado de Pernambuco, com favorável perspectiva de crescimento através dos investimentos privados que vêm sendo realizados (CONAB, 2004).

A pecuária leiteira aparece como uma opção viável nas regiões semiáridas, principalmente no nordeste do Brasil, onde a alimentação dos rebanhos fundamenta-se na utilização de forrageiras cultivadas e no uso da vegetação nativa (FERREIRA et al., 2009), bem como do uso de grande variedade de suplementos energéticos, proteicos e mineral.

A bacia leiteira de Garanhuns é extremamente importante para a economia do Agreste Meridional, apresentando-se altamente concentrada, onde se observa que produtores com produção inferior a 200 litros de leite por dia, representam 73,7% do total de entrevistados, e detém apenas 32,8% da produção total, enquanto os produtores com produção superior a 200 litros por dia representam 26,3% do total de produtores detém 67,2% da produção total. Destacando um fato extremamente positivo é que não existe muita variação na produção de leite entre o período das águas e o da seca. Na pesquisa foi constatada uma variação de 8,5%. Essa pequena alteração deve-se, principalmente, ao fornecimento de alimentos concentrados para as vacas em lactação no período da seca (PENAFORTE JUNIOR et al., 2009).

Assim sendo, a contaminação de leite por metais pesados podem trazer riscos à saúde da população humana, como distúrbios dos sistemas nervoso, medular, reprodutivo, renal, gastrointestinal, respiratório entre outros (CROUT et al., 2004; PATRA et al., 2008). Os metais pesados também podem influenciar a qualidade do leite com respeito à sua composição, notavelmente os microelementos essenciais para o crescimento normal da produção e reprodução (DOYLE & YOUNGER, 1984). Devido à elevada toxicidade de alguns metais pesados, como o chumbo (Pb) e do cádmio (Cd), mesmo em nível de traços, as autoridades sanitárias mundiais estão preocupadas em estabelecer medidas para

reduzir a concentração desses metais nos alimentos, uma vez que são considerados a principal fonte de ingestão desses contaminantes (OKADA et al., 1997).

Os metais pesados ocorrem naturalmente nos solos e alguns deles, tais como cobre (Cu), zinco (Zn) e cobalto (Co), desempenham importante papel na nutrição de plantas e animais, enquanto outros, como Cd, Pb, arsênio (As) e selênio (Se), exercem efeitos deletérios sobre vários componentes da biosfera, e, seguramente o acúmulo de metais pesados no organismo animal é um aspecto de grande preocupação quanto à saúde pública (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001). Segundo García-Esquinas et al. (2011), qualquer grau de contaminação no leite é muito problemático, visto que o leite é bastante utilizado na alimentação infantil, bem como de outros grupos de diferentes faixas etárias.

Considerando o potencial produtivo de leite no Brasil, bem como a investigação a respeito de contaminantes, particularmente de metais pesados, apenas no estado de Goiás tem dados relativos à determinação de metais pesados em leite, quando Gonçalves et al. (2008), em que investigaram o leite integral bovino pasteurizado e encontraram resultados preocupantes, considerando os níveis de Pb como de risco de intoxicação a médio e longo prazo da população consumidora, sugerindo efetivo monitoramento dos suplementos minerais, alimentos e ingredientes destinados à alimentação animal.

São frequentes os estudos sobre algum compartimento ambiental específico, como é o caso do solo, da vegetação e das águas, bem como os que relacionam os efeitos desses elementos químicos sobre a saúde humana. Embora o tema relacionado à contaminação por metais tóxicos em vários animais de produção seja usualmente abordado pela literatura científica, em nível de relato de contaminação por metais pesados em bovinos de leite o estudo ainda é limitado. Contamos com poucos estudos realizados especialmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, sendo a região Nordeste ainda carente de trabalhos científicos neste sentido (RODRIGUES, 2011; GONÇALVES, 2008; MARÇAL, 2004; MARÇAL, 2005).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Determinar a concentração de metais pesados em leite cru integral bovino produzido no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco

2.2. Objetivos Específicos

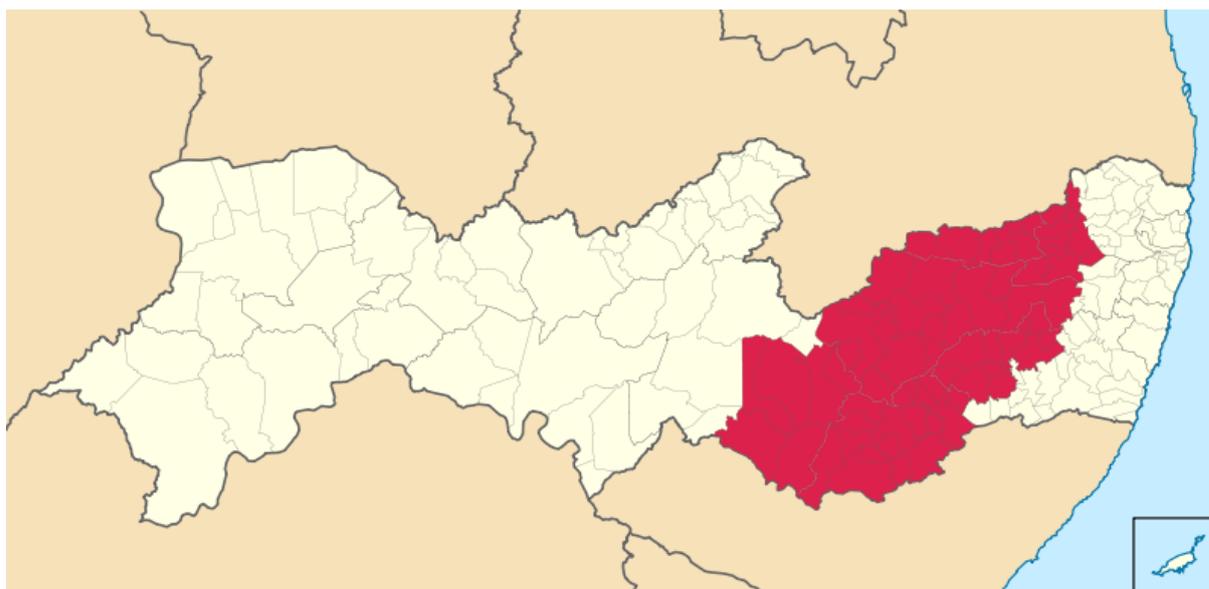
- Avaliar as concentrações de Pb, Cd, Cu, Fe e Zn no leite integral cru de vacas criadas em diferentes municípios e sistemas de criação;
- Determinar a influência do tipo de ordenha, presença de efluentes e proximidade da propriedade a rodovias, nos índices de Pb, Cd, Cu, Fe e Zn.
- Padronizar metodologia para análise de minerais em leite bovino integral cru pela espectrofotometria de absorção atômica acoplada a massa (ICP-OES) após digestão por micro-ondas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Caracterização do espaço amostral

O Estado de Pernambuco é dividido em cinco Mesorregiões: Zona da Mata, Agreste, São Francisco, Sertão e Metropolitana do Recife. O Agreste Meridional abrange uma área de 13.113,50 Km² e é composto por 26 municípios: Águas Belas, Angelim, Bom Conselho, Brejão, Buíque, Caetés, Calçado, Canhotinho, Capoeiras, Correntes, Garanhuns, Iati, Itaíba, Jucati, Jupi, Jurema, Lagoa do Ouro, Lajedo, Palmeirina, Paranatama, Pedra, Saloá, São João, Terezinha, Tupanatinga e Venturosa (CONDEPE/FIDEM, 2013).

Figura 1 Mapa do estado de Pernambuco, com a região Agreste Meridional em destaque.



Fonte: BDE – Base de Dados do Estado

A população total do território é de 587.086 habitantes, dos quais 257.840 vivem na área rural, o que corresponde a 43,92% do total. Possui 44.493 agricultores familiares, 2.609 famílias assentadas, 22 comunidades quilombolas e 5 terras indígenas. O Índice de Desenvolvimento Humano – que é uma medida comparativa usada para classificar regiões pelo seu grau de "desenvolvimento humano" através de expectativa de vida ao nascer, educação e PIB (PPC) per capita – apresenta uma média de 0,60 na região, frente a um IDH nacional de 0,744 (MDA, 2013).

A cadeia produtiva do leite e laticínios assume um papel bastante significativo para a economia rural de Pernambuco, participando com um valor superior a R\$ 0,5 bilhões, em mais de 60 municípios do Agreste Pernambucano (PENAFORTE JUNIOR et al., 2009).

3.2. O Leite bovino

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do leite, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). O leite pode ser descrito, sob o ponto de vista biológico e físico-químico, como um líquido constituído por água, gordura, proteína, lactose e minerais, destacando que, normalmente, as caracterizações de leite líquido são feitas em laboratórios existentes nos próprios laticínios, em que se medem propriedades como o teor de gordura, proteína, sólidos totais e água adicionada, entre outros (NAZARIO et al., 2009), conforme descrito na Tabela 1 (USDA, 2014)

Dietas infantis excessivamente fundamentadas em consumo de leite de vaca podem representar uma das causas do alto risco de anemia nos anos iniciais de vida, uma vez que esse alimento é pobre em ferro: cerca de 2,6 mg Fe para 1.000 kcal do alimento. As recomendações nutricionais para o consumo de ferro dos seis aos 60 meses são de 10 mg por dia, o que para crianças de seis a 11, 12 a 35, 36 a 60 meses corresponderia a dietas com densidade de ferro de 11,7; 7,7 e 5,6 mg Fe/1.000 kcal, respectivamente (LEVY-COSTA & MONTEIRO, 2004).

Tabela 1 Propriedades do Leite

Nutriente	Unidade	Valor por 100 g
Água	g	89.92
Energia	kcal	42
Proteína	g	3.37
Lipídios totais	g	0.97
Carboidratos, por diferença	g	4.99
Fibra dietética total	g	0.0
Açúcares totais	g	5.20
Ca	mg	125
Fe	mg	0.03
Mg	mg	11
P	mg	95
K	mg	150
Na	mg	44
Zn	mg	0.42
Vitamina C	mg	0.0
Tiamina	mg	0.020
Riboflavina	mg	0.185
Niacina	mg	0.093
Vitamina B-6	mg	0.037
Folato (vit. B-9)	µg	5
Vitamina B-12	µg	0.47
Vitamina A, RAE	µg	14
Vitamina A, IU	UI	47
Vitamina E (alpha- tocopherol)	Mg	0.01
Vitamina D (D2 + D3)	µg	0.0
Vitamina D	UI	1
Vitamina K	µg	0.1
Colesterol	mg	5

Fonte: USDA

3.3. Metais Pesados

Os metais estão presentes em diversas formas no meio ambiente, e a maioria é essencial às plantas, aos animais e ao ser humano. Em condições naturais, as principais fontes desses elementos são as rochas e os sedimentos. Fontes antropogênicas, incluindo

emissões industriais, efluentes, biossólido, fertilizantes, condicionadores de solo e pesticidas, podem contribuir no aumento da concentração de metais pesados no meio ambiente (SILVEIRA, 2002).

A expressão “metal pesado” é comumente utilizada para designar metais classificados como poluentes, englobando um grupo muito heterogêneo de metais, semimetais e mesmo não metais como o selênio, por ser utilizado, de maneira um pouco confusa na literatura, Freire (2005) define-os como elementos com densidade atômica maior que 6 g/cm^3 que estejam essencialmente ligados à poluição. Neles se enquadram metais, semimetais e não metais, como o selênio. Alguns dos elementos inclusos na definição de “metal-pesado” são essenciais às plantas (Cu, Zn, Mn, Co, Mo, S) enquanto outros são dispensáveis como o Pb, Cd, Hg, Ag, Ti, U e deveriam mais propriamente serem definidos como tóxicos (FREIRE, 2005).

De acordo com Zenteno (2003) os principais metais pesados, presentes no solo e nos insumos utilizados na agricultura, são: Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Sn e Zn. Dentre eles deve-se destacar que alguns são essenciais às plantas (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn) e aos animais (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn).

Metais pesados como Pb, Hg, Cd, Ar, Cr, Zn e Mn, dentre outros, estão presentes em diversos tipos dos resíduos levados tanto aterros sanitários quanto para incineradores, com potencial para se difundir nas diversas cadeias tróficas ambientais, podendo ser encontrados nesse material: lâmpadas, pilhas galvânicas, baterias, resto de tintas, resto de produtos de limpeza, óleos lubrificantes usados, solventes, embalagens de aerossóis, resto de amálgama utilizada em consultórios odontológicos, materiais fotográficos e radiográficos, embalagens de produtos químicos, pesticidas, fungicidas e inseticidas, componentes eletrônicos descartados isoladamente em placas de circuitos impressos, resíduos de produtos farmacêuticos, medicamentos com prazos de validade vencidos, latarias de alimentos, aditivos alimentares, e plásticos descartados (MUÑOZ, 2002).

O Fe, Cu e Zn, satisfazem, quando em pequenas concentrações, funções biológicas essenciais. Em altas concentrações tornam-se tóxicos, em contraponto a sua deficiência, a qual acarreta distúrbios no crescimento e metabolismo. Os metais Cd e Pb apresentam graves problemas por sua comprovada toxicidade para o organismo vivo, ainda que em baixas concentrações, cuja presença nos alimentos deve ser evitada. Destacando que estes elementos químicos são, geralmente, translocados através da cadeia alimentar para homens e animais (MURTA, 1993).

A disseminação na água, solo e atmosfera, bem como, a concentração ambiental de metais pesados tem sido motivo de crescente preocupação no mundo. Os metais pesados podem ser percolados através do chorume, líquido resultante da decomposição de resíduos, o qual – em miscelânea com a água da chuva, juntamente com outros líquidos originalmente existentes no lixo – infiltra-se no solo e, quando atinge o lençol freático, contamina a água subterrânea. A contaminação desses reservatórios hídricos tem implicações que perduram por tempo e extensão geográficas indefinidas e são de difícil controle. Além de provocar a contaminação da água, essa disposição inadequada polui também o solo, atingindo as plantas, os animais e o homem (MAGOSSI & BONACELLA, 1997).

Há, ainda, como ponto crítico e alerta, a iminente contaminação ambiental originada pela defecação dos animais que recebem formulações minerais contaminadas, atingindo o solo, vegetação, os mananciais hídricos e as diferentes formas de seres vivos do ecossistema (MARÇAL et al., 2005). Uma vez aventada há possibilidade das contaminações por metais pesados atingirem à cadeia trófica alimentar, atingindo os bovinos e, por conseguinte o homem, através do consumo de produtos e/ou subprodutos de origem animal notadamente tóxico, o que representa potencial risco à saúde pública (MARÇAL et al., 2004).

Segundo Abdallah (2005) a presença de metais pesados no leite pode ser atribuída à contaminação das vacas em lactação através da exposição à poluição ambiental ou o consumo de alimentação e/ou água contaminados. Onde podemos ressaltar que significativa parcela da segurança alimentar contemporânea repousa no controle de remanescentes residuais nos alimentos, em função do uso de defensivos agrícolas e fármacos veterinários, ou também por acidentes envolvendo contaminantes ambientais (BRASIL, 1999), ou mesmo, segundo Ramalho et al. (2000) como resultando da ação agroquímica no sentido de adubação, porém efetuada de modo incorreto. Metais pesados, ao integrarem-se a cadeia trófica alimentar, atingem os bovinos e, por conseguinte o homem, através do consumo de produtos e/ou subprodutos de origem animal notadamente tóxico, o que representa potencial risco à saúde pública (MARÇAL et al., 2004). Sendo necessário destacar que qualquer contaminação detectada no leite é uma questão de especial gravidade, uma vez que ele representa o principal constituinte da alimentação infantil e parte importante da dieta alimentar de outros grupos de diferentes faixas etárias (TOLONEN, 1995).

3.3.1. Chumbo

O Pb não apresenta função fisiológica conhecida no organismo de seres humanos e animais. Uma vez absorvido, o Pb é distribuído através de três compartimentos: o sangue, onde tem uma meia-vida de 36 dias; tecidos moles, onde tem uma meia-vida de 40 dias; e nos ossos, onde tem uma meia vida de 27 anos, onde, acentuadamente, a cinética de eliminação é mais lenta, destacando que este é o maior depósito de armazenamento corporal, respondendo por 90 a 95% do Pb armazenado no organismo (MOREIRA & MOREIRA, 2004a).

A intoxicação por Pb ocorre quando os animais ingerem acidentalmente produtos que o contêm (baterias, tintas, óleo ou graxa de motores de carros ou máquinas agrícolas, canos de Pb). Outra fonte de contaminação é a ingestão de pastagens em áreas próximas a indústrias que poluem por Pb ou, em beiras de estradas com muito trânsito de veículos em países onde continua sendo utilizada gasolina com Pb. Os animais mais afetados são os bovinos, principalmente jovens; isto por que o comportamento curioso e a tendência a lambar ou ingerir objetos estranhos os leva a ingerir produtos contendo Pb. Além de ocorrer pela via oral, a intoxicação pode ocorrer, também, pela via respiratória devido à inalação de vapores de Pb (RIET-CORREIA, 2007).

Os sinais clínicos em bovinos e outros ruminantes podem ser agudos ou subagudos. Na forma aguda alguns animais podem ser encontrados mortos e outros morrem em 12-24 horas. Na forma subaguda há uma sobrevivência de 4-5 dias. Os sinais são preferentemente nervosos, podendo-se observar tremores musculares, cegueira, incoordenação, agressividade ou depressão, pressão da cabeça contra obstáculos, sonolência, ranger de dentes, nistagmo espontâneo, opistótono, torção e convulsões com movimentos tônico-clônicos. Além da cegueira, um sinal clínico característico da intoxicação é a fasciculação dos músculos da face, pescoço e orelhas. Observa-se, ainda, anorexia, atonia ruminal e diarreia fétida. Pode ocorrer, também, salivação, andar em círculo, mugidos e movimentos mastigatórios (RADOSTITS et al., 2007).

Em humanos, afeta todos os órgãos e sistemas do organismo e os mecanismos de toxicidade propostos envolvem processos bioquímicos fundamentais, que incluem a habilidade do Pb de inibir ou imitar a ação do cálcio e de interagir com proteínas. A

toxicidade do Pb resulta, principalmente, de sua interferência no funcionamento das membranas celulares e enzimas, formando complexos estáveis com ligantes contendo enxofre, fósforo, nitrogênio ou oxigênio. O conjunto de órgãos mais sensível ao envenenamento por Pb é o sistema nervoso, sendo que a encefalopatia é um dos mais sérios desvios tóxicos induzidos pelo Pb em crianças e adultos. Destacando que a função nervosa autônoma é mais suscetível ao Pb do que as funções nervosas visuais e auditivas; o Pb afeta mais fortemente a atividade simpática do que a parassimpática. A exposição excessiva e prolongada ao Pb pode causar doença renal progressiva e irreversível (MOREIRA & MOREIRA, 2004 b).

A nefropatia por Pb é caracterizada por uma redução gradual da função renal e é frequentemente acompanhada por hipertensão. Nos estágios iniciais dessa exposição excessiva aguda, as alterações morfológicas e funcionais nos rins estão limitadas aos túbulos renais e são mais pronunciadas nas células tubulares proximais, cujos danos se manifestam por reabsorção reduzida de aminoácidos, glicose, fosfato e ácido cítrico. Em casos severos, podem ocorrer hiperaminoacidúria, glicosúria e hipofosfatemia combinada com hiperfosfatúria (síndrome semelhante a de Fanconi) (WHO, 1995). Outra manifestação bem conhecida da exposição ao Pb é a linha azulada nas gengivas (LIMA, 2012).

A legislação nacional se encontra em consonância com os padrões internacionais, no tocante a fixar teores máximos de contaminantes presentes nos géneros alimentícios, estabelecendo o limite máximo de 0,020 mg/Kg, mesma tolerância adotada pelo MERCOSUL e União Europeia (ANVISA, 1998; UE, 2006; MERCOSUL, 2013).

3.3.2. Cádmio

O Cd não participa de função essencial ao organismo animal, humano e metabolismo de plantas, apresentando grande interesse toxicológico em função de ser extremamente tóxico ao homem, mesmo em baixas concentrações. Apresenta vida biológica longa (10 a 30 anos) e de lenta excreção pelo organismo humano. O órgão alvo primário nas exposições ao Cd, em longo prazo, é o rim. Os efeitos tóxicos provocados pelo Cd compreendem principalmente distúrbios gastrointestinais, após a ingestão do

agente químico. A inalação de doses elevadas produz intoxicação aguda, caracterizada por pneumonite e edema pulmonar (PINTO et al., 2005).

Acumula-se dentro do organismo, particularmente nos rins e fígado, uma vez que se liga fortemente a metalotioneína, proteína abundante nos citados órgãos. É mal e muito lentamente depurado do organismo animal. O Cd é antagonista do Zn do Cu e, em menor nível, do Fe, o que pode gerar sintomatologia de deficiência dos citados microelementos em virtude da interferência na absorção. A absorção pelos ruminantes, é limitada a 1% face a forte ligação com a metalotioneína intestinal. Ressaltando que sua eliminação através do leite não aumenta proporcionalmente as concentrações alimentares, uma vez que a glândula mamária limita seu transporte (REECE, 2006).

Radostits et al (2007) descreve que a intoxicação em ruminantes tem como sintomatologia inapetência, fraqueza, perda de peso e queratinização inadequada dos cascos, chifres secos e quebradiços, entrelaçamento dos pelos, queratose e descamação da pele, além de abortamentos, natimortos e defeitos congênitos. Ressaltando ainda que a intoxicação natural por Cd é rara.

Uma vez promovida exposição alimentar ou ambiental, e absorção por qualquer via, o Cd é amplamente difundido no organismo humano, armazenando-se principalmente no fígado e nos rins, órgãos que concentram o Cd e, em conjunto, correspondem à metade de todo o cádmio armazenado no organismo. Gestantes e lactantes, quando em contato com o Cd, há probabilidade de transferência para o feto através da via placentária, sanguíneo e aleitamento (GONÇALVES, 2010).

Os níveis de Cd no leite humano representam de 5 a 10% dos níveis encontrados no sangue, provavelmente em virtude da inibição da transferência do sangue devido à ligação do metal à metalotioneína das células sanguíneas (ATSDR, 1999). Entre os fatores que podem impactar na absorção do Cd, destacam-se as interações metal-metal (Fe, Ca, Cr, Pb e Zn) e metal-proteína (metalotioneína e glutatona), presentes tanto em alimentos como no organismo humano (WHO, 1992).

Clinicamente pode ser observada a função tubular severamente prejudicada com uma perda de capacidade de reabsorção de nutrientes, vitaminas e minerais, bem como comprometimento da função glomerular, destacando a excreção urinária anormal de proteínas de baixo peso molecular, Ca, P, aminoácidos e glicose. Ressaltando ainda que, em decorrência das lesões apresentadas, há aumento do risco de diabetes e pré-diabetes. Como prejuízos ao sistema locomotor é descrito osteomalacia com rápida

desmineralização óssea, associada à densidade mineral óssea diminuída e osteoporose. No tocante ao sistema cardiorrespiratório podem ser observados cardiopatias diversas e hipertensão, bem como redução no volume expiratório forçado, ressaltando que tal sintomatologia pode ser mediada por Cd em função de tabagismo. Ao avaliar o risco carcinogênico, as autoridades sanitárias consideram-no como relevante aos trabalhadores profissionalmente expostos ao Cd (STARUG, 2011).

Tal qual o Pb, o Cd também segue rígidos padrões de tolerância, sendo seu limite de tolerância 0,05 mg/Kg, acopnando os limiares propostos pelo mercado internacional (ANVISA, 1998; UE, 2006; MERCOSUL, 2013).

3.3.3 Cobre

O Cu está presente em diversas enzimas e proteínas, estando ligado a funções fisiológicas com o desenvolvimento do tecido conectivo, formação óssea, processos de queratinização, respiração celular, mielinização da medula espinhal, pigmentação e funções cardíacas. Pode ser considerado tanto essencial quanto tóxico, e está presente como cofator catalítico essencial em importantes metaloenzimas como a Cu-Zn superóxido dismutase, citocromo oxidase, lisil oxidase, dopamina- -hidroxilase e tirosinase (LEMOS, 1997; RADOSTITS et al., 2007; CORTINHAS, 2012).

A hipocuprose é classificada como uma das deficiências de maior interesse em ruminantes, exibindo extensa diversidade de sintomas e ampla distribuição geográfica. Em ovinos pode levar a alterações congênitas ou adquiridas da mielina (ataxia enzoótica), anemia, osteoporose redução do crescimento, bem como fragilidade e perda da ondulação da lã ou despigmentação da lã preta. Em bovinos distintos quadros clínicos são observados na hipocuprose, podendo ocorrer osteoporose, baixo desempenho reprodutivo, menor desenvolvimento corporal e anemia, alterações da pigmentação dos pêlos e diarreia (MARQUES, 2003).

As intoxicações por Cu em ruminantes são mais frequentes em ovinos, onde há acúmulo de Cu no fígado e, em situação de estresse, grandes quantidades são liberadas no sangue tornando evidentes os sinais de intoxicação (crises hemolíticas) (CASTRO, 2007).

A deficiência de Cu é rara em humanos, uma vez que esse nutriente é facilmente consumido e tem uma dose diária requerida muito baixa. No entanto, quando há carência, a função de diferentes órgãos e de vários sistemas de defesa do organismo fica comprometida. Pacientes com deficiência de Cu podem ainda desenvolver déficits hematopoiéticos, resultando em anemia hipocrômica microcítica associada à leucopenia e neutropenia (BAIERLE, 2010).

A intoxicação aguda cúprica pode ser fatal dependendo da dose. Os achados predominantes são gastrintestinais. O Cu causa imobilização irreversível dos espermatozoides *in vitro*. Nenhum efeito teratogênico atribuído ao cobre foi relatado em humanos, porém altas doses em ratas grávidas foram relacionadas com aumento da mortalidade fetal e malformações no sistema nervoso central. Não há relatos de carcinogenicidade associada (ATSDR, 2002).

A legislação vigente no Brasil determina como limite máximo de Cu, a estar presente nos produtos lácteos, 2,0 mg/kg (ANVISA, 1998). A ingestão diária recomendada para humanos pode ser acompanhada através da tabela 01.

3.3.4 Ferro

O Fe é um mineral essencial para a homeostase celular, sendo imprescindível para o transporte de oxigênio, para a síntese de DNA e metabolismo energético. É um cofator importante para enzimas do ciclo respiratório mitocondrial e na fixação do nitrogênio. Nos mamíferos é empregado principalmente na síntese da hemoglobina (Hb) nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado (GROTTO, 2008)

A ingestão excessiva de Fe é uma causa importante de intoxicação acidental na infância, não obstante que o uso de altas doses de Fe em comprimidos, utilizados em gestantes e no tratamento de doenças hematológicas, constitui a causa mais frequente de óbito por intoxicação em crianças de um a quatro anos. No Brasil, como na maioria dos países, os medicamentos são os principais agentes tóxicos, os benzodiazepínicos, os antigripais, antidepressivos e os anti-inflamatórios são os medicamentos que mais intoxicam (BERBER, 2007).

3.3.5 Zinco

As funções bioquímicas do Zn podem ser traduzidas através de sua participação na atividade de mais de 300 enzimas. Não obstante as baixas concentrações de Zn na maioria dos órgãos, as metaloenzimas dependentes deste mineral estão difundidas em todos os tecidos do organismo, cumprindo processos fisiológicos importantes. Dentre as principais funções do Zn, destacam-se a participação na síntese e degradação dos carboidratos, lipídeos e proteínas, na manutenção do crescimento e do desenvolvimento normais, no funcionamento adequado do sistema imunológico, na defesa antioxidante, na função neurosensorial e na transcrição e tradução de polinucleotídeos (ANDRADE & MARREIRO, 2011; SENA & PEDROSA, 2005)

O Zn constitui uma parte integral de diversas enzimas, das quais uma das mais importantes é anidrase carbônica, presente em concentrações especialmente elevadas nas hemácias. Esta enzima é responsável pela rápida combinação do dióxido de carbono com a água nas hemácias do sangue capilar periférico e pela rápida liberação de dióxido de carbono do sangue capilar pulmonar para os alvéolos. A anidrase carbônica também está presente, em maior grau, na mucosa gastrointestinal, nos túbulos renais e nas células epiteliais de diversas glândulas do corpo. Conseqüentemente, o Zn, em pequenas quantidades, é essencial ao metabolismo do dióxido de carbono. O Zn também é um componente da desidrogenase láctica, sendo, conseqüentemente, importante para as interconversões entre o ácido pirúvico e o ácido láctico. Finalmente é um componente de algumas peptidases, sendo importante para a digestão protéica no trato gastrintestinal (GUYTON & HALL, 2006).

A carência de Zn constitui-se num problema nutricional, compreendendo diversas anormalidades no metabolismo, ensejadas pela ingestão dietética inadequada, diminuição na absorção ou aumento na excreção urinária, presença de agentes na dieta que comprometem sua absorção, cirurgias do intestino, síndromes de má-absorção, doenças renais, doença crônica do fígado, abuso do álcool, nutrição parenteral total sem adição de zinco e, ainda, problemas genéticos. Além de outras manifestações clínicas da deficiência deste mineral, ressaltam-se o retardo no crescimento, hipogonadismo, alteração da resposta imune, dificuldade de cicatrização, aumento do risco de aborto, diarreia,

anorexia, perda de peso, alopecia, e a prematuridade na gestação (ANDREDE & MARREIRO, 2011).

De forma genérica a legislação Brasileira estabelece como limite de ingestão de Zn, para todos os alimentos como sendo 50,00 mg/Kg (BRASIL, 1965), face uma recomendação diária de 7mg/kg por dia (ANVISA, 2005).

Tabela 2 Ingestão diária de Fe, Zn e Cu recomendada para lactantes, crianças e adultos.

Elementos	Unidade	Lactente			Criança		Adulto	Gestante
		0 – 6 meses	7 – 11 meses	12 – 36 meses	4 – 6 anos	7 – 10 anos		
Fe	mg/kg	0,27	9	6	6	9	14	27
Zn	mg/kg	2,8	4,1	4,1	5,1	5,6	7	11
Cu	µg/Kg	200	220	340	440	440	900	1000

Fonte: Anvisa, 2005

3.4. Técnicas de quantificação de Metais

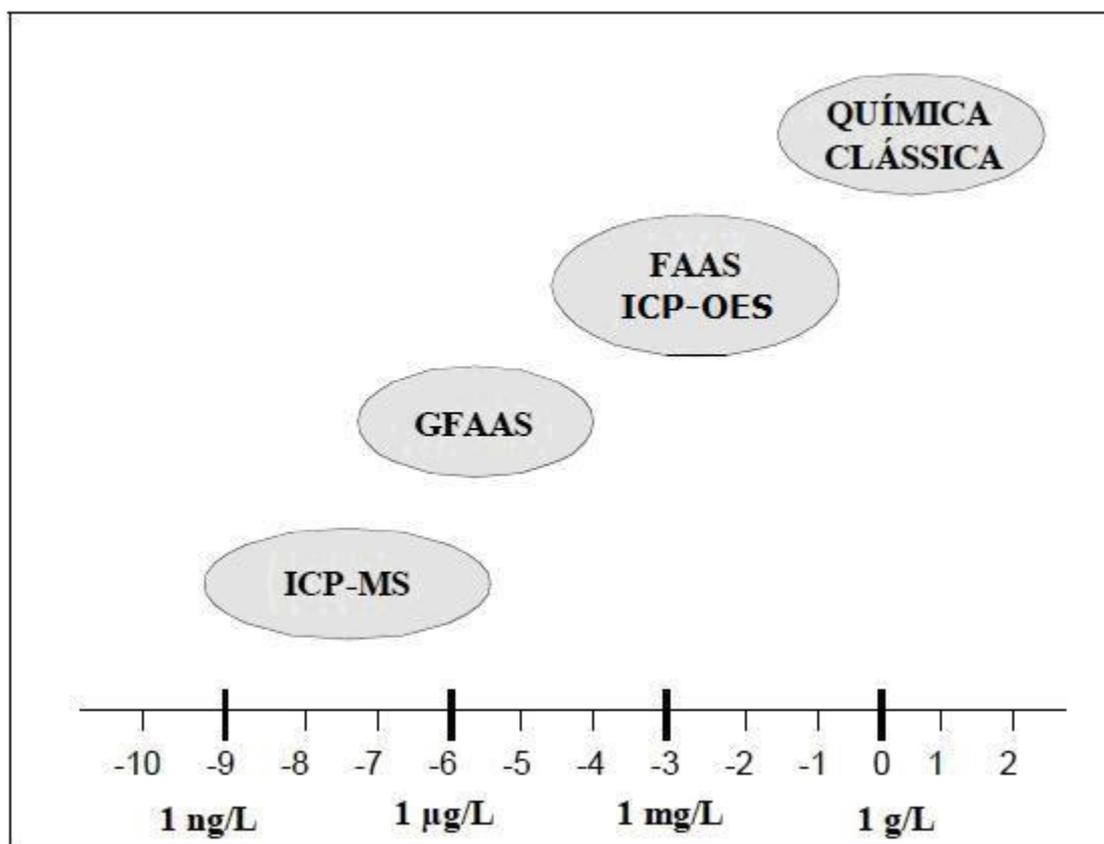
Os métodos analíticos utilizados na caracterização química de amostras ambientais são variados. Os métodos clássicos, como a gravimetria, a volumetria e outros, exigem tempos e recursos humanos intensos, e os seus limites de detecção não correspondem às exigências impostas na atualidade. Assim, estes métodos foram sendo substituídos por métodos instrumentais como a espectrometria de absorção atômica com chama (F-AAS), com forno de grafite (GF-AAS) e com geração de hidretos (GF-AAS), a espectrometria de emissão com plasma indutivo (ICP-OES), a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), entre outros. Os métodos instrumentais, apesar de exigirem um forte investimento em equipamento de custo elevado, o qual é compensado pela economia de recursos humanos (devido à automatização) e reagentes, permitem ampliar a escala de concentração dos elementos até níveis da ordem de grandeza dos ppm, ppb ou mesmo ppt (RIBEIRO, 2006).

Cada método possui um campo de aplicabilidade mais ou menos específico e, para que a sua utilização seja a mais adequada, é fundamental o conhecimento dos princípios dos fenômenos físicos presentes, as vantagens e, sobretudo as limitações mais relevantes

de cada um deles, de forma a serem criadas as condições experimentais necessárias para a sua aplicação (RIBEIRO, 2006).

A escolha do método analítico apropriado para a caracterização das amostras em estudo deve ser realizada de forma criteriosa, tendo em consideração alguns dos seguintes fatores: o tipo de informação que se pretendia obter; a quantidade de amostras disponível e a proporção do(s) constituinte(s) a analisar; a exatidão e a precisão do método analítico; as interferências analíticas e o seu controle; as dificuldades com possíveis contaminações; o tempo necessário para analisar cada amostra; o custo da análise de cada elemento por amostra (SLAVIN, 1992).

Figura 2 Capacidade analítica de alguns métodos



Na espectrometria de absorção atômica a radiação, de comprimento de onda característico do elemento em estudo, é emitida através do vapor atômico. Os átomos do elemento absorvem parte dessa radiação. A quantidade de radiação absorvida por estes átomos é medida e utilizada para determinar a concentração do elemento na amostra (BOSS & FREDEEN, 1989; CSUROS & CSUROS, 2000).

Enquanto que na espectrometria de emissão atômica a amostra é submetida a altas temperaturas, causando não só a dissociação dos átomos, mas também uma quantidade de colisões que provocam a excitação (ou ionização) dos átomos da amostra. Uma vez que os átomos se encontram em estados de energia superiores (estados excitados), a tendência é voltar a estados de mais baixa energia, emitindo energia. A intensidade da radiação emitida num comprimento de onda específico é medida e usada para determinar a concentração do elemento em estudo (BOSS & FREDEEN, 1989; CSUROS & CSUROS, 2000).

4. REFERÊNCIAS

ANDRADE, L. S.; MARREIRO, D. N. Aspectos sobre a relação entre exercício físico, estresse oxidativo e zinco. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 4, p. 629-640 2011.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria SVS/MS nº. 685, de 27 de agosto de 1998**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 ago. 1998. Seção 1

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 dez. 2004

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 set. 2005.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Toxicological profile for cadmium**. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, GA: U.S; 1999.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Toxicological Profile for Copper**. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, GA: U.S.; 2002

BAIERLE, M.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; MORO, A.; BARBOSA JUNIOR, F.; GARCIA, S.C. Possíveis efeitos do cobre sanguíneo sobre parâmetros hematológicos em idosas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 6, p. 463-470, 2010.

BERBER, M. G.; ARAÚJO, L.M.; OLIVEIRA, C.F.; TROSTER, E.J.; VAZ, F.A. Choque refratário e óbito após intoxicação por sulfato ferroso. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 25, n. 4, p. 385-388, 2007.

BORELLI, V.; WISSER, C.S.; EMMERICH, T.; MATURANA, M.C.; GAVA, A.; TRAVERSO, S.D. Intoxicação por chumbo em bovinos em Santa Catarina. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, (supl.2), p. 101-103, 2013.

BOSS, C.B. & FREDEEN, K.J. **Concepts, instrumentation, and techniques in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry**. 2 ed. USA: Perkin Elmer, 1989.

BRASIL. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 Abr. 1965

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 42**. Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR. Brasília, 1999. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dos-alimentos/residuos-e-contaminantes>> Acesso em 20 jun. 2012

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62**. Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR. Brasília, 2011. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em 14 jul. 2014

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Sistema de informação territorial**, 2013. Disponível em <<http://sit.mda.gov.br>> Acesso em 28 jan. 2013

CARVALHO, D.M.; RIOS G.S.L. A associação dos produtores de leite de águas belas como agente de desenvolvimento. In: **XLIV CONGRESSO DA SOBER**, 2006, Fortaleza. Disponível em: <<http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/145341/1/237.pdf>> Acesso em 12 mar. 2013.

CASTRO, M.B.; CHARDULO, L.A.L.; SZABÓ, M.P.J. Copper toxicosis in sheep fed dairy cattle ration in São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 1, p. 246-249, 2007.

CNA. Cenário atual e perspectivas para a produção de leite no Brasil. 2007. Disponível em: <<http://www.icna.org.br/boletim/boletim-producao-de-leite-no-brasil-cenarios-e-perspectivas>>. Acesso em 02 nov. 2013.

CONAB. Conjuntura Regional Pernambuco. 2004. Disponível em: <http://goo.gl/uaBJn9>. Acesso em 14 mai 2014.

CONDEPE/FIDEM, Agência Estadual de Planejamento e Pesquisa de Pernambuco–
CADERNO ESTATÍSTICO, 2013. Disponível em
<<http://www.bde.pe.gov.br/estruturacaogeral/filtroCadernoEstatistico.aspx>> Acesso em
28 jan. 2013.

CONSELHO NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Conjuntura Regional Pernambuco.
2004. Disponível em: < <http://goo.gl/K4YFhM>. >. Acesso em 03 nov. 2013.

CORTINHAS, C.S.; FREITAS JÚNIOR, J.E.; NAVES, J.R.; PORCIONATO, M.A.F.;
PRADA E SILVA, L.F.; RENÓ, F.P.; SANTOS, M.V. Organic and inorganic sources of
zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk
yield and composition. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 6, p. 1477-1483, 2012.

CROUT, N.M.J.; BERESFORD, N.A.; DAWSON, J.M.; SOAR, J.; MAYES, R.W. The
transfer of ⁷³As, ¹⁰⁹Cd and ²⁰³Hg to the milk and tissues of dairy cattle. **Journal of
Agricultural Science**, v.142, n.2, p.203–212, 2004.

CSUROS, M. & CSUROS, C. (2000) – Environmental sampling and analysis for metals.
Lewis. Disponível em: <<http://goo.gl/kDI9jD>> Acesso em 19 mar. 2013

DOYLE, J.J.; YOUNGER, R.L. Influence of ingested lead on the distribution of lead,
iron, zinc, copper and manganese in bovine tissue. **Veterinary and Human Toxicology**,
v.26, p.201-204, 1984.

FERREIRA, M.A.; SILVA, F.M.; BISPO, S.V.; AZEVEDO, M. Estratégias na
suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de
Zootecnia**, v.38, p.322-329, 2009.

FREIRE, M.F.I. Metais Pesados e Plantas Medicinais. **Revista Científica Eletrônica de
Agronomia**, n.8, 2005.

GARCÍA-ESQUINAS, E.; PÉREZ-GÓMEZ, B.; FERNÁNDEZ, M.A.; PÉREZ-MEIXEIRA, A.M.; GIL, E.; DE PAZ, C.; et al. Mercury, lead and cadmium in human milk in relation to diet, lifestyle habits and sociodemographic variables in Madrid (Spain). **Chemosphere**, v.85, p.268–276, 2011.

GONÇALVES, J.R.; MESQUITA, A.J.; GONÇALVES, R.M. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.365-374, 2008.

GONCALVES, R.M.; GONCALVES, J.R.; FORNES, N.S. Cádmio no leite materno: concentração e relação com o estilo de vida da puérpera. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.32, n.7, p.340-345, 2010.

GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, supl. 2, p.8-17, 2010.

GROTTO, H.Z.W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n.5, p.390-397, 2008.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

IBGE. **Censo Agropecuário 2006. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Rio de Janeiro: MPOG, 2009.

ICB, Instituto de Ciências Biomédicas-USP, **Cádmio**. São Paulo [201-] Disponível em <www.icb.usp.br/~mariojac/links/cadmio.html> Acesso em 18 jan. 2014

JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D.; DOS SANTOS, G. T. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS**, 2001, Maringá. Resumos... Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001. P. 242-

261. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/desempenho.pdf>> Acesso em 02 nov. 2013.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2001.

LEMOS, R.A.A.; RANGEL, J.M.R.; MORAES, S.S.; NAKAZOTO, L.; SALVADOR, S.C.; MARTINS, S. Alterações clínicas, patológicos e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p.457-463, 1997.

LEVY-COSTA, R. B., MONTEIRO, C. A.. **Consumo de leite de vaca e anemia na infância no Município de São Paulo**. Rev. Saúde Pública, São Paulo, v. 38, n. 6, Dec. 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102004000600007>>. Acesso em 14 jul. 2014

LIMA, L.M.A.; RESENDE, F.C.; SANTOS, A.C.J.; TERRA, P.P.D.R.; PANTOJA, A.V.; RESENDE, M.A.C. Anestesia em paciente com saturnismo: relato de caso. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.62, n.6, p.863-868, 2012.

MAGOSSI, L.; BONACELLA, P. **Poluição das águas**. 2.ed. São Paulo: Editora Moderna, 1991.

MARCAL, W.S.; BUTURE, I.O.; CARVALHO, M.C.; FORTES, M.S.; SILVA, R.A. Níveis de chumbo e cádmio em suplementos minerais para bovinos comercializados em Londrina. **Ciências Agrárias**, v.25, n.4, p.359-364, 2004.

MARCAL, W.S.; GASTE, L.; NASCIMENTO, M.R.L. Identificação e quantificação de chumbo em misturas minerais comercializadas no estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.4, p.249-253, 2005.

MARQUES, A.P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M.P. ORTOLANI, E.L.; GIULIODORI, M.J. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.1, p.21-32, 2003.

MERCOSUL. Mercado Comum do Sul. RESOLUÇÃO - RDC No- 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 ago. 2013

MOREIRA, F. R., MOREIRA, J. C.. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência & saúde coletiva**, v.9, n.1, p.167-181, 2004.

MOREIRA, F. R., MOREIRA, J. C.. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Pan Am J Public Health**, v. 15, n.2, p.119-128, 2004.

MUÑOZ, S. I. S. IMPACTO AMBIENTAL NA ÁREA DO ATERRO SANITÁRIO E INCINERADOR DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE RIBEIRÃO PRETO, SP: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE METAIS PESADOS. 2002. Tese (Programa de Pós-Graduação de Enfermagem em Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MURTA, P.H.G.; GERMANO, M.I.S.; MIGUEL, O.; GERMANO, M.K. A influência da poluição ambiental sobre a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v.7, p.12-14, 1993.

NAZARIO, S. L. S., ISEPON, J.S., BUIOCHI, F., ADAMOWSKI, J. C., KITANO, C., HIGUTI, R.T.. Caracterização de leite bovino utilizando ultra-som e redes neurais artificiais. **Sba Controle & Automação**, Natal, v. 20, n. 4, Dec. 2009. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-17592009000400013>>. Acesso em 14 jul. 2014.

OKADA, I.A.; SAKUMA, A.M.; MAIO, F.D.; DOVIDAUSKAS, S.; ZENEBON, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.31, n.2, p.140-143, 1997.

PATRA, R.C.; SWARUP, D.; KUMAR, P.; NANDI, D.; NARESH, R.; ALI, S.L. Milk trace elements in lactating cows environmentally exposed to higher level of lead and cadmium around different industrial units. **Science of the total environment**, v.404, p.36-43, 2008.

PENAFORTE JÚNIOR, M. de A.; Borges, J. de M.; Azevedo, D. S.; BORGES FILHO, E. L. . Perfil dos produtores de leite no município de Garanhuns. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2009, Recife. **IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2009.

PEREIRA, V.V.; MANGUALDE, R.M. A rotulagem ambiental no agronegócio. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.4, n.2, p.267-276, 2011.

PERES, F; OLIVEIRA-SILVA, J.J.; DELLA-ROSA, H.V.; LUCCA, S.R.. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência & Saúde coletiva**, v.10, supl.0, p.27-37, 2005.

PINTO, F.G.; REY, U.V.; ANSALONI, L.M.S.; ANDRADA, D.; SILVA, J.B.B. Determinação de cádmio em amostras de urina e soro humano por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando irídio como modificador permanente. **Eclética Química**, v.30, n.4, p.59-65, 2005.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; et al. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed., Saunders: Edinburgh, 2007, p.2156.

RAMALHO, J.F.G.P. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p.1289-1303, 2000.

REECE, W.O. - *Dukes- Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12^a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2006. 926p.

RIBEIRO, C. M. C. da Mata 2006. Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região. Disponível em: <<https://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/7381>> Acesso 28 de jan de 2014

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. Doenças dos Ruminantes e Equinos. 3ª ed., v.1, Santa Maria, Pallotti, p. 509-709, 2007.

RODRIGUES, C. F. R. Determinação de metais em leite *in natura* proveniente de vacas criadas no sistema semiextensivo do alto da bacia do rio Paraná em Goiás, Brasil central. 2011. Dissertação (Programa de Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) - Pontifícia Universidade Católica De Goiás

SAMPAIO, I.B.M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. Belo Horizonte: **Fundação de ensino em medicina veterinária e zootecnia**, 1998, 221p.

SANTOS, D.M.; PEDROSO, M.M.; COSTA, L.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. A new procedure for bovine milk digestion in a focused microwave oven: gradual sample addition to pre-heated acid. **Talanta**, v.65, p.505-510, 2005.

SATARUQ, S.; GARRETT, S.S.; SENS, M.A.; SENS, D.A. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.16, n.5, p.182-190, 2011.

SENAK. C.M.; PEDROSA, L.F.C. Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. **Revista de Nutrição**, v.18, n.2, p.251-259, 2005.

SILVA, T.P.P.; MOREIRA, J.C.; PERES, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde e na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.17, n.2, p.311-325, 2012.

SILVEIRA, M. L. A. Extração sequencial e especiação iônica de zinco, cobre e cádmio em latossolos tratados com bio sólido. 2002. Tese (Tese - Área de Concentração: Solos

e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, Piracicaba. Disponível em < <http://goo.gl/0O9fY>> Acesso em 14 jun. 2013.

SLAVIN, W. A comparison of atomic spectroscopic analytical techniques. **Spectroscopy International**, 4, 1: 22-27. Disponível em: <<http://goo.gl/s9Q7d5>> Acesso em 02 fev. 2014.

TOLONEN, M. Vitaminas y minerales en la salud y La nutrición. Espanha: Zaragoza, 1995. 278 p.

UNIÃO EUROPEIA, REGULAMENTO (CE) Nº 1881/2006 DA COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS de 19 de Dezembro de 2006

USDA, United States Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard Reference. **Release 26 - Basic Report:** 01175, Milk, fluid. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb>>.

VILELA, D.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; CARVALHO, L.A. (ed.). Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil. 1999. Goiânia, **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, Goiânia: Serrana Nutrição Animal/CNPq. 1999. 274 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cadmium [Environmental health criteria, 134]**. Geneva: WHO; 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental health criteria 165: inorganic lead - **IPCS (International Programme on Chemical Safety)**. Geneva: WHO; 1995.

ZENTENO, M.D.R. Caracterização das formas de metais pesados, biodisponibilidade e suas dinâmicas de adsorção e de mobilidade em solos do equador. 2003. Dissertação (programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. Disponível em: <<http://goo.gl/yc4C6>> Acesso em 23 mai. 2013.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

5.1. Artigo I

DETECÇÃO DE METAIS PESADOS EM LEITE BOVINO NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO

Guilherme Vieira Marcolino¹, Pierre Castro Soares², Carla Lopes de Mendonça³, Nivaldo de Azevedo Costa³

¹Mestrando do PGSRR, UAG-UFRPE; ²Prof. Dr. Adjunto da UFRPE;

³Médico Veterinário da CBG-UFRPE

RESUMO

OBJETIVO: Determinar a presença de metais pesados no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco.

MÉTODOS: 147 amostras de leite cru de vacas leiteiras provenientes de 14 propriedades localizadas na mesorregião Agreste do Estado de Pernambuco foram submetidas a digestão por micro-ondas. Em seguida, os metais Chumbo (Pb), Cádmio (Cd), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Ferro (Fe) foram determinados por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). As amostras foram analisadas em duplicata, a média calculada e os resultados expressos em mg/L. As variáveis estudadas foram descritas por meio das respectivas medidas de tendência central: médias, medianas, desvios – padrão, percentis de 25 e 75. Os dados foram analisados por meio de dispersão de frequências por metodologia descritiva.

RESULTADOS: Nas amostras de leite cru provenientes do Agreste Meridional de Pernambuco foram determinados os níveis de Pb ($0,090 \pm 0,040$ mg/L), Cd ($0,015 \pm 0,013$ mg/L), Cu ($0,043 \pm 0,038$ mg/L), Zn ($1,293 \pm 0,814$ mg/L) e Fe ($0,109 \pm 0,089$ mg/L). Houve uma variação dos níveis dos metais de acordo com os municípios analisados. O tipo de ordenha influenciou os níveis de Pb, Cd e Zn. Maiores índices de Pb e Zn foram obtidos nas amostras de propriedades com presença de efluentes. A proximidade das rodovias elevou as concentrações de Pb, Cd e Cu.

CONCLUSÕES: Foi possível determinar a presença dos metais Chumbo, Cádmio, Zinco, Cobre e Ferro no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, tendo o Chumbo como o metal pesado presente em níveis acima do limite de tolerância estabelecido pela ANVISA.

DESCRITORES: Digestão por micro-ondas, Espectrometria de emissão atômica, Leite bovino, Metais pesados.

ABSTRACT

OBJECTIVE: Detect the presence of heavy metals in raw milk of cows coming from the southern Wasteland of the State of Pernambuco.

METHODS: 147 samples of raw milk from dairy cows from 14 farms in the Wasteland middle region of Pernambuco State were subjected to microwave digestion. Then the Lead (Pb), Cadmium (Cd), Copper (Cu), zinc (Zn) and iron (Fe) metals were determined by atomic emission spectrometry with inductively coupled (ICP-OES) plasma. The samples were analyzed in duplicate and the results averaged and expressed in mg / L. The variables were described by means of the measures of central tendency: mean, median, deviation - standard percentiles 25 and 75. Data were analyzed using frequency dispersal by descriptive methodology.

RESULTS: In raw milk samples from the southern Wasteland of Pernambuco were determined levels of Pb (0.090 ± 0.040 mg / L), Cd (0.015 ± 0.013 mg / L), Cu (0.043 ± 0.038 mg / L), Zn (1.293 ± 0.814 mg / L), Fe (0.109 ± 0.089 mg / L). There was a variation in the levels of metals in accordance with the municipalities analyzed. The type of milking influenced the levels of Pb, Cd and Zn. Higher levels of Pb and Zn were obtained from samples of properties with the presence of Effluents. The proximity of highways raised the concentration of Pb, Cd and Cu.

CONCLUSIONS: It was possible to determine the presence of metals Lead, Cadmium, Zinc, Copper and Iron in raw milk of cows coming from the southern Wasteland of Pernambuco State, taking the lead as the heavy metal present at levels above the tolerance limit established by ANVISA.

DESCRIPTORES: Microwave Digestion, Atomic Emission Spectrometry, Bovine Milk, Heavy Metals.

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento industrial e populacional, muitos problemas surgiram no que diz respeito ao nível crítico de contaminantes ambientais e de alimentos oferecidos à população humana²⁴. Sabe-se que existe no âmbito do agronegócio uma grande demanda de oferta de alimentos, como carne, leite e derivados, porém para se atingir níveis zootécnicos de alta produção, os animais

muitas vezes recebem dietas com grande variedade de componentes que podem ser contaminados, apresentando assim risco à saúde animal e saúde humana³⁰. Neste contexto, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas objetivando uma melhor administração e controle da qualidade ambiental, dos alimentos oferecidos aos animais e dos produtos de origem animal, particularmente o leite¹⁴.

O leite bovino é um alimento que oferece diferentes nutrientes aos seres humanos, como por exemplo, minerais e proteínas, especialmente para crianças em crescimento²². Nos últimos anos, de todas as cadeias produtivas do setor agropecuário, a de maior importância e que mais se transformou foi a do leite. Movimenta anualmente cerca de U\$10 bilhões, emprega três milhões de pessoas, das quais acima de um milhão são produtores. Produz aproximadamente 20 bilhões de litros de leite por ano, provenientes de um dos maiores rebanhos do mundo, com grande potencial para abastecer o mercado interno e externo.

Entre 1990 e 2000, a produção nacional de leite cresceu 37%, sendo a Região Centro-Oeste responsável por 81% do crescimento e, em especial o Estado de Goiás, 105%. A Região Centro-Oeste abriga 35% do rebanho bovino nacional, com uma das principais concentrações de indústrias de laticínios do País³⁴.

No Nordeste do Brasil é produzido apenas 14% do leite nacional. Embora os principais centros consumidores estejam localizados ao longo da faixa litorânea e as principais bacias leiteiras encontrem-se na região semiárida⁴, o Estado de Pernambuco acompanhou essa fase de crescimento na produção de leite, passando de 313 milhões de litros em 1990 para 0,747 bilhões de litros em 2007⁵.

Segundo dados do último censo agropecuário nacional, em 2006 foram produzidos 20.567.500 mil litros de leite, sendo o Estado de Pernambuco responsável por 468.329 litros, onde 356.214 litros foram provenientes do Agreste Pernambucano¹³. Ressalta-se que, nos últimos anos, a produção leiteira do Agreste Meridional Pernambucano cresceu 23%, representando 73% da

produção leiteira do Estado de Pernambuco, com favorável perspectiva de crescimento através dos investimentos privados que vêm sendo realizados⁶.

Em Garanhuns-PE, a bacia leiteira é extremamente importante para a economia do Agreste Meridional, apresentando altamente concentrada, onde se observa produção inferior a 200 litros de leite por dia, representam 73,7% do total de produtores, e detém apenas 32,8% da produção total, enquanto que aqueles com produção superior a 200 litros por dia representam 26,3% do total de produtores e detém 67,2% da produção total. Pequena variação na produção de leite (8,5%) pode ser notada entre o período chuvoso e o da seca, sendo este um fato extremamente positivo, que se deve, principalmente ao fornecimento de alimentos concentrados para as vacas em lactação no período da seca²³.

Devido à elevada toxicidade de alguns metais pesados, como o chumbo (Pb) e o cádmio (Cd), as autoridades sanitárias mundiais estão preocupadas em estabelecer medidas para reduzir a concentração desses metais nos alimentos, uma vez que são considerados a principal fonte de ingestão desses contaminantes²¹. Esses metais podem influenciar a qualidade do leite com respeito à sua composição, notavelmente os microelementos essenciais para o crescimento normal da produção e reprodução⁹, além de trazer riscos à saúde da população humana, como distúrbios dos sistemas nervoso, medular, reprodutivo, renal, gastrointestinal, respiratório entre outros^{7,22}.

Os metais pesados ocorrem naturalmente no solo e alguns deles, tais como Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Cobalto (Co), desempenham importante papel na nutrição de plantas e animais, enquanto outros como Cadmio (Cd), Chumbo (Pb), Arsênio (As) e Selênio (Se), exercem efeitos deletérios sobre vários componentes da biosfera, e, seu acúmulo no organismo animal é um aspecto de grande preocupação quanto à saúde pública¹⁵. Segundo García-Esquinas et al¹¹ (2011), qualquer grau de contaminação no leite é muito problemático, visto que é bastante utilizado na alimentação infantil, bem como de outros grupos de diferentes faixas etárias.

Gonçalves et al¹² (2008) relataram que o leite integral bovino pasteurizado analisado em Goiás-GO apresentou níveis elevados de Pb (0,20-0,25mg/L), tendo assim risco de intoxicação a médio e longo prazo para a população consumidora deste alimento, sugerindo efetivo monitoramento dos suplementos

minerais, alimentos e ingredientes destinados à alimentação animal, uma vez que valores acima de 0,2mg/L/kg/pv são capazes de causar intoxicação em pouco tempo, em virtude do acúmulo no organismo dos indivíduos.

Considerando-se o potencial produtivo de leite no Brasil, o número de relatos de caso em bovinos de leite ainda é limitado, embora o tema relacionado à contaminação por metais tóxicos em vários animais de produção seja usualmente abordado pela literatura científica^{18,3,12,25}. Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar a presença de metais pesados no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco.

MÉTODOS

O experimento foi realizado de setembro a dezembro de 2013, onde foram utilizadas 147 vacas leiteiras provenientes de 14 propriedades localizadas na mesorregião Agreste do Estado de Pernambuco, microrregião Garanhuns, em sistema de criação extensivo e semi-intensivo.

Foram coletadas 147 amostras de leite cru (15 ml) de vacas no terço inicial da lactação (11 a 100 dias pós parto) durante a ordenha da manhã em recipiente plástico estéril com tampa (tipo Falcon) de 15 ml, mantidas sob refrigeração em caixa isotérmicas (4 °C) e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE, onde posteriormente foram armazenadas em freezer (-4° C).

O procedimento para digestão assistida por micro-ondas foi realizado no Centro de Apoio a Pesquisa (CENAPESQ) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) conforme adaptação ao protocolo definido por Santos et al²⁷ (2005) onde cada amostra de leite bovino cru (5 ml) foi colocada em frasco digestor com 10 ml de HNO₃ e digerido no micro-ondas modelo MarsXpress – CEM Technology Inside durante 28 minutos (etapa 1: 110° C – 8 min, etapa 2: 170°C – 10 min, etapa 3: 170° C – 10 min). Em sequência, as amostras foram filtradas em papel filtro dobrado em pirâmide (gramatura 80g/m²; velocidade de filtração 20-25 segundos) para um novo tubo Falcon estéril.

Os metais Chumbo (Pb), Cádmiio (Cd), Cobre (Cu), Zinco (Zn) e Ferro (Fe) foram determinados por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP–OES), utilizando-se aparelho modelo Perkin Elmer

Optima 7000 DV¹⁶. A determinação dos metais pesados foi realizada no Laboratório de Química de Solos (DEPA) da UFRPE. As amostras foram analisadas em duplicata, a média calculada e os resultados expressos em mg/L.

As variáveis estudadas foram descritas por meio das respectivas medidas de tendência central: médias, medianas, desvios-padrão, percentis de 25 e 75. Os dados foram analisados por meio de dispersão de frequências por metodologia descritiva²⁶.

RESULTADOS

Os valores dos microelementos determinados no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco são apresentados na Tabela 1.

Maiores índices de Pb e Cd foram encontrados nas amostras de leite cru de vacas provenientes do Município de Jucati (0,122mg/L e 0,021 mg/L, respectivamente) enquanto que o menor valor foi descrito no Município de São João (0,045 mg/L e 0,006 mg/L, respectivamente). Não houve diferença entre os índices de Pb, Cd e Zn entre os tipos de ordenha (manual ou mecânica). Níveis mais elevados de Cu (0,050 mg/L) e Fe (0,130 mg/L) foram encontrados quando o leite foi ordenhado manualmente. A presença de efluentes contribuiu para o aumento do percentual de Pb e Zn nas amostras de leite. A proximidade da propriedade à rodovia teve influência no aumento dos índices de Pb, Cd e Cu.

Com relação às médias apresentadas na Tabela 2, o teor de Pb (0,090 mg/L) foi superior ao limite estabelecido pela legislação brasileira². Os metais Cd, Cu e Zn estavam presentes no leite cru das vacas, porém abaixo do LTM. A concentração média de Fe foi de 0,109 mg/L, tendo uma variação mínima de 0,004 mg/L e variação máxima de 0,566 mg/L.

Na análise da correlação entre as variáveis, fica evidente a relação alta positiva entre o Pb e Cd (Figura 01) e moderada positiva entre Zn e Fe (Figura 02).

DISCUSSÃO

O teor de Pb encontrado no leite produzido no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco apresentou valor similar àquele encontrado por OKADA et al²¹ (1997) no Vale do Paraíba - SP (0,05 mg/L). No entanto, valores bem superiores foram relatados por Gonçalves et al¹² (2008), no Estado de Goiás (0,238 mg/L). O grande volume de água necessário para o beneficiamento do leite coloca as indústrias de laticínios como uma das principais geradoras de efluentes industriais. Estima-se que para cada litro de leite beneficiado sejam gerados cerca de 2,5 L de efluente⁸. Foi verificado neste experimento que a presença de efluentes contribuiu para o aumento do percentual de Pb nas amostras de leite. O chumbo é reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos elementos químicos mais perigosos a saúde humana³³, podendo ocasionar graves danos à saúde e até mesmo causar a morte¹⁷.

O valor médio de Cd (0,015 mg/L) presente nas amostras de leite deste experimento está abaixo dos LTM, são inferiores àqueles encontrados por Okada et al²¹ (1997) na cidade de Caçapava-SP (0,02 mg/L) e bem inferiores aos descritos por Gonçalves et al¹² (2008) no leite integral pasteurizado de vacas no Estado de Goiás (0,05 mg/L). A maior exposição do cádmio vem do tabagismo e da ingestão de alimentos que podem ser contaminados pelos fertilizantes agrícolas, esgotos, esterco e deposição atmosférica¹⁰. Neste estudo, a proximidade da propriedade à rodovia teve influência no aumento dos índices de Cd, no entanto a presença de efluentes não determinou alterações dos níveis de Cd no leite cru das vacas provenientes dessas propriedades. Como resultado da ingestão de alimentos contaminados pelo referido metal, poderá haver danos renais e distúrbios no metabolismo do cálcio²⁰.

O primeiro estudo sobre os níveis Cu no leite pasteurizado bovino no Brasil foi relatado por Gonçalves et al¹² (2008), variando de 0,39 a 0,59 mg/L, dependendo da Mesorregião do Estado de Goiás analisada, sugerindo que o leite bovino seja pobre neste elemento, uma vez que, por ser resultante da secreção das glândulas lácteas dos mamíferos, provenientes do sangue, poderá estar com concentração final bastante inferior do que o do sangue. O valor médio de cobre encontrado no leite cru de vacas provenientes da Bacia Leiteira de Garanhuns-PE foi bem inferior àqueles descritos pelo autor (0,043 mg/L). No entanto,

percebe-se que há uma grande variação entre os limites de Cu das amostras de leite deste experimento (0,010 a 0,418 mg/L). Em todas as espécies, o colostro é especialmente rico em cobre e o leite da fase inicial da lactação é mais rico que o da fase final, ocorrendo um decréscimo progressivo no teor desse elemento durante o período de lactação¹. Levando-se em consideração que o leite deste experimento foi coletado na fase inicial da fase da lactação, pode-se inferir que os níveis de cobre das amostras de leite estão baixos, podendo este fato estar associado à deficiência deste microelemento em bovinos no Brasil e não havendo, portanto, efeito contaminante sobre o leite¹⁹.

O zinco e o ferro são alguns dos microelementos essenciais presentes no leite que geralmente são encontrados em baixa concentração, porém essenciais aos processos biológicos²⁸, apresentando forte ligação com as proteínas²⁹. Foram verificados nas amostras de leite cru de vacas da Bacia Leiteira de Garanhuns, concentrações de Zinco (1,293 mg/L) e Ferro (0,109 mg/L) bem inferiores aquelas descritas por Gonçalves et al¹² (2008) em leite pasteurizado do Estado de Goiás, que verificaram variação de 3,42 a 4,62 mg/L de Zinco e 0,84 a 1,13mg/L de Ferro. Porém, pode-se notar na Tabela 2 que existe uma grande variação do limite inferior (0,067 mg/L) para o limite superior (8,662 mg/L) dos níveis de Zinco. As principais fontes de Zn para o ser humano são os derivados de leite³², contribuindo com 19 a 31% do Zn total ingerido por adultos³¹.

Neste estudo foi possível determinar a presença dos metais Chumbo, Cádmio, Zinco, Cobre e Ferro no leite cru de vacas oriundas do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, tendo o chumbo como o metal pesado presente em níveis acima do limite de tolerância estabelecido pela ANVISA² (1998).

Tabela 1 Valores médios das concentrações de Pb, Cd, Cu, Zn e Fe em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil.

Fatores	Elementos (mg/L)				
	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Município					
Garanhuns	0,090 b*	0,017 ab	0,043 ab	1,569 a	0,151 a
Bom Conselho	0,071 b	0,010 bc	0,038 ab	1,048 ab	0,066 b
São João	0,045 c	0,006 c	0,034 ab	0,0787 b	0,052 b
Jucati	0,122 a	0,021 a	0,059 a	1,340 ab	0,128 a
Jupi	0,077 b	0,010 bc	0,022 b	1,335 ab	0,076 b
Tipo de Ordenha					
Manual	0,084 a	0,014 a	0,050 a	1,320 a	0,130 a
Mecânica	0,092 a	0,015 a	0,033 b	1,258 a	0,082 b
Presença de Efluentes					
Sim	0,196 a	0,015 a	0,044 a	1,452 a	0,113 a
Não	0,080 b	0,014 a	0,042 a	1,148 b	0,105 a
Rodovias					
Perto	0,122 a	0,021 a	0,059 a	1,340 a	0,128 a
Distante	0,074 b	0,012 b	0,036 b	1,274 a	0,101 a

* Letras minúsculas na mesma coluna diferem ao nível de 5 % de probabilidade

Tabela 2 Fatores de variação e níveis de significância da análise de variância das concentrações de Pb, Cd, Cu, Zn e Fe em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil

FATORES DE VARIAÇÃO	ELEMENTOS (mg/L)				
	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Propriedades	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Municípios	<0,0001	<0,0001	0,0037	0,0042	<0,0001
Tipo de Ordenha	0,2630	0,6299	0,0101	0,6453	0,0012
Efluentes	0,0122	0,7050	0,7902	0,0233	0,5999
Rodovia	<0,0001	<0,0001	0,0088	0,6564	0,0908
Medidas de Tendência Central					
Média Geral	0,090	0,015	0,043	1,293	0,109
Desvio Padrão	0,040	0,013	0,038	0,814	0,089
Mediana	0,080	0,012	0,034	1,180	0,082
Limite Inferior	0,026	0,004	0,010	0,067	0,004
Limite Superior	0,302	0,140	0,418	8,662	0,566
Limite de Tolerância Máxima (LTM) estabelecido pela ANVISA ² (1998)					
	0,050	1,000	30,000	50,000	*

*O Fe, em contraposição aos demais elementos estudados, não possui delimitação de LMT na legislação.

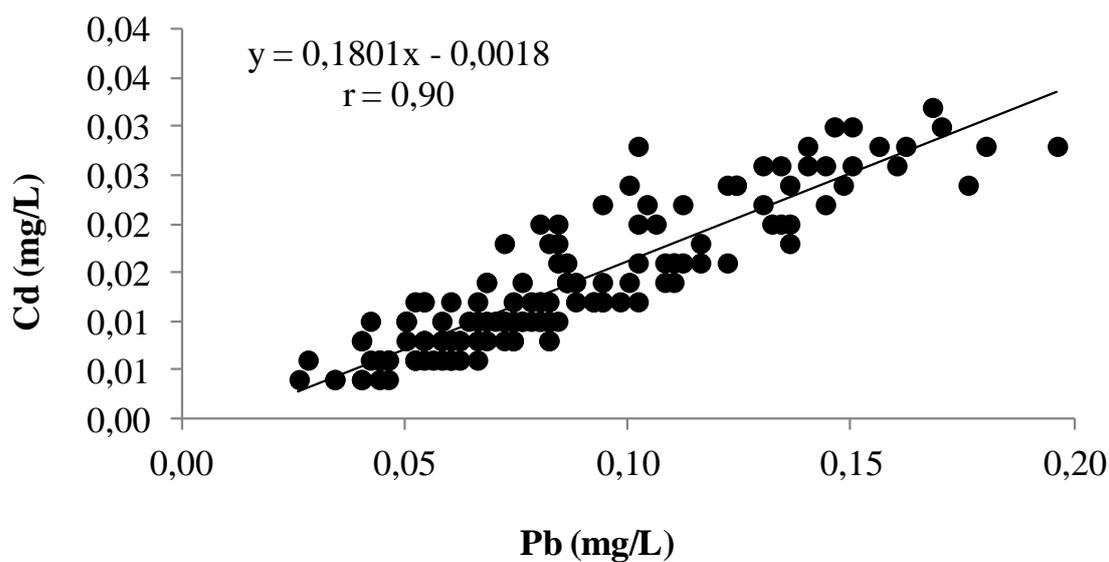


Figura 1 Correlação entre a concentração de Pb e Cd em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil

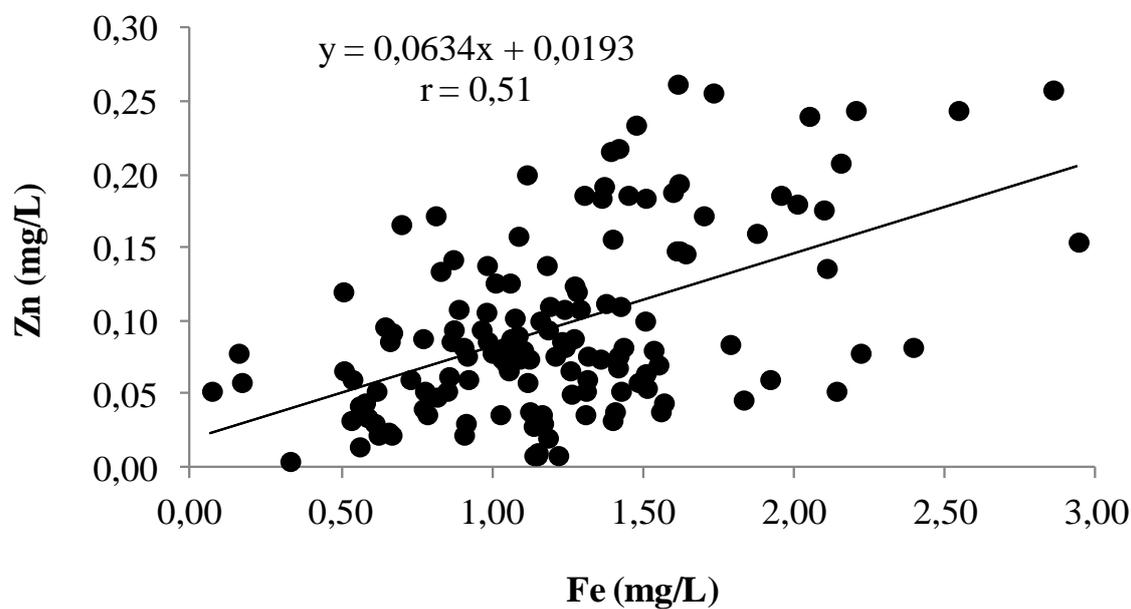


Figura 2 Correlação entre a concentração de Fe e Zn em leite *in natura* de vacas criadas na bacia leiteira de Garanhuns – Pernambuco, Brasil

REFERENCIAS

1. Andriguetto, JM. Nutrição animal. São Paulo; Nobel; 1982.
2. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS nº. 685, de 27 de agosto de 1998. *Diário Oficial da União, Brasília, DF*, 28 ago. 1998. Seção 1.
3. Buture, IO, Marçal, WS. Teores de Chumbo e Cádmio em suplementos minerais para bovinos comercializados em Estado do Pará. *Archives of Veterinary Science*, 2005;10(1):51-56.
4. CARVALHO DM, RIOS GSL. A associação dos produtores de leite de Águas Belas como agente de desenvolvimento. In: XLIV CONGRESSO DA SOBER, 2006; Fortaleza, CE: SOBER. [acesso em 2013 jun 08] Disponível em: <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/145341/1/237.pdf>.
5. CNA. Cenário atual e perspectivas para a produção de leite no Brasil. 2007. [acesso em 2013 abr 28] Disponível em: <http://www.icna.org.br/boletim/boletim-producao-de-leite-no-brasil-cenarios-e-perspectivas>.
6. CONAB. Conjuntura Regional Pernambuco. 2004. [acesso em 2013 mai 14] Disponível em: <http://goo.gl/uaBJn9>.
7. Crout, NMJ, Beresford, NA, Dawson, JM, Soar, J, Mayes, RW. The transfer of 73As, 109Cd and 203Hg to the milk and tissues of dairy cattle. *Journal of Agricultural Science*. 2004; 142(2):203–212. DOI: 10.1017/S0021859604004186.
8. Dalla Villa, R, da Silva, MRA, Nogueira, RFP. Potencial de aplicação do processo foto-fenton/solar como pré-tratamento de efluente da indústria de laticínios. *Quím. Nova*. 2007;30(8):1799-1803. DOI: S0100-40422007000800002
9. Doyle JJ, Younger RL. Influence of ingested lead on the distribution of lead, iron, zinc, copper and manganese in bovine tissue. *Vet Hum Toxicol*. 1984;26:201-204.
10. Ferreira, SLC, Andrade, JB, Korna, MGA, Pereira, MG, Lemos, VA, Santos, WNL, et al. Review of Procedures Involving Separation and Preconcentration for the Determination of Cadmium Using Spectrometric Techniques. *Journal of Hazardous Materials*. 2007;145:358–367. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.03.077

11. García-Esquinas, E, Pérez-Gómez, B, Fernández, MA, Pérez-Meixeira, AM, Gil, E, de Paz, C, et al. Mercury, lead and cadmium in human milk in relation to diet, lifestyle habits and sociodemographic variables in Madrid (Spain). *Chemosphere*. 2011;85:268–276. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.029
12. Gonçalves, JR, Mesquita, AJ, Gonçalves, RM. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*. 2008;9(2):365-374. DOI: 10.5216/cab.v9i2.4238
13. IBGE. Censo Agropecuário 2006. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação [internet]. Rio de Janeiro: MPOG; 2009. [acesso em 2013 nov 19]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>.
14. Jobim CC, Gonçalves GD, dos Santos, GT. Qualidade sanitária de grãos e de forragens conservadas “versus” desempenho animal e qualidade de seus produtos. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas. Maringá: UEM/CCA/DZO. 2001:242-261; 2001. [acesso em 2013 nov 12] Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/desempenho.pdf>.
15. Kabata-Pendias, A, Pendias, H. Trace elements in soil and plants. 3 ed. Boca Raton: CRC Press; 2001.
16. Kazi, TG, Jamali, MK, Arain, MB, Afridi, HI, Jalbani, N, Sarfraz, RA, Ansari, R. 2009. Evaluation of an ultrasonic acid digestion procedure for total heavy metals determination in environmental and biological samples. *Journal of Hazardous Materials*, 161: 1391–1398. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.04.103.
17. Klaassen, CD. Metais Pesados e seus antagonistas. In: Katzung, BG. Farmacologia Básica e Clínica. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003, p. 867-870.
18. Marçal, WS, Sousa, AM, Nascimento, MRI, Carvalho, MC. Valores de chumbo inorgânico em suplementos minerais para bovinos comercializados no Estado de Goiás. *Arq. Inst. Biol*. 2004;71(1):31-34.
19. Moraes, SS, Tokarnia, CH, Döbereiner, J. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras*. 1999;19(1):47-62. DOI: 10.1590/S0100-736X1999000100004
20. Oga, S. Fundamentos da Toxicologia 2 Ed. São Paulo: O Atheneu; 2003.
21. Okada, IA, Sakuma, AM, Maio, FD, Dovidauskas, S, Zenebon, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil.

- Rev Saúde Pública.* 1997;31(2):140–143. DOI: 10.1590/S0034-89101997000200006
22. Patra, RC, Swarup, D, Kumar, P, Nandi, D, Naresh, R, Ali, SL. Milk trace elements in lactating cows environmentally exposed to higher level of lead and cadmium around different industrial units. *Sci Total Environ.* 2008;404:36-43. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.010
23. Penaforte Júnior, MA, Borges, JM, Azevedo, DS, Borges Filho, EL. Perfil dos produtores de leite no município de Garanhuns. In: IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão; Recife. Recife: UFRPE; 2009.
24. Peres, F, Oliveira-Silva, JJ, Della-Rosa, HV, de Lucca, SR. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. *Cien Saude Colet.* 2005;10(suppl):27-37. DOI: 10.1590/S1413-81232005000500006
25. Rodrigues CFR. Determinação de metais em leite *in natura* proveniente de vacas criadas no sistema semiextensivo do alto da bacia do rio Paraná em Goiás, Brasil central [dissertação]. Goiânia: Pontifícia Universidade Católica de Goiás; 2011.
26. Sampaio, IBM. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. Belo Horizonte: Fundação de ensino em medicina veterinária e zootecnia; 1998.
27. Santos, DM, Pedroso, MM, Costa, LM, Nogueira, ARA, Nóbrega, JA. A new procedure for bovine milk digestion in a focused microwave oven: gradual sample addition to pre-heated acid. *Talanta.* 2005;65:505-510. DOI: 10.1016/j.talanta.2004.07.013
28. Santos PS. Avaliação dos teores de elementos essenciais no leite materno de mães de recém-nascidos prematuros e a termo e em fórmulas infantis por meio da análise por ativação com nêutrons. [dissertação]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo; 2009.
29. Silva F. Avaliação de Selênio em spots proteicos de plasma e tecidos muscular e hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por SRXRF após separação por 2DPAGE [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2009.
30. Silva, TPP, Moreira, JC, Peres, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? Implicações na saúde e na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. *Cien Saude Colet.* 2012;17(2):311-325. DOI: 10.1590/S1413-81232012000200006

31. Tolonen, M. Vitaminas y minerales en la salud y La nutrición; Espanha; Zaragoza, 1995.
32. Underwood, EJ. Trace Elements in human and Animal Nutrition; New York; Academic Press, Inc. 1991.
33. Vanz, A, Mirlean, N, Baisch, P. Avaliação da poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. *Quím. Nova*. 2003;26(1):25-29. DOI: 10.1590/S0100-40422003000100006
34. Vilela D, Martins CE, Bressan M, Carvalho LA. Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil. In: Anais Simpósio sobre sustentabilidade na pecuária de leite no Brasil, 2000; Goiânia. Juiz de Fora: Embrapa; 2000. 206 p.



Informações Gerais

Os manuscritos submetidos à publicação na Revista de Saúde Pública devem ser apresentados de acordo com as Instruções aos Autores.

São aceitos manuscritos nos idiomas: português, espanhol e inglês.

O texto de manuscritos de pesquisa original deve seguir a estrutura conhecida como IMRD: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão (ver [Estrutura do Texto](#)). Em cada uma das partes não se deve dividir o texto em subtítulos, exceto nos casos que requerem maior detalhe, sobretudo em Resultados e Discussão. Manuscritos baseados em pesquisa qualitativa podem ter outros formatos, admitindo-se Resultados e Discussão em uma mesma seção e Considerações Finais/Conclusões. Outras categorias de manuscrito (revisões, comentários, etc.) seguem os formatos de texto a elas apropriados.

O texto submetido deve ter páginas e linhas numeradas para fins de revisão.

O uso de siglas deve ser evitado.

Recomendamos que o autor consulte o [checklist](#) correspondente à categoria do manuscrito submetido.

Pormenores sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos a seguir.

Preparo dos manuscritos

Resumo

São publicados resumos em português, espanhol e inglês. Para fins de cadastro do manuscrito, deve-se apresentar dois resumos, um na língua original do manuscrito e outro em inglês (ou em português, em caso de manuscrito apresentado em inglês). As especificações quanto ao tipo de resumo estão descritas em cada uma das [categorias de artigos](#).

Como regra geral, o resumo deve incluir: objetivos do estudo, principais procedimentos metodológicos (população em estudo, local e ano de realização, métodos observacionais e analíticos), principais resultados e conclusões.

Estrutura do texto

Introdução – Deve ser curta, relatando o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes ao objetivo do manuscrito, que deve estar explícito no final desta parte. Não devem ser mencionados resultados ou conclusões do estudo que está sendo apresentado.

Métodos– Os procedimentos adotados devem ser descritos claramente; bem como as variáveis analisadas, com a respectiva definição quando necessária e a hipótese a ser testada. Devem ser descritas a população e a amostra, instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade; e conter informações sobre a coleta e processamento de dados. Deve ser incluída a devida referência para os métodos e técnicas empregados, inclusive os métodos estatísticos; métodos novos ou substancialmente modificados devem ser descritos, justificando as razões para seu uso e mencionando suas limitações. Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados. Os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões éticos e aprovada por comitê de ética.

Resultados – Devem ser apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados, nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise. Material extra ou suplementar e detalhes técnicos podem ser divulgados na versão eletrônica do artigo.

Discussão – A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os novos e importantes aspectos observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal

ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas devem ser esclarecidas. Incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As conclusões devem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho.

Referências

Listagem: As referências devem ser normalizadas de acordo com o estilo **Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication**, ordenadas alfabeticamente e numeradas. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Medline, e grafados no formato itálico. No caso de publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis, citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al”. Referências de um mesmo autor devem ser organizadas em ordem cronológica crescente. Sempre que possível incluir o DOI do documentado citado, de acordo com os exemplos abaixo.

Exemplos:

Artigos de periódicos

Narvai PC. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. *Cienc Saude Coletiva*. 2000;5(2):381-92. DOI:10.1590/S1413-81232000000200011

Zinn-Souza LC, Nagai R, Teixeira LR, Latorre MRDO, Roberts R, Cooper SP, et al. Fatores associados a sintomas depressivos em estudantes do ensino médio de São Paulo, Brasil. *Rev Saude Publica*. 2008;42(1):34-40. DOI:10.1590/S0034-89102008000100005.

Hennington EA. Acolhimento como prática interdisciplinar num programa de extensão. *Cad Saude Coletiva* [Internet].2005;21(1):256-65. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/csp/v21n1/28.pdf> DOI:10.1590/S0102-311X2005000100028

Livros

Nunes ED. Sobre a sociologia em saúde. São Paulo; Hucitec;1999.

Wunsch Filho V, Koifman S. Tumores malignos relacionados com o trabalho. In: Mendes R, coordenador. Patologia do trabalho. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2003. v.2, p. 990-1040.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer Washington: National Academy Press; 2001[citado 2003 jul 13] Disponível em: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas (“Citing Medicine”) da National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>).

Referências a documentos não indexados na literatura científica mundial, em geral de divulgação circunscrita a uma instituição ou a um evento (teses, relatórios de pesquisa, comunicações em eventos, dentre outros) e informações extraídas de documentos eletrônicos, não mantidas permanentemente em sites, se relevantes, devem figurar no rodapé das páginas do texto onde foram citadas.

Citação no texto: A referência deve ser indicada pelo seu número na listagem, na forma de **expoente** após a pontuação no texto, sem uso de parênteses, colchetes e similares. Nos casos em que a citação do nome do autor e ano for relevante, o número da referência deve ser colocado a seguir do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por &. Nos outros casos apresentar apenas o primeiro autor (seguido de et al. em caso de autoria múltipla).

Exemplos:

A promoção da saúde da população tem como referência o artigo de Evans & Stoddart,⁹ que considera a distribuição de renda, desenvolvimento social e reação individual na determinação dos processos de saúde-doença.

Segundo Lima et al⁹ (2006), a prevalência de transtornos mentais em estudantes de medicina é maior do que na população em geral.

Parece evidente o fracasso do movimento de saúde comunitária, artificial e distanciado do sistema de saúde predominante.^{12,15}

Tabelas

Devem ser apresentadas depois do texto, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve, não se utilizando traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título. Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou, para sua reprodução.

Para composição de uma tabela legível, o número máximo é de 12 colunas, dependendo da quantidade do conteúdo de cada casela. Tabelas que não se enquadram no nosso limite de espaço gráfico podem ser publicadas na versão eletrônica. Notas em tabelas devem ser indicadas por letras, em sobrescrito e negrito.

Se houver tabela extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização para sua reprodução, por escrito.

Figuras

As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos, etc.) devem ser citadas como Figuras e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e apresentadas após as tabelas. Devem conter título e legenda apresentados na parte inferior da figura. Só serão admitidas para publicação figuras suficientemente claras e com qualidade digital que permitam sua impressão, preferentemente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Não se aceitam gráficos apresentados com as linhas de grade, e os elementos (barras, círculos) não podem apresentar volume (3-D). Figuras em cores são publicadas quando for necessária à clareza da informação. Se houver figura extraída de outro trabalho, previamente publicado, os autores devem solicitar autorização, por escrito, para sua reprodução.

Identificação do manuscrito

Título no idioma original do manuscrito e em inglês

O título deve ser conciso e completo, contendo informações relevantes que possibilitem recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 90 caracteres, incluindo espaços. Se o manuscrito for submetido em inglês, fornecer um título em português.

Título resumido

Deve conter até 45 caracteres, para fins de legenda nas páginas impressas.

Descritores

Devem ser indicados entre 3 e 10, extraídos do vocabulário "[Descritores em Ciências da Saúde](#)" (DeCS), nos idiomas português, espanhol e inglês, com base no [Medical Subject Headings \(MeSH\)](#). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos não existentes nos conjuntos citados.

Número de figuras e tabelas

A quantidade de figuras e tabelas de cada manuscrito é limitada a cinco em conjunto. Todos os elementos gráficos ou tabulares apresentados serão identificados como *figura* ou *tabela*, e numerados sequencialmente a partir de um, e não como *quadros*, *gráficos*, etc.

Co-autores

Identificar os co-autores do manuscrito pelo nome, sobrenome e instituição, conforme a ordem de autoria.

Financiamento da pesquisa

Se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

Apresentação prévia

Tendo sido apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, local e ano da realização.

Quando baseado em tese ou dissertação, indicar o nome do autor, título, ano, nome do programa de pós-graduação e instituição onde foi apresentada.

Verificação dos itens exigidos

1. Nome e instituição de afiliação de cada autor, incluindo e-mail e telefone.
2. Título do manuscrito, em português e inglês, com até 90 caracteres, incluindo os espaços entre as palavras.
3. Título resumido com 45 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas impressas.
4. Texto apresentado em letras arial, corpo 12, em formato Word ou similar (doc,txt,rtf).
5. Resumos estruturados para trabalhos originais de pesquisa em dois idiomas, um deles obrigatoriamente em inglês.
6. Resumos narrativos para manuscritos que não são de pesquisa em dois idiomas, um deles obrigatoriamente em inglês.
7. Carta de Apresentação, constando a [responsabilidade de autoria](#) e conflito de interesses, assinada por todos os autores.
8. Nome da agência financiadora e número (s) do processo (s).
9. No caso de artigo baseado em tese/dissertação, indicar o nome da instituição/Programa, grau e o ano de defesa.
10. Referências normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas alfabeticamente pelo primeiro autor e numeradas, e se todas estão citadas no texto.
11. Tabelas numeradas sequencialmente, com título e notas, e no máximo com 12 colunas.
12. Figura no formato vetorial ou em pdf, ou tif, ou jpeg ou bmp, com resolução mínima 300 dpi; em se tratando de gráficos, devem estar em tons de cinza, sem linhas de grade e sem volume.
13. Tabelas e figuras não devem exceder a cinco, no conjunto.