

N^o 223
DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO

***INFLUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE URÂNIO NOS
NÍVEIS DE CHUMBO ESTÁVEL NO LEITE E
DERIVADOS PRODUZIDOS NO AGRESTE DE
PERNAMBUCO***

AUTOR: ELINALDO DA SILVA ALCOFORADO

**RECIFE - PERNAMBUCO - BRASIL
JANEIRO - 2011**

**INFLUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE URÂNIO NOS NÍVEIS DE
CHUMBO ESTÁVEL NO LEITE E DERIVADOS PRODUZIDOS NO
AGRESTE DE PERNAMBUCO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS
ENERGÉTICAS E NUCLEARES (PROTEN)**

ELINALDO DA SILVA ALCOFORADO

**INFLUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE URÂNIO NOS NÍVEIS DE
CHUMBO ESTÁVEL NO LEITE E DERIVADOS PRODUZIDOS NO
AGRESTE DE PERNAMBUCO**

RECIFE - PERNAMBUCO

JANEIRO - 2011

ELINALDO DA SILVA ALCOFORADO

**INFLUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE URÂNIO NOS NÍVEIS DE
CHUMBO ESTÁVEL NO LEITE E DERIVADOS PRODUZIDOS NO
AGRESTE DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, do Departamento de Energia Nuclear, da Universidade Federal Pernambuco, como pré-requisito, para obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de Concentração: Dosimetria e Instrumentação.

Orientador: Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral (DEN – UFPE)

Co-Orientador: Prof. Dr. Cleomacio Miguel da Silva

**RECIFE – PERNAMBUCO
JANEIRO – 2011**

A354i Alcoforado, Elinaldo da Silva.

Influência de ocorrência de Urânio nos níveis de Chumbo estável no leite e derivados produzidos no Agreste de Pernambuco. / Elinaldo da Silva Alcoforado. - Recife: O Autor, 2011

66f., il., figs., gráfs., tabs.

Orientador : Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral.
Co-Orientador: Prof. Dr. Cleomacio Miguel da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares,2011.

Inclui Referências Bibliográficas e Anexos.

1.Ciências Ambientais. 2. Chumbo radiogênico. 3. Urânio. 4. Solo. 5. Leite. 6. Queijo. 7. Soro lácteo. 8. Espectometria de Absorção Atômica 9. Agreste de Pernambuco. I. Amaral, Romilton dos Santos. II.Silva, Cleomacio Miguel. III. Título.

621.48 CDD (22.ed)

UFPE/BCTG-104/2011

**Influência de Ocorrência de Urânio nos Níveis de Chumbo Estável no
Leite e Derivados Produzidos no Agreste de Pernambuco**

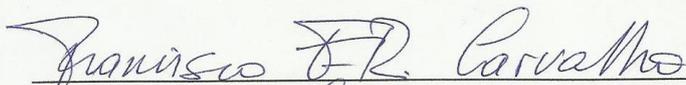
Elinaldo da Silva Alcoforado

APROVADO EM: 31.01.2011

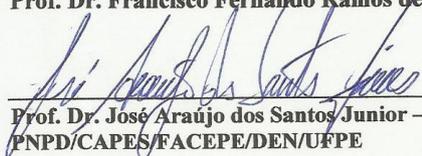
ORIENTADOR: Prof. Dr. Romilton dos Santos Amaral

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Cleomácio Miguel da Silva

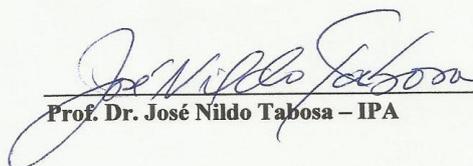
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho – DZ/UFRPE

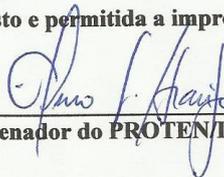


**Prof. Dr. José Araújo dos Santos Junior –
PNPD/CAPES/FACEPE/DEN/UFPE**



Prof. Dr. José Nildo Tabosa – IPA

Visto e permitida a impressão



Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Dr. Romilton dos Santos Amaral e Dr. Cleomacio Miguel da Silva, pela orientação competente e atenção.

Ao grupo de Radioecologia do Departamento de Energia Nuclear – DEN- da Universidade Federal de Pernambuco, pelo apoio e disponibilidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Energéticas e Nucleares – PROTEN – DEN/UFPE, toda comunidade acadêmica: Professores, Funcionários e discentes e em particular a Coordenação do Programa, pela atenção.

Aos Professores que participaram da banca dos Seminários e da defesa da dissertação, Dr. Francisco Fernando Ramos Carvalho-UFRPE, Dr. José Nildo Tabosa-IPA, Dr. Rivaldo Alves Rodrigues-UFRPE, Dr. José Araújo dos Santos Junior, Dr. Rômulo Simões Menezes, Dr. Cláudio Augusto Gomes da Camara, pelas críticas construtivas e sugestões.

Ao Centro Regional de Ciências Nucleares – CRCN, Divisão de Análise Ambientais, em particular ao Funcionário Crescêncio Andrade Silva Filho, que possibilitou as medições e amparo técnico e instrumental para a concretização do trabalho.

RESUMO

Na natureza ocorre quatro isótopos estáveis de chumbo: chumbo-204 (^{204}Pb), chumbo-206 (^{206}Pb), chumbo-207 (^{207}Pb) e chumbo-208 (^{208}Pb). Exceto o ^{204}Pb cuja abundância é apenas 1,4%, todos os demais isótopos com 98,6% de contribuição são radiogênicos, e produtos estáveis do processo de desintegração das séries do ^{238}U , ^{235}U , ^{232}Th .

No final da década de 1980, a antiga NUCLEBRAS delimitou uma área de 20 km², localizada nos municípios de Pedra e Venturosa, que abrigam anomalias de urânio e tório. Esses municípios situam-se na meso região do agreste de Pernambuco que compreende a bacia leiteira do estado. A constatada ocorrência de urânio e tório nessa região contribuirão para elevar os níveis de chumbo nos solos, que, por conseguinte, contaminarão a água, os alimentos, animais e comprometerão toda cadeia alimentar.

Foram analisadas, em triplicata, 23 amostras de leites e derivados produzidos nas fazendas e laticínios situados na região que apresentam anomalias radiométrica, com o objetivo de avaliar os níveis de chumbo natural devido a ingestão, de água e alimentos contaminados, pelos animais. A quantificação do chumbo foi determinada por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. As concentrações de chumbo no leite variaram de 6 a 130 $\mu\text{g.L}^{-1}$; nas amostras de queijo de coalho variaram de 110 a 1100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e nas amostras de soro lácteo variaram de 6 a 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Sete amostras de leite e uma amostra de queijo de coalho apresentaram concentrações maiores do que os limites estabelecidos pela Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA). Apesar de amostras de leite de algumas fazendas apresentarem valores acima do limite, as concentrações de chumbo nas amostras de soro e de queijo apresentaram valores médios abaixo do limite de tolerância estabelecido pela legislação brasileira. Levando em consideração o efeito da diluição estima-se que a ocorrência do chumbo estável na região não trará danos a saúde coletiva, embora haja necessidade de monitoramento dos alimentos e água ingeridos pelos animais de algumas propriedades, tendo em vista que a anomalia de chumbo na região decorre do processo natural.

Palavras-chave: Chumbo radiogênico. Solo. Leite. Queijo. Soro lácteo.

ABSTRACT

There are four stable isotopes of lead of natural occurrence: lead-204 (^{204}Pb), lead -206 (^{206}Pb), lead -207 (^{207}Pb) and lead -208 (^{208}Pb). Except for the ^{204}Pb , whose abundance is of only 1,4%, all the others, amounting a 98,6% contribution, are radiogenic as stable products of the disintegration of a series of ^{238}U , ^{235}U , ^{232}Th .

In the past 1980 decade, the old NUCLEBRAS determined a 20 Km² area where uranium and thorium anomalies are found, located at the Pedra and Venturosa cities which are located at the *meso* Agreste Region of Pernambuco state which includes the dairy region of the state. The well-established occurrence of those elements in that region will raise the lead levels in the soil, what will cause the contamination of water and consequently of the agricultural products and animals, affecting the food chains.

Twenty three samples of milk and its byproducts obtained in different farms of that region, chosen following a criteria of to present radiometric anomalies, were analyzed in triplicates with the aim of to determine the levels of lead. The quantitative determination of lead was obtained via atomic absorption spectroscopy with electro-thermal atomization in graphite oven. The concentrations of lead in the milk ranged from 6 to 130 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, in the cheese samples from 110 to 1100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and in milk serum from 6 to 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Seven milk samples and only one of the “coalho” cheese presented concentrations higher than the limits established by National Health Surveillance Agency (ANVISA). Despite the milk samples of some farms have presented values above the limit, rather the cheese and serum ones presented averaged values below the Brazilian lawful limits. Taking into account the dilution factor, it can be claimed that these levels of lead offer no risks of damage to people health. However, it must be emphasized the need of monitoring the food and water ingested by the animals, in view of the natural causes of the lead anomalies found in that region.

Keywords: Radiogenic lead. Soil. Milk. Cheese. Milky serum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Evolução da produção de leite no Pernambuco (2000 – 2008)	16
Figura 2 -	Modelo para o metabolismo do chumbo de acordo com Rabinowitz et al.	22
Figura 3 -	Modelo para o metabolismo do chumbo de acordo com O'Flaherty.	23
Figura 4 -	Mapa da “Bacia Leiteira” de Pernambuco - Indicativos da área estudada.	33
Figura 5 -	Mapa com detalhes da localização das anomalias primária e secundária de urânio e tório	34
Figura 6 -	Curva Analítica para dosagem do chumbo	38
Figura 7 -	Limite de detecção e quantificação	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Localização da região analisada	32
Quadro 2 -	Coordenadas Geográficas nos pontos de coletas	36
Quadro 3 -	Programação de aquecimento do forno de grafite	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perfil da produção de leite em Pernambuco	16
Tabela 2 - Concentrações das Soluções padrões e as respectivas absorbância	38
Tabela 3 - Concentrações de Pb nas amostras de leite das fazendas F-1 a F-11	40
Tabela 4 - Concentrações de Pb nas amostras de soro de leite dos Laticínios L-1 a L-4	42
Tabela 5 - Concentrações de Pb nas amostras de queijo de coalho dos Laticínios L-1 a L-5	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATSDR	Agency for Toxic Substances and disease registry
CPRM	Companhia de Pesquisas de Recursos Minerais
CRCN	Centro Regional de Ciências Nucleares
EDTA	Ácido etilenodiamino tetraacético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAPAS	Food Analysis Performance Assessment Scheme
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDR	Instituto de Radioproteção e Dosimetria
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IPA	Instituto Agrônomo de Pernambuco
IUPAC	International Union of Pure and Applied
NUCLEBRAS	Empresas Nucleares Brasileiras
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Chumbo no meio ambiente	15
2.2	Chumbo no leite de vaca	15
2.3	Chumbo no corpo humano	19
2.3.1	Absorção de chumbo pelo corpo humano	19
2.3.2	<i>Distribuição do chumbo no corpo humano</i>	22
2.3.3	<i>Eliminação de chumbo do corpo humano</i>	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	A área delimitada para estudo	32
3.2	Amostragem e preparação das amostras	35
3.3	Procedimento de digestão	36
3.4	Determinação do chumbo	37
3.4.1	<i>Estabelecimento da curva analítica</i>	37
3.4.2	<i>Exatidão do método analítico</i>	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1	Validação do método de análise	40
4.2	Concentração de chumbo nas amostras do leite fresco	40
4.3	Concentração de chumbo nas amostras de soro de leite	42
4.4	Concentração de chumbo nas amostras de queijo de coalho	43
5	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	ANEXO A – SÉRIE RADIOATIVAS NATURAIS	56
	ANEXO B – PORTARIA 16, DE 13 DE MARÇO DE 1990	59

ANEXO C – COMPOSIÇÃO MÉDIA DO LEITE DE VACA, LACTOSSORO E QUEIJO DE COALHO E PROPRIEDADE FÍSICAS DO LEITE.	61
ANEXO D - CLASSIFICAÇÃO MUNDIAL DOS PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE LEITE DE VACA, 2007	62
ANEXO E - RANKING DA PRODUÇÃO ANUAL DE LEITE POR ESTADO NO BRASIL, 2007.	63
ANEXO F – INSTRUMENTAÇÃO	64
ANEXO G - INMETRO : DOQ-CGRE-008-Revisão 03 – Fev/2010	66

1 INTRODUÇÃO

As maiores fazendas produtoras de leite do estado de Pernambuco encontram-se localizadas na mesorregião do Agreste Semi-Árido. Nesta mesorregião, os municípios de Pedra e Venturosa, juntas, são responsáveis por cerca de 9% de todo o leite produzido em Pernambuco (IBGE, 2007).

Sabe-se que em 1975, durante a execução do projeto Garanhuns, a antiga NUCLEBRAS (Empresas Nucleares Brasileiras) juntamente com a CPRM (Companhia de Pesquisas de Recursos Minerais) realizaram uma prospecção radiogeológica numa área de 35.000 km², compreendendo os estados de Pernambuco, Alagoas e Sergipe. O projeto Garanhuns identificou 263 anomalias radioativas, mas, após estudos de verificação, apenas uma delas apresentou teores significativos de U₃O₈ (SIQUEIRA FILHO; ANDRADE, 1988). Um pouco mais tarde, em 1977, a antiga NUCLEBRAS viabilizou um novo projeto denominado Projeto Venturosa–Avaliação de áreas. Os resultados deste projeto indicaram a necessidade de uma sondagem geológica, que resultou no Projeto Venturosa–Sondagem e Perfilagem, realizado em 1978 (SIQUEIRA FILHO; ANDRADE, 1988).

Durante o projeto Garanhuns, foram detectadas anomalias radioativas significativas em fazendas produtoras de leite localizadas entre os municípios de Pedra e Venturosa, nas proximidades do rio Ipanema. Neste local foram encontrados blocos rolados de rocha máfica, apresentando valores máximos de U₃O₈ de 22.000 mg.kg⁻¹ e 100 mg.kg⁻¹ de ThO₂ (COSTA et al., 1976). A mineralização de urânio se localiza em blocos rolados de anfíbolito, encontrados próximos ao contato do granito pórfiro com os migmatitos, que são duas unidades aflorantes regionais (COSTA et al., 1976). O mineral de urânio se faz presente a olho nu (afloramento), com material de coloração verde-amarelada, que preenche fraturas existentes nos blocos das rochas (COSTA et al., 1977). Em 1986, Mendonça (1987) analisou os relatórios (Avaliação de indícios e Sondagem/Perfilagem) relativos ao Projeto Venturosa e sugeriu a retomada dos trabalhos com a finalidade de avaliar as possibilidades de mineralizações economicamente viáveis de urânio primário na área. Dois anos mais tarde, a antiga NUCLEBRAS realizou uma fotointerpretação de uma área de 100 km² no município de Venturosa, como também em suas adjacências, visando retomada dos trabalhos, o que resultou na delimitação de uma área de aproximadamente 20 km² que abriga as principais mineralizações primárias de urânio do município (MENDONÇA, 1987).

Estudos recentes (SANTOS JÚNIOR et. al., 2006), realizados nas fazendas produtoras de leite dos municípios de Pedra e Venturosa, determinaram concentrações elevadas de urânio

natural em amostras de solos e rochas, com média de 92 Bq.kg⁻¹ e 22.000 Bq.kg⁻¹, respectivamente. Em outro estudo nestas fazendas, foram verificadas concentrações elevadas de tório (²³²Th), variando de 77 a 423 Bq.kg⁻¹ (SANTOS JÚNIOR et al., 2005). Esses valores despertaram o interesse em estudar o chumbo natural que é uma mistura de quatro isótopos estáveis, Pb-204 (1,4%), Pb-206 (24,1%), Pb-207 (22,1%) e Pb-208 (52,4%). Com exceção do Pb-204, esses isótopos são os produtos finais das séries radioativas naturais¹ do ²³⁸U; ²³⁵U e do ²³²Th, respectivamente. Devido às séries radioativas naturais, o chumbo é constantemente produzido na natureza, sendo então, largamente distribuído na crosta terrestre.

O solo desempenha função muito importante na ingestão de chumbo por vacas leiteiras (PARKPIAN et al., 2003). O consumo acidental de solo aderido às plantas utilizadas como forragens, é a principal via de contaminação interna de chumbo em vacas leiteiras (SHARMA et al., 1982). Na literatura científica são relatados vários casos de intoxicação de bovinos leiteiros por exposição ambiental ou ingestão de ração contaminada com chumbo (RUBIO et al., 1998; VIDOVIC et al., 2005; SWARUP et al., 2005; SWARUP et al., 2007).

A ingestão de solo é uma via importante de contaminação de chumbo em bovinos, sendo inclusive, responsável pela transferência deste elemento da forragem para o leite de vaca (SHARMA et al., 1982). Isto é muito importante, do ponto de vista da toxicologia, pois, o leite de vaca é considerado uma das maiores fontes de ingestão de chumbo pelo homem, principalmente se ele for produzido em decorrência do consumo vegetação escassa.

Parte do chumbo ingerido por uma vaca em lactação é transferida para o leite (SHARMA et al., 1982). Assim, o consumo de leite pode constituir uma via importante de contaminação desse metal pesado na população da região do Agreste Semi-Árido do estado de Pernambuco.

O leite, um alimento bastante consumido pelos seres humanos, principalmente por crianças, deve apresentar qualidade adequada para assegurar a saúde da coletividade. Devido à elevada toxicidade do chumbo, mesmo em nível de traços, as autoridades sanitárias mundiais estão preocupadas em estabelecer medidas para reduzir a concentração desse metal no leite. Diversos trabalhos mostraram a necessidade de monitoração de chumbo em amostras de leite fresco, leite embalados e derivados do leite, com a finalidade de conscientizar a necessidade de restringir a contaminação e preservar a saúde coletiva (PARKPIAN et al., 2003; TOKUŞOĞLU et al., 2004; SWARUP et al., 2005; SWARUP et al., 2007; SARICA; TÜRKER, 2007; PATRA et al., 2008).

¹ANEXO A – SÉRIES RADIOATIVAS NATURAIS

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi fazer um estudo das concentrações de chumbo em amostras de leite, queijo de coalho e soro oriundos das fazendas e laticínios localizados numa área com anomalia de urânio e tório existente nos municípios Pernambucanos de Pedra e Venturosa. Os resultados obtidos foram comparados com os limites estabelecidos pelas normas da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil, conforme estabelecido pela portaria 16, de 13 março de 1990, publicada no diário oficial da união (DOU) em 15/03/1990².

Tendo em vista a localização das propriedades, as condições de manipulação e armazenamento dos produtos obtidos, leite, soro e queijo constatou-se que a ocorrência de Pb na área analisada não sofre influência antropogênica.

²Anexo B – Portaria 16, de 13 de março de 1990.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Chumbo no meio ambiente

O chumbo é um dos contaminantes ambientais mais comuns, tóxico para os homens e animais, e sem nenhuma função fisiológica conhecida no organismo. As atividades antropogênicas têm dispensado grandes quantidades de chumbo para o meio ambiente, contaminando-o. As fontes antropogênicas que mais contaminam o meio ambiente com chumbo são: indústrias de preparação de tintas e de corantes, veículos de motores de combustão interna à gasolina e indústrias de baterias (KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007), mais recentemente em componentes elétricos domésticos como tubos de TV e monitores de vídeo. Entretanto, a utilização do chumbo na gasolina e em tintas vem sendo bastante reduzida nos últimos anos, diminuindo assim, o risco de exposição do homem e dos animais a este elemento (KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2007). Por outro lado, o chumbo ocorre naturalmente no meio ambiente sempre associado aos minerais de urânio e tório, já que vem diretamente da desintegração radioativa destes radioisótopos (JAWOROWSKI, 1969). Dos quatro nuclídeos que constituem o chumbo natural três são radiogênicos (^{206}Pb , ^{207}Pb e ^{208}Pb) e representam 98,6% do chumbo estável e apenas o ^{204}Pb com 1,4% de abundância que não provém de tal processo.

2.2 Chumbo em leite de vaca

Poucos trabalhos na literatura científica abordam sobre a transferência de chumbo para a cadeia alimentar de vacas leiteiras. Recentemente (PARKPIAN et al., 2003), na Tailândia, foram realizados estudos completos numa área com fazendas de criação de vacas leiteiras, onde foram constatadas concentrações elevadas de chumbo em amostras de solo.

O leite³, considerado uma das mais completas fontes de nutrientes, contém proteínas, vitaminas e sais minerais e apresenta uma atividade que tem impacto sócio econômico significativo em nosso país. A produção e o consumo de leite e seus derivados têm crescido no Brasil e em muitos países em desenvolvimento, sendo que o Brasil passou a ser um grande exportador de leite em pó.

³Anexo C - Composição média do leite de vaca, lactossoro e queijo de coalho e propriedades físicas do leite.

No ano de 2007, o Brasil produziu 25,33 bilhões de litros de leite destacando-se como o sexto maior produtor de leite do mundo⁴.

Em Pernambuco⁵, a produção de leite concentra-se na região conhecida como “Bacia Leiteira”, que se encontra localizada na região do agreste semi-árido do estado.

Segundo os dados da produção da pecuária municipal (IBGE, 2008), os municípios de Pedra e Venturosa contribuem com cerca de 27% da produção leiteira da microrregião (Vale do Ipanema), 12% da mesorregião (Agreste) e 9% do estado. A produção anual de leite no estado vem evoluindo conforme apresentado na Figura 1, e no ano de 2008 foi de 725 milhões de litros, participando com 2,8% da produção nacional.

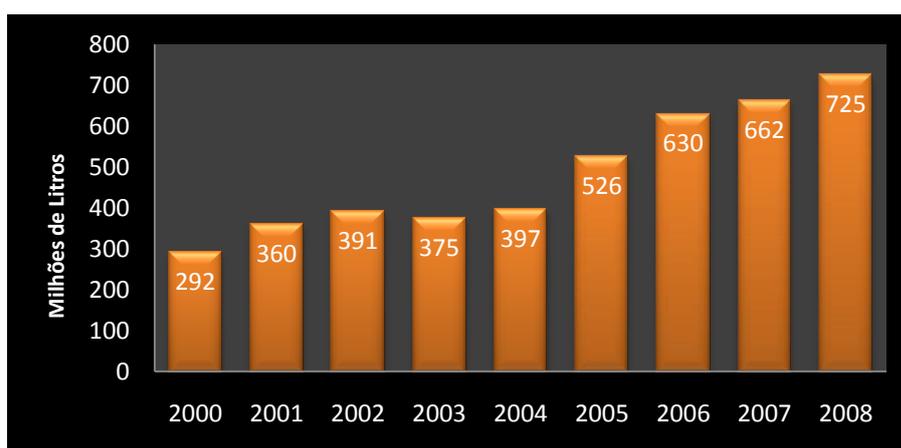


Figura 1- Evolução da produção de leite em Pernambuco
Fonte – IBGE (2008)

O SEBRAE (2009) estabeleceu o diagnóstico da produção de leite de Pernambuco, e traçou o perfil da sua produção pecuária leiteira (Tabela 1): que 80% dos produtores e 40% de todo o leite produzido em Pernambuco são procedentes de pequenos produtores numa taxa de produção de até 100 litros por dia e que 77% dos produtores de todo o estado, têm como única fonte especificamente a atividade relacionada a bovinocultura leiteira.

Tabela 1- Perfil da produção de leite em Pernambuco

Produção diária	% de produtores	% produção de PE
≤ 50 L	63,88	23,43
50 - 100 L	18,58	18,58
100 - 200 L	10,23	10,23
200 - 500 L	4,59	16,14
≥ 500 L	2,27	27,07

Fonte - SEBRAE (2009).

⁴Anexo D- Classificação mundial dos principais países produtores de leite de vaca – 2007

⁵Anexo E - Ranking da Produção Anual de Leite por Estado no Brasil, 2007

A pecuária leiteira na região agreste do semi-árido do estado de Pernambuco é predominantemente extensiva. Durante a estação seca, as pastagens encontram-se bastante deterioradas, causando, geralmente, deficiências minerais no rebanho (SEBRAE, 2009). Pastos deteriorados contribuem significativamente para a ingestão de solos por vacas leiteiras (FRIES et al., 1982). Os bovinos leiteiros também podem ingerir minerais através do solo, seja acidentalmente ou por deficiência mineral, alotrofia, caracterizada por uma perversão do apetite, que induz a ingestão de materiais estranhos à sua dieta normal (ZACH; MAYOH, 1984). No Brasil, a ingestão acidental de solo pode chegar a 20% da matéria seca, sendo favorecido quando os solos possuem uma estrutura fraca e drenagem pobre, elevada carga animal ou durante baixo crescimento dos pastos (época da seca) (McDOWELL, 1999).

No Piauí e Maranhão, estados da região do Nordeste do Brasil, em certas regiões das chapadas, as fezes dos bovinos contêm quantidades muito elevadas de solo, a tal ponto que elas têm aspecto e consistência de cerâmica (McDOWELL, 1999). O consumo acidental de solo aderido às plantas utilizadas como forragens, é a principal via de contaminação interna de chumbo em vacas leiteiras (SHARMA et al., 1982).

O leite contaminado com chumbo é considerado adulterado e impróprio para o consumo, pois representa um risco à saúde humana, e sua identificação constitui um dos princípios fundamentais para a aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) na cadeia produtiva (FORSYTHE, 2002).

Tem havido um grande esforço por parte das instituições brasileiras oficiais e privadas para modernização da cadeia agroindustrial do leite, tendo como objetivo, entre outros, melhorar a sua qualidade, com o intuito de avaliar e prevenir os riscos à saúde da população devido a presença de metais pesados em alimentos de origem animal (BELTRANE; MACHINSKI JUNIOR, 2005). Os metais pesados podem chegar ao leite por diversas fontes, como: a poluição ambiental e o solo que contaminam as pastagens e as fontes de água, o uso de medicamentos veterinários e pelo contato do leite com superfícies metálicas não estanhadas (corrosão). Dentre esses metais tóxicos destacam-se, o chumbo (MÍDIO; MARTINS, 2000). De acordo com a legislação do Ministério da Agricultura (BRASIL–MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1980), todo vasilhame empregado no acondicionamento de leite, na ordenha, na coleta ou para mantê-lo em depósito deve ser de aço inoxidável, alumínio ou ferro estanhado, de perfeito acabamento e sem falhas.

O leite, um alimento bastante consumido pelos seres humanos, principalmente por crianças, deve apresentar qualidade adequada para assegurar a saúde da coletividade. Para

isto, é necessário que o leite seja proveniente de animais sadios, colhido e armazenado em condições sanitárias satisfatórias e livre de contaminação ambiental (OKADA et al., 1997). Na literatura científica são relatados vários casos de intoxicação de vacas leiteiras por exposição ambiental ou ingestão de alimentos contaminados com chumbo (MILLER et al., 1967; NEATHERY et al., 1974; INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1978; SHARMA et al., 1982; BAARS, 1992; INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1992; MURTA et al., 1993; PATRA et al., 2008). Observaram-se que a ingestão, pelas vacas leiteiras, de quantidades maiores que 500 mg de chumbo por dia ocasionou um aumento nos níveis de chumbo no leite, atingindo valores de $0,06 \text{ mg.L}^{-1}$ (SHARMA et al., 1982). Pesquisas mostraram correlação linear crescente entre a concentração de chumbo existente no sangue de vacas leiteiras e a concentração deste elemento presente no leite (SWARUP et al., 2005).

Stanley et. al. (1971) analisaram a distribuição e eliminação de chumbo em vacas leiteiras quando submetidas a uma dose do radionuclídeo ^{203}Pb , tendo constatado que da quantidade total de chumbo ingerido pelo animal uma pequena fração é moderadamente absorvida e apenas 0,02% é transferido ao leite.

Devido à elevada toxicidade do chumbo nos seres humanos, mesmo em nível de traços, as autoridades sanitárias mundiais estabeleceram limites de concentração desses metais pesados no leite. Sendo assim, diversos trabalhos (MURTHY; RHEA, 1968; BRUHN; FRANKE, 1976; LOPEZ et al., 1985; OKADA et al., 1997; TOKUŞOGLU et al., 2007; AY; KARAYÜNLÜ, 2008; TAJKARIMI et al., 2008) mostraram a necessidade de monitoração de chumbo em amostras de leite fresco e embalado, com a finalidade de conscientizar a necessidade de restringir a contaminação e preservar a saúde coletiva. No Brasil, em 1990, o Ministério da Saúde revisou os níveis de tolerância para chumbo em alimentos, e diminuiu os valores de aceitabilidade de chumbo de $8,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ para $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ para a maioria dos alimentos, sendo que para o leite o nível é de apenas $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ (BRASIL, 1990). A legislação brasileira apresenta o mesmo limite da legislação holandesa. Na Dinamarca e Alemanha a legislação é mais restritiva, com limites de $0,02$ e $0,03 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1978).

2.3 Chumbo no corpo humano

No organismo humano, o chumbo não é metabolizado, e sim, complexado por macromoléculas, sendo diretamente absorvido, distribuído e excretado. Os compostos inorgânicos de chumbo entram no organismo por inalação (rota mais importante na exposição ocupacional) ou ingestão (via predominante para a população em geral). Somente os compostos orgânicos de chumbo são capazes de penetrar através da pele íntegra. Os compostos de chumbo tetra alquila (chumbo tetraetila), por exemplo, são absorvidos rapidamente pelos pulmões, trato gastrointestinal e também pela pele (TSALEV; ZAPRIANOV, 1985).

2.3.1 Absorção de chumbo pelo corpo humano

A absorção do chumbo no organismo é influenciada pela rota de exposição, espécie química formada (especificação), tamanho da partícula (no caso de particulado), solubilidade em água, e variações individuais fisiológicas e patológicas. A absorção do chumbo no sangue pode ser superior a 50% da quantidade inalada e/ou ingerida para gases de exaustão e sais altamente solúveis, assim como para fumantes e pessoas com doenças das vias respiratórias superiores, que têm a atividade ciliar prejudicada, favorecendo assim uma maior deposição das partículas de chumbo no trato respiratório (SARYAN; ZENZ, 1994).

A absorção do chumbo no trato gastrointestinal varia de 2% a 16% se ingerido com refeição, mas pode chegar a 60-80%, quando administrado em jejum. Mulheres grávidas e crianças absorvem 45% a 50% do chumbo presente na dieta. Esta absorção ocorre originalmente no duodeno por mecanismos ainda indefinidos, podendo, porém, envolver transporte ativo e/ou difusão trans ou paracelular, tanto do chumbo ionizado quanto dos complexos inorgânicos ou orgânicos deste elemento (ATSDR, 1999). No entanto, os resultados de um estudo sugerem que a absorção do chumbo ingerido por crianças de 6 a 11 anos é comparável com os padrões de absorção observados em mulheres na faixa de 29 a 37 anos de idade (GULSON et al., 1997b).

A absorção pelo trato gastrointestinal depende mais de fatores nutricionais, tais como, ingestão de cálcio (Ca), ferro (Fe), fósforo (P) e proteínas, do que da solubilidade dos compostos de chumbo, devido à acidez do estômago. Sabe-se que um baixo teor de Ca ou Fe na dieta aumenta a absorção do Pb. O mesmo é verdadeiro para uma alimentação deficiente em P e proteínas. A absorção do chumbo pela mucosa intestinal possivelmente envolve um

mecanismo de competição com relação ao cálcio (IPCS, 1995).

Os resultados encontrados para as relações entre os fatores nutricionais e acumulação do Pb no organismo de 747 homens, com idades entre 49 e 93 anos, sugerem que a baixa ingestão diária de vitamina D pode aumentar a acumulação do Pb nos ossos, enquanto que menor ingestão diária de vitamina C e ferro pode aumentar os níveis de Pb no sangue. Um maior influxo de cálcio foi associado com níveis mais baixos de chumbo ósseo, porém essa relação se tornou insignificante após ajuste para a vitamina D (CHENG, 1998).

A concentração média de chumbo no sangue de camponesas suplementadas com 940 mg de Ca foi significativamente menor do que o nível médio deste metal encontrado no sangue das mulheres que ingeriram metade deste teor, sugerindo que a ingestão adequada de cálcio pode ser uma das medidas preventivas para a redução da absorção do chumbo (KOSTIAL et al., 1991). Sargent et al. (1999) perceberam que um efeito significativo da suplementação de cálcio nas fórmulas infantis sobre a concentração de chumbo no sangue aconteceu somente nos quatro primeiros meses do acompanhamento. Com isto, não puderam concluir que o suplemento de glicerofosfato de cálcio evitou a absorção do chumbo em 103 crianças com idade entre 3,5 e 6 meses durante os 9 meses de duração do ensaio. Kristal-Boneh et al. (1998) avaliaram os níveis de Pb e Ca ingerido na dieta em 146 trabalhadores. A média de cálcio ingerido foi de 775 ± 370 mg/dia nos indivíduos não-expostos e 858 ± 423 mg/dia nos expostos, e concluíram que a quantidade de cálcio na dieta não influencia os níveis de chumbo no sangue (Pb-S). Resultados similares foram encontrados por Morris et al. (1990), em que a suplementação de 1g Ca por dia, durante 12 semanas, não alterou significativamente os níveis de Pb no sangue e protoporfirina eritrocitária na população em geral.

Durante a gravidez, a absorção intestinal pode aumentar devido à maior mobilização do chumbo dos ossos, e contribuir para a elevação da concentração desse metal no sangue, observada no último trimestre da gestação (ATSDR, 1992). De acordo com Rothenberg et al. (1994), a mobilização do chumbo do osso aumenta a absorção intestinal, explicando parte da tendência ascendente de Pb na segunda metade da gravidez das moradoras do México. Chegaram a essa conclusão após a análise de variância revelar uma redução significativa na média do Pb da 12^a ($7,0 \mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$) para a 20^a semana ($1,1 \mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$) e aumentos significativos na média de Pb da 20^a semana até o parto ($1,6 \mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$). Em outra pesquisa, os dados encontrados indicam que a mobilização dos depósitos de longo prazo (ossos, por exemplo) contribui significativamente para os níveis de chumbo no sangue durante o último trimestre da gestação

e excede a troca normal de chumbo dos ossos observada fora de gravidez (GULSON et al., 1997a).

Usando isótopos estáveis de Pb de alta precisão, pesquisadores mostraram que o Pb é mobilizado do esqueleto materno durante a gravidez e período pós-parto. As liberações observadas sugerem uma elevada troca óssea, maior do que 10%, e possivelmente maior do que 30% em algumas mulheres (GULSON et al., 1999c). Johnson (2001) propõe que o mecanismo pelo qual uma elevada ingestão de cálcio impede o aumento do chumbo no sangue materno induzido pela gravidez, pode envolver uma diminuição da absorção de chumbo no intestino ou da resorção do osso materno, reduzindo assim a concentração do metal no sangue materno e, conseqüentemente, limitando a acumulação de chumbo no feto. Um estudo conduzido em ratas grávidas demonstrou que a adição de Ca na dieta poderia reduzir a transferência do chumbo, proveniente de exposições maternas anteriores à gestação, para o feto (HAN et al., 2000). Entretanto, os resultados encontrados por Rothenberg et al. (2000) sugerem que fontes exógenas e reguladoras do nível deste metal no sangue, tais como o uso de cerâmica vitrificada ou de cálcio na dieta, só controlam a exposição durante e após a gravidez. As fontes endógenas resultantes de exposições passadas continuariam a influenciar a concentração de Pb no sangue.

Numa investigação realizada por Baghurst et al. (1987), envolvendo mulheres grávidas expostas ambientalmente, a baixa condição socioeconômica, o hábito de fumar e dieta pobre em cálcio foram alguns dos fatores associados com uma concentração de chumbo mais elevada no sangue. Estes pesquisadores também relatam que menores níveis do metal foram observados em mulheres que complementavam a dieta com ferro e ácido fólico. As crianças são mais sensíveis aos efeitos de chumbo mesmo em baixos níveis e o uso desses suplementos pode aumentar o risco à saúde, particularmente, naquelas com intolerância ao leite e seus derivados, e que suprem suas necessidades de cálcio com estas fórmulas. Porém, menos de 20% das 70 marcas de suplementos de cálcio pesquisadas por Bourgoin et al. (1993) apresentaram níveis de chumbo comparáveis ou menores do que aqueles relatados para o leite de vaca (25 µg de Pb/kg de peso do corpo). Scelfo e Flegal (2000) analisaram 136 marcas de suplementos, sintéticos, refinados e derivados de fontes naturais, e concluíram que dois terços deles ultrapassaram os critérios da Califórnia para níveis aceitáveis de chumbo em produtos para consumidores (1,5 µg de Pb/dose diária de Ca).

2.3.2 Distribuição do chumbo no corpo humano

A distribuição do chumbo pelo corpo humano depende de sua taxa de transferência da corrente sanguínea para os diferentes órgãos e tecidos. Entre crianças e adultos, existem inúmeras diferenças relacionadas à idade. Uma vez absorvido, o chumbo se distribui entre o sangue, os tecidos moles (rins, medula óssea, fígado e cérebro) e os tecidos mineralizados (ossos e dentes) (ATSDR, 1992). Vários modelos biocinéticos têm sido propostos para explicar a distribuição do chumbo no corpo humano. Rabinowitz et al. (1976) sugeriram um modelo de três compartimentos (Figura 2) no qual o primeiro seria o sangue, que estaria em comunicação direta com os compartimentos dois e três. O segundo reservatório seria composto dos tecidos moles e o terceiro consistiria principalmente dos ossos, que conteria elevados níveis do chumbo corpóreo. Os tempos de meia-vida do Pb nos três compartimentos são bastante diferentes, sendo estimado em 36 dias para o sangue, 40 dias para os tecidos moles e 27 anos para os ossos, de acordo com este modelo.

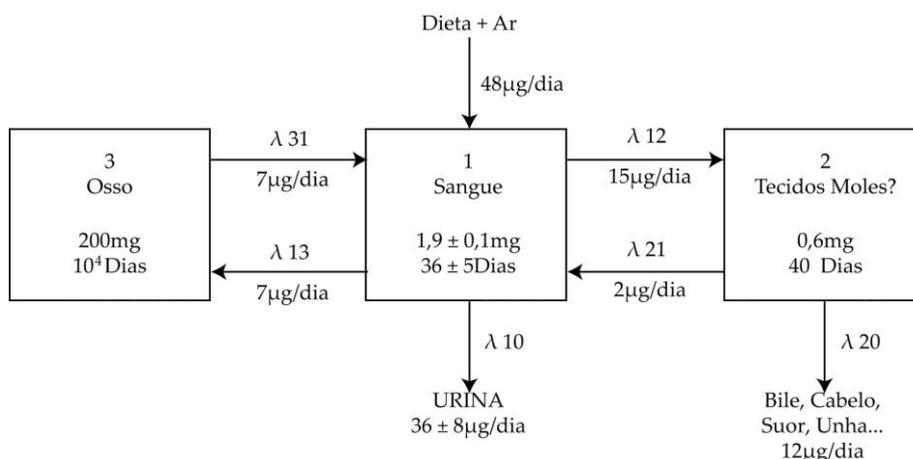


Figura 2 - Modelo para o metabolismo do chumbo de acordo com Rabinowitz et al. (1976).

Semelhantemente, Nilsson et al. (1991) concluíram que o esqueleto representa o compartimento em que a cinética de eliminação é a mais lenta (principalmente o osso cortical), enquanto que a mais rápida é observada no sangue e em alguns tecidos moles. Sugerem ainda um componente intermediário que, pelo menos parcialmente, corresponderia ao osso trabecular, que apresenta uma cinética diferenciada do osso cortical. Também um modelo cinético simples, de dois compartimentos (osso e sangue), é apresentado por Rabinowitz (1991), em que propõe valores numéricos para as alterações dos níveis de Pb-S, decorrentes das mudanças nas taxas de mobilização, variáveis com a idade e saúde.

Duas propostas são oferecidas para quantificar a troca de chumbo, uma envolve o estudo de pessoas com exposição passada conhecida, e a outra abrange isótopos estáveis e

sujeitos que se mudam de uma região geográfica para outra. Informações adicionais sobre a biocinética do chumbo e exposição ao metal permitiram refinamentos e expansões dos modelos propostos anteriormente. Em especial, três modelos farmacocinéticos para adultos e crianças estão sendo normalmente considerados para ampla aplicação: o de O'Flaherty, o biocinético e de exposição integrados (Integrated Exposure Uptake and Biokinetic Model – IEUBK) e o de Leggett. Dos três, somente aquele proposto por O'Flaherty (Figura 3) usa parâmetros fisiologicamente consistentes para descrever o volume, a composição e a atividade metabólica do sangue e tecidos que determinam a distribuição do Pb no organismo humano. Os outros dois modelos são multicompartmentais clássicos, cujas taxas de transferência específicas da idade estão baseadas em dados cinéticos de estudos em animais e humanos, e podem não ter correlações fisiológicas precisas (ATSDR, 1999).

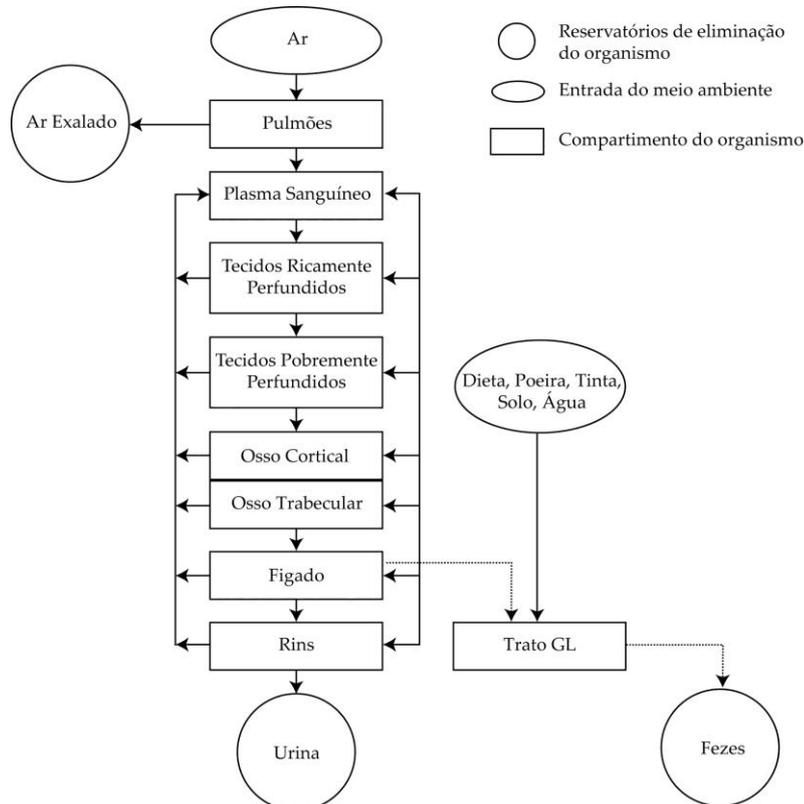


Figura 3 - Modelo para o metabolismo do chumbo de acordo com O'Flaherty (ATSDR, 1999).

Um modelo de absorção e distribuição do chumbo baseado fisiologicamente, desenvolvido e validado para adultos numa ampla faixa de exposição e diversas fontes, foi modificado para incorporar informação adicional sobre a dependência da idade na taxa de formação do osso e considerar o local da atividade de modelagem do osso crescente com a idade (O'FLAHERTY, 1995). Como o metabolismo do osso é o centro do modelo de O'Flaherty, sua característica central é a curva de crescimento, que relaciona peso do corpo com idade. Os volumes dos ossos e órgãos, e funções fisiológicas são expressos como função

do peso do corpo baseado em medidas feitas em humanos. As taxas de formação e resorção do osso são estimadas a partir de estudos sobre a cinética do Ca marcado também realizados com humanos, sendo que o osso cortical e trabecular são modelados separadamente, considerando as respectivas razões entre superfície e volume (O'FLAHERTY, 1998). Fleming et al. (1999) selecionaram um grupo de trabalhadores de uma fundição de chumbo para avaliar o modelo de O'Flaherty e os resultados para essa população foram consistentes com a hipótese de que um polimorfismo na enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD) modifica a cinética do chumbo em humanos.

Em adultos, os ossos contêm cerca de 90% a 95% do conteúdo corpóreo total de chumbo, enquanto que 80% a 95% são encontrados nas crianças (HU, 1998). Embora a concentração de chumbo em sangue seja menor do que 2% do seu total no organismo, de 90% a 99,8% do metal estão ligados à membrana e a frações de proteínas (principalmente à hemoglobina, e outras proteínas de baixo peso molecular) das células vermelhas (GOYER, 1991). Bergdahl et al. (1997a) concluíram que a principal proteína de ligação ao chumbo era a ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD), sugerindo que a noção anterior de que, nos eritrócitos, o Pb se ligava primeiramente à hemoglobina deveria ser revista. Nas proteínas obtidas dos eritrócitos ligados, além da maior afinidade do Pb pela ALAD, também foram identificadas ligações do chumbo com outros tipos de proteínas. No entanto, nenhum chumbo ligado à hemoglobina foi detectado. Assim, um novo modelo foi proposto, baseado nesses três componentes e em mais um quarto, que representaria o Pb não recuperado (BERGDAHL et al., 1998). Xie et al. (1998) encontraram semelhança no padrão de distribuição das proteínas para os experimentos *in vivo* e *in vitro*. Em ambos os casos, uma maior concentração de chumbo foi determinada na região correspondente à massa molecular do ALAD e de um outro pico, eluído após a fração da hemoglobina, na região de massa estimada.

Os modelos propostos para representar a cinética do Pb normalmente supõem que o seu transporte pelo corpo é comandado pelo componente *plasma* do sangue total (O'FLAHERTY, 1995). Porém, em concentrações elevadas de Pb-S, há uma saturação gradual dos sítios de ligação nos eritrócitos e uma maior quantidade deste elemento se torna biologicamente disponível. Este mecanismo é consistente com os resultados encontrados por Fleming et al. (1997), em que os trabalhadores mais antigos de uma fundição apresentaram concentrações de chumbo no sangue relativamente altas, podendo freqüentemente ter excedido tal ponto de saturação, enquanto que trabalhadores empregados há menos tempo teriam níveis de Pb-S abaixo deste ponto.

Resultados de estudos isotópicos sobre a liberação do Pb do osso para a circulação mostraram que 40% a 70% do chumbo presente no sangue de sujeitos expostos ambientalmente (SMITH et al., 1996) e de mulheres adultas (GULSON et al., 1995) são provenientes do esqueleto. O osso influencia a concentração do chumbo no plasma de modo independente da influência do Pb eritrocitário. Conseqüentemente, a superioridade do metal de origem óssea sobre o sangüíneo em predizer algumas formas crônicas de toxicidade pode ser intermediada pela sua influência sobre o Pb plasmático (HERNANDEZ-AVILA et al., 1998). Assim, uma hipótese alternativa foi proposta para a cinética do Pb, em que fontes endógenas favorecem mais fortemente o compartimento *plasma* do que as exógenas (CAKE et al., 1996). Entretanto, dados obtidos no estudo de Gulson et al. (2000b), com mulheres acompanhadas desde antes da gravidez até 180 dias após o parto, não apóiam esta proposição.

A determinação do chumbo no plasma é uma medida mais exata do que no sangue para avaliação da exposição, especialmente em níveis elevados do metal. O plasma é o componente do sangue que contém o Pb livre para cruzar as membranas celulares e causar seus efeitos tóxicos (HIRATA et al., 1995). Os ligantes presentes no plasma, e disponíveis para a ligação com o Pb, ainda não estão bem definidos, mas alguns pesquisadores têm sugerido a existência de frações difusíveis de chumbo em equilíbrio com sítios ativos de órgãos-alvo e tecidos moles, e também com as células vermelhas (GOYER, 1991). Sabe-se, entretanto, que o plasma contém uma fração estimada entre 0,2% a 10% do Pb-S, provavelmente ligada à albumina α_2 -globulina ou como íons livres disponíveis para o transporte para os tecidos. É possível que esta última fração tenha maior importância toxicológica do que o chumbo nos eritrócitos, por estar mais biodisponível para atingir os sítios-alvo da ação toxicológica. As concentrações plasmáticas de chumbo raramente têm sido medidas devido às dificuldades analíticas e, por isso, sua relação com as manifestações tóxicas não está claramente definida (BERGDAHL et al., 1997b; TSAIH et al., 1999). Um estudo longitudinal, realizado com mulheres em idade reprodutiva expostas ambientalmente ao chumbo, encontrou uma variação natural de duas a quatro vezes na partição relativa deste metal entre o sangue total e o plasma, para a faixa de concentração estudada (2,13 - 39,7 $\mu\text{g.dL}^{-1}$) de chumbo em sangue (SMITH et al., 2002).

O chumbo presente no sangue é distribuído entre os órgãos, dependendo do gradiente de concentração e da afinidade pelo tecido específico. Níveis mais elevados têm sido encontrados na aorta, fígado e rins. A retenção do chumbo nos tecidos moles se estabiliza na vida adulta e pode decrescer em alguns órgãos com a idade, contudo continua a se acumular nos ossos e na aorta durante toda a vida (TSALEV; ZAPRIANOV, 1985; SARYAN; ZENZ,

1994). O chumbo atravessa a barreira hemato-encefálica, mas sua concentração no cérebro é baixa. Também penetra na placenta, que pode determinar 57,4% do nível de Pb transferido para o feto, e o sangue fetal contém quase que os mesmos níveis do metal que o sangue materno (NASHASHIBI et al., 1999). O chumbo é mobilizado dos ossos numa taxa acelerada e transferido para o feto, mostrando que esta mobilização contribui significativamente para aumentar os níveis de Pb-S durante a segunda metade da gravidez (HERTZ-PICCIOTTO et al., 2000). As concentrações de chumbo no sangue em amostras coletadas do cordão umbilical diminuíram por cerca de 90 dias após o parto, quando então aumentaram até 166%, refletindo os ganhos de chumbo de fontes tais como o esqueleto materno no período de aleitamento (GULSON et al., 1999a). Durante a sua distribuição, o chumbo segue a via metabólica do cálcio e se acumula nos ossos e dentes. Após examinar a relação entre o chumbo no dente de criança e os níveis de chumbo no osso de adultos jovens, Kim et al. (1996) concluíram que a exposição ao metal na infância pode ser usada para prever o conteúdo corpóreo até 13 anos depois. Esse grande depósito contribui significativamente para manter os níveis de chumbo no sangue após o término da exposição e também como fonte deste metal para o feto, no período de formação do esqueleto fetal (GULSON et al., 1999c).

Como o chumbo é qualitativamente um análogo biológico do cálcio, sua entrada e liberação do esqueleto são, em parte, controladas por muitos dos mecanismos que regulam a homeostase do mineral. Estes incluem os processos normais de difusão mineral e de troca (absorção/ressorção) (SMITH et al., 1996). O Pb armazenado no esqueleto pode ser mobilizado para a circulação nas situações em que normalmente ocorre uma maior mobilização como nos estados fisiológicos e patológicos, que promovem a resorção óssea (PIRES et al., 2001), constituindo assim um mecanismo para a toxicidade tardia. Alguns pesquisadores sugerem que este fato acontece durante a homeostase normal, que ocorre nos períodos de troca óssea acelerada e perda de minerais (VAHTER et al., 2002) tais como crescimento rápido de crianças (SANÍN et al., 1998), gravidez (ROTHENBERG et al., 2000), lactação (GULSON et al., 1998b; TELLEZ-ROJO, 2002) e menopausa (ROBERTS; SILBERGELD, 1995; HERNANDEZ-AVILA et al., 2000). Há suspeitas de que, nos casos de distúrbios no equilíbrio ácido-base, infecções, intervenções cirúrgicas, osteoporose (SILBERGELD et al., 1988; WEYERMANN; BRENNER, 1998), tirotoxicose (GOLDMAN et al., 1994) e terapias com certas drogas (OSTERODE et al., 2002), o chumbo também possa ser inesperadamente mobilizado, levando à aparição de sintomas tóxicos, mesmo depois de cessada a exposição (SILBERGELD, 1993; SARYAN; ZENZ, 1994; ATSDR, 1999).

A modelagem apresentada por Rust et al. (1999) sugere que a mobilização do Pb do osso pode causar impacto no teor deste metal no sangue de crianças pequenas por períodos consideravelmente longos após uma intervenção, explicando o fato, aparentemente contraditório, de que apenas pequenos declínios são observados nas concentrações de Pb-S, apesar da redução significativa nos níveis de Pb em poeira, tinta e solos residenciais encontrados após intervenções. Gulson et al. (1999b) concluíram que, nos casos em que os níveis de exposição ambiental ao Pb e a sua ingestão na dieta são baixos, a contribuição dos ossos é a dominante para o Pb-S durante a gravidez e lactação. Silbergeld (1991) verificou que o osso é uma fonte potencial de Pb para o feto e neonato, e que sua cinética é semelhante àquela do Ca ósseo durante os períodos de gravidez e lactação. Estudando um grupo de mulheres pós-menopausa, esta autora também constatou que, durante as gestações (e possíveis lactações), houve mobilização do Pb do osso, de modo que menor quantidade do metal estava disponível para mobilização durante a desmineralização que ocorre após a menopausa (1991). Symanski e Hertz-Picciotto (1995) chegaram a idêntico resultado, sendo que o acréscimo foi ainda maior nas fumantes. Também concluíram que mulheres com menopausa recente apresentavam concentrações de chumbo no sangue (Pb-S) mais elevadas do que aquelas cuja menopausa já ocorrera há mais de 4 anos.

Em um estudo realizado com mulheres acima de 65 anos, Muldoon et al. (1994) encontraram associação positiva entre o nível de chumbo no sangue e residência urbana, hábito de fumar, consumo de álcool e tempo após menopausa, enquanto que índice de massa corporal, amamentação, terapia de reposição hormonal em curso, moderada atividade física e ingestão de cálcio estavam inversamente correlacionadas. A reposição hormonal foi prescrita para 33 das 55 mulheres com média de 3,5 anos pós-menopausa recrutadas para a pesquisa e, após 4 anos de terapia, o conteúdo de chumbo foi medido nos ossos e também foram determinadas as concentrações deste metal no soro, sangue total e urina. O teor de chumbo no osso cortical das mulheres sem tratamento foi significativamente menor quando comparado com o daquelas com reposição, enquanto que não houve diferenças para as concentrações do metal medidas no osso trabecular, sangue total, soro ou urina entre os grupos (WEBBER et al., 1995).

A macrodistribuição do chumbo no sistema ósseo não é uniforme e é claramente dependente do tipo de osso (cortical ou trabecular), idade e, em menor grau, do gênero (AUFDERHEIDE e WITTMERS, 1992). Silbergeld (1991) sugere que as interações entre o chumbo e o cálcio são os meios moleculares fundamentais para a toxicidade do chumbo em mulheres ao longo de suas vidas.

Convencionalmente, considera-se que o osso total seja formado por cerca de 20% de osso trabecular e 80% de osso cortical (O'FLAHERTY, 1998). A concentração de cálcio no tecido ósseo é de aproximadamente 22,5% no osso cortical puro, enquanto que 7,4% do teor deste mineral é encontrado no trabecular. A taxa de renovação do osso trabecular é descrita como sendo de 3 a 10 vezes aquela do osso cortical, o que se reflete na taxa de mobilização do Pb, relatada ser mais rápida no trabecular do que no osso cortical (NILSSON et al., 1991). Assim, há, pelo menos, dois reservatórios diferentes de Pb no esqueleto. O compartimento lábil (trabecular), que rapidamente troca o metal com o sangue, é responsável pela manutenção de um equilíbrio entre o osso e o tecido mole ou sangue, enquanto que no outro (cortical), o chumbo é essencialmente inerte, com um tempo de meia-vida de várias décadas. Mesmo assim, este reservatório inerte representa um risco especial, já que é uma fonte endógena potencial de chumbo (ATSDR, 1999). Como o centro dos ossos longos possui estrutura cortical, o depósito neste tipo de osso mostra gradientes de concentração relacionados com o tempo de fixação do chumbo e com o nível de exposição (O'FLAHERTY, 1998). O osso trabecular parecer ser uma importante fonte do chumbo reabsorvido quando há redução da exposição, como no caso da remoção do ambiente de trabalho por motivos médicos ou aposentadoria. O metal pode ser inesperadamente mobilizado com aparição de sintomas tóxicos, mesmo após cessada a exposição (IPCS, 1995).

Hernandez-Avila et al. (1996), utilizando a patela como representativa do osso trabecular, mostraram a contribuição significativa deste tipo de osso para o chumbo do sangue durante a lactação. Este estudo também evidencia que o consumo de elevados teores de cálcio reduz o acúmulo de chumbo neste tipo de osso, o que não foi observado para a tíbia (representativa do osso cortical). Estudos realizados com trabalhadores em atividade mostraram que a concentração de chumbo na tíbia (representativo do osso cortical) aumentou consistentemente como função da intensidade e duração da exposição, já a concentração do chumbo no calcâneo (representativo do osso trabecular) foi fortemente dependente apenas da intensidade. O fato indicou que o tempo de meia-vida do chumbo no calcâneo foi menor do que o período de exposição (sete a oito anos). Enquanto que os resultados encontrados para trabalhadores aposentados demonstraram claramente que a exposição endógena ao chumbo, proveniente da mobilização do conteúdo ósseo acumulado durante toda a vida laboral, pode facilmente se constituir na contribuição predominante para concentrações sistemáticas de chumbo após cessada a exposição ocupacional (ERKKILA et al., 1992).

2.3.3 *Eliminação do chumbo do corpo humano*

O chumbo é excretado por várias rotas, porém só a excreção renal e a gastrointestinal são de importância prática. A quantidade excretada, independente da rota, é afetada pela idade, características da exposição e dependente da espécie. A comparação dos dados sobre a cinética do chumbo em adultos e crianças mostra que, aparentemente, estas últimas parecem ter uma taxa total de excreção menor. Crianças até dois anos de idade retêm 34% da quantidade total de chumbo absorvido, enquanto que esta retenção é de apenas 1% nos adultos. Em estudo sobre a relação entre o nível de exposição e a taxa de excreção do chumbo foi encontrado que a eliminação renal, para valores de chumbo no sangue entre 25 e 80 $\mu\text{g.dL}^{-1}$, aumenta numa taxa semelhante àquela de aumento do chumbo no plasma (IPCS, 1995).

A excreção gastrointestinal acontece por secreção de várias glândulas, entre elas a pancreática, e por excreção biliar, possivelmente na forma de um complexo chumbo-glutationa. Uma fração desconhecida, porém provavelmente importante, de chumbo excretada desta forma, é reabsorvida. O chumbo da dieta ou, até mesmo, aquele engolido nas partículas de ar e não absorvido pelo trato gastrointestinal é eliminado nas fezes, que contêm elevado teor do metal, em torno de 90% do total excretado. A maior parte do chumbo encontrado nas fezes é constituída principalmente pelo metal não absorvido, que passa pelo trato gastrointestinal. O restante é derivado da diferença entre a excreção gastrointestinal total e a reabsorção. A distinção entre o chumbo não absorvido e o excretado após absorção tem sido um sério obstáculo para o entendimento da verdadeira excreção gastrointestinal e, por esta razão, existem opiniões conflitantes quanto à sua importância (SARYAN; ZENZ, 1994). A excreção do chumbo absorvido nas fezes é cerca de metade da urinária em baixas exposições e, provavelmente, menor nos níveis mais elevados. Entretanto, um experimento realizado com dois voluntários, que receberam ^{212}Pb por via intravenosa, mostrou a ausência de Pb nas fezes durante as primeiras 24 horas, enquanto que a urina continha 4,42% da dose administrada. No entanto, no segundo dia, esses valores foram 1,5% e 1,42%, respectivamente, indicando que a rota fecal pode contribuir tanto quanto a urinária para a excreção total (SARYAN; ZENZ, 1994).

Os mecanismos exatos de excreção do chumbo para a urina não foram determinados devido a dificuldades associadas com a medição do metal ultrafiltrável no plasma e, por consequência, em medir a sua taxa de filtração glomerular (ATSDR, 1999). A excreção renal acontece predominantemente, talvez exclusivamente, por filtração glomerular, e provavelmente é seguida por reabsorção tubular parcial. No entanto, o papel da reabsorção

tubular não está completamente elucidado. A taxa de excreção urinária do chumbo é afetada pelo fluxo urinário, com um decréscimo durante a noite. Uma vez que a concentração do chumbo na urina reflete exposição atual, a medida deste parâmetro tem sido aplicada em saúde ocupacional como teste de exposição (SKERFVING, 1993).

TSAIH et al. (1999) examinaram as relações entre os níveis de chumbo no sangue total corrigido pelo hematócrito e os teores do metal nos ossos trabecular e cortical, e urina de 24 horas de 71 homens de meia idade e idade avançada, sem conhecida exposição ocupacional ao chumbo. Como o Pb na urina (Pb-U) se origina do Pb plasmático filtrado nos glomérulos, concluíram que o Pb urinário, ajustado para a taxa de filtração glomerular, serve como substituto para a determinação de chumbo no plasma (Pb-P), útil na avaliação dos danos em populações expostas ambientalmente. Conclusão idêntica a que Hirata et al. (1995) chegaram, após encontrarem uma correlação significativa mais forte entre Pb-P e Pb-U do que entre Pb-S e Pb-U, em amostras de trabalhadores expostos a baixos e elevados níveis do metal. Gulson et al. (2000a) concluíram que não houve diferença nas taxas de excreção durante os trimestres da gravidez e entre os períodos de gestação e pós-parto em amostras de urinas pontuais e de 24 horas de treze mulheres. Em outro estudo, o Pb dos tecidos foi identificado isotopicamente na urina e os autores concluíram que a maior excreção em relação à ingestão, considerando desprezíveis as entradas de chumbo provenientes do ar, solo e poeira, refletia a mobilização deste metal dos tecidos dos recém-nascidos, associada com a rápida renovação dos ossos neste estágio da vida (GULSON, 2001b).

Nas suas investigações, Tell et al. (1992) encontraram uma correlação muito próxima entre o nível de chumbo no sangue de trabalhadores expostos ocupacionalmente e sua excreção urinária, 24 horas após injeção intravenosa com ácido etilenodiamino tetracético (EDTA). Concluíram, então, que o metal disponível para quelação reflete principalmente o seu depósito no sangue e tecidos moles, que é só parcialmente dependente do teor de chumbo dos ossos, onde é encontrada a maior parte do conteúdo corpóreo total. Resultados semelhantes encontraram Gerhardsson et al. (1999), usando ácido 2,3 meso-dimercaptosuccínico (DMSA) como agente quelante, em que o chumbo quelado excretado na amostra de urina de 24 horas se correlacionou bem com a excreção na porção de 6 horas. A amostra de urina de 6 horas mostrou uma relação não linear com chumbo no sangue e relações lineares com Pb-plasma e chumbo na urina da manhã. Assim, puderam inferir que o metal quelado com DMSA reflete principalmente a sua concentração no sangue, tecidos moles e, possivelmente, também osso trabecular, não sendo, por isso, um bom indicador do conteúdo corpóreo total e de exposição crônica. Para tais estimativas, o teor de chumbo no

osso cortical é mais correto, já que contém a maior fração de Pb acumulada no organismo ao longo do tempo. Além disso, o teste de mobilização não deu melhor informação do que as medidas dos níveis de Pb no sangue, plasma, ou urina sem quelação. Hu et al. (1991) usaram a fluorescência de raios-x para medir a concentração de Pb na tíbia e patela de sujeitos expostos ocupacionalmente. Os dados encontrados sugerem que os teores de Pb nos ossos correspondem linearmente ao Pb urinário após teste de mobilização com EDTA, e que uma terapêutica de quelação entre 3 e 5 dias não é suficiente para diminuir os níveis do metal nos ossos.

Além de o chumbo absorvido ser excretado principalmente pela urina (75-80%) e cerca de 15% pelas fezes, através da biliar e secreção do trato gastrointestinal, existem outras possíveis rotas de eliminação, tais como o suor, a descamação cutânea, o cabelo e as unhas (< 8%) (TSALEV; ZAPRIANOV, 1985). Uma via especial de excreção do chumbo endógeno é através do leite materno. Embora este tipo de eliminação tenha pouca importância do ponto de vista de liberação do organismo, pode representar um risco para o lactente, já que existe uma correlação entre a concentração do chumbo no sangue e o leite. A maioria dos estudos relata que os níveis de chumbo no leite materno variam entre 10% e 30% daqueles do sangue materno, sendo geralmente na ordem de $0,21 \mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$, e possivelmente mais elevados no colostro do que no leite maduro (SKERFVING, 1993). Os teores de chumbo no leite materno são similares àqueles no plasma, e as crianças estarão sob risco se a mãe estiver exposta a elevadas concentrações do metal, qualquer que seja a fonte, endógena ou exógena, concluíram Gulson et al. (1998a). Baixos níveis de chumbo têm sido encontrados no sêmen de homens sem exposição específica. Parece que uma porção significativa se origina da próstata ou da vesícula seminal. Além disso, trabalhadores expostos ao chumbo têm concentrações aumentadas do metal no fluido seminal, que são, aproximadamente, um décimo daquelas no sangue (SKERFVING, 1993).

O organismo acumula chumbo durante toda a vida e o libera de forma extremamente lenta, devido à sua grande afinidade pelo sistema ósseo. Conseqüentemente, após uma única exposição, o nível de chumbo no sangue de uma pessoa pode retornar ao normal e, no entanto, o conteúdo corpóreo total pode ainda ser elevado. Mesmo doses pequenas, por um tempo determinado, podem causar intoxicação. Assim, grandes exposições agudas não precisam ocorrer para que uma intoxicação por chumbo se desenvolva. O conteúdo total de chumbo no corpo é que está relacionado com o risco de efeitos adversos (ATSDR, 1992).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram identificados pontos de coletas significativos para o desenvolvimento do trabalho onde foram empregados os seguintes critérios: a proximidade das fazendas com as ocorrências de urânio e tório e a quantidade de leite produzido. As fazendas escolhidas no presente estudo são as maiores produtoras de leite da região estudada. As amostras foram coletadas nos municípios de Pedra e Venturosa que estão situados na microrregião vale do Ipanema do agreste pernambucano e nas fazendas do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) de Arcoverde e São Bento do Una as quais são consideradas como controle. O quadro 1 apresenta a localização dos municípios e as respectivas coordenadas geográficas.

Município	Mesorregião	Microrregião	Latitude (S)	Longitude (WGr)	Altitude (m)
São Bento do Una	Agreste	Vale do Ipojuca	08°31'22"	36°26'40"	614
Pedra	Agreste	Vale do Ipanema	08°29'49"	36°56'27"	593
Venturosa	Agreste	Vale do Ipanema	08°34'29"	36°52'27"	530
Arcoverde	Sertão	Sertão do Moxotó	08°25'08"	37°03'14"	663

Quadro 1 - Localização da Região analisada.

3.1 Área delimitada para estudo

Na Figura 4 consta o mapa da área delimitada para estudo, onde se encontram demarcados os locais de amostragem nos municípios de Pedra e Venturosa (fazendas F-1 a F-9) e as fazendas controle (F-10 e F-11).

A área estudada onde estão localizadas as fazendas fornecedoras das amostras de leite e que também forneceram sua produção para os laticínios está localizada, a no mínimo, 8 km da rodovia principal e não é cortada por estradas, nem próxima a centros urbanos e indústrias que possam contribuir com a concentração de Pb, ou seja, todo chumbo existente no ambiente é de origem natural.

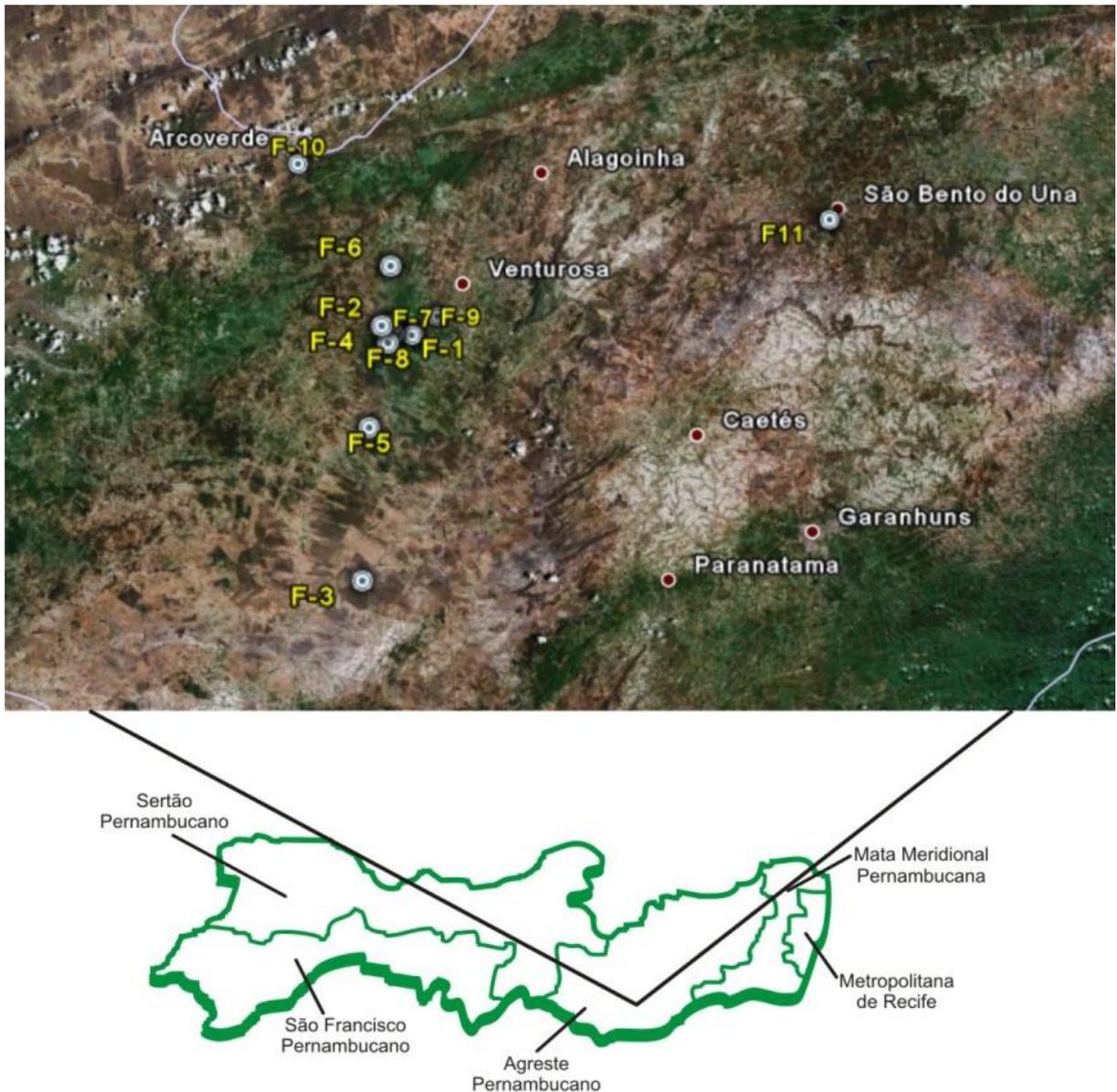


Figura 4 - Mapa da “Bacia Leiteira” de Pernambuco - Indicativos da área estudada.

As fazendas F-1 a F-9 estão localizadas na região de 20 km² que foi demarcada durante a fotointerpretação realizada pela antiga NUCLEBRAS e que possui as principais mineralizações de urânio e tório do município de Venturosa (MENDONÇA, 1987). As fazendas F-10 e F-11 serão os locais de controle. A fazenda F-10 é a Estação Experimental do IPA de Arcoverde e a F-11 Estação Experimental do IPA de São Bento do Una.

Na Figura 5 é visualizada com mais detalhes a localização das fazendas F-7 e F-9,

onde estão respectivamente, as anomalias primária e secundária de urânio e tório.



Figura 5 - Mapa com detalhes da localização das anomalias primária e secundária de urânio e tório.

A fazenda F-7 foi o local onde a antiga NUCLEBRAS realizou os primeiros estudos para identificar teores de urânio economicamente viáveis. Análises realizadas nas amostras de rochas calcio-silicáticas anfibolíticas dessa fazenda determinaram valores máximos de U_3O_8 de 22.000 ppm e 100 ppm de ThO_2 (COSTA et al., 1976 e 1977). Durante os procedimentos de coletas, verificou-se que a fazenda F-7 foi um dos locais escolhidos pela NUCLEBRÁS para escavações dentro dos procedimentos realizados para levantamento do volume da jazida. Entretanto, também foram observados diversos fragmentos de rochas calciosilicáticas anfibolíticas de tamanhos variados, espalhados no local onde as vacas pastavam. Analisando-se cuidadosamente tais fragmentos, observou-se que eles faziam parte da principal rocha anômala, que provavelmente, tenham se desprendidos durante as perfurações ou ter caído durante o carregamento. Esse tipo de rocha normalmente não apresenta urânio associado. No entanto, o teor médio de urânio determinado foi de 10.000 ppm, valor muito superior aos encontrados em outras localidades que variam de 47 a 300 ppm. (SANTOS JÚNIOR et. al., 2005).

3.2 Amostragem e preparação das amostras

As amostras usadas neste estudo foram cedidas pelo Grupo de Radioecologia do Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da UFPE, as quais já haviam sido usadas em uma tese de doutorado do referido grupo envolvendo isótopos do rádio (SILVA, 2006). Na ocasião, foi realizado um levantamento para identificar pontos de coletas significativos para o desenvolvimento do trabalho, tendo em vista os seguintes critérios: proximidade das fazendas com as ocorrências de urânio e a quantidade de leite produzido. Doze amostras de leite foram coletadas nas fazendas produtoras localizadas nos municípios de Pedra e Venturosa (F-1 a F-9) e duas nas estações experimentais (F-10 e F-11). Para complementação, dez amostras de queijo de coalho e quatro de soro foram coletadas de laticínios existentes na área estudada. Os laticínios com os códigos L-1 a L-3 encontram-se localizados nos municípios de Pedra e Venturosa. Estes laticínios recebem toda a produção de leite dos pequenos produtores da área estudada. Os laticínios L-4 e L-5, localizados, respectivamente, nos municípios de Arcoverde e São Bento do Una, foram tomados como pontos de controle. O Quadro 2 apresenta as coordenadas geográficas dos pontos de coleta e o(s) ano(s) da amostragem.

Foram coletados, em cada fazenda, 5 L de leite diretamente do tanque de armazenagem ou de tambores para 50 litros, onde se encontrava estocado o leite da produção diária. De cada laticínio foram coletados 20 L de soro, diretamente dos tanques de armazenamento. As amostras de leite e soro foram coletadas em recipientes de polietileno, nos quais foram adicionados imediatamente, 5 mL de ácido acético e 10 mL de formaldeído a 37% (IRD,1983). As amostras de leite e soro foram colocadas para evaporar a 80 °C, obtendo-se a matéria seca. Foram coletados 3 kg de queijo de coalho e colocados para secar a 80 °C, até ser obtido o peso constante. Em cada amostra de leite, soro e queijo de coalho, a matéria seca obtida foi levada ao forno, aumentando-se a temperatura gradativamente até atingir 300 °C, e então, elevou-se para 450° C, deixando-se por 48 horas a essa temperatura, até a obtenção das cinzas. Após o procedimento de calcinação, retiraram-se dez gramas de cinzas de cada amostra para digestão ácida.

Local	Latitude (S)	Longitude (WGr)	Ano
F-1	8°49'16''	37°00'24''	2002 e 2003
F-2	8°48'30''	37°00'51''	2003 e 2004
F-3	8°55'9''	37°00'59''	2003
F-4	8°49'9''	37°00'42''	2004
F-5	8°44'16''	37°00'41''	2003
F-6	8°2'14''	37°00'32''	2003 e 2004
F-7	8°39'10''	37°00'19''	2004
F-8	8°39'20''	37°00'18''	2004
F-9	8°53'39''	37°00'44''	2004
F-10	8°26'12''	37°03'30''	2004
F-11	8°33'63''	36°25'79''	2004
L - 1	8°47'18''	37°00'54''	2004
L - 2	8°48'25''	37°00'38''	2004
L - 3	8°52'19''	37°00'54''	2004

Quadro 2 - Coordenadas Geográficas nos pontos de coletas.

3.3 Procedimento de digestão

Os procedimentos de digestão da amostra foram baseados no método desenvolvido por Akagi et al. (1995). De cada amostra foram retiradas 200 mg de cinzas e transferida para tubos digestores. Em seguida foi adicionada 1 mL de HNO₃ 65%, 1 mL de HClO₄ 70%, 1 mL de H₂SO₄ 96%, todos esses reagentes foram solução Supra pur[®] MERCK e 1mL de água de elevada pureza, com resistividade de 18,2 MΩ cm, obtida pelo sistema Milli-Q[®] (Millipore). A solução formada foi aquecida a uma temperatura de 90 °C durante 30 minutos num bloco digestor. Após o resfriamento, a amostra digerida foi diluída com água Milli-Q[®], obtendo-se um volume de 50 mL. Esta solução foi utilizada para determinar o chumbo.

3.4 Determinação do chumbo

O chumbo foi determinado por espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica, no Laboratório de Monitoração Ambiental do Centro Regional de Ciências Nucleares (CRCN).

Foi usado um espectrômetro⁶ de Absorção Atômica, marca Varian, modelo SpectrAA220/FS, com correção do Background por Lâmpada de Deutério. Forno de grafite e amostrador automático GTA 110.

Foi utilizada uma lâmpada cátodo oco com linha de ressonância 283,3 nm, abertura da janela 0,5 nm. Argônio ultra puro foi utilizado como gás de fluxo interno.

A programação do forno de grafite empregada foi a recomendada pelo fabricante conforme quadro 4.

Etapa	Temperatura/(°C)	Tempo/ s	Fluxo do gás/(L.min ⁻¹)
Secagem	85	5,0	3,0
Secagem	95	40,0	3,0
Secagem	120	10,0	3,0
Calcinação	400	5,0	3,0
Calcinação	400	1,0	3,0
Calcinação	400	2,0	0,0
Atomização	2100	2,0	0,0
Limpeza	2100	2,0	3,0

Quadro 3 - Programação de aquecimento do forno de grafite.

3.4.1 Estabelecimento da Curva Analítica

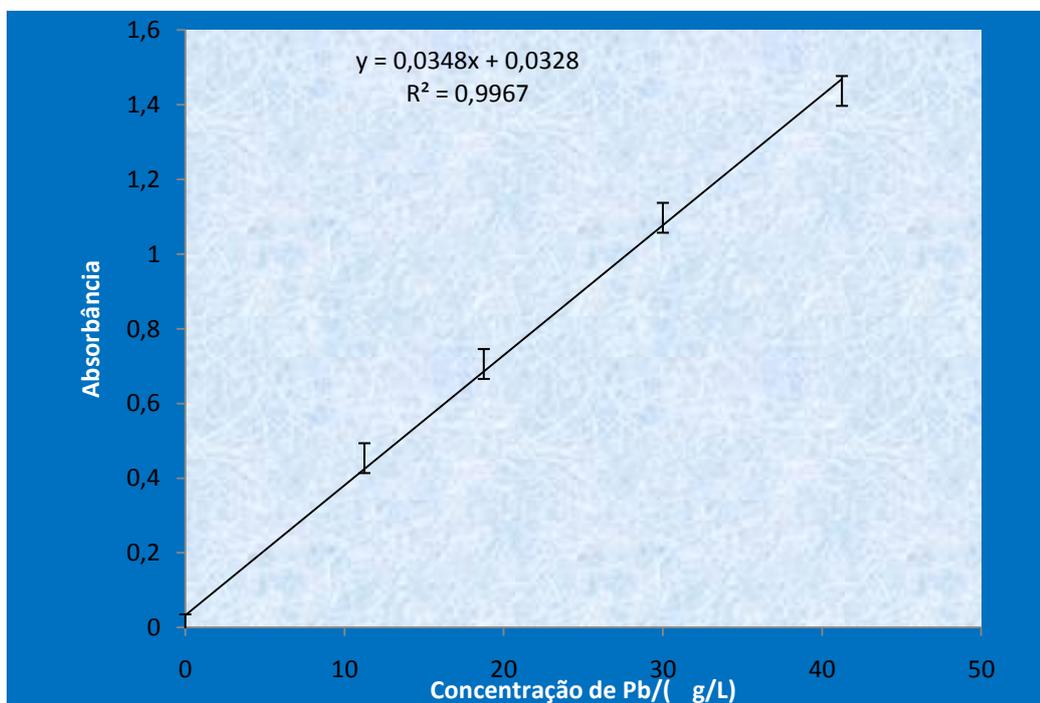
Antes de determinar a concentração de chumbo nas amostras estudadas, foi necessário estabelecer a curva analítica. Para tanto, foram utilizados quatro (4) soluções padrões de concentrações diferentes e o branco pelo método do padrão externo. Para tanto, a partir da solução padrão Multielementar para Absorção Atômica, CertiPUR®, MERCK a 1000 mg/L (solução estoque), foi preparada uma solução matriz a 75 g/L. Volumes apropriados da solução matriz e solução de HNO₃ a 1% em água Milli-Q®, foram combinados pelo amostrador e injetados (20 L) no forno de grafite com as concentrações de Pb especificadas na Tabela 2.

⁶Anexo F - Instrumentação.

Tabela 2- Concentrações das soluções padrões e as respectivas absorvância

	Concentração Pb/ (g L ⁻¹)	Absorvância
Branco	0,00	-0,0048
Padrão 1	11,25	0,4535
Padrão 2	18,75	0,7057
Padrão 3	30,00	1,0973
Padrão 4	41,25	1,4370

O branco consiste numa solução que contem todos os reagentes e solventes usados na análise, exceto o analito que no caso é o chumbo, sendo, portanto, submetido aos mesmos procedimentos que tiveram as amostras. As soluções padrões e o branco foram injetados por um amostrador automático acoplado ao espectrômetro e lidos as absorvâncias, obtendo a curva analítica conforme a figura 6 onde se observa excelente correlação (0,9967) entre a absorvância (abs) e as concentrações dos padrões (C_{Pb}).



Fígura 6 - Curva Analítica para dosagem de Pb.

3.4.2 Exatidão do Método Analítico.

A exatidão e confiabilidade do método foi estabelecida, a partir de soluções obtidas de um material certificado de leite em pó da “Food Analysis Performance Assessment Scheme”-

FAPAS, referência T0752 cujo teor de Pb atribuído pelo fornecedor é 102 g.kg^{-1} .

Ao material certificado foram empregados os mesmos tratamentos das amostras coletadas e alíquotas em triplicadas foram quantificadas.

A partir da curva analítica e estabelecida a validação do método, as concentrações de chumbo nas amostras estudadas foram analisadas e calculadas automaticamente por interpolação inversa da curva analítica.

No cálculo dos limites de detecção e de quantificação foram utilizadas as definições da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC⁷) e do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2010). Limite de detecção, expresso como a concentração, ou a quantidade, é derivado da menor medida que pode ser detectada com razoável certeza para um determinado procedimento analítico. O valor de \bar{x} é dado pela equação $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$, onde \bar{x} é a média das medidas dos brancos da amostra, s é o desvio padrão das medidas dos brancos, e k é um fator numérico escolhido de acordo com o nível de confiança desejado. Limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Para aplicar as recomendações do INMETRO⁸ na determinação do limite de detecção e quantificação, soluções de brancos da amostra foram preparadas e as intensidade foram medidas, obtendo-se o valor médio \bar{x} e o desvio padrão. O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados baseados em 3 vezes e 10 vezes o desvio padrão, respectivamente, conforme equações $LD = \bar{x} + 3s$ e $LQ = \bar{x} + 10s$ e ilustrado na Figura 7.

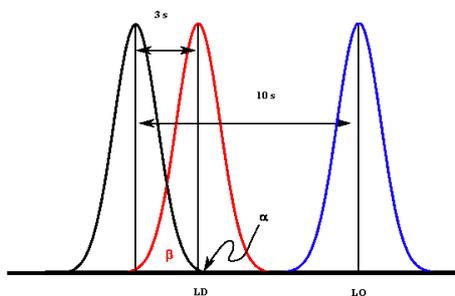


Figura 7 - Limite de detecção e quantificação.

⁷Disponível em <<http://old.iupac.org/goldbook/L03540>>, acesso em 28/12/2010.

⁸Anexo G – INMETRO: DOQ-CGRE-008-Revisão 03 – Fev.2010.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

4.1 Validação do método de análise

Tendo em vista a metodologia usada neste trabalho o limite de detecção e o limite de quantificação determinados foram, respectivamente, $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,1 \mu\text{g L}^{-1}$ tendo em vista que $0,26 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,18 \mu\text{g.L}^{-1}$. Para o estudo da exatidão do método foi usado um material de referência certificado de leite em pó “Food Analysis Performance Assessment Scheme”-FAPAS. O teor de chumbo determinado foi $93,6 \text{ g.kg}^{-1}$, ou seja, uma recuperação do chumbo de 91,76% com desvio-padrão relativo de 2,5%, em relação ao valor certificado que é de 102 g.kg^{-1} .

4.2 Concentração de chumbo nas amostras de leite fresco

As amostras de leite foram analisadas em triplicata e as médias das concentrações das amostras de cada fazenda encontram-se apresentadas na Tabela 3, onde pode ser observado que sete amostras de leite apresentaram concentrações de chumbo maior do que o limite estabelecido pela legislação brasileira, que é de $50 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ ($0,05 \text{ mg.Kg}^{-1}$) (BRASIL, 1990).

Tabela 3 - Concentrações de Pb nas amostras de leite das fazendas F-1 a F-11.

Código da Fazenda	Ano de Coleta	Concentração de Pb
		($\mu\text{g.L}^{-1}$) ($\pm s$)*
F-1	2002	7 ± 1
F-1	2003	< LQ**
F-2	2003	61 ± 1
F-2	2004	< LQ
F-3	2003	64 ± 3
F-4	2004	< LQ
F-5	2003	92 ± 1
F-6	2004	64 ± 2
F-6	2003	8 ± 1
F-7	2004	130 ± 15
F-8	2004	110 ± 8
F-9	2004	54 ± 3
F-10	2004	7 ± 1
F-11	2004	10 ± 1

*Desvio padrão (95% de confiança); **Limite de quantificação.

Na fazenda F-7 encontra-se localizada a principal anomalia radioativa de ^{238}U e ^{232}Th (SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2006). Segundo estes autores, as anomalias de ^{238}U e

^{232}Th encontradas nos solos da fazenda F-8 foram provenientes dos afloramentos da rocha anômala existente na fazenda F-7. Observou-se que na área aonde foi realizado o presente estudo, não foram encontradas quaisquer alterações antropogênicas que justificasse a presença de chumbo no meio ambiente, verifica-se que a rodovia mais próxima fica a uma distância mínima de 8 km bem como da cidade de venturosa e a indústria mais próxima a uma distância de cerca de 30 km.

Verificou-se que o procedimento de coleta e armazenagem do leite realizadas nas fazendas F-1 a F-9 estavam de acordo com a legislação do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1980), que define: todo vasilhame empregado no acondicionamento de leite, na ordenha, na coleta ou para mantê-lo em depósito deve ser de aço inoxidável, alumínio ou ferro estanhado, de perfeito acabamento e sem falhas. Tudo isto sugere que a presença de chumbo no leite de vaca das fazendas F-1 a F-9 foi proveniente de ocorrência natural deste elemento. Sendo assim, os isótopos radioativos ^{238}U , ^{235}U e ^{232}Th que ocorrem naturalmente na região podem ser as principais fontes produtoras de chumbo estável nos solos das fazendas estudadas. Verificou-se que, durante os procedimentos de coletas, a palma forrageira (*Opuntia spp.*) era o vegetal mais consumido pelas vacas leiteiras. Segundo os estudos realizados por Beresford & Howard (1999), Strojjan & Phillips (2002), o consumo acidental de solo aderido às plantas utilizadas como forragens, é a principal via de contaminação interna de chumbo em vacas leiteiras. Para Parkpian et al.(2003), a ingestão de solo é a principal responsável pela presença de chumbo no leite de vaca.

Foram realizadas duas coletas em anos diferentes para cada uma das fazendas F-1, F-2 e F-6. Em cada uma delas, quando comparados entre si, apresentaram valores divergentes. Estes valores diferentes refletem o fato da amostragem ter sido em anos diferentes época do ano (inverno ou verão), tipos de alimentos e também locais de pastagem.

Os valores das concentrações de chumbo das fazendas que excederam os limites estabelecidos pela legislação brasileira (1990), como mostra a Tabela 3, encontram-se no intervalo de 10 a 350 $\mu\text{g.L}^{-1}$, determinado por Marengo e Aceto (2003) em amostras de leite fresco da província de Cuneo, na Itália. Estudos realizados por Patra et al. (2008) em amostras de leite de vaca de fazendas localizadas nas proximidades de diferentes unidades industrializadas, determinaram concentrações médias elevadas de chumbo variando de 250 a 850 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (0,25 a 0,85 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Verifica-se que estes valores encontram-se na mesma ordem de grandeza daqueles da fazenda F-7 e F-8, como mostra a Tabela 3. Em outro trabalho, Tajkarimi et al.(2008) determinaram concentrações médias de chumbo em leite fresco em regiões do Iran, que variam de 1,5 a 23,4 ng.L^{-1} . Observa-se que estes valores são pelo menos,

três ordens de grandeza menores daqueles apresentados na Tabela 3 deste trabalho. Na comunidade de Navarra, no norte da Espanha, Sola-Larrañaga e Navarro-Blasco (2009) determinaram concentração de chumbo em leite fresco, variando de 0,55 a 18,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$. O valor máximo é uma ordem de grandeza menor do que os valores encontrados nas fazendas F-7 e F-8, como mostra a Tabela 3. Em trabalho realizado no Brasil, mais precisamente no Vale do Paraíba em São Paulo, Okada et al. (1997) encontraram concentração de chumbo semelhantes as desse estudo as quais variaram de 10 a 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (0,01 a 0,2 mg.L^{-1}) em amostras de leite de uma área com contaminação ambiental antropogênica.

4.3 Concentração de chumbo nas amostras de soro de leite

O soro é um subproduto remanescente dos processos de fabricação de queijos e se constitui uma rica fonte de produtos alimentícios possuindo diversas aplicações. Emprega-se nas indústrias alimentícias, em bebidas lácteas, produtos de panificação, etc. É também empregado nas dietas de animais da própria criação (bezerras, novilhas e vacas leiteiras), e especialmente nas dietas de suínos. Como subproduto da indústria de laticínios, o material era normalmente descartado sendo um grande agente poluidor dos mananciais brasileiros. Atualmente, além das aplicações relacionadas, várias pesquisas estão sendo desenvolvidas no sentido de uma utilização mais nobre ao soro bovino, aproveitando a ação da proteína do soro levando em conta o seu fator imunológico.

As amostras de soro de leite foram analisadas em triplicata e as médias das concentrações para cada laticínio que foram alvo deste estudo, inclusive do laticínio que serviu de controle, encontram-se apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Concentrações de Pb nas amostras de soro de leite dos Laticínios L-1 a L-4.

Código dos Laticínios	Ano de Coleta	Concentração de Pb
		($\mu\text{g.L}^{-1}$) ($\pm s$)*
L-1	2004	16 \pm 4
L-2	2004	11 \pm 1
L-3	2004	6 \pm 2
L-4	2004	7 \pm 1

*Desvio padrão (95% de confiança)

Na região agreste do semi-árido do estado de Pernambuco, o soro de leite é intensamente utilizado na fabricação de bebidas lácteas, principalmente, iogurte. Na região

estudada existem apenas três laticínios, que foram designados nas Tabelas 4 e 5, como L-1, L-2 e L-3. O laticínio L-4 foi tomado como local de controle e encontra-se localizado no município de São Bento do Una. Como pode ser observada na Tabela 4, a concentração de chumbo nas amostras de soro de leite foram menores do que o limite estabelecido pela legislação brasileira para o leite que é de $50 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. Dados sobre níveis de chumbo em amostras de soro de leite são bastante raros na literatura científica. Entretanto, estudos realizados por Jeng et al. (1994) em seis cidades de Taiwan determinaram concentração de chumbo em soro de leite fresco, que variaram de 0,98 a $4,45 \mu\text{g.L}^{-1}$, estes valores são menores do que aqueles apresentados na Tabela 4.

4.4 Concentração de chumbo nas amostras de queijo de coalho

As amostras de queijo de coalho foram analisadas em triplicata e as médias das concentrações encontram-se apresentadas na Tabela 5. Deve-se salientar que os valores encontrados correspondem a média das amostras coletadas para cada laticínio e que não se teve controle sobre as propriedades que forneceram o leite que deu origem ao queijo, entretanto sabe-se que as diferentes amostras de queijo coletadas em cada laticínio, foram produzidas com leite de diferentes fornecedores respectivamente, fato que se reflete no resultado apresentado. Portanto, as concentrações encontradas refletem o nível médio de chumbo de todos os fornecedores daquela indústria.

Tabela 5 - Concentrações de Pb nas amostras de queijo de coalho dos Laticínios L-1 a L-4.

Código dos Laticínios	Ano de Coleta	Concentração de Pb
		($\mu\text{g.kg}^{-1}$ na matéria úmida) ($\pm s$)*
L-1	2004	1.100 ± 1
L-1	2004	393 ± 1
L-1	2004	745 ± 1
L-2	2004	227 ± 3
L-2	2004	< LQ**
L-3	2004	640 ± 3
L-3	2004	206 ± 1
L-3	2004	127 ± 14
L-4	2004	166 ± 1

*Desvio padrão (95% de confiança); **Limite de quantificação.

Como mostra a Tabela 5, apenas uma amostra de queijo de coalho do laticínio L-1 apresentou concentração de chumbo maior do que $1000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ($1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$), que é o valor

limite estabelecido pelo Ministério da Saúde para queijo e também para outros alimentos como, carnes, aves e frutas cristalizadas (BRASIL, 1990)⁹.

Os baixos níveis de chumbo no soro são explicados pelo baixo teor de proteína (0.9%) no mesmo. Como a principal proteína do leite é a caseína (78%), e desta 65% é α -caseína (α -CN), o chumbo por formar um complexo α -CN-Pb, será encontrado em maior concentração no queijo onde existe maior teor de proteína, porque no processo de obtenção do queijo, ocorre a precipitação da caseína e, por conseguinte, os complexos chumbo-caseína. Foi encontrado que o Pb(II) liga-se a α -CN através de dois sítios com constante de associação de $2,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, estabelecendo assim uma estequiometria 1:1. (SRINIVAS; KAUL; PRAKASH, 2007).

Na literatura não foram encontrados trabalhos que avaliaram a presença de chumbo em queijo de coalho. Entretanto, pesquisas realizadas por Mendil (2006), na Turquia, determinaram concentrações de chumbo em diversos tipos de queijo, cujos valores variaram que 140 a $1.100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Estes valores encontram-se no mesmo intervalo de concentração daqueles apresentados na Tabela 5.

Nas propriedades onde há anomalias de urânio e tório, implicando em níveis altos de chumbo no leite, há necessidade de monitoramento dos alimentos e água ingeridos pelos animais e da qualidade do leite produzidos, e implementar medidas corretivas para evitar a contaminação do rebanho, dessas duas propriedades, ou seja, isolar as pequenas áreas onde há anomalias, não permitindo o acesso aos animais e nem o cultivo de alimentos para o gado, principalmente a mais utilizada na região, que é a palma forrageira.

Levando em consideração que a produção total de leite dos dois municípios equivalente a apenas 9% daquela de todo estado, e mesmo incluindo as fazendas com as principais ocorrências, não trará impacto sobre a média total do estado, conseqüentemente o consumo de queijo não trará nenhum dano para a saúde da população em relação aos níveis de chumbo estável.

⁹Anexo B – Portaria 16, de 13 de março de 1990

5 CONCLUSÕES

Em cerca de 56% das fazendas estudadas as concentrações de chumbo no leite foram maiores do que o limite estabelecido pelo Ministério da Saúde, sendo maior do que duas vezes em fazendas com anomalias de urânio e tório, entretanto a concentração de chumbo no leite variou de valores inferiores ao limite de quantificação ($2,1 \mu\text{g.L}^{-1}$) a $130 \mu\text{g.L}^{-1}$, enquanto o valor da mediana situa-se em torno do limite de tolerância e portanto o efeito da diluição evitará impacto em relação ao nível de chumbo.

As concentrações de chumbo nas amostras analisadas são provenientes da ocorrência natural do processo de desintegração das séries radioativas.

As concentrações média de chumbo no soro lácteo, e no queijo em cada laticínio, estão abaixo do limite de tolerância estabelecido pela legislação brasileira. Neste contexto o consumo de leite e derivados procedentes da região estudada não trará impacto a saúde coletiva em relação aos níveis de chumbo estável.

Apenas nas propriedades (F7 e F8) que sofrem forte influência das anomalias radioativas e conseqüentemente do chumbo, como medida corretiva, deve-se isolar as áreas das anomalias, que significa uma pequena parte de cada propriedade, não trazendo prejuízo de perda de espaço significativo para o criador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AKAGI, H.; MALM, O.; KINJOA, Y.; HARADA, M.; BRANCHESB, F. J. P.; PFEIFFERB, W. C.; KATE, H. Methylmercury pollution in the Amazon, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 175, p. 85-95, 1995.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1999. **Toxicological profile for lead**. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 1992. **Case studies in environmental medicine – lead toxicity**. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta.

AUFDERHEIDE, A. C.; WITTMERS, L. E. Jr. Selected aspects of the spatial distribution of lead in bone. **Neurotoxicology**, v. 13(4), p. 809-819, 1992.

AY, U.; KARAYÜNLÜ, S. Modification in direct analysis method: metal levels in raw milk at the region of Izmit by graphite furnace atomic absorption spectrophotometer. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43 (2), p. 326-329, 2008.

BAARS, A. J. Lead intoxication in cattle: a case report. **Food Additives and Contaminants**, v. 9, p. 357-364, 1992.

BAGHURST, P. A. et al. Determinants of blood lead concentrations of pregnant women living in Port Pirie and surrounding areas. **Medical Journal of Australia**, v. 146(2), p. 69-73, 1987.

BAIR, C. **Environmental Chemistry**. 2.ed. New York: Bookman, 2002.

BELTRANE, M. A.; MACHINSKI JUNIOR, M. Principais Riscos Químicos no Leite: um problema de Saúde Pública. **Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar**, v. 9 (2), p.141-145. 2005.

^aBERGDAHL, I. A. et al. Lead binding to delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in human erythrocytes. **Pharmacology & Toxicology**, v. 81(4), p.153-158, 1997.

^bBERGDAHL, I. A.; SCHUTZ, A.; GERHARDSSON, L.; JENSEN, A.; SKERFVING, S. Lead concentrations in human plasma, urine and whole blood. **Scandinavian Journal of Work and Environmental Health**, v. 23(5), p. 359-363, 1997.

BERGDAHL, I. A.; SHEVELEVA, M.; SCHULTZ, A.; ARTAMONOVA, V. G.; SKERFVING, S. Plasma and blood lead in humans: capacity-limited binding to delta-aminolevulinic acid dehydratase and other lead-binding components. **Toxicological Sciences**, v. 46(2):247-253, 1998.

BOURGOIN, B. P.; EVANS, D. R.; CORNETT, J. R.; LINGARD, S. M.; QUATTRONE, A. J. Lead content in 70 brands of dietary calcium supplements. **American Journal of Public Health**, v. 83(8), p. 1155-1160, 1993.

BRASIL. Leis, etc. Regulamento da inspeção individual e sanitária de produtos de origem animal: aprovado pelo decreto nº 30.391 de 29 de março de 1952 alterado pelo decreto nº 1255, de 25 de julho de 1962. Brasília, **Ministério da Agricultura**, 1980.

BRASIL. Leis, etc. Portaria nº 16 de 13 de março de 1990: fixa limites máximos de tolerância de chumbo em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 15. mar. 1990. Seção I, p. 5436.

BERESFORD, N.A.; HOWARD, B.J. The importance of soil adhered to vegetation as a source of radionuclides ingested by grazing animals. **Science of the Total Environment**, v.107, p.237-254, 1999.

BRUHN, J. C.; FRANKE, A. A. Lead and cadmium in California raw milk. **Journal of Dairy Science**, v. 59 (10), p.1711-1717, 1976.

CAKE, K. M. et al. Partition of circulating lead between serum and red cells is different for internal and external sources of lead. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 29(5), p. 440-445, 1996.

CHENG, Y. Relation of nutrition to bone lead and blood lead levels in middle-aged to elderly men. The normative aging study. **American Journal of Epidemiology**, v. 147(12), p. 1162-1174, 1998.

COSTA, A. C.; PEDROSA, I. L.; MENDES, V. A. Projeto Agreste de Pernambuco. Convênio DNPM/CPRM. 1976.

COSTA, A. C.; PEDROSA, I. L.; MENDES, V. A. Projeto Agreste de Pernambuco. Convênio DNPM/CPRM. Relatório Final, v.1. 1977.

ERKKILA, J. et al. *In vivo* measurements of lead in bone at four anatomical sites: long term occupational and consequent endogenous exposure. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 49(9), p. 641-644, 1992.

SIQUEIRA FILHO, J. ; ANDRADE, V. A. Comentários sobre a avaliação Fotogeológica da Área do Projeto Venturosa. **NUCLEBRÁS/EFOR.PM**. 1988.

FLEMING, D. E. et al. Accumulated body burden and endogenous release of lead in employees of a lead smelter. **Environmental Health Perspectives**, v. 105(2): 224-233, 1997.

FLEMING, D. E., CHETTLE, D. R.; WEBBER, C. E.; O'FLAHERTY, E. J. 1999. The O'Flaherty model of lead kinetics: an evaluation using data from a lead smelter population. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 161(1):100-109, 1999.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 425 p.

FRIES, G. F; MARROW, G. S.; SNOW, P. A. Soil ingestion by dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 611-618, 1982.

GARRETT, R.G. **Natural sources of metals in the environment.** In: *Metals in Biology and Medicine* **6**, JA John Libbey Eurotext, Paris, p. 508–510, 2000.

GERHARDSSON, L.; BORJESSON, J.; MATTSSON, S.; SCHUTZ, A.; SKERFVING, S. 1999. Chelated lead in relation to lead in bone and ALAD genotype. **Environmental Research**, v. 80(4):389-398, 1999.

GOLDMAN, R. H.; WHITE, R.; KALES, S. N.; HU, H. 1994. Lead poisoning from mobilization of bone stores during thyrotoxicosis. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 25(3), p. 417-424, 1994.

GOYER, R. A. 1991. Toxic effects of metals – Lead, p. 639-646. In Mary O. Amdur, John Dull & Curtis D. Klaassen (eds.). **Casareh and Doull's toxicology – the basic science of poisons.** Editora Pergamon Press, USA.

GULSON, B. L. et al. Contribution of tissue lead to blood lead in adult female subjects based on stable lead isotope methods. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 125(6), p. 703-712, 1995.

^aGULSON, B. L. et al. Pregnancy increases mobilization of lead from maternal skeleton. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 130(1), p.51-62, 1997.

^bGULSON, B. L. et al. Dietary lead intakes for mother/child pairs and relevance to pharmacokinetic models. **Environmental Health Perspectives**, v. 105(12), p.1334-1342, 1997.

^aGULSON, B. L. et al. Relationships of lead in breast milk to lead in blood, urine and diet of infant and mother. **Environmental Health Perspectives**, v. 106(10):667-674, 1998.

^bGULSON, B. L. et al. Mobilization of lead from the skeleton during the postnatal period is larger than during pregnancy. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 131(4), p. 324-329, 1998.

^aGULSON, B. L. et al. Comparison of rates of exchange of lead in the blood of newly born infants and their mothers with lead from their current environment. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 133(2), p. 171-178, 1999.

^bGULSON, B. L. et al. Impact of diet on lead in blood and urine in female adults and relevance to mobilization of lead from bone stores. **Environmental Health Perspectives**, v. 107(4), p. 257-263, 1999.

^cGULSON, B. L. et al. Estimation of cumulative lead releases (lead flux) from the maternal skeleton during pregnancy and lactation. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, 134(6), p. 631-640, 1999.

^aGULSON, B. L.; MIZON, K. J.; KORSCH, M. J.; DONNELLY, J. B. Urinary excretion of lead during pregnancy and postpartum. **Science of Total Environment**, v. 262(1-2), p. 49-55, 2000.

^bGULSON B. L. et al. Urinary lead isotopes during pregnancy and postpartum indicate no preferential partitioning of endogenous lead into plasma. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 136(3):236-242, 2000.

^aGULSON, B. L.; MIZON, K. J.; PALMER, J. M.; KORSCH, M. J.; TAYLOR, A. J. Contribution of lead from calcium supplements to blood lead. **Environmental Health Perspectives**, v. 109(3), p. 283-288, 2001.

^bGULSON, B. L. et al. Longitudinal study of daily intake and excretion of lead in newly born infants. **Environmental Research**, v. 85(3), p. 232-245, 2001.

HAN, S. G. et al. 2000. Effects of lead exposure before pregnancy and dietary calcium during pregnancy on fetal development and lead accumulation. **Environmental Health Perspectives**, v. 108(6), p. 527-531, 2000.

HERNANDEZ-AVILA, M. et al. Dietary and environmental determinants of blood and bone lead levels in lactating postpartum women living in Mexico City. **Environmental Health Perspectives**, v. 104(10), p. 1076-1082, 1996.

HERNANDEZ-AVILA, M. et al. Determinants of blood lead Levels across the menopausal transition. **Archives of Environmental Health**, v. 55(5), p. 355-360, 2000.

HERTZ-PICCIOTTO, I. et al. Patterns and determinants of blood lead during pregnancy. **American Journal of Epidemiology**, v. 152(9), p. 829-837, 2000.

HIRATA, M.; YOSHIDA, T.; MIYAJIMA, K.; KOSAKA, H.; TABUCHI, T. Correlation between lead in plasma and other indicators of lead exposure among lead-exposed workers. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 68:58-63, 1995.

HU, H.; PEPPER, L.; GOLDMAN, R. Effect of repeated occupational exposure to lead, cessation of exposure, and chelation on levels of lead in bone. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 20(6), p. 723-735, 1991.

HU, H. Bone lead as a new biologic marker of lead dose: recent findings and implications for public health. **Environmental Health Perspectives**, v. 106(Suppl. 4), p. 961-967, 1998.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Produção pecuária municipal**, v.36, 2008, disponível em <www.ibge.gov.br>, acesso em 22/03/2010.

INMETRO, Coordenação Geral de Acreditação.**DOQ-CGCRE-08**: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, Fev. 2010. 20 p. Revisão nº 03.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Metal contaminants in milk and milk products. **Bulletin International Dairy Federation**, v.105, p. 27-32, 1978.

IPCS (International Programme on Chemical Safety) 1995. **Environmental Health Criteria 165 – Inorganic Lead**. World Health Organization, Geneva, Suíça.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Trace elements in milk and milk products. **Bulletin International Dairy Federation**, v. 278, p. 31-39, 1992.

IRD (Instituto de Radioproteção e Dosimetria). Manual de procedimentos técnicos do Departamento de Proteção Radiológica Ambiental. Rio de Janeiro, **IRD/CNEN**, 1983.

JAWOROWSKI, Z. Radioactive lead in the environment and in the human body. International Atomic Energy Agency. **Atomic Energy Review**, 7(1), p. 3-45, 1969.

JENG, S L; LEE, S. J.; LIN, S. Y. Determination of cadmium and lead in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrophotometer. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.945-949, 1994.

JOHNSON, M. A. High calcium intake blunts pregnancy-induced increases in maternal blood lead. **Nutrition Review**, v. 59(5), p. 152-156, 2001.

KIM, R.; HU, H.; ROTNITZKY, A.; BELLINGER, D.; NEEDLEMAN, H. Longitudinal relationship between dentin lead levels in childhood and bone lead levels in young adulthood. **Archives of Environmental Health**, v. 51(5), p. 375-382, 1996.

KOSTIAL, K et al.. Dietary calcium and blood lead levels in women. **Biological Trace Element Research**, v. 28(3), p. 181-185, 1991.

KRAMETTER-FROETSCHER, R.; TATARUCH, F.; HAUSER, S.; LESCHNIK, M.; URL, A.; BAUMGARTNER, W. Toxic effects seen in a herd of beef cattle following exposure to ash residues contaminated by lead and mercury. **The Veterinary Journal**, v. 174(1), p. 99-105, July, 2007.

KRISTAL-BONEH et al. Effect of dietary calcium on blood lead concentration in occupationally exposed and nonexposed workers. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 34(5), p. 512-516, 1998.

LOPEZ, A.; COLLINS, W. F.; WILLIAMS, H. L. Essential Elements, Cadmium, and Lead in Raw and Pasteurized Cow and Goat Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p.1878-1886, 1985.

McDOWELL-BOYER, L.M., WATSON, A.P., TRAVIS, C.C. A review of parameters describing terrestrial food-chain transport of ^{210}Pb and ^{226}Ra . **Nuclear Safety**, v. 2, p. 486- 495, 1980.

McDOWELL, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3 ed., University of Florida , 92 p., 1999.

MENDONÇA, J. C. G. S. Análise dos Relatórios do Projeto Venturosa com vistas à Retomada dos Trabalhos de Avaliação. **NUCLEBRÁS/EFOR.PM** (Rel. Inédito, 8 p.). 1987.

MARENGO, E.; ACETO, M. Statistical investigation of the differences in the distribution of metals in Nebbiolo-based wines. **Food Chemistry**, v.81, p.621-623, 2003.

MENDIL, D. Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. **Food Chemistry**, v.96, p.532-537, 2006.

- MÍDIO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 295 p.
- MILLER, W. J.; LAMPP, B.; POWELL, G. W.; SALOTTI, C. A.; BLACKMON, D. M. Influence of a high level of dietary cadmium on cadmium content in milk, excretion, and cow performance. **Journal of Dairy Science**, v. 50 (9), p.1404-1408, 1967.
- MORRIS, C.; MCCARON, D. A.; BENNETT, W. M. Low-level lead exposure, blood pressure, and calcium metabolism. **American Journal of Kidney Disease**, v. 15(6), p.568-574, 1990.
- MULDOON, S. B.; CAULEY, J. A.; KULLER, L. H.; SCOTT, J.; ROHAY, J. Life-style and sociodemographic factors as determinants of blood lead levels in elderly women. **American Journal of Epidemiology**, v. 139(6):599-608, 1994.
- MURTA, P.H.G.; GERMANO, M.I.S.; MIGUEL, O.; GERMANO, P.M.L. A influência da poluição ambiental sobre a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v. 7, p. 12-14, 1993.
- MURTHY, G. K.; RHEA, U. Cadmium and Silver Content of Market Milk. **Journal of Dairy Science**, v. 51 (4), p. 610-613, 1968.
- NASHASHIBI, N.; CARDAMAKIS, E.; BOLBOS, G.; TZINGOUNIS, V. Investigation of kinetic of lead during pregnancy and lactation. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v. 48(3), p. 158-162, 1999.
- NEATHERY, M. W.; MILLER, W. J.; GENTRY, R. P.; STAKE, P. E.; BLACKMON. Cadmium-109 and methyl mercury-203 metabolism, tissue distribution, and secretion into milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v. 57 (10), p. 1177-1183, 1974.
- NILSSON, U. et al. Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. **Pharmacology & Toxicology**, v. 69(6), p. 477-484, 1991.
- O'FLAHERTY, E. J. Physiologically based models for bone-seeking elements – V. Lead absorption and deposition in childhood. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 131(2):297-308, 1995.
- O'FLAHERTY, E. J. A physiologically based kinetics model for lead in children and adults. **Environmental Health Perspectives**, v. 106(Suppl.6), p. 1495-1503, 1998.
- OKADA, A. I.; ALICE M. 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(2), p. 140-143. 1997.
- OSTERODE, W.; ZETTINIG, G.; POTZI, C.; MANNER, G. Increased lead excretion in hypothyroid patients after levothyroxine medication. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 65(9), p. 649-654, 2002.
- PARKPIAN, P.; LEONG, S. T.; LAORTANAKUL, P.; THUNTHAISONG, N. Regional monitoring of lead and cadmium contamination in a tropical grazing land site, Thailand.

Environmental monitoring and assessment, v. 85(2), p. 157-173. 2003.

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 (1), p.36-43, 2008.

PIRES, B. J.; BEZERRA, F. F.; LABOISSIERE, F. P.; MIEKELEY, N.; DONANGELO, C. M. Lead levels in erythrocytes and biomarkers of bone turnover in pregnant and lactating women with marginal calcium intakes. **Nutrition Research**, v. 21(6), p. 831-841, 2001.

RABINOWITZ, M. B.; WETHERILL, G. W.; KOPPLE, J. D 1976. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 58(2), p. 260-270, 1976.

RABINOWITZ, M. B. Toxicokinetics of bone lead. **Environmental Health Perspectives**, v. 91, p. 33-37, 1991.

REEVES, P. G.; CHANEY, R. L. Bioavailability as an issue in risk assessment and management of food cadmium: A review. **Science of The Total Environment**, v. 398 (1-3), p. 13-19, 2008.

ROBERT, J. S.; SILBERGELD, E. K. Pregnancy, lactation, and menopause – how physiology and gender affect the toxicity of chemicals. **Mount Sinai Journal of Medicine**, v. 62(5), p. 343-355, 1995.

ROTHENBERG, S. J. et al. Changes in serial blood lead levels during pregnancy. **Environmental Health Perspectives** , v. 102(10), p. 876-880, 1994.

ROTHENBERG, S. J. et al. Maternal bone lead contribution to blood lead during and after pregnancy. **Environmental Research**, v. 82(1), p. 81-90, 2000.

RUBIO, M. R.; SIGRIST, M. E.; ENCINAS, T.; BARONI, E. E.; CORONEL, J. E.; BOGGIO, J. C.; BELDOMENICO, H. R. Cadmium and Lead Levels in Cow's Milk from a Milking Region in Santa Fe, Argentine. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 164-167, 1998.

RUST, S. W.; BURGOON, D. A.; NIEMUTH, N. A.; SCHULTZ, B. D. Influence of bone-lead stores on the observed effectiveness of lead hazard intervention. **Environmental Research**, v. 81(3), p. 175-184, 1999.

SANTOS Jr., J. A.; CARDOSO, J. J. R. F.; SILVA, C. M.; AMARAL, R. S. Monitoring of the distribution of thorium-232 in soil in the state of Pernambuco, Brazil. In International Conference Nuclear Atlantic Conference-INAC. August 28 to September 2, Rio de Janeiro, Brazil, 2005.

SANTOS Jr., J. A.; CARDOSO, J. J. R. F.; SILVA, C. M.; SILVEIRA, S. V.; AMARAL, R. S. Determination of radionuclides in environment using spectrometry. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 269, n^o 2, p 451-455, 2006.

SANÍN, L. H.; COSSÍO, T. G.; ROMIEU, I.; AVILA, M. H. Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. **Salud Pública de México**, v. 40(4):359-368, 1998.

SARGENT, J. D; DALTON, M. A.; O'CONNOR, G. T; OLMSTEAD, E. M.; KLEIN, R. Z. Randomized trial of calcium glycerophosphate-supplemented infant formula to prevent lead absorption. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69(6), p. 1224-1230, 1999.

SARICA, D. Y.; TÜRKER, A. R. Method validation for the determination of lead in raw cow's milk by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Annali di chimica**, v. 97(10), p. 983-993, 2007.

SARYAN, L. A.; ZENZ, C. 1994. Lead and its compounds, pp. 506-541. In C Zenz, OB Dickerson & EP Horvath (eds.). **Occupational medicine**. Editora Mosby-Year Book, Inc., EUA.

SATARUG, S.; BAKER, J. R.; URBENJAPOL, S.; HASWELL-ELKINS, M.; REILLY, P. E. B.; WILLIAMS, D. J.; MOORE, M. R. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. **Toxicology Letters**, v. 137(1-2), p.65-83, 2003

SCELFO, G. M.; FLEGAL, A. R. Lead in calcium supplements. **Environmental Health Perspectives**, v. 108(4), p. 309-319, 2000.

SEBRAE (SERVIÇO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS DE PERNAMBUCO). **Boletim Setorial do Agronegócio: Bovinocultura leiteira**. Recife, Edição SEBRAE, n.2, 2009.

SHARMA, R. P.; STREET, J. C.; SHUPE, J. L.; BOURCIER, D. R. Accumulation and depletion of cadmium and lead in tissues and milk of lactating cows fed small amounts of these metals. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 972-979. 1982.

SILBERGELD, E. K.; SCHWARTZ, J.; MAHAFFEY, K. Lead and osteoporosis: mobilization of lead from bone in postmenopausal women. **Environmental Research**, v. 47(1), p. 79-94, 1988.

SILBERGELD, E. K. Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. **Environmental Health Perspectives**, v. 91, p. 63-70, 1991.

SILBERGELD, E. K. et al. 1993. Lead in bone – storage site, exposure source, and target organ. **Neurotoxicology**, v.14(2-3), p. 225-236, 1993.

SILVA, C. M. **Ra-226 e Ra-228 na dieta de bovinos leiteiros do agreste semi-árido de Pernambuco e avaliação de risco decorrente do consumo de leite por uma população potencialmente exposta**. 2006. 152f. Tese (Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares), Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

SKERFVING, S. 1993. Inorganic Lead, pp. 125-238. In BB Lundberg (edit.). **Criteria documents from the Nordic Expert Group**. International Labour Organisation, Estocolmo.

SMITH, R. D.; OSTERLOH, J. D.; FLEGAL, A. R. Use of endogenous, stable lead isotopes to determine release of lead from skeleton. **Environmental Health Perspectives**, v. 104(1):60-66, 1996.

SMITH, D.; HERNANDEZ-AVILA, M.; TELLEZ-ROJO, M. M.; MERCADO, A.; HU, H. The relationship between lead in plasma and whole blood in women. **Environmental Health Perspectives**, v. 110(3), p. 263-268, 2002.

SOLA-LARRAÑAGA, C.; NAVARRO-BLASCO, I. Chemometric analysis of minerals and trace elements in raw cow milk from the community of Navarra, Spain. **Food Chemistry**, v.112, p.189-196, 2009.

SRINIVAS, S.; KAUL,P.; PRAKASH, V. Mechanism of Interaction of Pb(II) with Milk Proteins: A Case Study of r-Casein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9283–9288, 2007.

STANLEY, R.E.; MULLEN,A.A.; BRETTHAUER, E.W. Transfer to milk of ingested radiolead, **Health Physics Journal**, v. 21, p.211-215, 1971.

STROJAN, S. T.; PHILLIPS. C. J C. The detection and avoidance of lead-contaminated herbage by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.3045-3053, 2002.

SYMANSKI, E.; HERTZ-PICCIOTTO, I. Blood lead levels in relation to menopause, smoking, and pregnancy history. **American Journal of Epidemiology**, v. 141(11), p. 1047-1058, 1995.

SWARUP, D.; PATRA, R. C.; NARESH, R.; KUMAR, P.; SHEKHAR, P. Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; transfer of lead into milk. **Science of The Total Environment**, v. 349 (1-3), p. 67-71, 2005.

SWARUP, D.; NARESH, R.; VARSHNEY, V. P.; BALAGANGATHARATHILAGAR, M.; KUMAR, P.; NANDI, D.; PATRA, R. C. Changes in plasma hormones profile and liver function in cows naturally exposed to lead and cadmium around different industrial areas. **Research in Veterinary Science**, v. 82(1), p. 16-21, 2007.

TAJKARIMI, M.; AHMADI FAGHIH, M.; POURSOLTANI, H.; A. SALAH NEJAD, A.; MOTALLEBI, A. A.; MAHDAVI, H. Lead residue levels in raw milk from different regions of Iran. **Food Control**, v. 19, p.495–498, 2008.

TELL, I. et al. Chelated lead and bone lead. **Scandinavian Journal of Work and Environmental Health**, v. 18(2), p.113-119, 1992.

TELLEZ-ROJO, M. M. et al. Impact of breastfeeding on the mobilization of lead from bone. **American Journal of Epidemiology**, v. 155(5), p. 420-428, 2002.

TOKUŞOĞLU, O.; AYCAN, S.; AKALIN, S.; KOÇAK, S.; ERSOY, N. Simultaneous differential pulse polarographic determination of cadmium, lead, and copper in milk and dairy products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52(7):1795-1799, 2004.

TSAIH, S. W. et al. The independent contribution of bone and erythrocyte lead to urinary lead

among middle-aged and elderly men: the normative aging study. **Environmental Health Perspectives**, v. 107(5), p. 391-396, 1999.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. 1985. Lead, pp. 137-150. In **Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice**. CRC Press, Florida.

VAHTER, M.; BERGLUND, M.; AKESSON, A.; LIDEN, C. Metals and women's health. **Environmental Research**, v. 88(3):145-55, 2002.

VIDOVIC, M.; SADIBASIC, A.; CUPIC, S.; LAUSEVIC, M. Cd and Zn in atmospheric deposit, soil, wheat, and milk. **Environmental Research**, v. 97(1), p. 26-31, 2005.

XIE, Y.; CHIBA, M.; SHINOHARA, A.; WATANABE, H.; INABA, Y. Studies on lead-binding protein and interaction between lead and selenium in the human erythrocytes. **Industrial Health**, v. 36, p. 234-239, 1998.

WEBBER, C. E. et al. Hormone replacement therapy may reduce the return of endogenous lead from bone to the circulation. **Environmental Health Perspectives**, v. 103(12):1150-1153, 1995.

WEYERMANN, M.; BRENNER, H. Factors affecting bone demineralization and blood lead levels of postmenopausal women – a population-based study from Germany. **Environmental Research**, v. 76(1), p. 19-25, 1998.

ZACH, R.; MAYOH, K. R. Soil ingestion by cattle: a neglected pathway. **Health Physics**, v. 46(2): 426-431, 1984.

➤ SÉRIE DO ^{235}U

NÚMERO DE NEUTRONS N	143												$^{235}\text{U}^*$ 7.10 ⁹ a	
												↙		
	141									^{231}Th 25,6h				
	140												$^{231}\text{Pa}^*$ 3.3.10 ⁴ a	
												↙		
	138									^{227}Ac 21,8a				
	137								↙ 1.2%		$^{227}\text{Th}^*$ 19d			
	136									$^{223}\text{Fr}^*$ 22min			↙	
	135										$^{223}\text{Ra}^*$ 11d			
												↙		
	133									$^{219}\text{Rn}^*$ 4 s				
												↙		
	131									^{215}Po 1,8ms				
												↙		
	129									$^{211}\text{Pb}^*$ 36 min				
	128										$^{211}\text{Bi}^*$ 2,1min			
127									↙ 99,68%				^{211}Po 0,52s	
126														
125														
	81	82	83	84		86	87	88	89	90	91	92		
NÚMERO ATÔMICO Z														

Legenda: Emissor alfa (α) Nuclídeo estável Emissor Beta (β^-)

* Emissor gama

 Emissor β^+

➤ SÉRIE DO ^{232}Th

NÚMERO DE NEUTRONS N	142									^{232}Th $1,4 \cdot 10^{10}\text{a}$
	141								↙	
	140							^{228}Ra 5,8 a		
	139								$^{228}\text{Ac}^*$ 6,1h	
	138									^{228}Th 1,9 a
	137								↙	
	136								^{224}Ra 3,7 a	
	135								↙	
	134							^{220}Rn 56 s		
	133								↙	
	132				^{216}Po 0,15 s					
	131				↙					
	130		$^{212}\text{Pb}^*$ 11 h							
	129			$^{212}\text{Bi}^*$ 61min						
	128		↗36%		^{212}Po 310ns					
	127	$^{208}\text{Tl}^*$ 3,1min			↙					
	126		^{208}Pb							
	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
	NÚMERO ATÔMICO Z									

Legenda: Emissor alfa () Nuclídeo estável

Emissor Beta () * Emissor gama

Emissor e^-

ANEXO B – PORTARIA 16, DE 13 DE MARÇO DE 1990.

PORTARIA Nº 16, DE 13 DE MARÇO DE 1990 DOU DE 15/03/90

Dispõe sobre os limites de tolerância de chumbo (Pb) em alimentos.

O DIRETOR DA DIVISÃO NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE ALIMENTOS-DINAL da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária - SNVS, do Ministério da Saúde, no uso das atribuições que lhe confere o Art. 39 item III do Regimento Interno, aprovado pela Portaria Ministerial nº 270-BSB, de 19 de junho de 1978, e à vista do disposto no Art. 14, item I do Decreto nº 96.763, de 26 de setembro de 1968, CONSIDERANDO, o estudo realizado pela Comissão Nacional de Assessoramento em Toxicologia (CONAT), do Ministério da Saúde,

RESOLVE:

1. Autorizar a inclusão na Tabela II, como preceitua o Art. 26, do decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965, dos limites máximos de tolerância de chumbo (Pb) em alimentos, conforme relação anexada a esta portaria.
2. Estabelecer que os limites máximos de tolerância, ora incluídos na Tabela II, referem-se aos alimentos nas condições em que são consumidos, incluindo-se nessa situação o leite "in natura" e o leite industrializado.
3. Esta portaria entrará em vigor na data de sua publicação, revogadas as disposições em contrário, especialmente os limites anteriormente estabelecidos pelo Decreto nº 55.871/65.

Anexo- LIMITES MAXIMOS DE TOLERANCIA DE CHUMBO (Pb) EM ALIMENTOS

ALIMENTO	"IN NATURA" (mg/kg)	INDUSTRIALIZADO (mg/kg)
1. ORIGEM ANIMAL		
Carnes	0,50	1,00
Aves	0,20	1,00
Pescado	2,00	2,00
Leite	0,05	0,05
Derivados do Leite		
Queijo	-	1,00
Manteiga	-	0,10
Outros	-	0,20
Ovos	0,10	0,20
2. ORIGEM VEGETAL		
Bulbos	0,50	0,50
Raízes e Tubérculos	0,50	0,50
Cereais	0,50	0,50

Hortalças	0,50	0,50
Leguminosas	0,50	0,50
Frutas (exceto sucos, néctares, cristalizados ou glaceados)	0,50	0,50
Sucos e néctares de frutas	-	0,40
Frutas cristalizadas ou glaceadas	-	1,00
Oleaginosas	0,20	0,20
3. ESPECÍFICOS		
Óleos e gorduras	-	0,10
Margarina	-	0,10
Refrescos e Refrigerantes	-	0,20

ANEXO C – COMPOSIÇÃO MÉDIA DO LEITE DE VACA, LACTOSSORO E QUEIJO DE COALHO E PROPRIEDADE FÍSICAS DO LEITE*.

➤ Composição média:

	Leite de vaca(%)	Lactossoro (%)	Queijo (%)
Água	87,0	93,5	40,0
Extrato seco	13,0	6,5	60,0
Gordura	3,7	0,2	29,1
Proteínas	3,5	0,7	24,9
Carboidratos	4,9	4,8	1,9
Cinzas	0,7	0,55	4,1
Componentes Minoritários	0,05	0,05	-
pH	6,5	6,6	5,4

➤ Propriedades Físicas do Leite**:

Ponto de congelamento	-0,54°C
Ponto de ebulição	100,5°C
Densidade a 20°C	1,030 g/mL
pH	6,5
Calor específico médio	0,93 cal./ g.°C
Tensão superficial médio a 20°C	53 dinas /cm
Viscosidade a 20°C	2,1 centipoise
Condutividade elétrica	0,005 ohm ⁻¹
Índice de refração a 20°C	1,34209
Potencial de redução	+0,25 V

**Valores médios

*Fontes:

- AMIOT, J. **Ciencia y tecnologia de La leche-** Principios y aplicaciones. Zaragoza: Acribia, 1991. Tradução de Rosa Orla Almudí. Título original Dairy Science and Techology- Principles and applications.
- FEITOSA, T. et al. Composição centesimal do queijo tipo “coalho” do estado do Ceará. **Ciência Agrônômica**. v. 16, n. 2, p.57-63. 1985.

Anexo D – CLASSIFICAÇÃO MUNDIAL DOS PRINCIPAIS PAÍSES PRODUTORES DE LEITE DE VACA, 2007.

	Países	Produção de Leite (mil t) 2007	Percentual do	
			Total	Acumulado
1°	Estados Unidos da América	84.189	15,02	15,02
2°	Índia	42.140	7,52	22,54
3°	China	32.820	5,86	28,39
4°	Federação Russa	31.950	5,70	34,09
5°	Alemanha	27.900	4,98	39,07
6°	Brasil	25.327	4,52	43,59
7°	França	23.705	4,23	47,82
8°	Nova Zelândia	15.842	2,83	50,65
9°	Reino Unido	14.450	2,58	53,22
10°	Ucrânia	12.300	2,19	55,42
11°	Polônia	11.800	2,11	57,52
12°	Itália	11.000	1,96	59,49
13°	Turquia	11.000	1,96	61,45
14°	Paquistão	11.000	1,96	63,41
15°	Holanda	10.750	1,92	65,33
16°	Argentina	10.500	1,87	67,20
17°	Austrália	10.350	1,85	69,05
18°	México	9.599	1,71	70,76
19°	Japão	8.140	1,45	72,22
20°	Canadá	8.000	1,43	73,64
	Outros	147.725	26,36	100,00
	TOTAL	560.487	100	

Fonte: FAO apud embrapa,2008, disponível em <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0212.php>> , acesso em 22/08/2010.

ANEXO E- RANKING DA PRODUÇÃO ANUAL DE LEITE POR ESTADO NO BRASIL, 2007.

	Estados	Produção de Leite	Produtividade (Litros/vaca)	Produtividade (litros/hab.)
		(milhões de litros)		
1	Minas Gerais	7.275	1.463	377
2	Rio Grande do Sul	2.944	2.222	278
3	Paraná	2.701	1.998	263
4	Goiás	2.639	1.154	467
5	Santa Catarina	1.866	2.321	318
6	São Paulo	1.627	1.078	41
7	Bahia	966	546	69
8	Rondônia	708	714	487
9	Pernambuco	662	1.385	78
10	Mato Grosso	644	1.140	226
11	Pará	643	637	91
12	Mato Grosso do Sul	490	974	216
13	Rio de Janeiro	463	1.129	30
14	Espírito Santo	438	1.126	131
15	Ceará	416	816	51
16	Maranhão	336	642	55
17	Sergipe	252	1.273	130
18	Alagoas	243	1.389	80
19	Rio Grande do Norte	214	849	71
20	Tocantins	214	463	172
21	Paraíba	170	798	47
22	Acre	80	544	122
23	Piauí	76	396	25
24	Distrito Federal	36	1.800	15
25	Amazonas	20	513	6
26	Amapá	6	750	10
27	Roraima	6	333	15
	Brasil	26.134	1.237	142

Fonte: IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal apud Embrapa Gado de Leite, 2008. Disponível em <

<http://www.cnpql.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0240.php>>, acesso em 22/08/2010.

ANEXO F – INSTRUMENTAÇÃO



Espectrometro de Absorção Atômica marca Varian, modelo SpectrAA220/FS com acoplamento do forno de grafite e amostrador automático



Forno de grafite e amostrador automático GTA 11



Lâmpada cátodo oco com linha de ressonância 283,3 nm.

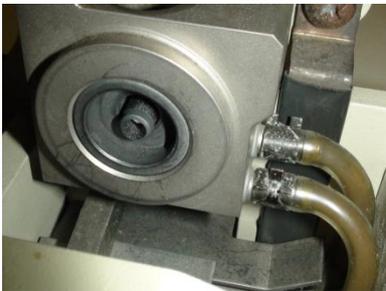
Detalhes do forno (Queimador), a, b, e c, tubo de grafite e autoamostrador.



(a)



(b)



(c)



Tubo de grafite (25,4mm x 5mm)



Detalhe do autoamostrador

ANEXO G – INMETRO : DOQ-CGRE-008-Revisão 03 – Fev/2010

Quadro 3 - Determinação de Limite de Detecção (LD)

Matriz	Cálculos	Observações
Branco da amostra	$LD = X + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s$ sendo: X = média dos valores dos brancos da amostra; t é a distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança e, s = desvio-padrão amostral dos brancos da amostra.	A média e o desvio-padrão amostral dos brancos da amostra são dependentes da matriz. Válido somente quando os valores dos brancos apresentarem um desviopadrão amostral diferente de zero
ou		
Branco da amostra com adição da menor concentração aceitável do analito	$LD = 0 + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s$ sendo: t = distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança e, s = desvio-padrão amostral dos brancos da amostra, com adição.	A “menor concentração aceitável” é aquela tida como a concentração mais baixa para a qual um grau aceitável de incerteza pode ser alcançado.

Quadro 4 – Determinação do Limite de Quantificação (LQ)

Matriz	Determinação
Branco da amostra	$LQ = X + 5s$ ou $LQ = X + 6s$ ou $LQ = X + 10s$ onde: X = média dos valores dos brancos s = desvio-padrão amostral dos brancos
Branco com adição de concentrações variadas do analito, próximas ao LD.	<ul style="list-style-type: none"> - Medir, uma vez cada replicata independente, a cada nível de concentração. - Calcular o desvio-padrão amostral “s” do valor do analito, para cada concentração. - Fazer o gráfico “concentração” versus “s”, e atribuir um valor para o LQ, por inspeção.