

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ - UNIFAP
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS

Danilo Monteiro Monteiro

**ANÁLISE DE ELEMENTOS TRAÇOS POR ABSORÇÃO ATÔMICA DE FORMA
QUANTITATIVA E QUALITATIVA: uma Investigação do Valor Nutricional de
Leites Humanos que Abastecem o Banco de Leite do Estado do Amapá.**

Macapá-AP

2013

Danilo Monteiro Monteiro

ANÁLISE DE ELEMENTOS TRAÇOS POR ABSORÇÃO ATÔMICA DE FORMA QUANTITATIVA E QUALITATIVA: uma Investigação do Valor Nutricional de Leites Humanos que Abastecem o Banco de Leite do Estado do Amapá.

Dissertação de Mestrado apresentada como é um dos requisitos para aprovação no Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, com área de concentração: Ensaio Biológicos, da Universidade Federal do Amapá, para obtenção de título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Bezerra Messias

Macapá-AP

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

613.28

M775a Monteiro, Danilo Monteiro.

Análise de elementos traços por absorção atômica de forma quantitativa e qualitativa: uma investigação do valor nutricional de leites humanos que abastecem o Banco de Leite do Estado do Amapá / Danilo Monteiro Monteiro -- Macapá, 2013.

XX f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Orientador: Profo. Dr. Roberto Bezerra Messias

1. Leite – Análise química. 2. Leite humano. 3. Leite – Nutrição. 4. Banco de leite. 5. Absorção atômica. 6. Terapêuticos. I. Messias, Roberto Bezerra. orient. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

Danilo Monteiro Monteiro

ANÁLISE DE ELEMENTOS TRAÇOS POR ABSORÇÃO ATÔMICA DE FORMA QUANTITATIVA E QUALITATIVA: uma Investigação do Valor Nutricional de Leites Humanos que Abastecem o Banco de Leite do Estado do Amapá.

Dissertação de Mestrado apresentada como é um dos requisitos para aprovação no Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, com área de concentração: Ensaios Biológicos, da Universidade Federal do Amapá, para obtenção de título de Mestre em Ciências da Saúde.

Data de Aprovação: ____/____/____.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Roberto Bezerra Messias – Orientador - UNIFAP

Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço - UNIFAP

Prof. Dr. Flavio Henrique Ferreira Barbosa - UNIFAP

Prof. Dr. Marcelo Silva Andrade - FAMA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a toda minha família e aos meus entes queridos, que sempre me deram incentivos para continuar pelos caminhos do conhecimento.

Dedico também a todas as mães que fazem parte do ciclo de doações do Banco de Leite do Estado do Amapá, pois através delas, vidas são salvas todos os dias que dependem apenas de uma primeira alimentação para desenvolver seus organismos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Tereza Duarte Farias Monteiro e José Antonio dos Santos Monteiro, que sempre me ajudaram para seguir com meus estudos, principalmente minha mãe que acreditou em meus ideais e princípios, não somente na busca pelo conhecimento, mas também no apoio afetivo de nosso meio familiar.

À minha irmã Danielle Monteiro, cujo apoio também foi muito importante para minha vida.

À minha linda esposa Lana Moraes que caminhou juntamente ao meu lado superando todos os obstáculos da vida, em várias fases, de universidade, de construção da casa própria, de mudanças, desse mestrado, qual continua me apoiando e incentivando o nosso crescimento e a busca pelo saber.

À minha filhinha Beatriz Monteiro, que sempre me espera, às vezes tarde da noite, para dizer com toda vontade “pai” e me dar um grande abraço, gesto que gratifica todas as batalhas de todos os dias.

Aos familiares que, direta ou indiretamente, me ajudaram a chegar até aqui.

Aos meus amigos que sempre me incentivaram a continuar e não desistir do mestrado.

Aos meus amigos e parceiros de trabalho, bem como meus chefes ou diretores que permitiram a minha participação nesse Programa de Mestrado, acreditando que seria um bem melhor para minha profissão.

Ao Professor Messias, que me apoiou de forma direta ou indireta, permitindo a continuidade do estudo, seguindo com todas as dificuldades que enfrentei no decorrer do estudo.

A Professora Silvia, responsável pelo Programa de Pós Graduação, qual entendeu as dificuldades de minha jornada e me ajudou para continuar no estudo.

Kellem, bolsita do Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Amapá, que me ajudou com as análises iniciais para desenvolver todo esse trabalho, com sua paciência e conhecimentos de operação do aparelho de absorção atômica.

À Suzanne Monteiro, minha prima, que me ajudou com a liberação das amostras de leite do Banco de Leite do Estado do Amapá.

A todos os Professores que fizeram parte de maneira sublime, ministrando as ótimas aulas que marcaram com êxito as devidas disciplinas do Programa.

A Andréia Malvão que cedeu as amostras de leite do Banco de Leite do Estado do Amapá, pois sem ela não conseguiríamos iniciar e realizar os estudos.

RESUMO

Neste trabalho analisou-se a qualidade nutricional dos leites que são doados ao Banco de Leite do Estado do Amapá, através de testes por absorção atômica de forma investigativa por metais, com intenção de se avaliar as concentrações desses minerais, preocupando-se com sua função após absorção em organismos humanos. Após a quantificação desses teores, o leite poderia ter um fim intencional para tratamentos terapêuticos de recém-nascidos que possuem carência por determinado mineral. As análises quantitativas dos elementos presentes no leite foram para os teores de Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Na, Cd, Fe, Pb e K. Esses elementos foram escolhidos devido à importância e ao valor nutricional para absorção por recém-nascidos, assim como os que podem causar intoxicação aguda como, por exemplo, o Cd e o Pb, quais são comuns, com níveis baixos, em determinados alimentos e bebidas. Os referidos testes foram satisfatórios, principalmente quanto, a calibração do equipamento junto aos padrões de referências, que foram analisados e comparados com seus rótulos de fabricação. Enfim, observou-se nesse estudo que o método investigativo de metais em leite humano é de suma importância para fazer parte da rotina de Banco de Leites, principalmente para fins terapêuticos e nutricionais. Os resultados dos testes foram comparados com outros estudos relativos da literatura, demonstrando certa aproximação para os parâmetros como o Fe e Ca, sendo os mais investigados em estudos similares.

Palavras-chave: Leite. Banco de leite. Nutricional. Absorção Atômica. Terapêuticos.

ABSTRACT

In this work we analyzed the nutritional quality of milk that is donated to the Milk Bank of the State of Amapá, by testing through atomic absorption so investigative metals, with intention to evaluate the concentrations of these minerals, worrying regarding its function after absorption in human organisms. After quantifying these levels, the milk could have an aim to intentional therapeutic treatments for infants who have a certain mineral deficiency. Quantitative analysis of the elements present in milk were for Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Na, Cd, Fe, Pb and K. These elements were chosen because the size and nutritional value for absorption from newborns, as well as those that may cause acute intoxication, studies Cd and Pb, which are usually present at low levels in certain foods and drinks. These tests were satisfactory, especially in relation to calibration of the equipment to meet the reference standards, which were analyzed and compared with their manufacturing labels. Anyway, it was observed in this study that the investigative method for metals in human milk is very important to make a routine part of Milk Bank, especially for therapeutic and nutritional purpose. The test results were compared with other studies of literature demonstrating the approach to certain parameters such as Fe and Ca are the most similar studies investigated.

Keywords: Milk. Milk Bank. Nutrition. Atomic Absorption. Therapeutic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - representação do espectro de absorção do hidrogênio	17
Figura 02 - diagrama esquemático de um espectrógrafo	18
Figura 03 - Estrutura atômica	27
Figura 04 - Espectrofotômetro de Absorção Atômica – Shimadzu, AA-6300	41
Figura 05 - Concentrações de Ca da Zona A	44
Figura 06 - Concentrações de Ca da Zona B	44
Figura 07 - Concentrações de Ca da Zona C	45
Figura 08 - Concentrações de Ca da Zona D	46
Figura 09 - Concentrações de Cu da Zona A	46
Figura 10 - Concentrações de Cu da Zona B	47
Figura 11 - Concentrações de Cu da Zona C	48
Figura 12 - Concentrações de Cu da Zona D	48
Figura 13 - Concentrações de Zn da Zona A	49
Figura 14 - Concentrações de Zn da Zona B	50
Figura 15 - Concentrações de Zn da Zona C	50
Figura 16 - Concentrações de Zn da Zona D	51
Figura 17 - Concentrações de Mg da Zona A	52
Figura 18 - Concentrações de Mg da Zona B	53
Figura 19 - Concentrações de Mg da Zona C	54
Figura 20 - Concentrações de Mg da Zona D	54
Figura 21 - Concentrações de Mn da Zona A	55
Figura 22 - Concentrações de Mn da Zona B	56
Figura 23 - Concentrações de Mn da Zona C	57
Figura 24 - Concentrações de Mn da Zona D	57
Figura 25 - Concentrações de Na da Zona A	58
Figura 26 - Concentrações de Na da Zona B	59
Figura 27 - Concentrações de Na da Zona C	59
Figura 28 - Concentrações de Na da Zona D	60
Figura 29 - Concentrações de Cd da Zona A	61
Figura 30 - Concentrações de Cd da Zona B	62
Figura 31 - Concentrações de Cd da Zona C	62

Figura 32 - Concentrações de Cd da Zona D	63
Figura 33 - Concentrações de Fe da Zona A	64
Figura 34 - Concentrações de Fe da Zona B	64
Figura 35 - Concentrações de Fe da Zona C	65
Figura 36 - Concentrações de Fe da Zona D	66
Figura 37 - Concentrações de Pb da Zona A	67
Figura 38 - Concentrações de Pb da Zona B	68
Figura 39 - Concentrações de Pb da Zona C	68
Figura 40 - Concentrações de Pb da Zona D	69
Figura 41 - Concentrações de K da Zona A	70
Figura 42 - Concentrações de K da Zona B	71
Figura 43 - Concentrações de K da Zona C	72
Figura 44 - Concentrações de K da Zona D	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Condições para determinação de chumbo, cádmio, zinco, cobre e ferro em Espectrofotômetro de Absorção Atômica	23
Tabela 02 - Parâmetros instrumentais, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para a determinação de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite bubalino por FAAS	24
Tabela 03 - comprimento de onda de alguns elementos químicos	25
Tabela 04 - Composição Mineral do Leite	26
Tabela 05 – comparativa entre os teores do leite comercial e a descrição no seu rótulo	73

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica
ADPC	Ácido Pirrolidina Ditiocarbamato de Amônio
CFA-C	Aminas terciárias solúveis em água
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama
LOD	Limites de detecção
LOQ	Limites de quantificação
<i>P</i> m	Picômetro
RN	Recém-Nascido

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca	Cálcio
Cu	Cobre
Zn	Zinco
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
Na	Sódio
Cd	Cádmio
Fe	Ferro
Pb	Chumbo
K	Potássio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 O Leite e suas Características	22
2.2 Validação de Métodos	23
2.3 Técnicas de Espectrometria	23
2.4 Estudo dos Metais	25
2.4.1 Cálcio	27
2.4.2 Cobre	28
2.4.3 Zinco	29
2.4.4 Magnésio	30
2.4.5 Manganês	31
2.4.6 Sódio	32
2.4.7 Cádmiio	32
2.4.8 Ferro	33
2.4.9 Chumbo	34
2.4.10 Potássio	35
2.4.11 Fósforo	36
2.5 Nutrição da Mãe	36
3 FORMULAÇÃO DO PROBLEMA	37
4 JUSTIFICATIVA	37
5 OBJETIVO GERAL	38
5.1 Objetivos Específicos	38
6 METODOLOGIA	39
6.1 Amostras	39
6.2 Preparo das Amostras	39
6.3 Soluções de Referência	40
6.4 Reagentes e Soluções	40
6.5 Instrumentação	40
7 ANALISE ESTATÍSTICA	41
8 RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
8.1 Análise do elemento químico cálcio	43

8.2 Análise do elemento químico cobre	46
8.3 Análise do elemento químico zinco	49
8.4 Análise do elemento químico magnésio	52
8.5 Análise do elemento químico manganês	55
8.6 Análise do elemento químico sódio	58
8.7 Análise do elemento químico cádmio	60
8.8 Análise do elemento químico ferro	63
8.9 Análise do elemento químico chumbo	66
8.10 Análise do elemento químico potássio	70
8.11 Leite comercial	73
CONCLUSÃO	74
ANEXOS	76
Referências Bibliográficas	89

1 INTRODUÇÃO

O estudo da química em todos os seus princípios, de forma geral, foi a racionalização nas investigações para construção de conhecimentos empíricos através de pesquisas científicas, desvendando e criando teorias racionais e coerentes. Esses conhecimentos fazem parte de todo um histórico de descobertas e criações de cientistas que buscam o desconhecido e o tornam acessíveis ao entendimento humano.

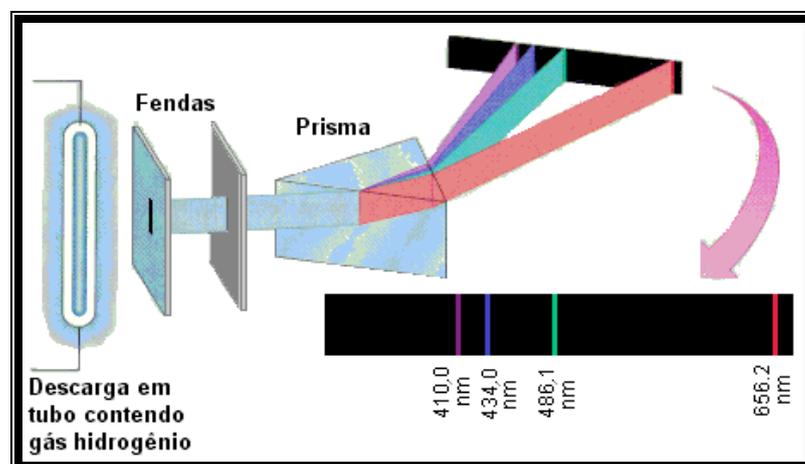
No entanto, para a realização de um estudo científico, é necessário devar a abrangência que terá tais informações e qual proporção deverá alcançar o conhecimento. Tudo está relacionado à devida importância do estudo científico. Por isso, a peculiaridade de estudos que envolvem a constituição química de determinados produtos depende do entendimento em nossa vida, em cada composição, em cada construção, em toda a matéria do universo. Logo, Química, do egípcio *kēme* (chem), que significa “terra”, é a ciência que estuda as substâncias da natureza, dos elementos que a constituem, entendendo suas características, propriedades, combinações, processos de obtenção, suas aplicações e sua identificação. É a interação entre átomos, a relatividade de elementos que se ligam, reagem, ou interagem uns aos outros, compondo moléculas até finalizar com a definição de matéria e objeto. O grande avanço científico se beneficia com descobertas químicas em busca do desconhecido, através de técnicas e métodos que potencializam a síntese de inúmeras moléculas e combinações aplicadas a diversos setores e ramos industriais.

Muitos teóricos contribuíram para o mundo da química como, por exemplo, John Dalton, Joseph Louis Gay-Lussac e Lorenzo Romano Amedeo Carlo Avogadro, que iniciaram as investigações a respeito da teoria atômica, formulando leis e princípios para novos fundamentos e estudos, além de muitos outros, que de uma forma ou de outra contribuíram para a evolução da química. A partir daí, as pesquisas de novos processos químicos se multiplicaram com o desenvolvimento de alguns fatores associados a benefícios e a malefícios (KOTZ; TREICHEL, 1998). Enfim, nos últimos anos tem se intensificado a preocupação com a saúde, juntamente, com o meio ambiente, devido à imensa proporção dos produtos químicos gerados por processos industriais.

Entre as indústrias que disseminaram a diversificação destes produtos químicos está a de alimentos, sendo um dos principais vetores de elementos contaminantes, dependendo de sua combinação e manipulação, podendo ser os principais causadores de doenças disfuncionais do organismo humano. A indústria de bebidas, também precisa de um controle mais rígido na produção, para prevenção de doenças causadas por compostos tóxicos, por falta ou excesso de produtos químicos, assim, proporcionando melhor qualidade de vida para as pessoas e reduzindo os custos com o tratamento de doenças (CUBADDA; RAGGI; MARCONI, 2005).

Outro cientista que escreveu seu nome na história da química foi Max Karl Ludwig Planck, em seus estudos dos fenômenos envolvendo Linhas Espectrais, que são chamadas de luz branca do espectro visível, o conjunto de todas as frequências simultaneamente presente. Quando a luz branca passa através de um material em forma de prisma que apresenta diferente índice de refração ocorre um desdobramento de todas as frequências. Este efeito de desdobramento da luz visível produzido pelo fenômeno de refração foi expressamente útil para o desenvolvimento dos modelos atômicos no século passado. Os pesquisadores da época verificaram que o desdobramento da luz branca que passa através do hidrogênio (hidrogênio atômico produzido por descargas elétricas no gás hidrogênio) revelava a ausência de algumas linhas no espectro. Estas linhas ficaram conhecidas como série de Balmer e apresentam os seguintes comprimentos de onda 656,3, 486,1 434,0 e 410,1 nm (BENVENUTTI, 2006). Na figura 01 tem-se a ilustração do espectro do hidrogênio.

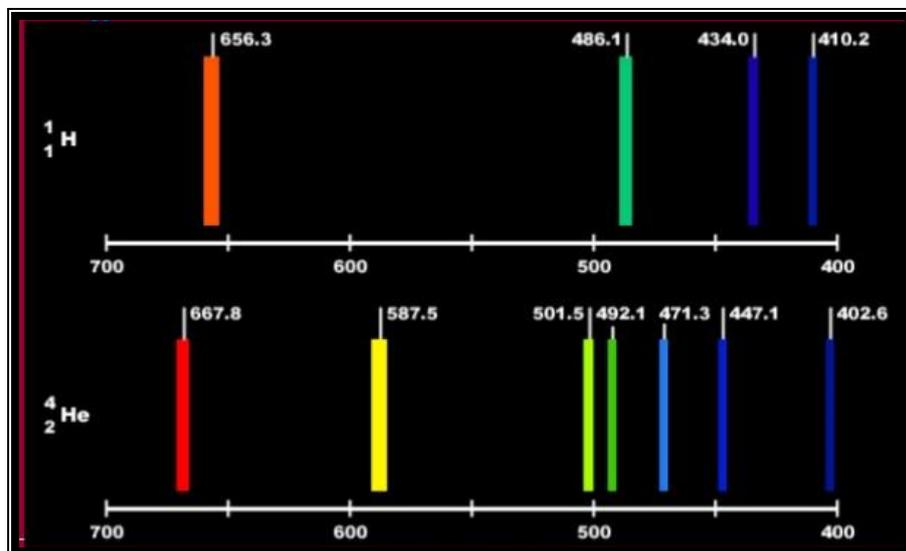
Figura 01 - representação do espectro de absorção do hidrogênio



Fonte: TOMAR (2007)

Planck percebeu, também, que a mudança de temperatura do sólido em análise variava. Daí determinou sua teoria ondulatória. Grande descoberta para as metodologias de análises químicas. Posteriormente, após várias pesquisas e aplicações em seus experimentos, obteve maior sucesso na explicação dos espectros de emissão dos átomos. Pois, em suas investigações constatou que o bombardeamento por moléculas de mesmo elemento químico, através de descarga elétrica provinda do analito, provocava a emissão de luz, chamada de espectro atômico, visualizado na figura 02.

Figura 02 - Diagrama esquemático de um espectrógrafo.



Fonte: RUSSEL (1994)

Certos átomos ao receberem excesso de energia interna podem emitir luz na região visível, ultravioleta ou infravermelho. A emissão da luz passava por uma fenda e depois por um prisma, onde dispersava a radiação em suas frequências, identificadas nas placas fotográficas (MAHAN; MYERS, 2000).

E, para o Efeito Fotoelétrico, como toda descoberta, se deu por acaso quando Heinrich Hertz, em 1887, investigava a natureza eletromagnética da luz. Estudando a produção de descargas elétricas entre duas superfícies de metal em potenciais diferentes, ele observou que uma faísca proveniente de uma superfície gerava uma faísca secundária na outra. Como esta era difícil de ser visualizada, Hertz construiu uma proteção sobre o sistema para evitar a dispersão da luz. No entanto, isto causou uma diminuição da faísca secundária. Na sequência dos seus

experimentos ele constatou que o fenômeno não era de natureza eletrostática, pois não havia diferença se a proteção era feita de material condutor ou isolante. Após uma série de experimentos, Hertz confirmou o seu palpite de que a luz poderia gerar faíscas. Também chegou à conclusão que o fenômeno seria devido apenas à luz ultravioleta.

No entanto, a Teoria da Espectrometria de Absorção Atômica, ou seja, a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é uma das técnicas espectrométricas mais antigas e permanece sendo empregada em laboratórios de rotina (Welz, 1999). Segundo Welz (1999) a criação dos primeiros espectroscópios de absorção atômica, desenvolvidos na segunda metade do século XIX, foi com uma fonte contínua, sendo a única fonte confiável de radiação disponível naquela época. Por conta das limitações instrumentais, a maioria dos experimentos usava a emissão óptica, devido, justamente, à maior facilidade em se detectar um sinal luminoso em frente a um anteparo escuro do que uma pequena redução na intensidade de emissão sobre um pequeno intervalo espectral em frente a um fundo luminoso. Por isso, Alan Walsh, o primeiro grande entusiasta da técnica de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), em 1952 chegou à conclusão que fontes de emissão de linhas com linhas as mais estreitas possíveis seriam necessárias para medidas em AAS, uma vez que uma resolução de aproximadamente 2 pm seria necessária, se uma fonte contínua fosse utilizada. Esta resolução, entretanto, não poderia ser atingida nem mesmo com os melhores monocromadores da época. Então, instrumentos de AAS com fontes de linha (LS AAS) foram e são, até hoje, quase exclusivamente utilizados, com todas as suas vantagens e limitações.

Ainda assim, a utilização de absorção atômica para identificar elementos químicos de produtos alimentares aperfeiçoa a intenção do estudo aprimorando a eficácia dos resultados com seus devidos fins.

No mais, a investigação de composições dos alimentos e gêneros relacionados, juntamente com as funções que são desenvolvidas por esses constituintes no organismo humano após ingestão, possui grandes valores científicos, sendo um campo do conhecimento onde se expande cada vez mais e despertam grandes pesquisas, para aproximar ainda mais a qualidade de vida de um ser à sua nutrição continuada.

Entre os alimentos, o leite é um dos mais nutritivos ao desenvolvimento do organismo humano, uma vez ser um produto complexo contendo várias substâncias

que estão em solução, suspensão ou emulsão em água. Este alimento está inserido na nutrição de outras espécies de mamíferos. Entre os elementos do leite temos a água, proteína, gordura, lactose, minerais, vitaminas e outros que também possuem a mesma relevância. Segundo Laurindo (1992) o leite humano e o de vaca diferem entre si na quantidade e qualidade desses elementos.

Os minerais encontrados no leite, especialmente o cálcio e o fósforo são essenciais à estrutura dos ossos e dentes de indivíduos de todas as idades, sobretudo para lactantes e crianças. A quantidade de ferro encontrada no leite é pequena, mas está sob a forma prontamente utilizável pelo organismo (VALSECHI, 2001). Ressaltando, segundo Sokol (1999), que os sais minerais fazem parte de estruturas básicas como o cálcio nos ossos, o ferro no sangue, o sódio e o potássio nas células.

Wattiaux (2000) faz um comparativo entre os valores nutricionais do leite de vaca, búfala e humano. Em termos de energia, ele considera o leite de búfala bem mais calórico. Para lactose, o leite humano está bem acima dos outros comparados. Com relação a minerais e vitaminas, o leite de búfala tem valores próximos aos de vaca, porém com percentuais maiores do que o humano.

O aleitamento materno é imprescindível à qualidade de vida do bebê, principalmente ao seu desenvolvimento orgânico e intelectual, pois apenas o leite materno é capaz de alimentá-lo com todos os nutrientes necessários para o bom funcionamento do seu organismo (SOKOL, 1999).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 1994) recomenda que a amamentação exclusiva até os seis meses de idade e complementada até os dois anos de vida da criança ou mais, no entanto, o desmame precoce continua ocorrendo, e segundo Montrone e Arantes (2000) tem uma importância política significativa na medida em que estabelece uma relação direta com a “morbimortalidade” infantil. Estima-se que a promoção da amamentação exclusiva poderia salvar um milhão de vidas por ano nos países em desenvolvimento. Além disso, atribui-se ao aleitamento materno a prevenção de seis milhões de mortes de crianças menores de doze meses em cada ano no mundo.

Na alimentação de lactentes, a superioridade do leite materno sobre outros tipos de leite está baseada em fortes evidências científicas, pois é uma boa fonte de alimento, de proteção contra doenças e de afeto (GIUGLIANI, 2000).

Perante esses preceitos descritos, os fundamentos metodológicos de análises químicas são de intensa necessidade para se identificar ou separar elementos traços, que ajudem tanto numa investigação mais detalhada quanto na produção de novos produtos e compostos. A criação de novos métodos também acompanha o controle dos limites químicos exigidos por legislações ambientais e outras afins.

Toda análise química, para melhor precisão de resultados, deve-se avaliar o analito de forma qualitativa e quantitativa, principalmente sendo para pesquisa de elementos químicos, pois a preocupação com a identificação dos tipos de elementos encontrados e a quantidade dos mesmos, que causam influência no meio, também são importantes ao entendimento dos resultados. No entanto, ao se falar em análise química, os métodos para elementos químicos presentes em alimentos, deve-se avaliar a sua composição de forma nutritiva ou tóxica, quando relacionado diretamente aos componentes biológicos e suas funções.

Enfim, a devida investigação de elementos traços em leite humano, utilizando o método de absorção atômica, foi de grande importância para a realização deste trabalho, considerando a eficácia dos procedimentos e a importância do método utilizado.

O leite, analito em estudo, é um alimento rico em eletrólitos e elementos-traço, cujo teor é muito diferente entre os mamíferos, comumente presente na dieta das crianças nos dois primeiros anos de vida, mantendo-se bastante frequente até os cinco anos de idade. O leite de vaca, por exemplo, tem valores energéticos bem maiores do que o humano concentrando minerais com elevadas taxas de cálcio e de ferro. É esse um dos motivos da sua contraindicação para crianças com menos de dois anos de idade, pois exige um maior funcionamento dos rins para manutenção da homeostase do meio interno do bebê. Na falta do leite humano somente um médico especialista em pediatria pode indicar um substituto para evitar a concentração desses minerais e uma sobrecarga para os rins (GONÇALVES, J.; ANTUNES, K.; ANTUNES, A., 2001).

Entretanto, não foram localizados estudos que avaliassem a eficiência dos métodos para análises de metais em leite humano, algumas contribuições foram utilizadas como a metodologia utilizadas em leite bovino e bubalino, citado nos estudos de Gonçalves et al. (2008).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O Leite e suas Características

Na concepção descritiva, o leite, ou seja, a secreção das glândulas mamárias dos mamíferos pode ser considerada uma emulsão de gorduras em água estabilizada por uma dispersão coloidal de proteínas em uma solução de sais, vitaminas, peptídeos e outros componentes menores a um pH de 6,5 a 6,7. O leite é fonte de íon cálcio e de vitamina A, sendo encontrados também outros elementos relacionados a problemas de deficiência em recém-nascidos: fósforo, zinco, ferro e cobre (GONÇALVES; ANTUNES, K.; ANTUNES, A., 2001).

A produção do leite materno inicia-se entre a décima e a vigésima segunda semana de gravidez, durante esse período o processo é chamado de fase inicial ou lactogênese I. Após o parto, quando há a diminuição dos níveis de progesterona, inicia-se a segunda fase, ou lactogênese II, onde ocorre um aumento na produção do leite pelas glândulas mamárias.

O ser humano não está pronto para viver independente do organismo materno no momento em que deixa o útero depois do período de gestação. Na escala da natureza, quanto mais desenvolvido o animal, maior dependência da mãe ao nascer. (LOPES, 2002).

O leite materno tem boa digestibilidade, graças às enzimas que quebram as moléculas de gordura, as quais são pré-digeridas pelas enzimas do próprio leite, deixando-as disponíveis como principal fonte energética para o bebê. O leite materno é rico em lactose e, por isto, é bem mais adocicado que o leite de vaca. A lactose serve de fonte energética para o cérebro e ajuda na absorção do cálcio. Além disso, fermenta no intestino, possibilitando o desenvolvimento da flora natural de lactobacilos, protegendo-o da invasão por bactérias patogênicas, causadoras de diarreia (LOPES, 2002).

Verruma e Salgado (1994), conforme a tabela 01, faz um comparativo entre os metais apresentados nas análises de quantificação do leite de búfala e de vaca.

Tabela 01 - Composição Mineral do Leite

Minerais	Leites	
	Búfala	Vaca
Cálcio (%)	1,88	1,30
Fósforo (%)	0,90	0,90
Potássio (%)	0,90	0,90
Magnésio (%)	0,09	0,10
Ferro (ppm)	61	37
Manganês (ppm)	12	12
Zinco (ppm)	100	100

Fonte: VERRUMA et al. 1994.

2.2 Validação de Métodos

Nas Orientações Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2003), descreve que a comprovação é através do fornecimento de evidências objetivas, para que os requisitos sejam de uma aplicação ou para usos especificamente pretendidos, servindo para confirmar que os métodos do laboratório estão dentro das especificações, e servirá para verificar em espectrofotometria, que nenhum outro componente conhecido ou desconhecido esteja sendo determinado junto com o analito, facilitando, então, nas análises dos resultados para posteriores conclusões. Então, nota-se a importância do método para investigação para elementos traços em alimentos e bebidas. Pois, entende-se que o comparativo entre os resultados de análises de um mesmo analito demonstram maior confiabilidade para estudos científicos.

2.3 Técnicas de Espectrometria

Vários estudiosos demonstram diversificadas técnicas para determinação de elementos químicos por absorção atômica, como Gonçalves et al. (2008) retratam a verificação de chumbo, cádmio, zinco, cobre e ferro com adição primária de solução padrão dos elementos seguidos de adição de pirrolidino ditiocarbamato de amônio

(ADPC) para a fase orgânica da amostra de leite bovino. A destruição da matéria orgânica foi realizada com nitrato de magnésio. Os testes totalizaram 675 determinações analíticas para confirmação dos resultados. Os padrões para determinação e otimização do espectrofotômetro de absorção atômica estão descritos na tabela 02. Observando que os níveis de comprimentos de ondas para os elementos químicos são diferentes, demonstrando mais uma especificidade dos testes.

Tabela 02 - Condições para determinação de chumbo, cádmio, zinco, cobre e ferro em Espectrofotômetro de Absorção Atômica.

Condições do aparelho	Elemento químico				
	Chumbo	Cádmio	Zinco	Cobre	Ferro
Comprimento de onda (nm)	217,0	228,8	213,9	324,7	248,3
Tempo de leitura (s)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Fenda (nm)	1,0	0,5	0,5	0,5	0,2
Fluxo de acetileno (mL/min)	13	13	25	25	25
Fluxo de ar (mL/min)	30	30	40	40	40
Corretor de <i>background</i>	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Estequiometria de chama	Oxidante	Oxidante	Oxidante	Oxidante	Oxidante
Sensibilidade típica (mg/L)	0,0016	0,0007	0,008	0,025	0,05
Corrente da lâmpada (mA)	5,0	3,0	5,0	3,0	7,0

Fonte: Gonçalves et al. (2008)

Em outro trabalho (JUNIOR et al., 2009) a determinação de metais em leite de búfalas, foram com digestão das amostras primeiramente em bloco digestor. As análises foram feitas com a determinação direta de cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) diluídos em solução de CFA-C 10%, ou seja, amins terciárias solúveis em água utilizada como solvente para estabilizar as emulsões de

leite durante a introdução direta das amostras. As soluções de referência de Ca, Mg, Mn e Zn foram preparadas em meio de ácido nítrico (HNO_3), com os parâmetros apresentados na tabela 03.

Tabela 03 - Parâmetros instrumentais, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para a determinação de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite bubalino por FAAS.

Parâmetro	Ca	Mg	Mn	Zn
Comprimento de onda (nm)	422,7	285,2	279,5	213,9
Corrente da lâmpada (mA)	10	4,0	5,0	5,0
Resolução espectral (nm)	0,5	0,5	0,2	0,5
LOD/ LOQ*, a	25,3/85,0	5,9/19,7	44,3/147,7	14,6/48,7
LOD/ LOQ*, b	9,3/30,9	0,12/15,6	36,8/122,5	6,1/20,3

*mg L⁻¹; a HNO_3 0,9 mol/L; b CFA-C 10% v/v. Fonte: JUNIOR et al., 2009.

Podemos notar que a referência de zinco, por exemplo, para o comprimento de onda é o mesmo, porém foi mudada a forma de preparo da amostra.

Enfim, os testes comparativos e validativos aumentam a confiança em análises investigativas, pois análises feitas com absorção atômica de chama em amostras de leite humano transcrevem valores não somente quantitativos, como também a importância que cada elemento desenvolve na composição do alimento.

2.4 Estudo dos Metais

Para se estudar os efeitos causados pela espectrometria de absorção atômica, primeiramente, é necessário compreender, como nos exemplos da tabela 04, que qualquer átomo absorve luz em certo comprimento de onda específico, e que cada elemento possui comprimento de onda diferente do outro. Para identificação do elemento químico utilizam-se lâmpadas que correspondem aproximadamente ao comprimento de onda do elemento.

Tabela 04 - comprimento de onda de alguns elementos químicos.

Elemento	λ (nm)
Al	309,3
As	193,7
Cd	228,8
Cr	357,9
Cu	324,7
Fe	248,3
Hg	253,7
Mg	285,2
Ni	232,0
Pb	217,0
Zn	213,9

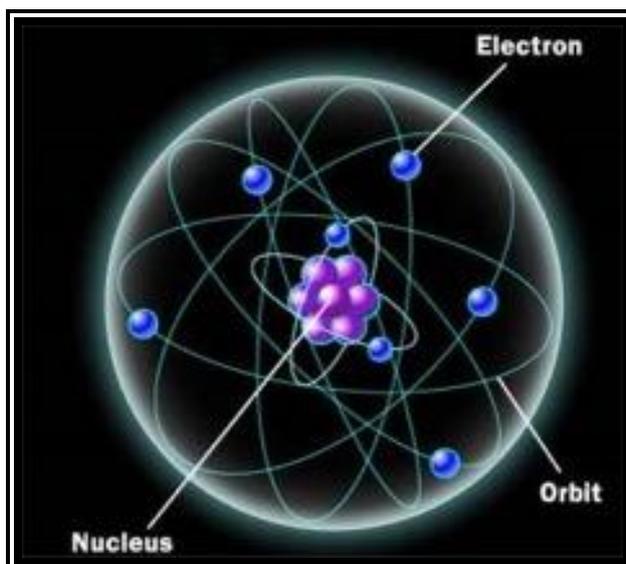
Fonte: própria autoria

Alguns elementos químicos, dependendo da sua concentração, podem ser nutritivos ou tóxicos, através de seu grau de saturação, ou seja, de seu limite quantitativo presente no meio de alimentos, ou de organismos, solos, ou quaisquer materiais que estejam inseridos.

Os elementos químicos denominados metais, em geral estão dispostos na tabela periódica através de classificação por famílias. A família A, por exemplo, contém grande parte dos metais que estão na constituição da maioria dos alimentos. Entre a família A, temos a subclassificação para metais alcalinos (família I-A), com elementos químicos de altíssima importância para a saúde humana, como o sódio e o potássio que são reguladores de potencial elétrico das células. O rádio (Ra), da família dos metais alcalinos terrosos (família II-A), é um elemento radioativo que na forma de cloreto de rádio, pode ser utilizado no tratamento de câncer.

A estrutura atômica, fig. 3, descreve os elétrons em órbitas em volta do núcleo de cada átomo. Assim, cada átomo tem uma específica quantidade de elétrons, conseqüentemente de prótons e nêutrons, correspondendo à mesma quantidade.

Figura 03 - Estrutura atômica.



Fonte: ANALISI SPETTRALE. **Estrutura atômica.** Disponível em: <http://www.skylive.it/Astrofisica/Astrofisica_Spettro_Elettromagnetico_Analisi_Spettrale.aspx>. Acesso em: 02 jul. 2011.

Segundo Peirano (2003) os metais pesados chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), arsênio (As), cromo (Cr), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), níquel (Ni) e outros, são de grande interesse para a saúde pública.

2.4.1 Cálcio

O cálcio é um elemento químico com representação simbólica na tabela periódica Ca. Seu nome tem origem do latim *calcium*, com número atômico 20 e massa atômica $40,08 \text{ g.mol}^{-1}$. Corresponde à família II-A dos alcalinos terrosos. Forma compostos através da forma iônica Ca^{2+} .

Segundo Russel (1994) o elemento cálcio ocorre como sais na maioria das águas naturais e são componentes essenciais tanto nos tecidos das plantas como dos animais, por exemplo, das conchas. No organismo humano faz parte da constituição dos dentes, unhas e ossos, fazendo parte da sustentação e na formação da estrutura corporal. Destacam-se também sua participação em processos como a manutenção do batimento cardíaco, a coagulação sanguínea e a ativação de enzimas (GONÇALVES et al., 2001).

O cálcio é muito importante para manter a homeostase extracelular, onde em recém-nascidos há a reativação óssea de cálcio até obtenção de aporte pela

dieta, primeiramente com a queda de níveis plasmáticos, seguida de estabilização de cálcio. A doença relacionada a essa falta de cálcio é denominada hipocalcemia, pois em prematuros menores que 1.500 g, seus níveis plasmáticos são inferiores a 4 mg/dL para cálcio iônico. Contudo, o tratamento adequado será um início precoce da alimentação com cálcio para estabilização dos níveis plasmáticos. A hipocalcemia precoce é mais frequente em recém-nascidos e decorre da exacerbação da queda do cálcio após o nascimento, estando relacionada a vários fatores oriundos de distúrbios da mãe, como o hipoparatiroidismo, diabetes, toxemia, baixa ingestão de cálcio durante a gestação. No entanto, na gestação o feto pode sofrer asfixia, prematuridade, sepse, desnutrição fetal, hipomagnesemia, ocasionando também hipocalcemia. O tratamento para hipocalcemia em RN pode ser por via oral ou endovenosa. O leite enriquecido por gluconato de cálcio ajuda no tratamento quando os níveis plasmáticos não conseguem se estabilizar (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011b).

2.4.2 Cobre

O cobre é um elemento representado pelo símbolo Cu, do latim *cuprum*, com número atômico 29 e massa atômica $63,6 \text{ g.mol}^{-1}$. É considerado um metal de transição presente no grupo XI-B. À temperatura ambiente se encontra no estado sólido.

O cobre pode ser utilizado para a produção de materiais condutores de eletricidade, como fios e cabos, fazendo parte também de algumas ligas metálicas como o latão, por exemplo.

No organismo humano participa na molécula da enzima SOD (Superóxido Dismutase), no citocromo oxidase, na tirosinase e na dopamina B-hidroxilase. Além de ajudar na absorção eficaz do ferro, o cobre é essencial para o aproveitamento da vitamina C. Possui também grande importância na conversão da tirosina em melanina, agindo como fator de pigmentação do cabelo e da pele. Participa na síntese da elastina e do colágeno, assim como nos hormônios T3, T4. Protege contra doenças cardiovasculares. Serve como antiinflamatório, é útil contra algumas formas de artrite e estimula a imunidade. Entretanto, seu teor em excesso, no organismo, causa a remoção da vitamina A, diminui a vitamina C, contribui para esquizofrenia, causa falhas no metabolismo da glicose no cristalino.

Contudo, a deficiência de cobre pode ocorrer alguns distúrbios, ocasionando doenças como a anemia microcítica hipocrômica, edema, problemas na estrutura óssea, piora da artrite reumatoide, agrava a síndrome de kwashiorkor, lesões pancreáticas, miocardiopatias, arteriosclerose, calvície, doenças no fígado, hipotireoidismo, diminuição da fertilidade, diarreia, alterações mentais progressivas, retardo no crescimento e desenvolvimento da criança (DOWDY; BURT, 1980).

2.4.3 Zinco

O zinco, nome originado do alemão, *Zink*, é um elemento químico de símbolo Zn, com número atômico 30 e massa atômica 65,4 g.mol⁻¹. Apresenta sua forma sólida à temperatura ambiente. É um metal com distribuição mais abundante no corpo humano, correspondendo de 1,5 a 2,5 g do peso ponderal (DUTRA-DE-OLIVEIRA; MARCHINI, 1998; MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2002). Este metal se encontra em grandes quantidades em todos os tecidos, especialmente na musculatura esquelética (57%), ossos (29%), pele (6%) e fígado (5%), além de estar presente também em secreções e fluidos corporais. O zinco é primariamente um íon intracelular (cerca de 80% se encontra no citosol e o restante no núcleo) que, ao contrário do ferro e do cobre, não sofre alteração na sua valência e, portanto, não está envolvido nas reações de óxido-redução, o que permite que este seja transportado e utilizado de forma mais rápida, além de não submeter o organismo a ações oxidativas prejudiciais (DUTRA-DE-OLIVEIRA; MARCHINI, 1998; HAMBIDGE, 1992).

Entre os efeitos da deficiência de zinco se destaca a redução da função imune. Esta situação é proveniente de uma redução do número total de leucócitos, principalmente linfócitos, tornando os indivíduos que padecem da deficiência de zinco mais sujeitos à ação de diversos patógenos, além de ter um período de recuperação mais longo. A deficiência de zinco está relacionada à atrofia de órgãos linfoides, com depleção progressiva dos linfócitos-T, atividade reduzida da timulina sérica e da ação citolítica das células T e NK (natural-killer), além de menor produção de interferon-g (IFN-g), de fator de necrose tumoral α (TNF- α) e de interleucina-2 (IL-2) (PRASAD, 1998; SALGUEIRO et al., 2000).

Um distúrbio causado por falta de zinco é conhecido como acrodermatite enteropática, ocorrendo em crianças em situações de baixa ingestão ou aumento da

perda intestinal de zinco. Um bom tratamento seria o enriquecimento do leite com sulfato de zinco (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011b).

2.4.4 Magnésio

O magnésio é um elemento químico do grupo dos metais alcalinos terrosos, família II-A, com símbolo Mg. Seu número atômico é 12 e com massa atômica 24,305 g.mol⁻¹.

Em várias composições, o magnésio pode ser usado na indústria como aditivos, propelentes e outros. Em algumas fórmulas, o hidróxido de magnésio (Mg(OH)₂), cloreto de magnésio (MgCl₂), sulfato de magnésio (MgSO₄) são empregados na medicina.

O Mg também é encontrado em alimentos como vegetais e cereais. Recentes pesquisas indicam o Magnésio como responsável por retardar o envelhecimento celular, além de ser responsável por inúmeras funções metabólicas intracelulares (HURIE et al., 1995).

A sua carência em organismos humanos pode causar várias disfunções como agitação, anemia, anorexia, ansiedade, hipertensão e hipotensão, insônia, náuseas, disfunções musculares, nervosismo, desorientação, alucinações, cálculos renais e taquicardia. Pois, a deficiência de magnésio pode causar endurecimento das artérias e calcificação das cartilagens, articulações e válvulas cardíacas, sua carência pode causar descalcificação nos ossos, a osteoporose, em virtude sua fixação com cálcio. Já seu excesso nutricional, pode causar rubor facial, hipotensão, fraqueza muscular, náuseas, insuficiência respiratória, boca seca e sede crônica (HURIE et al., 1995).

A hipomagnesemia neonatal frequentemente vem acompanhada de hipocalcemia, onde a carência pelo elemento magnésio pode causar um quadro clínico de tremores, irritabilidade, hiperreflexia e crises convulsivas. O tratamento consiste em usar 0,1 a 0,2 mL de sulfato de magnésio como enriquecimento de leite. E, a hipermagnesemia, sendo o oposto da deficiência por magnésio, requer um maior controle com recém-nascidos que ingerem doses diárias do elemento presente em leite ou fórmulas. Normalmente, hipermagnesemia é encontrada em neonatais descendentes de mães com quadro de toxemia gravídica (pré-eclâmpsia), quais utilizam sulfato de magnésio como forma de tratamento, elevando, portanto as

concentrações para o elemento traço, além de ser associada à oferta excessiva na nutrição parenteral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011b).

2.4.5 Manganês

O manganês, símbolo Mn, está inserido no grupo dos metais pesados, classificado como metal de transição, na família VII-B e massa atômica $54,938 \text{ g.mol}^{-1}$.

É um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre, estando distribuído em solos, sedimentos, rochas, água e materiais biológicos. Ele possui importante papel para o crescimento das plantas e em funções vitais dos animais superiores, além de ter também aplicações industriais relevantes.

A forma de exposições ocupacionais mais significativas do manganês ocorre pela transferência de massa pelo ar, através de fumos e poeiras, sendo o trato respiratório a principal via de introdução e absorção. Posteriormente, o manganês também pode ser absorvido ao longo de todo o intestino delgado quando veiculado na alimentação. A distribuição do manganês é grande nos tecidos e líquidos do organismo, principalmente onde a atividade das mitocôndrias é maior. O papel do manganês é considerável na medida em que ele ativa numerosas enzimas aplicadas em variados processos fisiológicos.

O manganês é um elemento que ocorre naturalmente e em pequenas quantidades é essencial para o ser humano. No entanto, quando presente no organismo em elevadas quantidades pode causar efeitos tóxicos a diferentes níveis, sendo os mais preocupantes no nível do sistema nervoso central. Essa exposição excessiva pode causar efeitos neurológicos ou neuropsiquiátricos, como alucinações, instabilidade emocional, fraqueza, distúrbios de comportamento e da fala, características de uma doença semelhante ao Mal de Parkinson, o Manganismo. Além desses distúrbios, causa alteração na expressão facial, tremores, ataxia, rigidez muscular e distúrbio da marcha (MARTINS, 2003).

No sangue, o manganês encontra-se principalmente nos eritrócitos. Em níveis mais elevados é possível encontrá-lo no fígado, conjugado aos sais biliares (HURIE et al., 1995).

O manganês também faz parte do metabolismo dos aminoácidos, lipídios, proteínas e carboidratos. Outra importância do manganês está na homeostasia.

2.4.6 Sódio

O sódio é um elemento químico de símbolo Na (Natrium em latim), de número atômico 11 e massa atômica $22,98 \text{ g.mol}^{-1}$. É um metal alcalino da família I-A.

O sódio é um elemento encontrado sob várias formas na natureza, como por exemplo, cloreto de sódio (NaCl) extraído do sal marinho. Apresentam também várias combinações como carbonato de sódio (Na_2CO_3), hidróxido de sódio (NaOH), nitrato de sódio (NaNO_3) e outros compostos que possuem um grande valor industrial e comercial.

Os íons de sódio, paralelamente com o potássio e outros íons, são importantes para a correta função dos neurônios e de diversas outras células animais. O sódio é o principal cátion do líquido extracelular, estando em um gradiente de concentração maior do que no líquido intracelular. Essa diferença de concentração se deve principalmente à existência da bomba de sódio e potássio, e são esses dois eletrólitos os maiores responsáveis pelo potencial de ação celular em animais. Um distúrbio do metabolismo do sódio é conhecido como hiponatremia devido ao comprometimento da função da bomba de sódio e potássio, onde a concentração de sódio plasmático se encontra menor do que 135 mEq/L , sendo uma disfunção agravante para neonatais prematuros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011b).

2.4.7 Cádmi

O elemento químico cádmio, com símbolo Cd, possui número atômico 48 e massa atômica igual a 112,4 unidades de massa, sendo encontrado à temperatura ambiente no estado sólido. Ele, normalmente, é substituído nos minerais pelo zinco, devido à semelhança química. O cádmio é geralmente obtido como subproduto da obtenção do zinco. A concentração em organismos vivos se dá por estar presente em todos os alimentos e bebidas, mas, encontra-se mais concentrado em mariscos, ostras e peixes de água salgada, alguns tipos de chá e em fumaça de cigarro. E, segundo Guimarães (1967) o cádmio solúvel se acumula preferencialmente em macroinvertebrados, fito e zooplâncton e em peixes.

O cádmio também é considerado o segundo metal em fabricação de embalagens de ferro, com pequenas concentrações para dar maior resistividade.

O excesso de concentrações de cádmio pode causar intoxicação aguda ao corpo humano, sendo que seus efeitos mais marcantes são os distúrbios gastrointestinais (dores abdominais, náuseas e vômitos) e paralisia renal.

A ingestão de cádmio pode causar fibrose e edema pulmonar, enfisema pulmonar, doenças renais como proteinúria e glicosúria, hipertensão arterial sistêmica, diminuição da produção de anticorpos, anemia e diminuição da testosterona (MIGUEL, 2008).

Os riscos para a saúde são maiores quando há inalação desta espécie a partir de fontes ocupacionais e esta resulta diretamente em lesão pulmonar. Assumindo uma inalação diária de 20 m³ de ar e que a concentração é similar em ambientes fechados e abertos, a quantidade média de cádmio inalado por dia por um ser humano na zona rural, urbana ou industrializada não deve exceder 0,01, 0,2 e 0,4 µg, respectivamente. A deposição do cádmio inalado nos pulmões varia de 10% a 50% dependendo do tamanho das partículas no ar. A absorção do cádmio nos pulmões também vai depender da natureza química da partícula depositada. O tabagismo pode representar uma fonte adicional de cádmio que pode ser igual ou maior que a da dieta (WHO, 1999).

Porém, o cádmio pode ser interferido com a absorção de cobre, zinco, ferro e cálcio, reduzindo os níveis desse elemento traço. Assim como também o contrário poderá acontecer na absorção dos outros elementos, já que o zinco e cádmio são antagônicos, por exemplo.

2.4.8 Ferro

O ferro é um elemento químico com símbolo Fe. Ele tem número atômico 26 e massa atômica 55,845 g.mol⁻¹. Seu nome tem origem do latim, *ferrum*. É extraído da natureza sob a forma de minério de ferro que, depois de passado para o estágio de ferro-gusa, através de processos de transformação, é usado na forma de lingotes. Adicionando-se carbono dá-se origem a várias formas de aço.

O ferro é classificado como metal de transição sendo encontrado na tabela periódica no grupo VIII-B.

O metal combinado a outros íons, na natureza faz parte da composição de vários minerais como a hematita (Fe₂O₃), a magnetita (Fe₃O₄), a limonita (FeO(OH)),

a siderita (FeCO_3), a pirita (FeS_2) e a ilmenita (FeTiO_3). Além de ser apresentado na forma de óxido de ferro II (FeO), ou óxido ferroso.

As ligas formadas por ferro são de grande importância industrial como a liga de aço, derivados de ferro e carbono, em baixa concentração.

Os cientistas English e Bennett (1996) denotam que existem evidências de que a deficiência de ferro pode causar problemas de saúde, mesmo não havendo um quadro clínico de anemia. A função básica do ferro no organismo é o transporte do oxigênio. Parece pouco, mas a deficiência de ferro em crianças está associada ao aumento da mortalidade e suscetibilidade às infecções, pois essa deficiência diminui a resistência imunológica.

2.4.9 Chumbo

O elemento químico chumbo, do latim *plumbum* é representado na tabela periódica pelo seu símbolo Pb, na ordem de número atômico 82 e massa atômica igual a 207,2 unidades de massa. Esse elemento é encontrado na forma sólida na temperatura ambiente.

No século XVI, Georgius Agricola, em “De Re Metallica”, descreveu o chumbo como um metal “mortal e nocivo”. Em 400 a.C., Hipócrates descreveu uma doença a qual chamou de saturnismo, com sintomas que iam de cólica a paralisia, que foi contraído por homens que trabalhavam com chumbo (REILLY, 1991).

O chumbo está presente no ar, no tabaco, nas bebidas e nos alimentos, nestes últimos, naturalmente, por contaminação e na forma de acondicionamento ou por métodos de fabricação que acabam em futuras contaminações. Esse elemento traço está presente na água devido às descargas de efluentes industriais como, por exemplo, os efluentes das indústrias de acumuladores (baterias), bem como devido ao uso indevido de tintas e tubulações e acessórios à base de chumbo. Constitui toxicidade acumulativa, provocando um envenenamento crônico denominado saturnismo, que consiste em efeito sobre o sistema nervoso central com sérios distúrbios. Após a absorção do mineral em questão, a corrente sanguínea é alcançada, sendo, então, distribuído primeiramente para os tecidos moles, especialmente no epitélio dos túbulos renais e fígado, com parte excretada juntamente com a bile; uma segunda parte é armazenada, enquanto uma terceira

penetra na circulação na forma de fosfato de chumbo. Posteriormente, este último será redistribuído para o organismo, sofrendo deposição nos ossos, dentes e cabelo.

Esses metais pesados atingem o organismo humano por absorção da água, do ar e do sedimento, tendendo a se acumular na biota aquática. Alguns metais são acumulados ao longo da cadeia alimentar, de tal forma que os predadores apresentam as maiores concentrações. No entanto, os invertebrados são os organismos que apresentam concentrações mais elevadas. O chumbo e o cádmio solúvel se acumulam preferencialmente em macroinvertebrados, fito e zooplâncton e em peixes. Em outras obtenções do elemento chumbo temos por alimentos e bebidas, devido seus acondicionamentos e métodos de fabricação (ROUGEMONT, 2007).

Contudo, o elemento chumbo, em altas concentrações, pode causar transtornos no desenvolvimento neurológico. Pois, um dos estudos relacionados a Autismo demonstra altas concentrações por absorção de metais pesados (LATHE, 2006), entre eles está à presença de chumbo em crianças, prejudicando o desenvolvimento neurológico.

O estudo de Lathe (2006) descreve também como a análise investigativa de metais no organismo humano pode auxiliar em um diagnóstico precoce para contaminações pelo metal pesado, podendo tratar e evitar futuros problemas do sistema nervoso central.

2.4.10 Potássio

O metal potássio representado pela simbologia K, tem seu nome com origem do latim "*kalium*", devido a sua base de hidróxido de potássio (KOH). Seu número atômico 19 e sua massa atômica $39,098 \text{ g.mol}^{-1}$, sendo classificado como metal alcalino na família I-A. O potássio, combinado formando sais, apresenta várias fórmulas como, por exemplo, brometo de potássio (KBr), cianeto de potássio (KCN), iodeto de potássio (KI) e o sulfato de potássio (K_2SO_4), com altos valores comerciais.

Para a indústria, o potássio ligado à hidroxila (KOH) tem um importante papel na indústria, como em produtos de higiene e beleza. No entanto, no ramo dos fármacos, o cloreto de potássio (KCl) é utilizado para fazer provocar parada cardíaca em injeções letais.

Igualmente como o sódio, o potássio participa da bomba de sódio e potássio. Ao inverso dos íons de sódio, as concentrações de íons potássio (K^+) são mais altas dentro da célula do que no seu exterior, para possibilitar a transmissão do impulso nervoso. A diminuição do nível de potássio no sangue provoca hipopotassemia (RIELLA, 2003).

2.4.11 Fósforo

O fósforo, da família V-A, com símbolo P, pois do grego *phosphorus*, que significa portador de luz. Possui número atômico 15 e massa atômica igual a 30,97 g.mol⁻¹. Porém, o elemento mesmo com toda sua importância nutricional não fez parte dos testes de análises.

O elemento está presente em todas as membranas celulares do organismo e sua principal corrente de energia das células contém uma ligação de fosfato de alta energia. Parte dessa energia é utilizada no metabolismo dos glicídios. Participa também da estrutura dos ossos e dentes, dando-lhes maior solidez, atua na contração muscular e entre outras funções.

A deficiência de fósforo pode causar hipofosfatemia, ocasionando dor óssea, osteomalácia, pseudofraturas, miopatias, hipoparatiroidismo, resistência à insulina, acidose metabólica, hipocalciúria, delírio, perda de memória e taquicardia. Já o excesso de fósforo causa hiperfosfatemia, trazendo parestesias de extremidades, confusão mental, sensação de peso nas pernas, hipertensão. Cristais de fosfato podem bloquear artérias, levando à arteriosclerose, derrames, ataque cardíaco e má circulação sanguínea (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

2.5 Nutrição da Mãe

Barros, Marin e Abrão (2002) referem que a mãe, para cumprir sua função nutricional, passa por transformações durante a gravidez e após o parto, a fim de se tornar capaz de produzir, armazenar e liberar os constituintes do leite. Durante o pré-natal, um fator de grande contribuição para se evitar doenças de formação e até mesmo nutrição do feto é relacionado com a uma alimentação saudável. Evitar álcool, fumo e outros tipos de drogas podem prevenir cargas excessivas de metais que prejudiquem o sistema imune de um RN.

Segundo Casas et al. (2000) uma das principais razões pela qual o efeito do aleitamento materno no desenvolvimento de alergias permanece ainda em discussão deve-se à complexidade da interação entre leite materno, *milieu* intestinal e sistema imune. Alguns elementos do leite materno têm papel protetor contra o desenvolvimento de alergias, enquanto outros atuam sensibilizando. Mesmo um baixo nível de exposição da mucosa, como a alérgenos inalatórios, pode induzir à secreção de anticorpos no leite materno, tanto de mães alérgicas como não alérgicas.

3 FORMULAÇÃO DO PROBLEMA

O leite humano é um dos principais alimentos que auxiliam no desenvolvimento do organismo, sendo um excelente fator nutritivo para o crescimento de tecidos e organismos em geral. Esse valor nutritivo está ligado diretamente aos seus componentes químicos e biológicos. Por isso, muitos hospitais utilizam bancos de leite para o tratamento de recém-nascidos prematuros ou para descendentes de mães com baixa produção do laticínio. Outro problema é o nascimento de humanos desnutridos com carências específicas, necessitando de uma carga maior de um determinado componente nutritivo, para seu desenvolvimento. Porém, os leites oriundos de bancos de leites não sofrem investigação de componentes químicos, impossibilitando um tratamento específico para o enriquecimento de uma alimentação balanceada ao ser humano. Vale ressaltar que as análises de rotina realizadas em bancos de leites são apenas microbiológicas. No mais, a inserção de novas metodologias, com o objetivo de componentes químicos, em bancos de leite pode auxiliar na seleção desses leites, para serem inseridos diretamente em tratamentos específicos com carência nutritiva, evitando doenças e outros fatores clínicos degradantes, relacionados à falta de algum elemento traço no organismo humano.

4 JUSTIFICATIVA

A química alimentar é um campo do conhecimento no qual se estuda a química do processamento de alimentos e as interações de seus componentes biológicos e não biológicos. Esses estudos são baseados em princípios de físico-

química, química orgânica, química analítica e bioquímica, enfatizando os conceitos químicos necessários para estabelecer as relações entre composição química e as suas propriedades funcionais. No mais, é do conhecimento científico que todo organismo vivo é constituído por elementos químicos e biológicos. Portanto, a necessidade de se obter maior interatividade entre uma boa qualidade de vida e uma nutrição correta, depende principalmente dos primeiros anos de vida, onde a formação do organismo depende da constituição de seus tecidos e a devida funcionalidade correspondente a cada elemento.

Enfim, a utilização de métodos e análises de metais nas amostras de leites humanos oferece a melhoria e o aperfeiçoamento das técnicas relacionadas ao controle de qualidade e um eficaz tratamento para recém-nascidos que necessitem de uma nutrição específica, evitando assim doenças neonatais ou que possam ser adquiridas a termo. Vale ressaltar que a investigação de elementos traços por absorção atômica é um método eficaz para validação de testes, quais podem auxiliar no avanço tecnológico no ramo da saúde. As análises investigativas para seus constituintes contribuirão para selecionar cada leite rico com determinado elemento químico, destinando-o ao seu devido tratamento.

5 OBJETIVO GERAL

Avaliar a presença de metais em leite humano oriundo do Banco de leite do Estado do Amapá, com intuito de se realizar interpretações quantitativas e qualitativas.

5.1 Objetivos Específicos

- a) efetuar o comparativo de amostras de leite humano baseado nos métodos dos procedimentos de leites comerciais;
- b) identificar os valores dos teores de elementos traços de acordo com a literatura;
- c) verificar a potencialidade do método Absorção Atômica para poder ser utilizado em banco de leite.

6 METODOLOGIA

6.1 Amostras

Foram selecionadas amostras de leite comercial tipo longa vida, integral e desnatado, adquiridos em mercados da cidade local, que possuíam em seu rótulo o teor de cada metal componentes do mesmo. Esse quantitativo serviu para perceber o nível de calibração do equipamento, Absorção Atômica – Shimadzu, AA-6300, utilizado no processo de investigação, determinando o qualitativo do produto.

As amostras de foram coletadas em frascos herméticos, acondicionadas em cuba térmica e conduzidas ao laboratório. Os resultados de todas as amostras mesmo as comerciais foram comparados com os resultados da literatura.

As amostras de leite *in natura* humano foram cedidas pelo Banco de Leite do Estado do Amapá. A liberação das amostras foi submetida à apreciação do Comitê de Ética do Banco de Leite do Hospital Mãe Luzia, conforme cópia em anexo. Estas as amostras não foram identificadas por dados pessoais, nem localização de endereços, para a devida preservação de identidade das doadoras, seguindo as recomendações do próprio Banco de Leite. Porém, é conhecido que a doação é originada a partir de quatro zonas do Estado do Amapá, quais abastecem o Banco. Neste estudo foi escolhida a exposição das amostras da seguinte forma, os leites doados em estudo estão identificados por números de 1 a 64, divididos em quatro zonas de residências distintas do Estado do Amapá, identificadas pelas letras A, B, C e D.

A coleta das amostras foi feita em recipientes isotérmicos, hermeticamente fechados, destinadas ao Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), para a realização das análises químicas.

6.2 Preparo das Amostras

Colocaram-se 3,00 mL de cada amostra de leite, todos em triplicata, em cápsula de porcelana. Depois a amostra foi seca em chapa de aquecimento e posteriormente incinerada em forno mufla a 450°C por 3 horas até a formação de cinzas brancas. As cinzas foram dissolvidas em 2,5 mL de ácido nítrico concentrado

e transferidas quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água bidestilada.

Os brancos analíticos foram preparados pelo mesmo procedimento sem a adição da amostra.

Foi utilizado peróxido de hidrogênio para o clareamento das amostras mais escuras e posteriormente filtradas, para retirar as micropartículas resultantes da incineração.

6.3 Soluções de Referência

As soluções de referência dos metais Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Na, Cd, Fe, K e Pb, dispostas em ordem de análise, foram preparadas em béqueres com HNO₃ a 0,9 mol/L e CFA-C 10% v/v (pH = 8), para paramentar os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ).

6.4 Reagentes e Soluções

Os reagentes e soluções utilizados foram:

- a) ácido Nítrico (HNO₃);
- b) padrões de solução de Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Na, Cd, Fe, K e Pb;
- c) água bidestilada;
- d) peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

6.5 Instrumentação

O equipamento da investigação de qualificação e quantificação dos elementos foi o Espectrofotômetro de Absorção Atômica por Chama da marca Shimadzu com modelo completo AA-6300 (figura 04).

Figura 04 - Espectrofotômetro de Absorção Atômica – Shimadzu, AA-6300.



Fonte: AAS Princípios e Instrumentação - CSC - Shimadzu Brasil. 2007.

O processo iniciou-se com a abertura da válvula de pressurização de gás, para o equipamento. Depois, foi feita a abertura do programa de operação para fazer o “check list” da máquina. Em seguida, selecionou-se o elemento como parâmetro. E, verificou-se o tipo de lâmpada catódica compatível com o mesmo elemento em análise. Considerando, também, os comprimentos de onda, a corrente elétrica das lâmpadas e a resolução espectral de cada elemento. Outro item verificado foi a plataforma, colocando-a no mesmo nível da emissão do feixe de luz.

Enfim, selecionam-se no “software” os tubos com as amostras de referência para se criar uma curva padrão. Após a padronização, iniciou-se a leitura nos tubos com os analitos do trabalho, para quantificação da concentração dos elementos e posterior análise dos resultados.

Cada teste que o equipamento faz, retira cerca de 0,2 mL para completar a análise dos elementos. De forma geral foram 64 tubos para leite humano.

Todos os resultados foram apresentados em forma de tabela do próprio software do equipamento, em concentrações de parte por milhão para cada elemento traço do leite analisado, totalizando dez elementos para cada leite.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a execução dos testes por absorção atômica os resultados foram analisados de forma independente para cada caso. A estatística aplicada foi meramente com intenção comparativa para avaliar quantitativamente e qualitativamente as concentrações componentes de cada amostra de leite. As

análises estatísticas foram realizadas com auxílio da ferramenta BioEstat 5.0, com modelos estatísticos de Teste-t, verificando a Hipótese nula (H_0) que os resultados da quantificação sejam iguais, ou para a Hipótese alternativa (H_1) com que os resultados fossem diferentes. Isso, para demonstrar melhor curacidade dos testes. A diferença para as análises foi entre as amostras com menores e maiores teores de concentração dos elementos traços. A análise dos resultados também foi comparada a outras literaturas, para leites humanos, de vaca, assim como os limites de metais permitidos em alimentos por legislação vigente.

8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises laboratoriais foram realizadas com 64 amostras de leites humanos e comercial, para aumentar a confiabilidade dos testes. As identidades das doadoras e residências, como já mencionadas, foram preservadas mediante normas do próprio Banco. No entanto, após a execução dos testes, a análise dos resultados foi de forma comparativa com a literatura e descritiva com relação aos padrões encontrados para cada leite, além de verificar a importância do método investigativo por Espectrofotômetro de Absorção Atômica para o controle de qualidade em Bancos de Leite.

O método utilizado analisou as concentrações dos elementos químicos Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Na, Cd, Fe, K e Pb para ambas amostras. E, a análise dos resultados foi dividida em quatro zonas de A a D, somando 16 amostras para cada zona, seguindo a padronização citada no item 6.1. As zonas fazem alusão aos endereços das doadoras.

O quantitativo de amostras foi respeitado até chegar à equivalência de 16 amostras para cada zona, subsequente a liberação do banco de leite até atingir o quantitativo de 64 amostras. Vale mencionar que as coletas doadas foram apenas sobras não destinadas à amamentação de recém-nascidos no hospital, não prejudicando, portanto, o regular abastecimento do mesmo, pois, como citado na metodologia, foram necessários apenas 3 mL para cada amostragem.

Contudo, gráficos foram criados a partir de tabelas contendo os teores dos metais, interpretados por análises estatísticas demonstrando a diferença de nutrição entre todos os leites. Esses gráficos informam então a quantificação de todas as amostras em relação às suas concentrações, qualificando cada leite analisado.

Em geral foram estudados dez elementos químicos para 64 amostras, cruzando uma matriz de 640 análises, além de mais duas confirmativas, ou seja, triplicata, aumentando para 1920 testes.

As unidades das concentrações dos analitos, resultante das análises foram em parte do analito por milhão (ppm) da solução de cada leite.

Os testes estatísticos executados para comparativos dos resultados foram executados em planilha do Excel 2010, do programa computacional Microsoft Office 2010, juntamente com o auxílio do programa BioEstat 5.0. E, inicialmente foram observados os resultados estatísticos descritivos, para dar início à fundamentação e considerações teóricas, surgindo, por conseguinte outras análises estatísticas, como já citado no item 7.

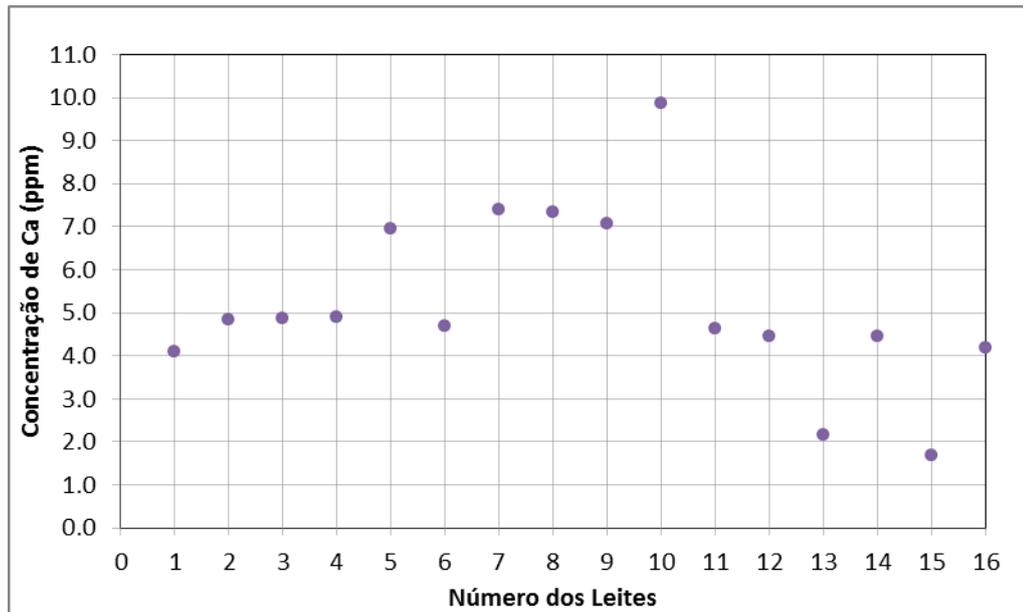
As discussões dos resultados estão divididas por elemento químico seguindo a ordem analisada em laboratório, com o respectivo número dos leites doados, e a respectiva correspondência à zona de residência da mãe doadora do Estado do Amapá. A tabela com todos os resultados estão dispostas nos anexos do trabalho.

8.1 Análise do elemento químico cálcio

O teor de cálcio entre todas as amostras variou de 0,8676 ppm ao máximo de 9,8593 ppm.

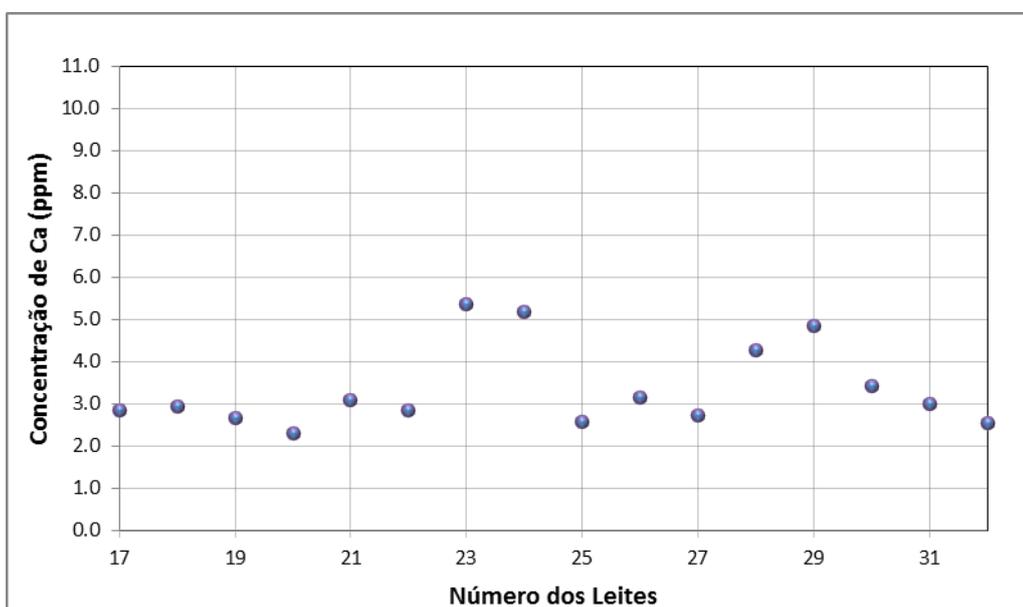
Observa-se que para as concentrações de cálcio, os leites de número 10 e 34 tiveram os maiores valores, da Zona A (figura 05) e Zona C (figura 07), respectivamente. Mesmo levando em consideração esses extremos, considerando o baixo valor do leite número 47, da Zona C, a média aritmética entre todas as concentrações analisadas para cálcio foi de 3,9853 ppm, sendo um bom resultado para as concentrações de cálcio em leite materno, comparando-se com outros estudos de teores de leite.

A maior concentração de cálcio está explicitada pelo leite de nº 10, conforme a figura 05, com 9,8593 ppm, provindo da Zona A. Esse elevado teor de cálcio é muito importante para alimentação de lactentes que nascem com hipocalcemia, pois o inserindo como parte da nutrição de um recém-nascido, pode salvar sua vida elevando seus níveis de concentrações plasmáticas, podendo também evitar outras doenças como a tetania e o laringoespasma.

Figura 05 - Concentrações de Ca da Zona A

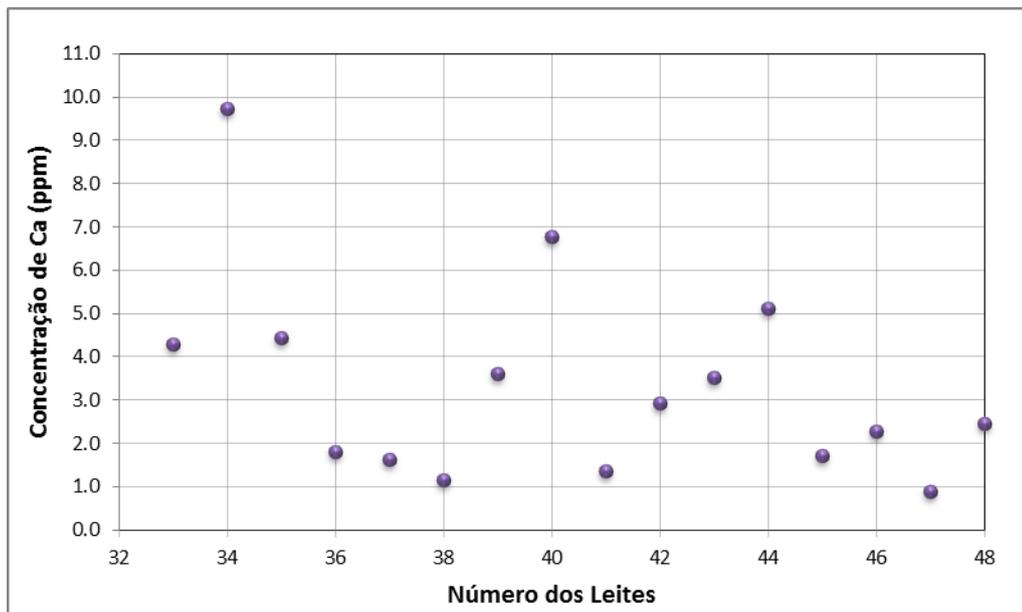
A média entre as amostras da Zona A foi de 5,2264 ppm. Entretanto, a variância da Zona A foi de 4,2272, sendo um valor bastante alto, devido a concentração máxima de cálcio de 9,8593 ppm e o mínimo de 1,6890 ppm.

Os leites da Zona B (figura 06) demonstram um gráfico com vários desvios, também com ótimos teores nutritivos. A média aritmética foi de 3,4011. Na qual a mediana 2,9665 ppm e a variância é de 1,1624. O valor da variância foi o mais baixo entre todas as regiões, denotando na figura 06 apenas alguns desvios entre os leites de número 23, 24 e 29, quais passam do patamar 4,5 de concentração de cálcio.

Figura 06 - Concentrações de Ca da Zona B

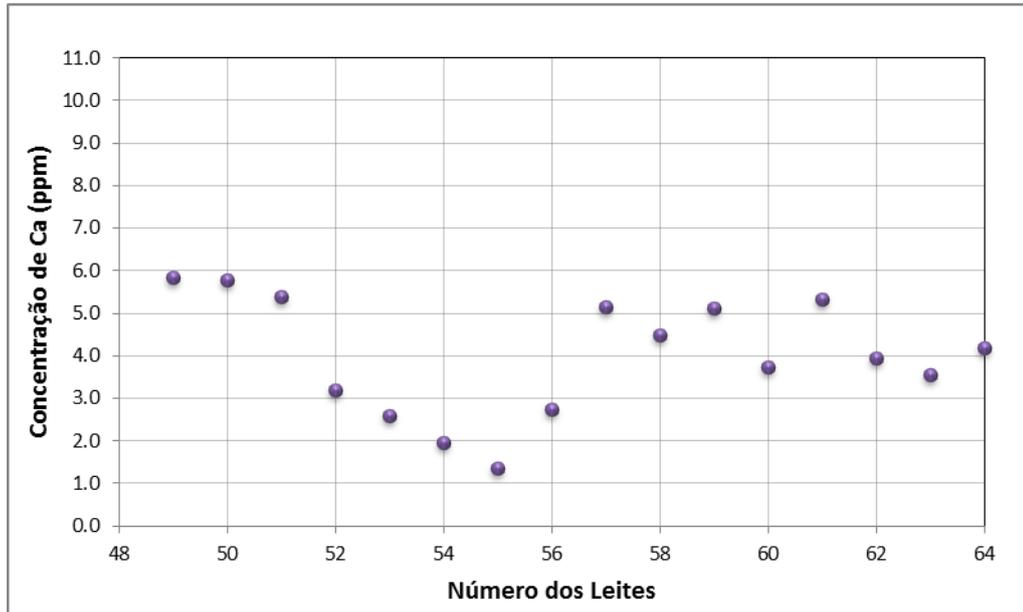
Os teores dos leites da Zona C demonstram uma média com o valor de 3,3445, sendo compreendido entre o mínimo de 0,8676 ppm e com o máximo de 9,7244 ppm, para os de números 47 e 34, respectivamente. A disparidade dos teores de cálcio variou bastante, pois analisando estatisticamente a variância 5,5243, sendo a maior de todas as variâncias entre as Zonas de origem das amostras.

Figura 07 - Concentrações de Ca da Zona C



O leite número 47 (figura 07) apresenta uma preocupante baixa de cálcio, qual não ajudaria muito na nutrição de um recém-nascido, prejudicando ainda mais em um tratamento para hipocalcemia. Caso clínico que poderia muito bem ser atenuado com a inserção do leite de número 34, na nutrição dessa criança.

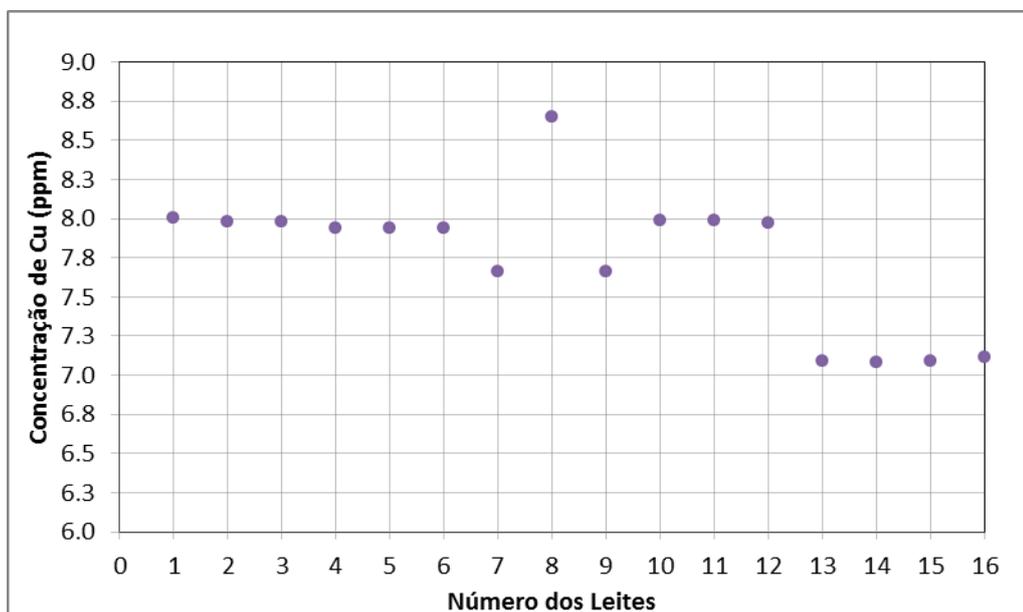
A figura 08 apresenta todos os valores das doações da Zona D, com uma média aritmética de 4,0110, sendo a segunda maior média de todos os teores de cálcio dentre todas as regiões. Além disso, a variância das concentrações de cálcio da Zona D é a segunda menor de todas as amostras, com um quantitativo de 1,9149. Portanto, mantendo-se um tratamento para carência de cálcio, provavelmente se obteria êxito na dieta por esses leites.

Figura 08 - Concentrações de Ca da Zona D

A figura 08 também nos informa que a maioria das concentrações está entreposta no intervalo que compreende de 3 até 6 ppm. Fato que elevou a qualidade desses leites com relação ao teor de cálcio.

8.2 Análise do elemento químico cobre

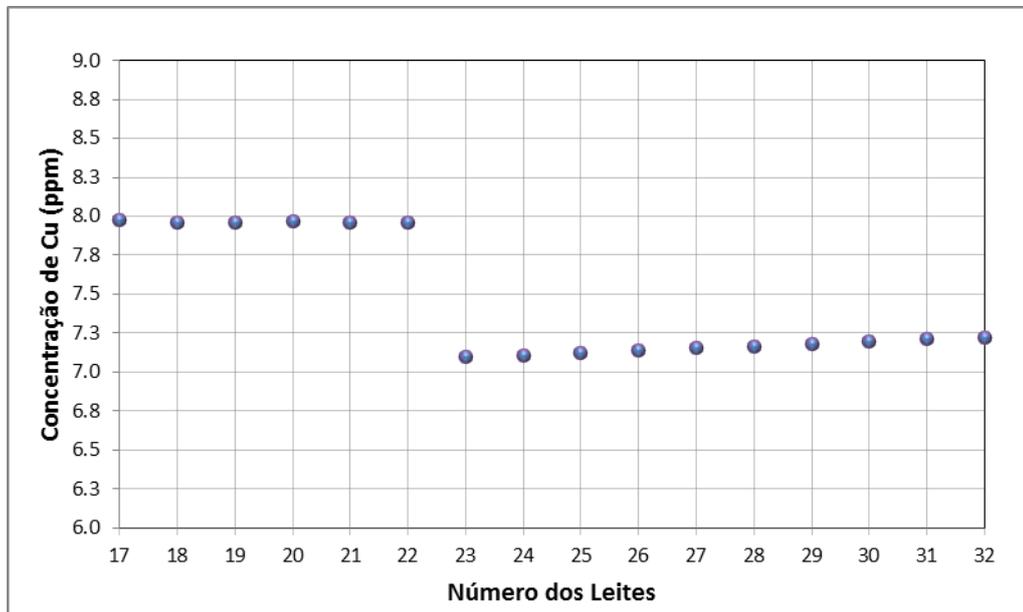
Os limites de concentração, para o elemento cobre presentes nas amostras da Zona A, figura 09, estão compreendidos entre os limites de 5,3845 e 7,8948 ppm.

Figura 09 - Concentrações de Cu Zona A

Podemos manter um tratamento adequado para carência de cobre pelos leites compreendidos entre 1 e 12, pois os de número 13 a 16 estão com concentrações um pouco abaixo, mesmo assim servem para auxiliar na recuperação do nível de cobre no organismo, como, por exemplo, para um diagnóstico de anemia microcítica hipocrômica.

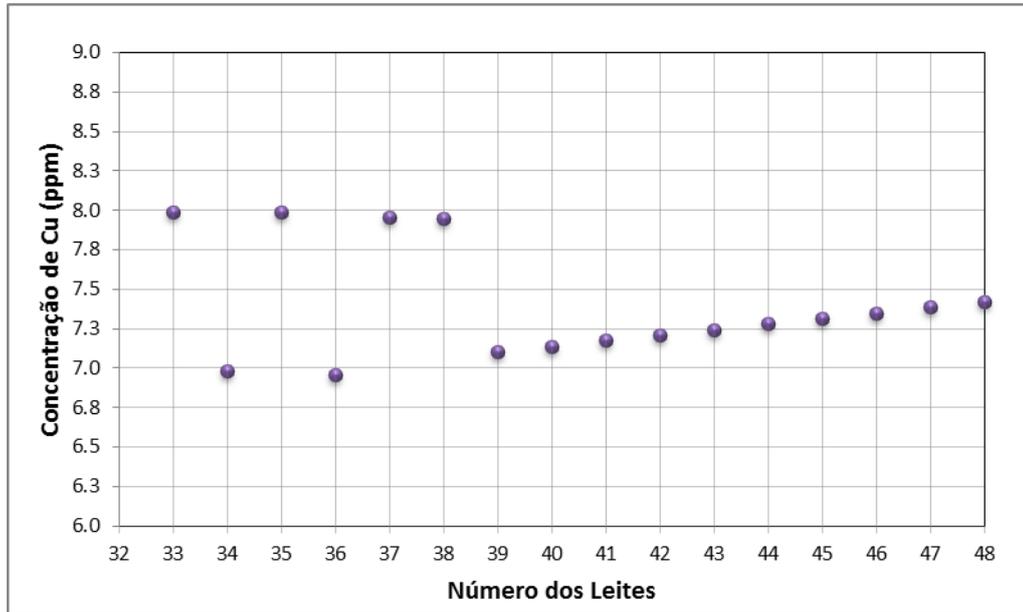
Na figura 10 a variação de cobre é muito pequena no valor de 0,1629. Variância muito baixa, compreendida entre as concentrações de 7,0944 e 7,9776 ppm.

Figura 10 - Concentrações de Cu Zona B



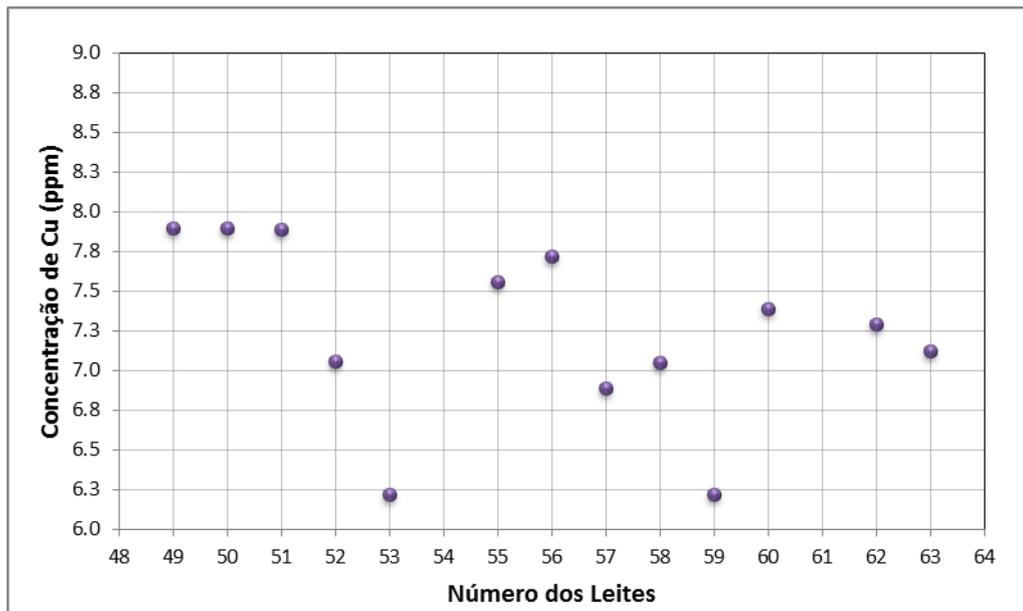
As concentrações de cobre da Zona C, observando o gráfico na figura 11, visualmente demonstra uma grande variação, porém em termos estatísticos a variância é de 0,1312, sendo um quantitativo descritivo muito pequeno, para mínimo de 6,9546 e máximo de 7,9891 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cobre.

Figura 11 - Concentrações de Cu Zona C



Em contraposição, os valores de cobre da Zona D, figura 12, são menores do que da figura 11, Zona C. Pois, através de um tratamento estatístico se observa que os leites da Zona C possuem uma variância de 0,1312 e o da Zona D temos uma variância de 0,7143, o que nos submete preferencialmente a escolha de leites de mães doadoras da Zona C.

Figura 12 - Concentrações de Cu Zona D

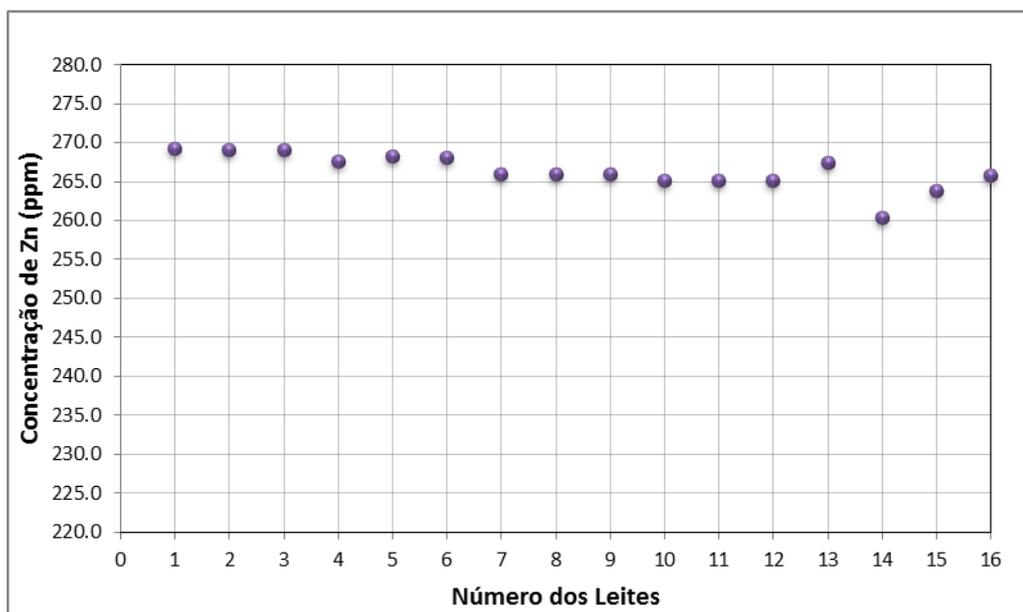


Portanto, para uma dieta a base de cobre, a média de leites da Zona A, em ênfase o de número 8, com 8,6485 ppm do teor do elemento, seria bastante indicado para o tratamento específico a carência do elemento traço, evitando, por exemplo, futuras doenças cardiovasculares.

8.3 Análise do elemento químico zinco

A avaliação para os leites com elementos traços de zinco demonstra uma proporção bem mais alta do que para as concentrações de cobre, com uma diferença relativa de 200 ppm entre a maior concentração de cobre e a maior concentração de zinco, com um coeficiente de variação de aproximadamente 134%. Porém, a presença de zinco é bem mais comum por ser abundante no corpo humano.

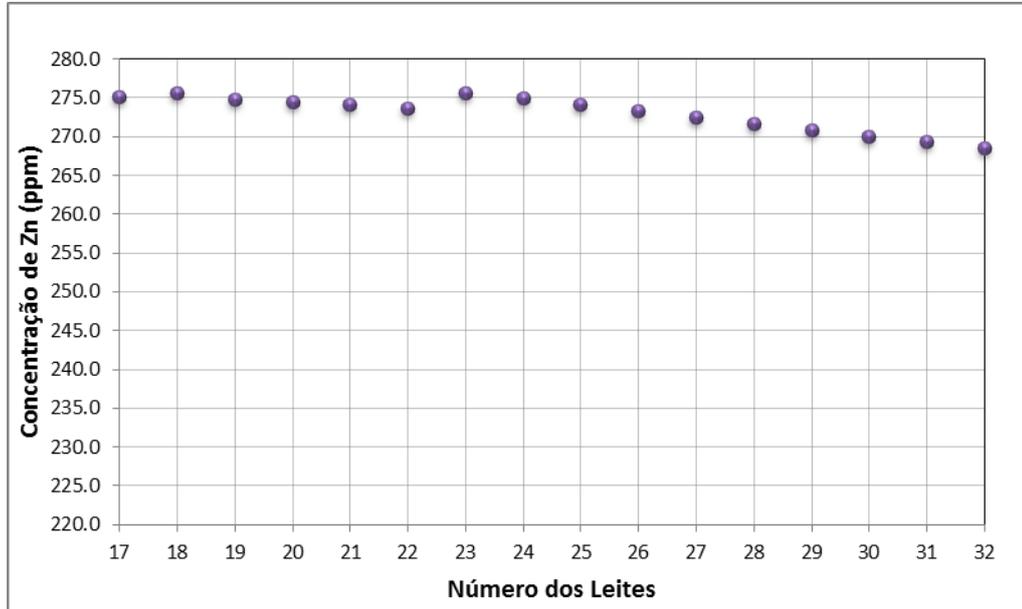
Figura 13 - Concentrações de Zn Zona A



A média dos teores de zinco na Zona A é de 266,3279 ppm, compreendida entre o mínimo e máximo, 260,3976 e 269,2184 ppm, respectivamente. São valores que podem fazer parte de quaisquer dietas relacionadas a carências do elemento. Na figura 13, observa-se apenas o leite nº 14, com nível bem mais baixo entre os outros do grupo, mas mesmo assim com grande valor nutricional.

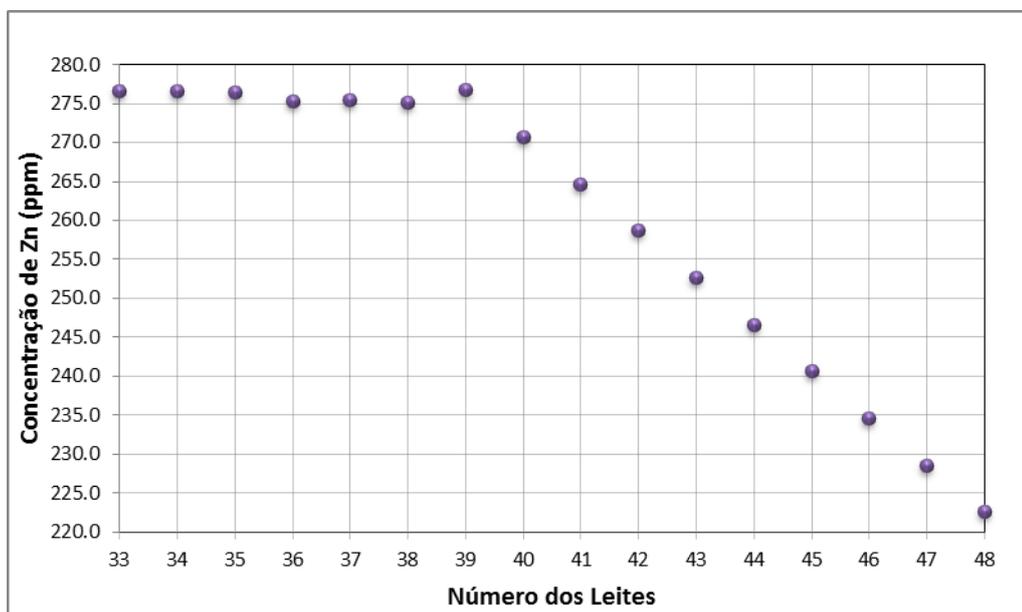
A visibilidade de teores de zinco da Zona B, da figura 14, transcreve apenas um desvio de 2,3, uma pequena variação entre todos os leites da mesma Zona.

Figura 14 - Concentrações de Zn da Zona B



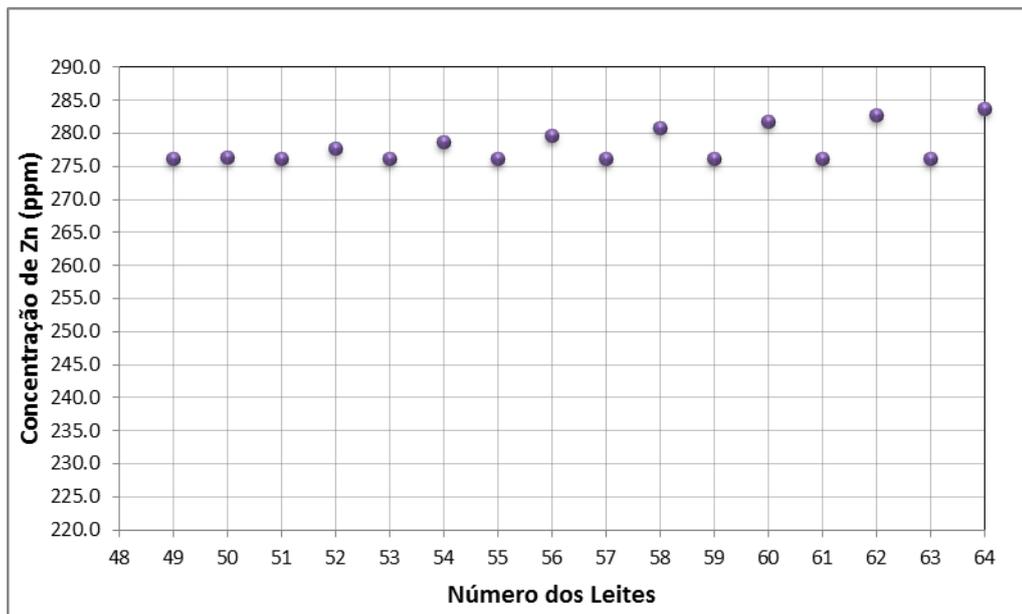
Analisando os resultados dos leites da Zona C, figura 15, observa-se maior alteração no gráfico, com um declive considerável entre o leite de número 39 até o número 48. A média da Zona C é a menor entre todos os outros leites, com teores compreendidos de 222,5033 até 276,6923 ppm, valor que está abaixo da média das concentrações da Zona D (figura 16), que contem maiores valores nutritivos.

Figura 15 - Concentrações de Zn Zona C



O maior valor nutritivo para o elemento zinco está selecionado entre os leites da Zona D (figura 16), com uma média de 278,1444 ppm de concentração, e um máximo de 283,6643 ppm. Leite que poderia ser eficaz em um tratamento específico para aumentar a imunidade de um prematuro. Todavia, mesmo com a aproximação do gráfico o coeficiente de variação foi de 0,96%, um dos mais baixos para o elemento traço.

Figura 16 - Concentrações de Zn Zona D



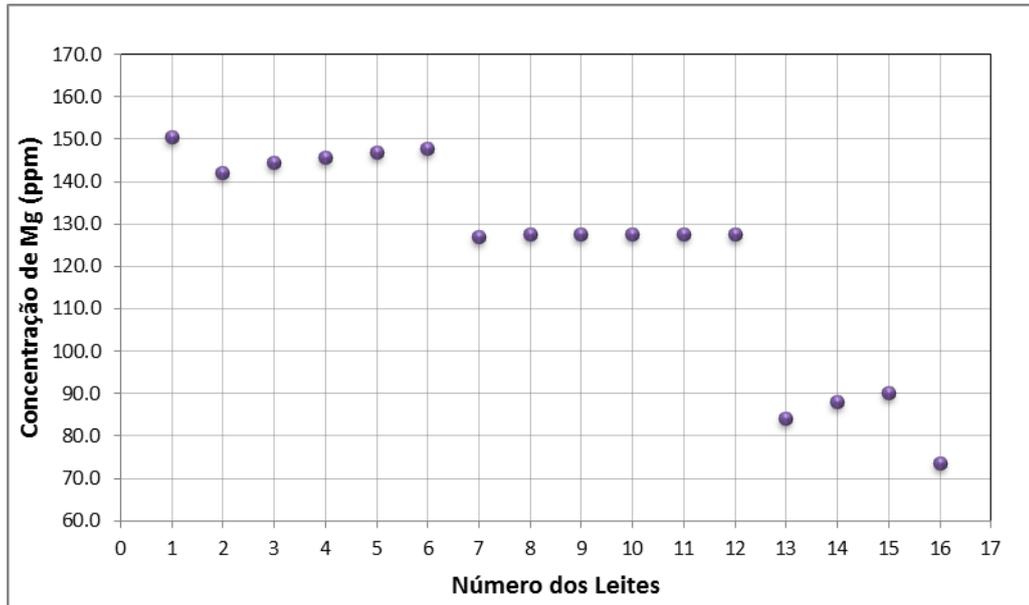
Totalizando e juntando as amostras para a concentração de zinco, constata-se que entre o mínimo e o máximo, 222,5033 ppm e 283,6643, respectivamente, obteve-se uma diferença significativa com um desvio de 12 aproximadamente. Denotando ainda mais a importância da seleção do leite, para melhor enquadrá-lo a um tratamento definido por um determinado diagnóstico de um neonatal, melhorando assim na eficácia do tratamento.

8.4 Análise do elemento químico magnésio

O magnésio é um importante elemento constituinte responsável por inúmeras funções metabólicas intracelulares. Por isso, a investigação por magnésio em leite humano pode ser determinante para um tratamento enriquecido por esse elemento. E, visualizando a figura 17, nota-se que os leites da Zona A sofreram alterações,

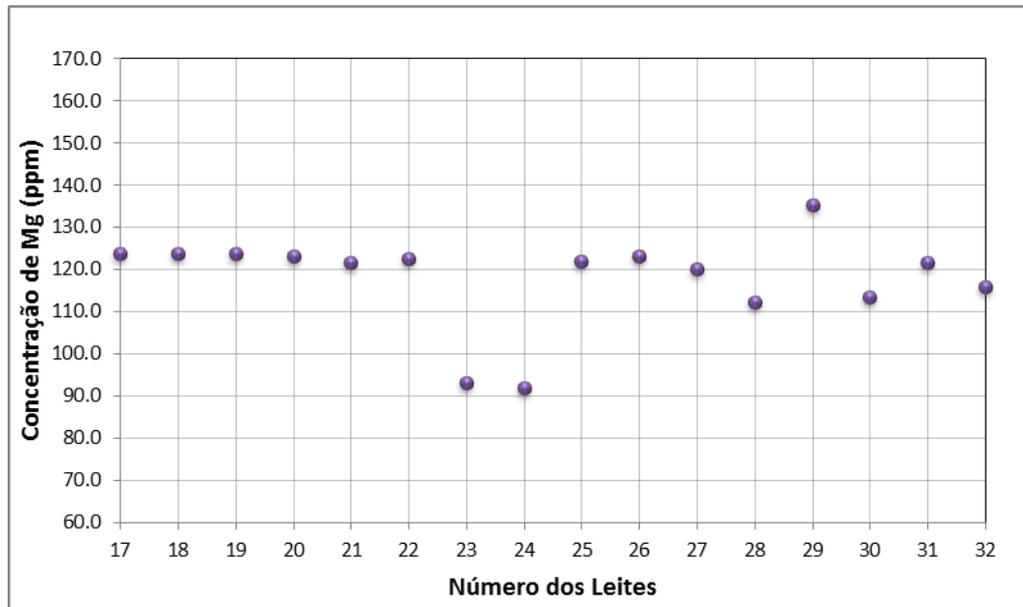
graficamente, com mínimo e máximo bem distante, 73,6259 e 150,5169 ppm, respectivamente, com uma variância de 642, aproximadamente, sendo a maior entre todas as comparações para o teor de magnésio em leite humano.

Figura 17 - Concentrações de Mg da Zona A

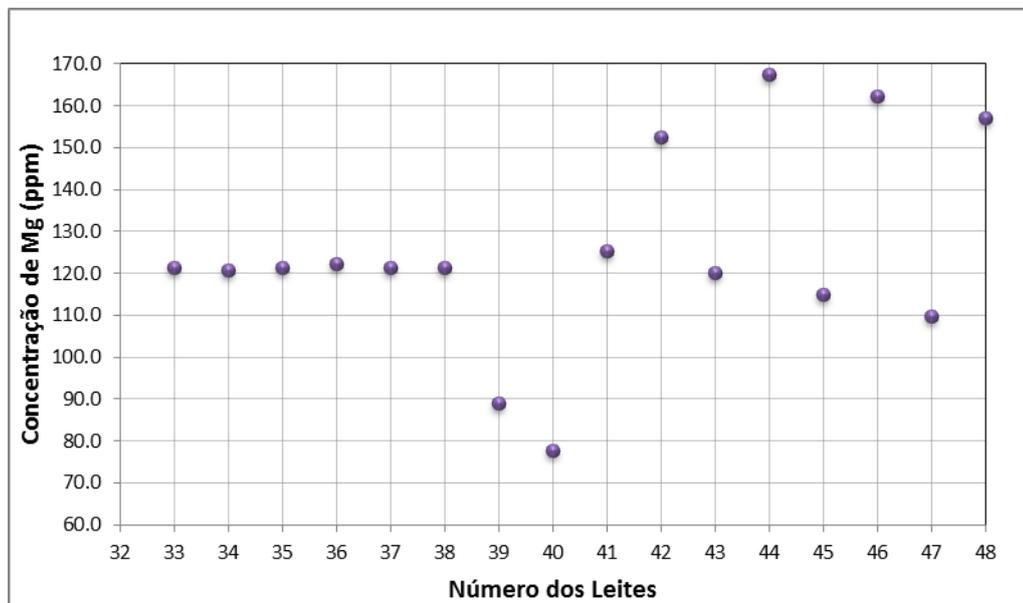


Entretanto, o leite de número 16 possui a menor concentração do metal entre todas as 64 amostras.

Já na figura 18, as concentrações de magnésio da Zona B, possuem certa uniformidade, com uma média geral de 117,8351 ppm. No entanto, os números 23 e 24 são os que possuem menor concentração, 93,0813 e 91,6261 ppm. E, fazendo um comparativo sem os dois números mais baixos, notamos um crescimento na variância de 95 pontos. Mesmo assim, a média da Zona B é a menor entre todas as concentrações.

Figura 18 - Concentrações de Mg da Zona B

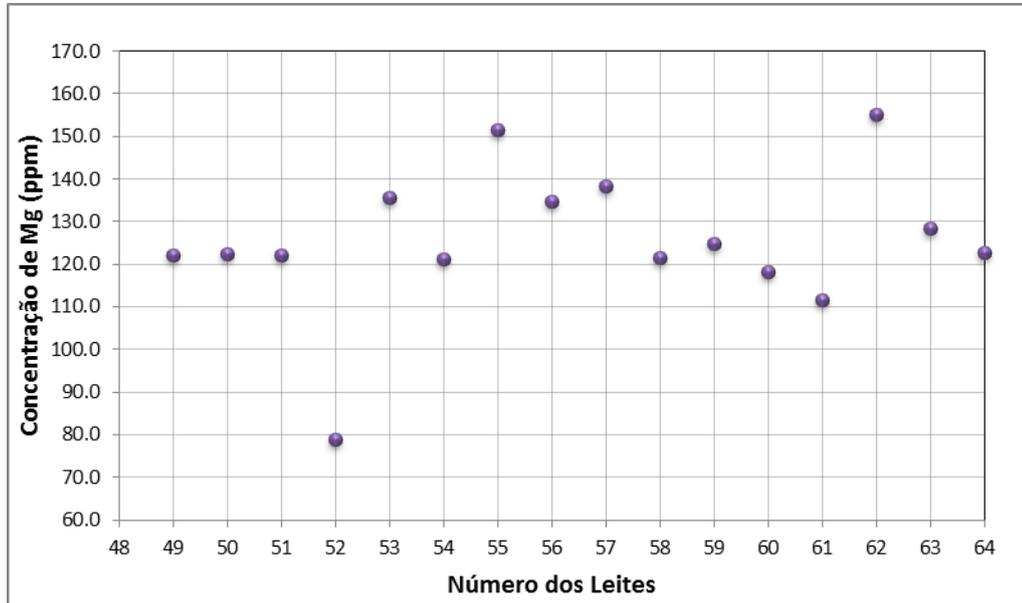
O leite de número 44 (figura 19), com concentração 167,3220 ppm, é o mais rico para o mineral entre todas as regiões, sendo, portanto um excelente componente na terapia a base de magnésio.

Figura 19 - Concentrações de Mg Zona C

Os leites da Zona D, figura 20, possuem a maior média para o metal magnésio, com 125,4820 ppm, apenas um leite fora do padrão, o de número 52,

com teor de 78,7818 ppm. Vale ressaltar que foram analisados leites com menor concentração, por exemplo, o de número 16 correspondendo 73,6259 ppm.

Figura 20 - Concentrações de Mg Zona D



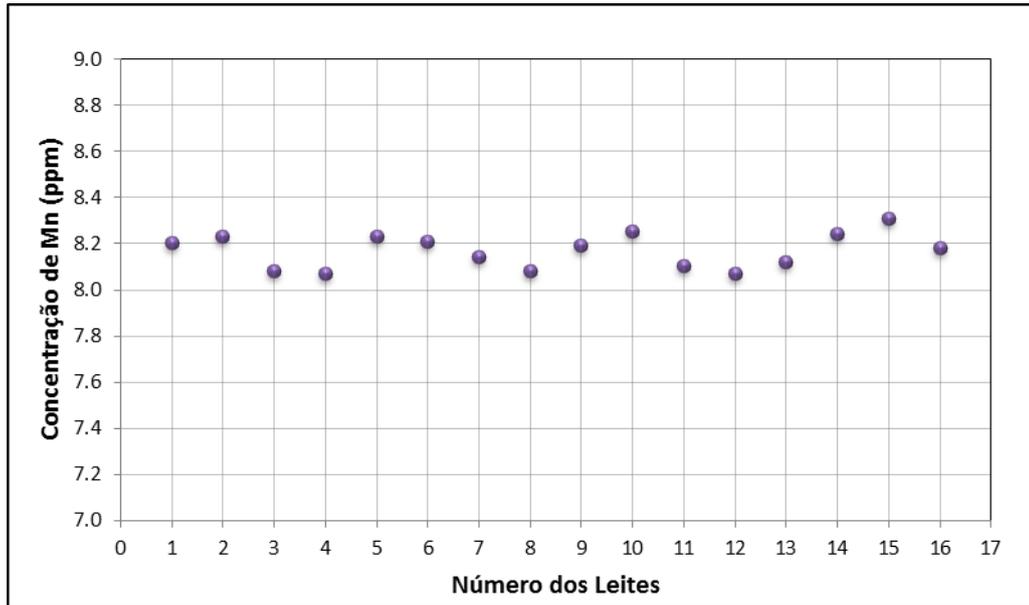
Em geral, a média de concentrações para o metal magnésio foi de 123,0169 ppm, compreendido entre o mínimo de 73,6259 e o máximo de 167,3220 ppm, quantitativo que teria grande eficácia para o tratamento para disfunções musculares.

8.5 Análise do elemento químico manganês

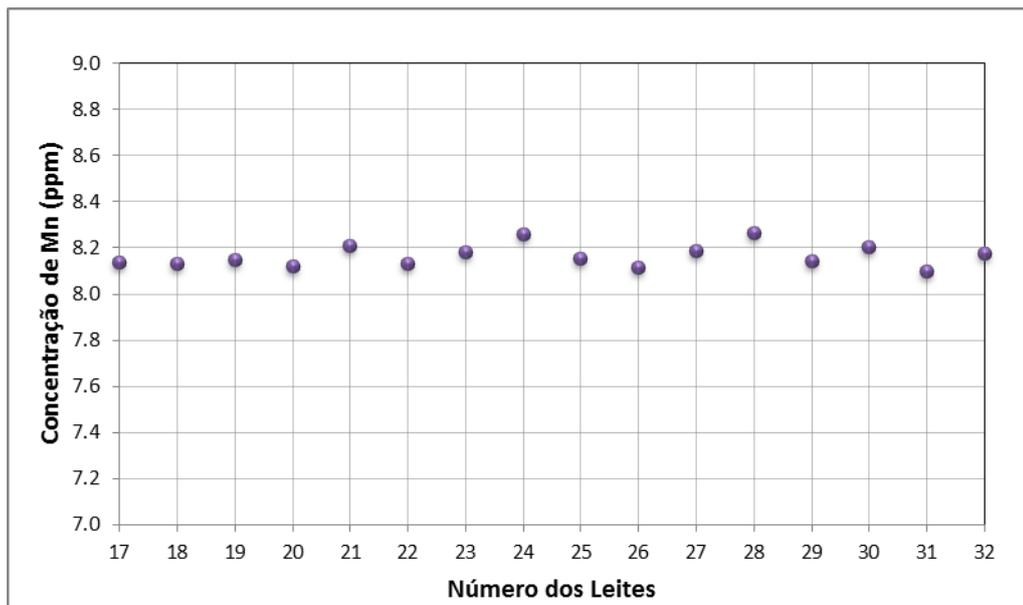
A variação visualizada na figura 21 é referente à pequena diferença de um eixo secundário ao outro, na coordenada Y.

A média geral da Zona A é de 8,1689 mg/L um valor alto para o analito em questão, pois se comparando com o Valor Máximo Permitido pela Portaria 2.914 para água para consumo humano, o valor está fora do padrão. Porém, analisando a tabela 04, onde Verruma e Salgado (1994) identificaram manganês nos leites de búfala e de vaca nos teores de 12 ppm, fato que corrobora a amplitude da eficácia do teste realizado.

Os valores mínimos e máximos de concentração para o metal Mn foi de 8,0673 a 8,3083 mg/L, com um desvio padrão de 0,0754.

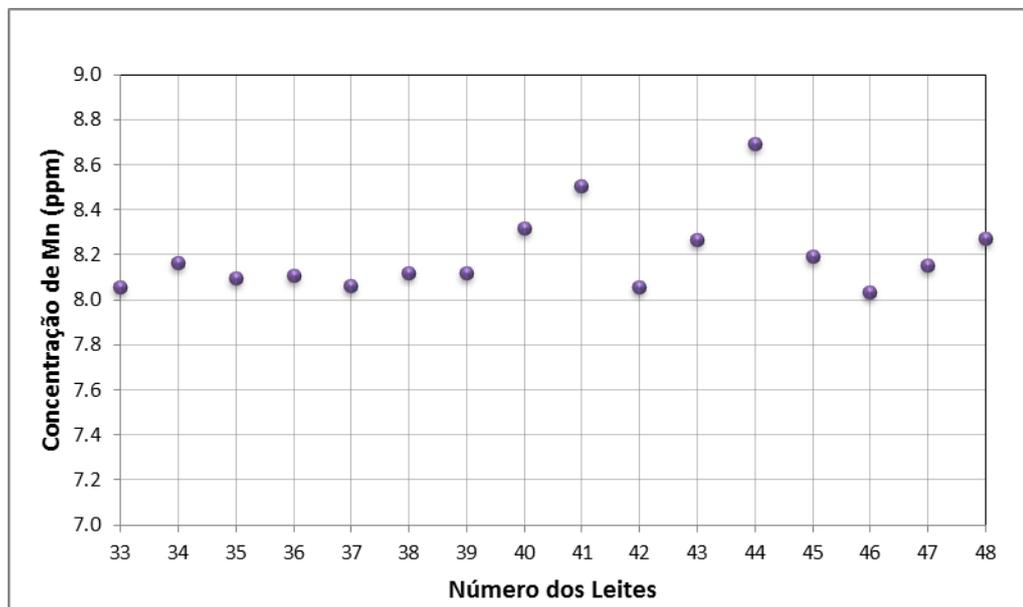
Figura 21 - Concentrações de Mn da Zona A

Os dados da figura 22 demonstram uma pequena variação entre os pontos, sendo a menor entre todos os leites, perante todas as localidades em análise, com apenas um valor 0,0490 de desvio. Podemos corroborar através do coeficiente de variação de 0,6%. Outro parâmetro observado foi a média com 8,1655 ppm, compreendidos entre os valores de 8,0973 e 8,2657 ppm.

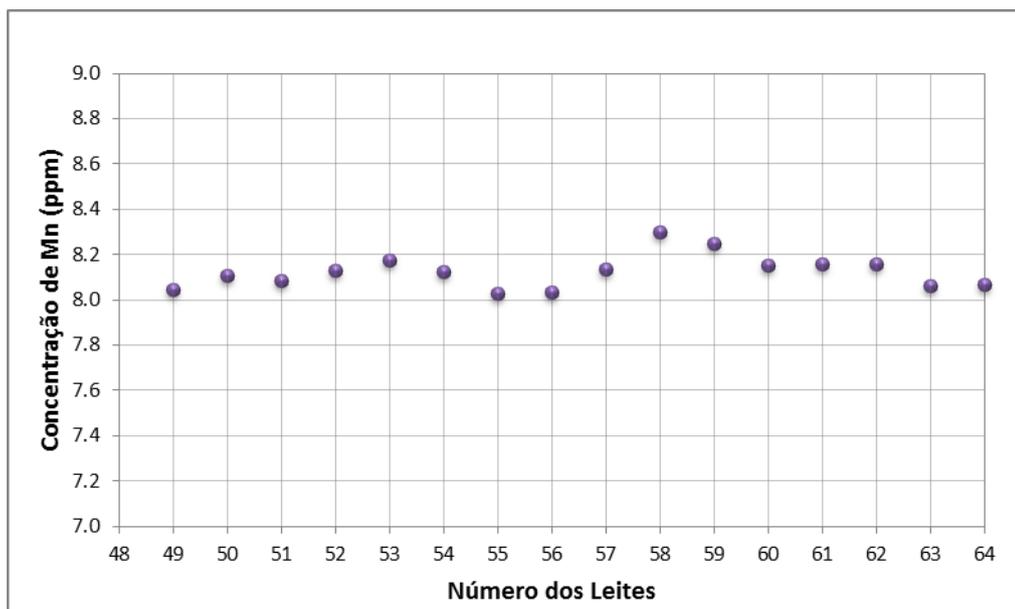
Figura 22 - Concentrações de Mn da Zona B

No entanto, os leites oriundos das mães da Zona C (figura 23) apresentaram uma concentração do elemento Mn com elevados números, por exemplo, o de número 44 apresentou um teor de manganês na ordem de 8,6936 ppm. Esse valor representa a maior concentração entre todos os 64 leites analisados. Ressaltando, que a média de 8,2001 ppm demonstra esse alto valor em relação todas as concentrações. Todavia, na análise estatística observou-se um alto desvio de 0,1798, confirmado pelo coeficiente de 2,19%. A maior porcentagem de variação entre todas as outras Zonas.

Figura 23 - Concentrações de Mn Zona C



Analisando-se o gráfico na figura 24, visualiza-se a variação entre os pontos de 0,0056 e um coeficiente de variação de 0,92%, registrando um pequeno desvio. Entre os 64 leites, o de número 55 estava com a menor concentração para o metal em discussão, com um valor nutritivo de 8,0262 ppm.

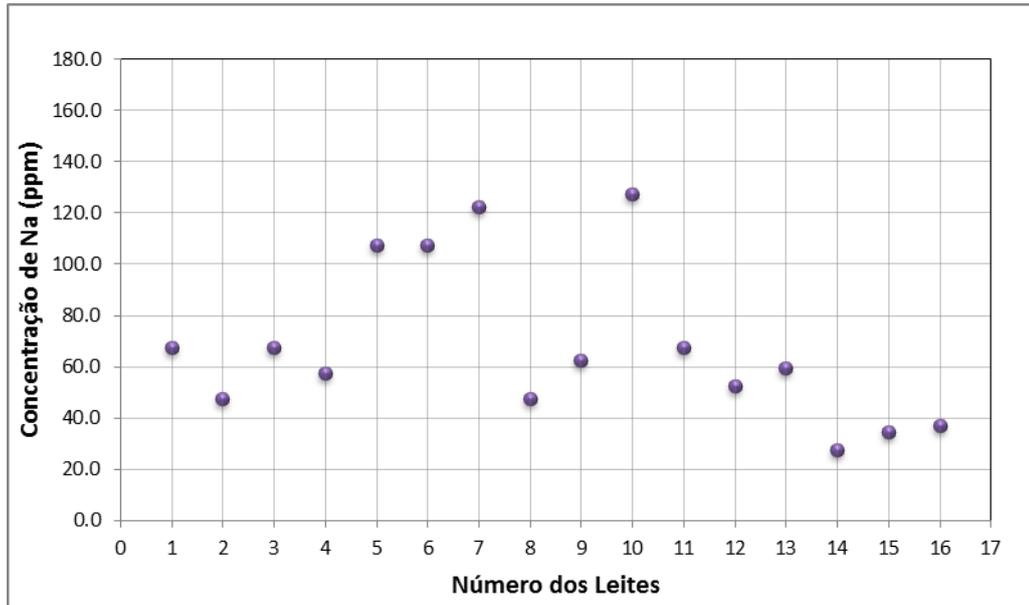
Figura 24 - Concentrações de Mn Zona D

Ao analisar a concentração de Mn em todos os leites, nota-se que a diferença entre os pontos foram apenas nas casas decimais, e que essa variação foi entre o mínimo de 8,0262 e o máximo de 8,6936 ppm. Caracterizando, de certa forma, o teor de manganês em leite materno nas localidades do Amapá.

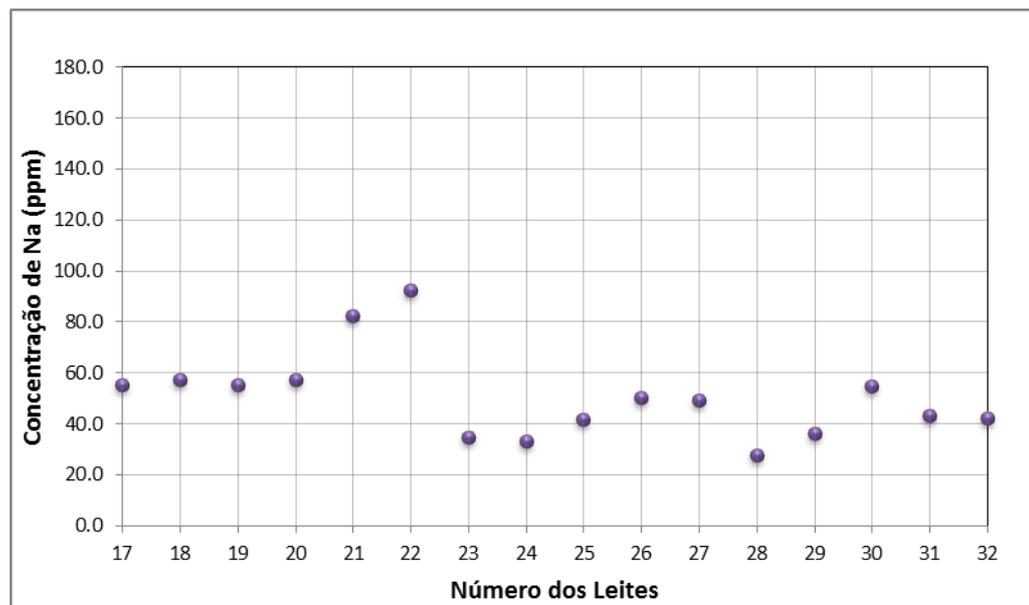
8.6 Análise do elemento químico sódio

O quantitativo de sódio observado nos gráficos pontua a quantidade de sal existente no leite, apresentando um teor significativo para o elemento, com média geral de 74,0305 mg/L, com mínimo de 13,7015 e máximo de 176,8735 mg/L. Entretanto, comparando-se com outros leites, por exemplo, os de fabricação estilo longa vida, possuem em média 130 mg/L de sódio, para valores diários, como descrito em seus rótulos (anexo), descrevendo, portanto a similaridade entre os leites para o elemento.

Os leites analisados de números 1 a 16 (figura 25) apresentaram uma variação entre 27,3973 ppm a 127,0503 ppm, com quase cem pontos de diferença. E, estatisticamente, o coeficiente de variação foi de 45,70%, ou seja, quase 50% de variação.

Figura 25 - Concentrações de Na da Zona A

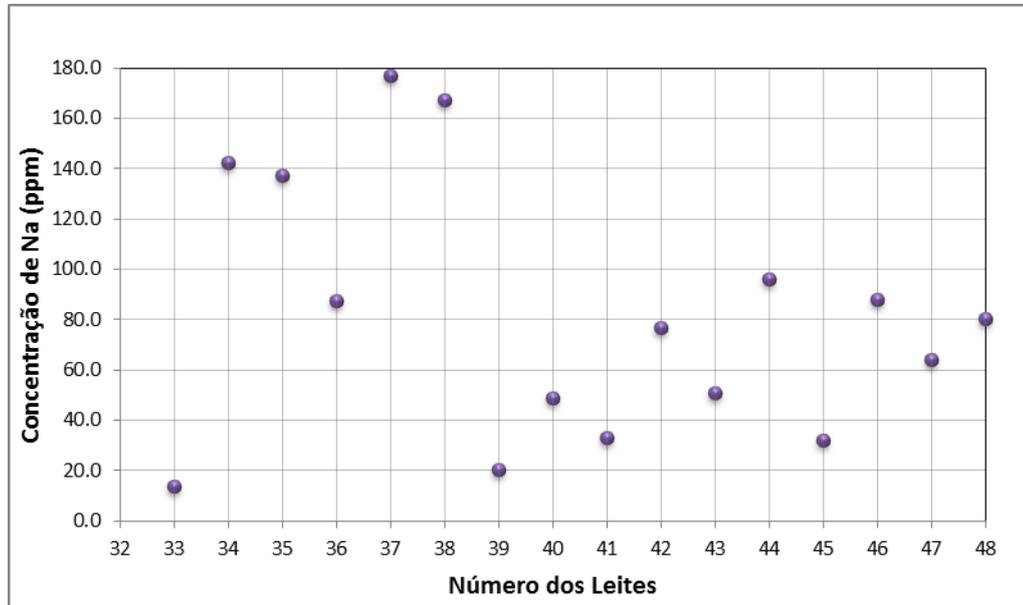
Na Zona B (figura 26), as concentrações de sódio são as menores entre todos os leites analisados, com média de 50,8209 ppm. Pois, o número 22, mesmo sendo o maior da seleção, ainda possui o menor valor de máxima com apenas 92,1741 ppm.

Figura 26 - Concentrações de Na da Zona B

Zona C, representada pela figura 27, possui a maior concentração de sódio de todas as análises. Observando-se, por exemplo, o leite número 37, sendo o maior

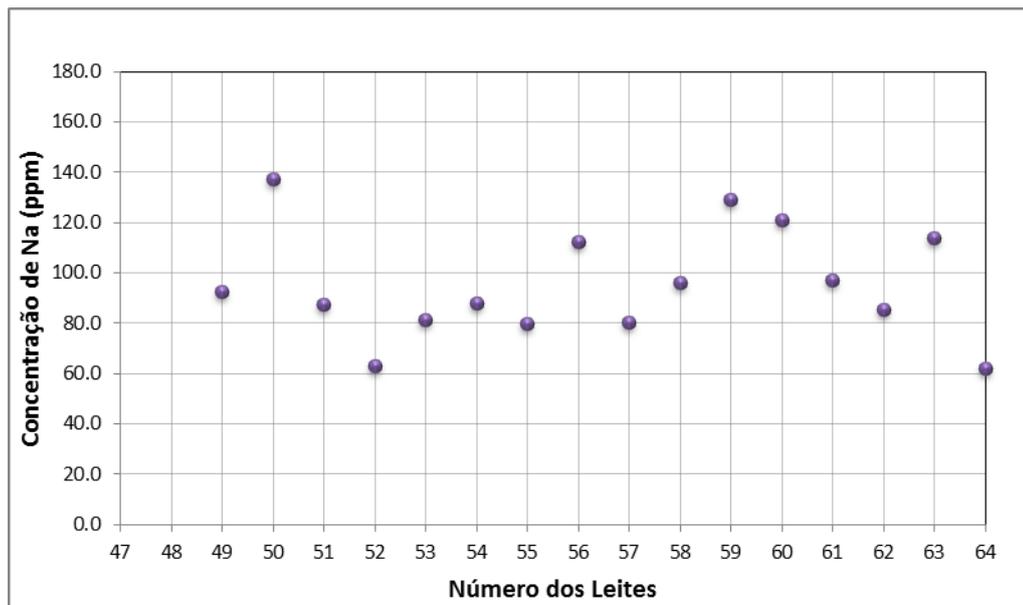
índice do metal visualizado com 176,8735 mg/L, podendo ser bem aproveitado em diagnósticos com baixa de sal. A média dos teores da Zona C é de 81,9918 ppm, ficando atrás apenas dos leites da Zona D.

Figura 27 - Concentrações de Na da Zona C



Porém, a maior média do elemento traço sódio foi entre os leites testados das mães doadoras da Zona D (figura 28), com 95,2064 mg/L. Essa média ficou distribuída entre 61,7434 ppm e 137,0150 ppm.

Figura 28 - Concentrações de Na da Zona D



Portanto, comparando-se as 64 amostras para o analito sódio, notou-se que o perfil dos leites da Zona C e D tendem a uma característica de leites mais salinos, quando combinado a outro elemento químico, sendo, enfim, um ótimo regulador para recém-nascidos com hiponatremia, auxiliando no tratamento para o quadro clínico.

8.7 Análise do elemento químico cádmio

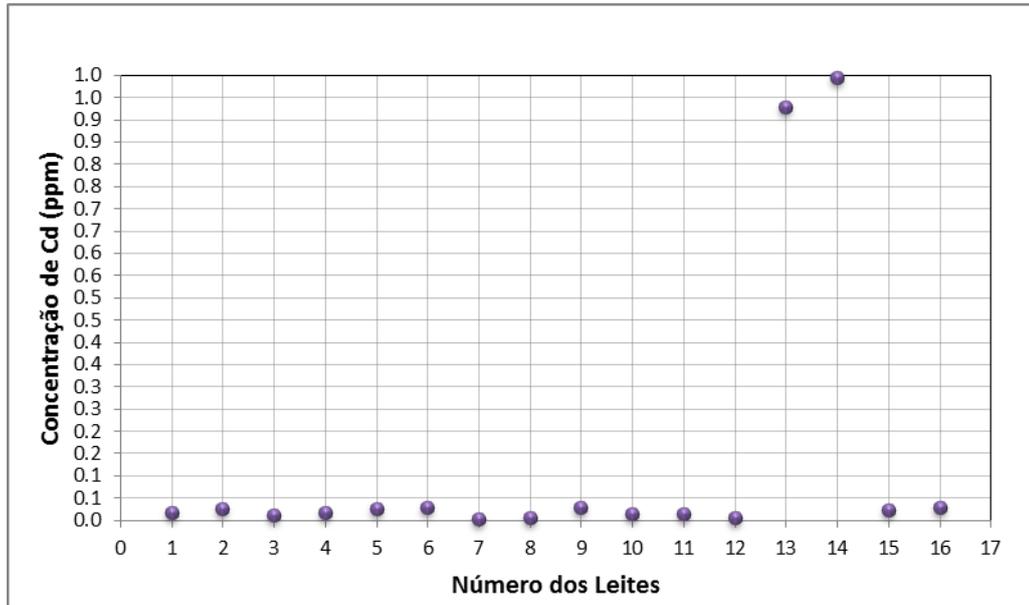
O elemento cádmio, como visto no item 2.4.7, pode ser obtido como subproduto de materiais que possuem zinco, por isso, geralmente sua absorção é em pequenas quantidades, ressaltando que a maioria de bebidas e alimentos, após fabricação, possuem o elemento em sua composição, principalmente os que são acondicionados em embalagens metálicas contendo ferro.

Contudo, as concentrações de cádmio, entre todas as 64 amostras, possuem média de 0,0468 ppm, estando, portanto, com o valor aproximado ao máximo permitido para o cádmio, na Portaria do Ministério da Saúde nº 2.914 (2011), para consumo de água, com padrão de 0,005 ppm. No entanto, analisando-se o valor máximo das amostras, configura-se além do permitido pela portaria, com valor de 0,9950 mg/L.

Os teores de cádmio da Zona A, figura 29, descrevem os dois maiores pontos, leites de números 13 e 14, com valores 0,9279 e 0,9950 ppm, respectivamente. Porém, as duas concentrações estão fora dos padrões, quando comparados à Portaria nº 2.914 (2011). Porém, outros resultados da Zona A demonstram concentrações para o analito abaixo do valor máximo permitido pela lei citada, como, por exemplo, os leites de números 3, 7, 8 e 12. A média entre os leites da Zona A compreendem-se em 0,1348 mg/L.

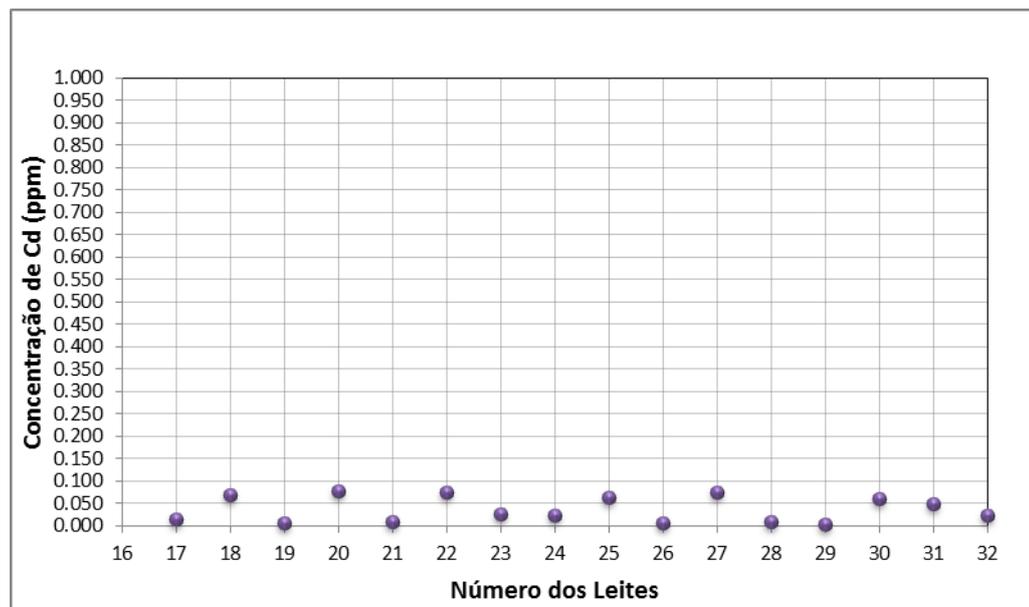
O leite da mãe de número 14 (figura 29) pode ser um contribuinte para intoxicação aguda ao corpo humano, com descrito no item 2.4.7.

Figura 29 - Concentrações de Cd da Zona A



No gráfico, para as concentrações do metal cádmio presentes nos leites da Zona B (figura 30), especifica os valor mínimo e máximo, 0,0015 ppm e 0,0767 ppm, respectivamente. Valores que, devido à sinuosidade entre os pontos do gráfico observado, apresentam um baixo valor para variância de 0,0008.

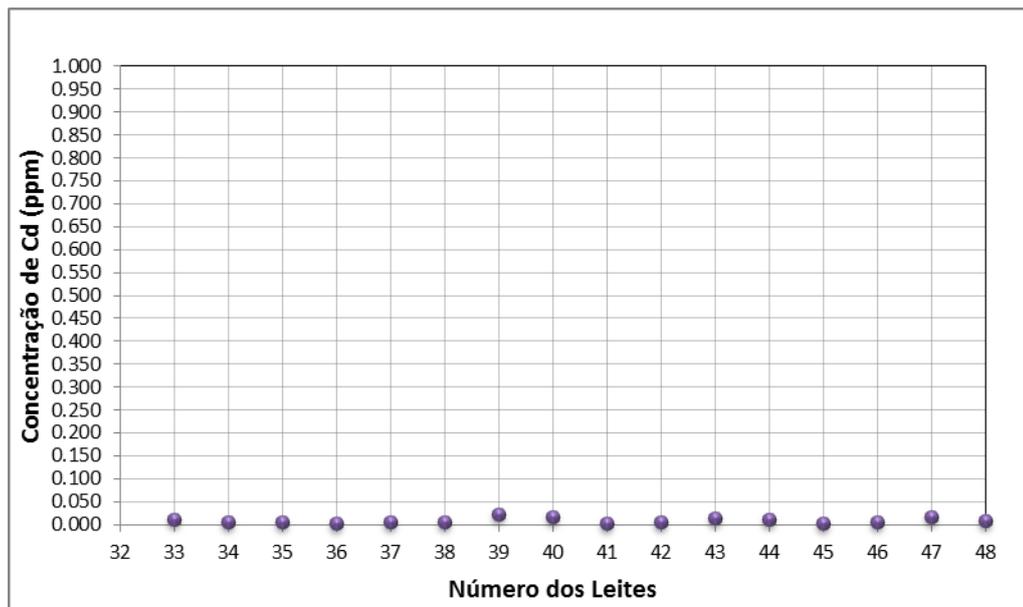
Figura 30 - Concentrações de Cd da Zona B



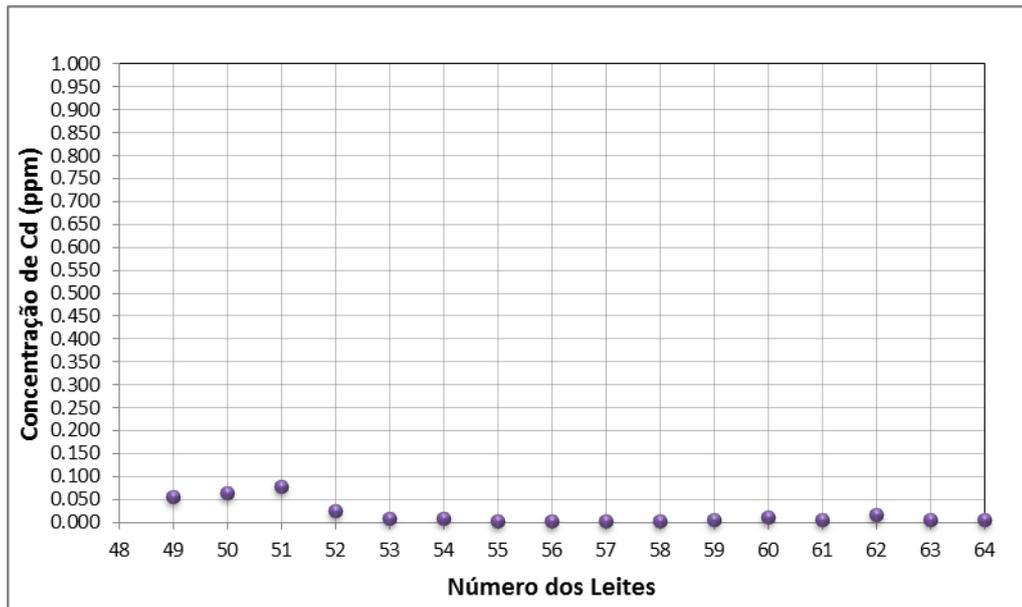
A observação para os leites da Zona C (figura 31) é com relação ao valor máximo, do leite 39, com teor de 0,0210 mg/L, sendo também um valor alto para a

concentração do metal. Entretanto, a média das concentrações de da Zona C (figura 31) configura o menor valor para o total de amostras, com um valor de 0,0081 mg/L, também estando acima do valor máximo permitido pela legislação, comparando-se com a água, por exemplo.

Figura 31 - Concentrações de Cd Zona C



Na figura 32, os valores mínimo e máximo estão compreendidos entre 0,0018 ppm e 0,0777 ppm. Contudo, o mínimo está dentro de um nível aceitável para o padrão de 0,005 ppm, da Portaria nº 2.914 (2011), para consumo humano de água, contrariamente para o valor máximo da série.

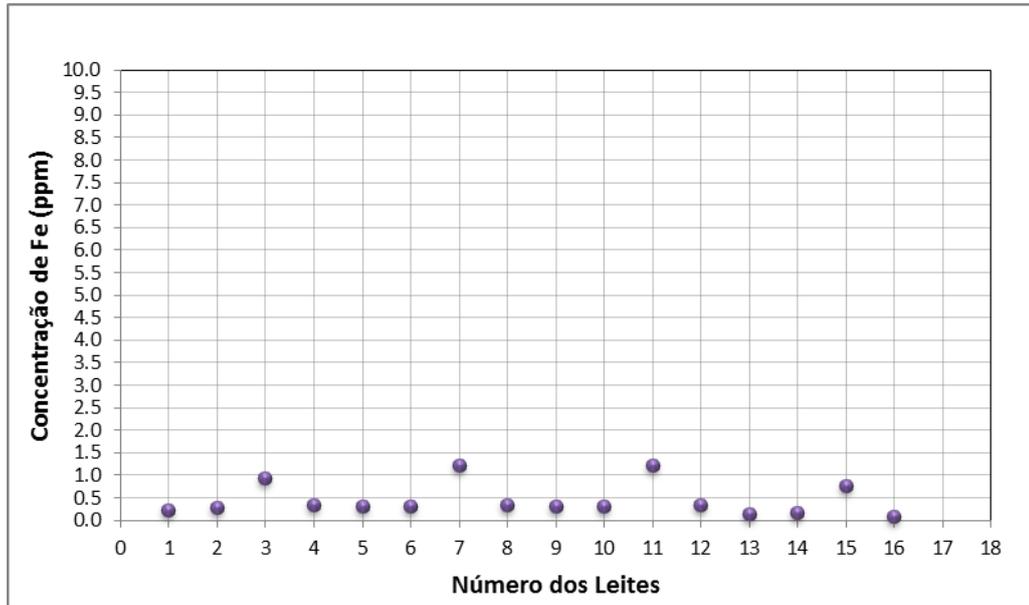
Figura 32 - Concentrações de Cd Zona D

Em suma, de um modo geral, as concentrações de cádmio demonstram um padrão elevado, entretanto a absorção de zinco, devido às altas concentrações relacionadas no item 8.3, pode anular a intoxicação por cádmio.

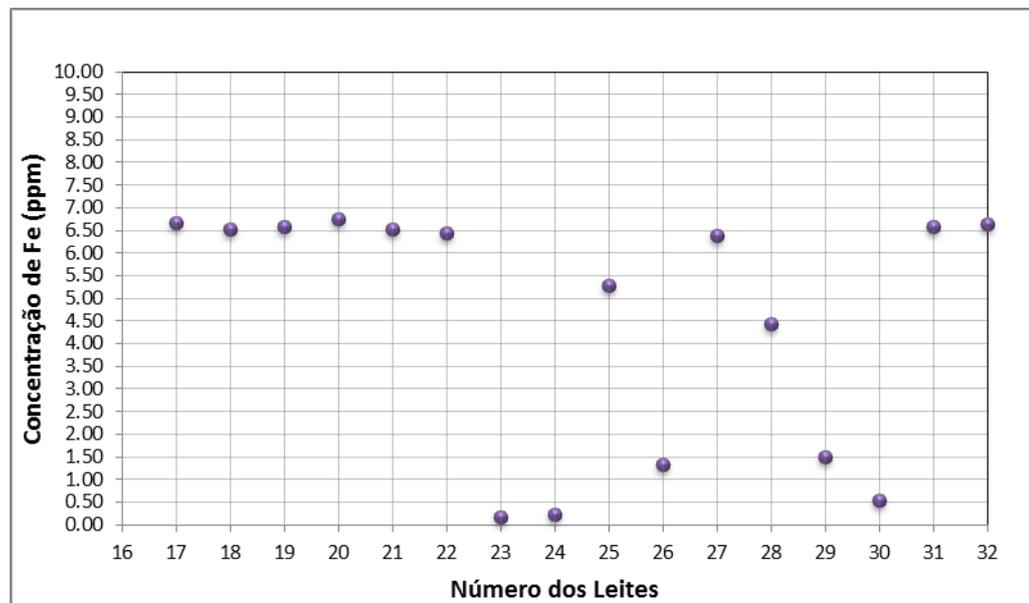
Enfim, é importante verificar o excesso de cádmio no leite materno, principalmente, quando se trata da primeira alimentação de um humano.

8.8 Análise do elemento químico ferro

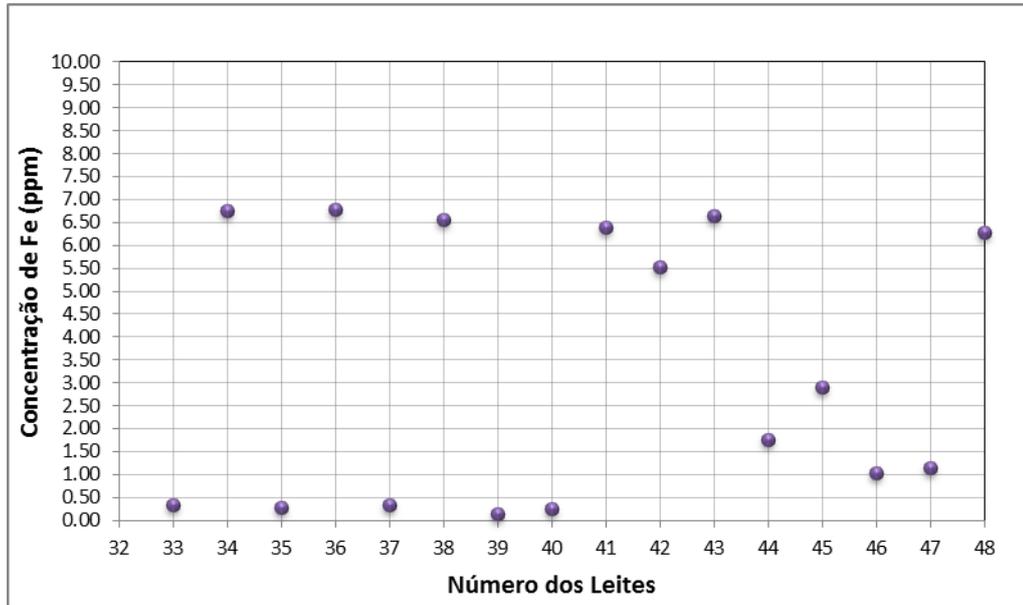
As concentrações de ferro observadas na composição mineral do leite humano são de grande importância, corroborando que o elemento traço auxilia no aumento do sistema imune nato, evitando futuras doenças de um RN. Os resultados de ferro da Zona A apresentaram uma média 0,4503 mg para cada litro de leite humano, sendo a menor média de todas as amostras. As variações de ferro (figura 33) estão compreendidas entre o valor mínimo e máximo, 0,0731 ppm e 1,2161 ppm, respectivamente. O desvio padrão foi de 0,3663 (valor baixo) e o coeficiente de variação 81,34% (valor alto), significando que a maioria dos leites maternos apresentam níveis de concentrações de ferro em níveis aproximados e poucos com concentrações mais elevadas.

Figura 33 - Concentrações de Fe da Zona A

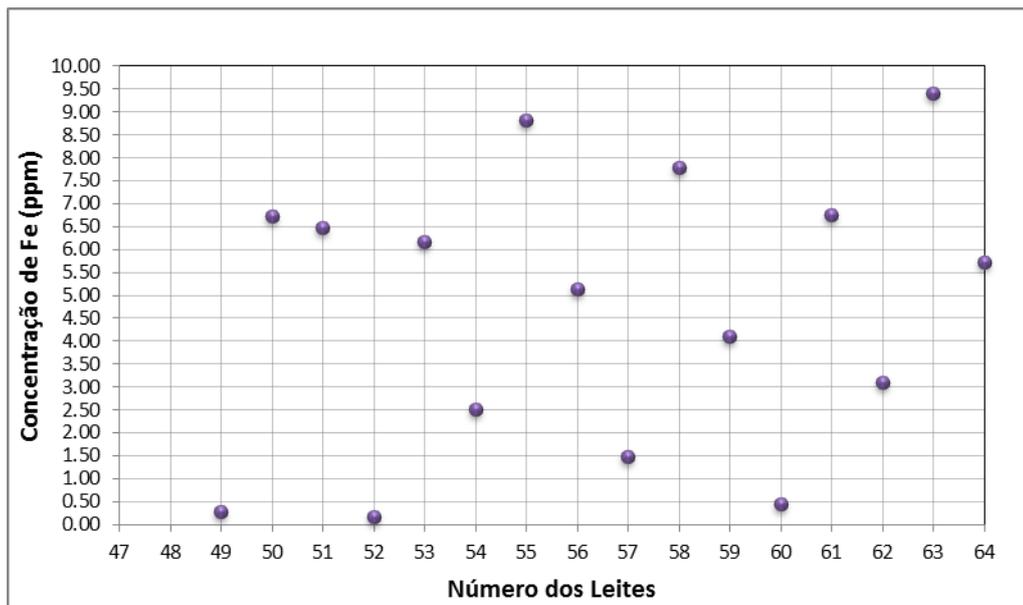
A análise dos leites da Zona B (figura 34) demonstrou uma média de 4,5248 mg/L, compreendida entre o valor mínimo de 0,1584 mg.L⁻¹ e o valor máximo de 6,7370 mg.L⁻¹. O desvio padrão foi de 2,7217, com coeficiente de variação 60,15%, transcrevendo o alto índice de ferro nos leite maternos da Zona B.

Figura 34 - Concentrações de Fe da Zona B

Os pontos da figura 35 estão dispostos entre o valor mínimo de 0,1239 ppm e o valor máximo de 6,7613 ppm, com média de 3,3117. O desvio padrão dos resultados para os leites da Zona C foi de 2,9123 e 87,94%, estatisticamente demonstrado a heterogeneidade dos resultados.

Figura 35 - Concentrações de Fe Zona C

Os teores de ferro obtidos nas análises dos leites da Zona D (figura 36) são os maiores índices, compreendidos entre o valor mínimo de 0,1543 ppm e valor máximo de 9,4009 ppm. A média das concentrações de ferro foi de 4,6861 ppm, sendo, portanto, um leite com altos teores do mineral. O coeficiente de variação foi de 65,24% a partir de um desvio de 3,0570.

Figura 36 - Concentrações de Fe Zona D

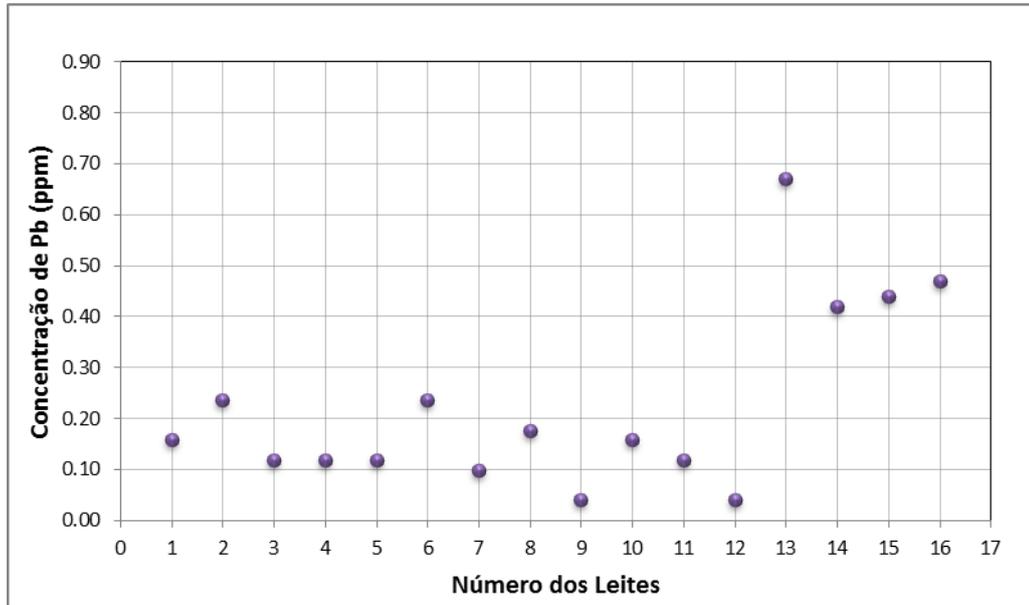
De forma geral, as concentrações de ferro variaram de 0,0731 ppm a 9,4009 ppm. E, analisando a média de 3,2432, o desvio de 2,9947, obteve-se um alto valor para o coeficiente de variação de 92,34%, justamente por termos valores aproximados entre a média e o desvio. Porém, no trabalho de DONANGELO et al. (1989), amostras de leite materno de mães doadoras do Hospital das Clínicas da cidade do Rio de Janeiro forneceram resultados para ferro na faixa de 0,25 a 0,80 mg.L⁻¹, estando inserido dentro dos valores obtidos nesse trabalho. Então, de acordo com análises estatísticas, comparando-se os valores de DONANGELO et al. (1989) e os deste trabalho, observou-se que para um teste-t o p-valor apresentado foi de 0,2312, para um $\alpha_{1\%} = 0,0709$. A observação dos resultados é para que possam aceitar uma hipótese alternativa para variações diferentes entre os leites.

No mais, a característica dos leites em estudo demonstra o enriquecimento por ferro, resultado que poderia contribuir muito no tratamento de RN com anemia profunda, caso fosse diagnosticado a tempo, para melhores eficácias na terapia.

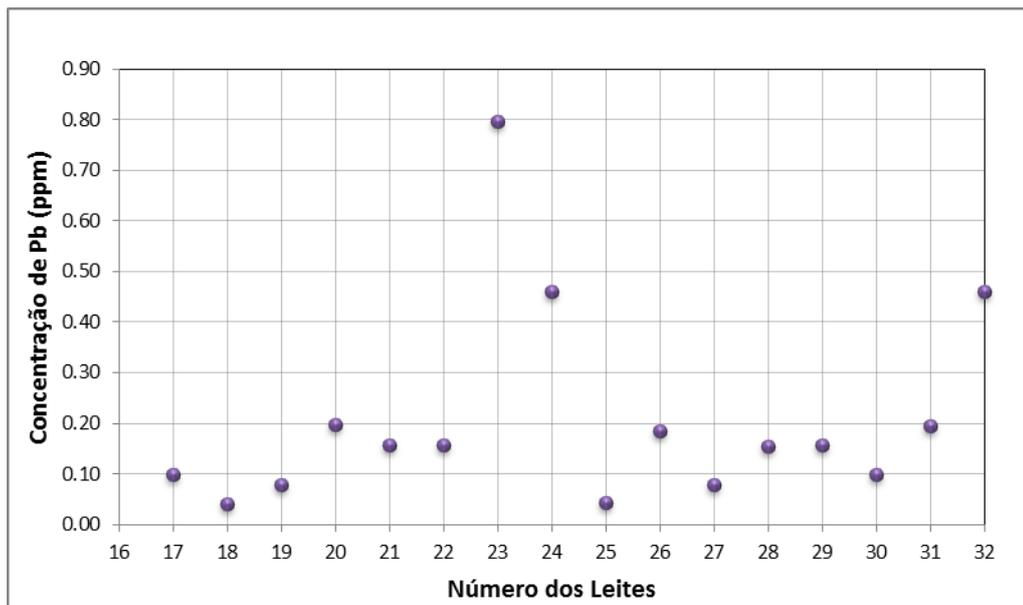
8.9 Análise do elemento químico chumbo

Os resultados das análises dos leites para teores de chumbo foram dispostos com as análises iniciais para cada zona de origem e finalizando com uma importante situação observada a respeito da qualidade do leite.

A variação dos teores de Pb nos leites da Zona A (figura 37) foram entre 0,0391 mg.L⁻¹ e 0,6692 mg.L⁻¹. A média obtida foi de 0,2249, padrão um pouco alto para organismos humanos. O desvio obtido foi de 0,1796 e 79,89%, valor que demonstra o pequeno desvio com relação à média obtida.

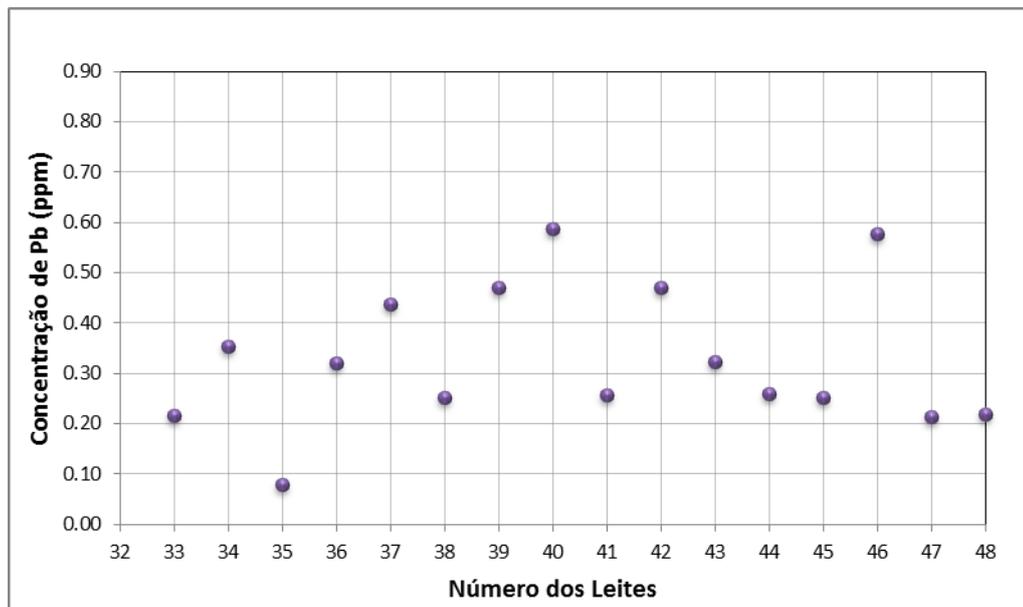
Figura 37 - Concentrações de Pb da Zona A

Os leites da Zona B apresentaram uma média de 0,2087, valor um pouco menor do que os leites da Zona A. Pois observando a figura 38, nota-se o leite número 23, destacando-se com o mais alto índice para as concentrações de chumbo, 0,7947 ppm, sendo inclusive o valor mais alto de todas as amostras. Podendo ser um fator preocupante para alimentação de um RN.

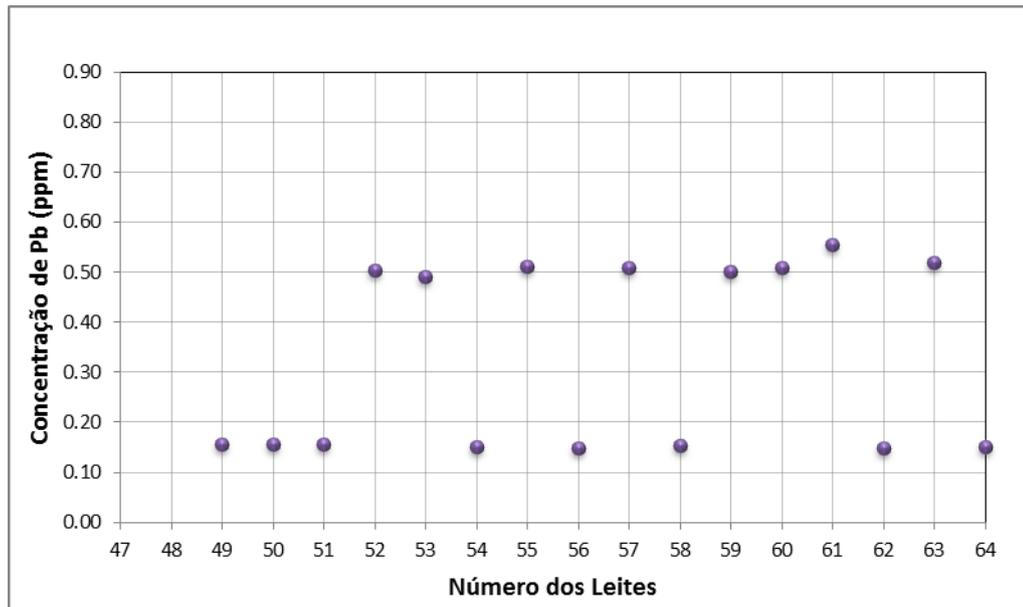
Figura 38 - Concentrações de Pb da Zona B

A relação de dados dispostas no gráfico da figura 39, para os leites da Zona C, foi onde maior concentração para a série de teores de chumbo. A média dos valores da Zona C foi 0,3295 ppm, estando entre os valores mínimo e máximo, 0,0781 e 0,5856 ppm, respectivamente. A concentração do gráfico foi observada com o menor desvio geral de 0,1422, com um coeficiente de 43,15%, ou seja abaixo de 50%.

Figura 39 - Concentrações de Pb Zona C



Os valores dos leites da Zona D (figura 40) estão dispostos entre 0,1478 ppm e 0,5534 ppm, para uma média de 0,3313, tendo o coeficiente um pouco acima de 50%, demonstrando o seguimento dos patamares com certa similaridade, e que a média foi maior do que o desvio padrão para série.

Figura 40 - Concentrações de Pb Zona D

No entanto, a média geral para as concentrações de chumbo relacionando todas as amostras, deixou um valor preocupante de 0,2736. Pois, comparando-se esse valor com o aceitável pela legislação para Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos, Portaria nº 685 do M.S. (1998), em seu anexo, para leite fluído, pronto para consumo, como valor máximo permitido de 0,05 ppm. Porém, apenas os valores mínimos da Zona A e Zona B estão dentro dos padrões permitidos por essa legislação. Por isso, a investigação de metais em leites humanos é de suma importância, até mesmo para perceber se os teores de certos metais poderiam ser tóxicos para determinados RN com carência em outros nutrientes. Todavia, um excesso de zinco, combinado no mesmo leite, poderia ser absorvido, antagonizando assim a absorção de chumbo. Vale ressaltar que um excesso de chumbo pode causar uma doença chamada saturnismo, ou seja, a intoxicação por chumbo, trazendo transtornos ao humano, supracitados no item 2.4.9.

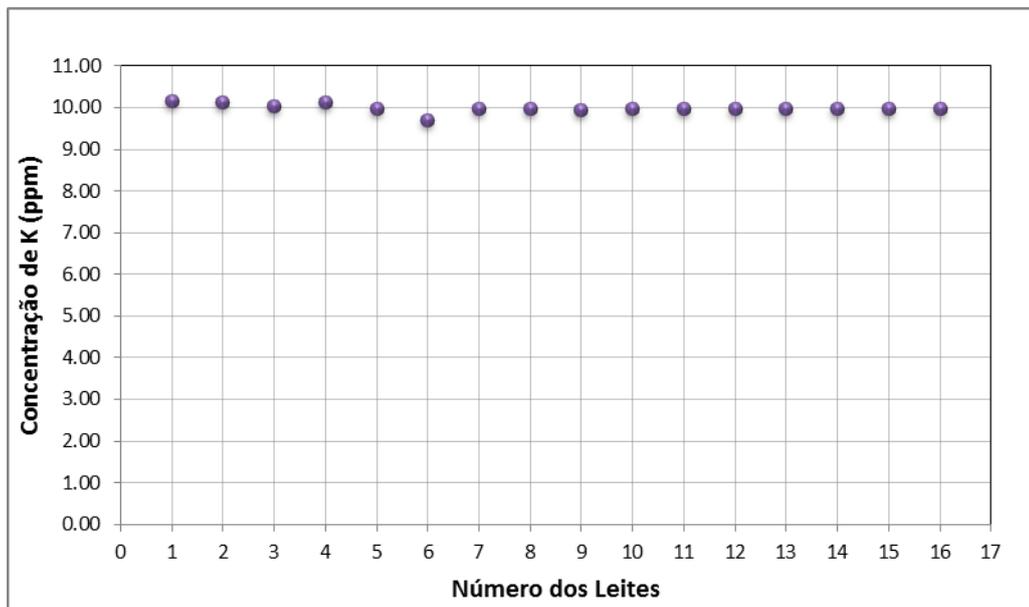
8.10 Análise do elemento químico potássio

A partir dos resultados das análises de leite para os teores de potássio foram realizadas as plotagens gráficas para que fossem analisados estatisticamente. E,

pode-se notar que as concentrações de potássio estão compreendidas, principalmente, nas casas de 9 e 10 unidades.

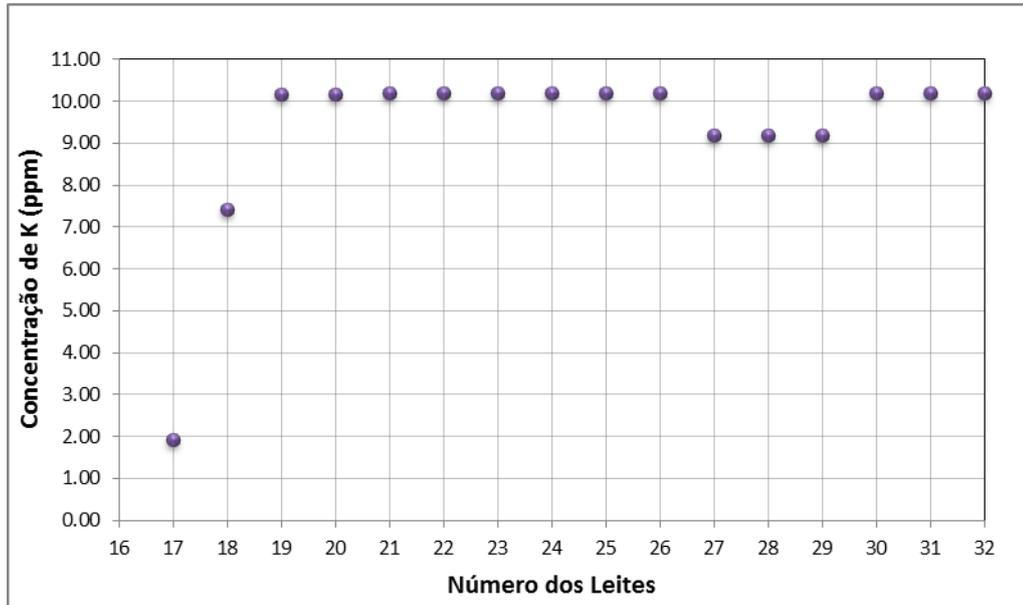
Os valores de mínimo e máximo encontrados nos leites da Zona A (figura 41) ficaram compreendidos entre 9,6860 e 10,1418 ppm, respectivamente. A média concentrou-se em 9,9746, desvio padrão 0,1026, objetivando em um baixo valor para o coeficiente de variação de 1,03%.

Figura 41 - Concentrações de K Zona A

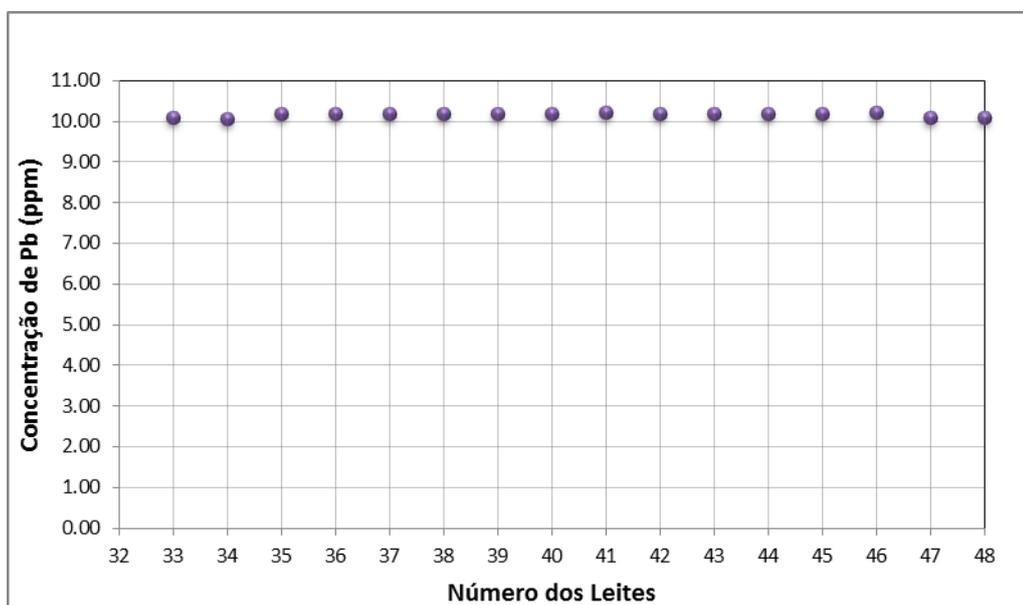


Observando o leite de número 6, da figura 41, verifica-se como único valor que está diminuindo a média da série, pois os outros leites seguem um valor compreendido acima de 9,90.

Nas concentrações da Zona B, figura 42, dois leites, números 17 e 18, demonstraram concentrações um pouco abaixo do valor apresentado pelo restante da série de teores de potássio. O nível do patamar das concentrações para o analito K, manteve-se em torno de 9 e 11, com pequenas oscilações. Os valores de mínimo e máximo foram de 1,9059 e 10,1780, respectivamente. O coeficiente de variação foi de 22,68%, através de uma média de 9,2964 e um desvio de 2,1083, justificando, estatisticamente, a pouca variação no gráfico da figura 42.

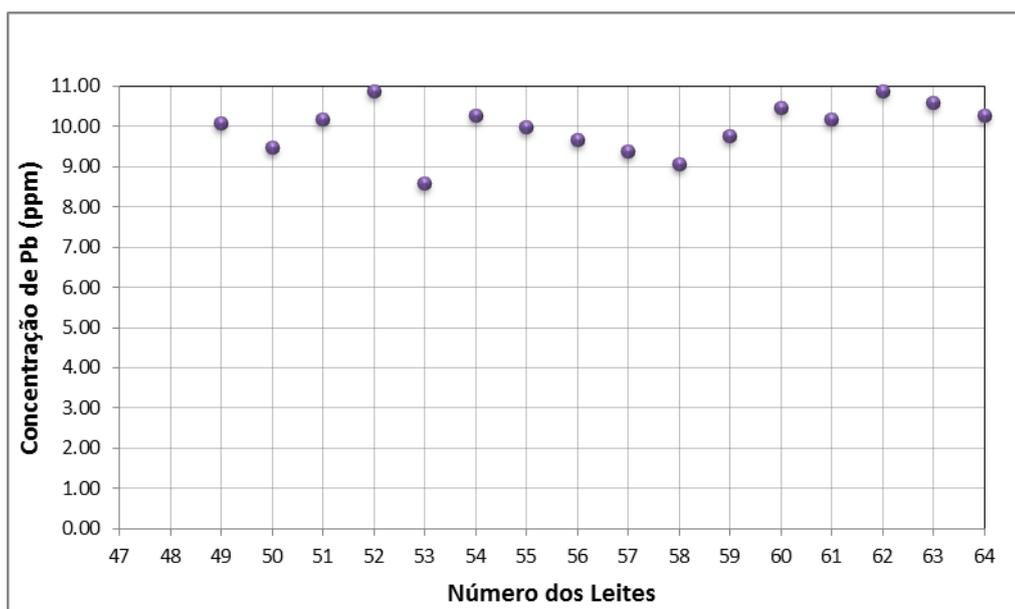
Figura 42 - Concentrações de K da Zona B

Em relação às concentrações dos leites da Zona C, figura 43, as variações não são tão evidentes quanto às da Zona B. Pois, mesmo com quatro leites, das mães de números 33, 34, 47 e 48, não parecerem estar no mesmo nível, a coordenada do eixo y está configurada no nível de 10,04 a 10,22. Por isso, a variância da série foi bem menor com valor de 0,0025. O coeficiente de variação foi de 0,50%, com um desvio de 0,0503, para uma média de 10,1508, a mais alta entre todas as amostras para o analito em questão.

Figura 43 - Concentrações de K Zona C

Os pontos observados no gráfico da figura 44, para os teores de potássio dos leites da Zona D, também não apresentou valores altos para uma análise estatística. Pois, sua média foi de 9,9777, o desvio 0,6323, resultando em um coeficiente de 6,34%.

Figura 44 - Concentrações de K Zona D



Analisando todos os pontos relativos aos teores de potássio, de todos os leites, nota-se a similaridade entre as médias de todas as amostras, pois a média geral foi 9,8499, mantendo-se no mesmo nível das outras. E, observando o coeficiente de variação geral de 11,42%, o baixo desvio de 1,1249, pode-se inserir certa uniformidade, caracterizando um perfil de potássio nas amostras ao entorno de 1,9059 e 10,8735 mg.L⁻¹.

Porém, comparando-se com as análises realizadas por Morgano et al. (2005), para leite materno, onde obteve média de 367,3 para o teor de potássio, defere-se uma significativa diferença para os resultados desse trabalho. Pois, para um IC de 99%, obteve-se um $p = < 0.0001$, correspondendo à diferença entre os resultados dos trabalhos analisados.

8.11 Leite comercial

A análise de comercial está exposta na tabela 05, onde faz um comparativo entre o resultado das concentrações dos analitos, comparando-se com o rótulo do próprio leite utilizado para a análise por absorção atômica. O leite utilizado foi tipo longa vida com a marca preservada para não expor a empresa.

Analisando os valores encontrados para as concentrações cálcio, nota-se que o desvio padrão foi de aproximadamente dez. Os ferro e zinco foram os que mais se aproximaram em termos de concentração existente no leite e a anotação descrita no rótulo da embalagem. Por isso, que seus desvios foram os valores mais baixos.

O potássio analisado em leite comercial demonstrou um maior desvio quanto seu rótulo, colocando em dúvida o teor descrito no rótulo da embalagem.

Os elementos Ca, Mg e Na apresentaram concentrações aproximadas com seus rótulos, com um desvio não tão elevado.

Os metais que Cu, Mn, Cd e Pb não aparecem em rótulos de leites comerciais, já que o valor nutricional desses elementos não tem tanta importância para exposição do produto.

Tabela 05 – comparativa entre os teores do leite comercial e a descrição no seu rótulo

Elemento	Leite comercial (mg.L ⁻¹)	Rótulo da caixa (mg.L ⁻¹)	Desvio
Ca	35,8301	50,00	10,02
Cu	10,2342	Não informado	--
Zn	18,4365	17,00	1,02
Mg	82,3345	75,00	5,19
Mn	0,3367	Não informado	--
Na	145,1761	130,00	10,73
Cd	0,0185	Não informado	--
Fe	1,3692	1,40	0,02
Pb	0,0458	Não informado	--
K	134,8539	213,00	55,26

CONCLUSÃO

O estudo em questão investiga vários elementos químicos, presentes em leites humanos, originados de mães doadoras do Banco de Leite do Estado do Amapá, com intenção de demonstrar a importância do método por absorção atômica que pode indicar, através de concentrações, leites ricos por determinado nutriente. Ressaltando que a seleção de leites nutridos de metais, dependendo das funções do elemento, pode ser primordial para alimentação de recém-nascidos, principalmente quando se trata de uma primeira alimentação. Pois, a maioria desses recém-nascidos que recebem essa alimentação é prematura e possuem carências por vários minerais. Podemos dizer também que um leite rico em determinado mineral, por exemplo, cálcio, poderá muito bem auxiliar no tratamento dessa carência, evitando uma possível hipocalcemia.

A investigação também é importante para perceber a qualidade do leite em análise, pois ele pode apresentar, também, altos índices de cádmio, por exemplo, como o teor obtido no leite da mãe de número 14, da Zona A, com aproximadamente 1 ppm, podendo causar intoxicação aguda ao corpo humano, se for absorvido completamente, sendo altamente prejudicial à saúde de um RN.

Verificando os resultados, de maneira geral, observamos que as concentrações foram significativas ao comparar-se com outros trabalhos, como, por exemplo, no trabalho de Donangelo et al. (1989), onde os valores dos minerais para ferro e zinco ainda foram abaixo dos valores prescritos neste trabalho, demonstrando um enriquecimento para os minerais. Esses leites enriquecidos poderiam contribuir na formação de um organismo humano de forma adequada.

Podemos destacar também a confiabilidade dos resultados pelo método empregado, Espectrometria por Absorção Atômica, quanto aos procedimentos empregados, quais foram revisados. Além de citar que os padrões de referência foram condizentes com os descritos em seus rótulos de fabricação, trazendo assim uma maior veracidade dos resultados. E, podemos citar as análises de leite comercial, qual demonstrou resultados próximos com o rótulo de fabricação do produto. Por isso, o método por absorção atômica é um dos mais eficazes quando se trata de investigação de elementos químicos em amostras com tamanha importância científica, quanto o descrito neste trabalho.

Na verificação para o elemento químico manganês, observamos um alto índice, principalmente nas Zona C e D, podendo ser um princípio para estudos investigativos que possam averiguar o possível aumento nesses índices para o mineral, relacionados à absorção e a região onde essas mães residem. Podemos comparar, também, esses resultados com os altos níveis salinos de sódio combinados, também para essas regiões. Portanto, para melhor entender esses níveis seria interessante realizar exames de sangue nas mães doadoras, com intuito de averiguar as concentrações na corrente sanguínea, porém as mães foram preservadas e não foi o foco deste trabalho.

De forma geral, os resultados foram satisfatórios com relação à intenção adotada pelo fim do estudo, para análises de concentrações dos metais presentes em leites humanos, para fins qualitativos através do quantitativo. Pois, percebemos a grande necessidade de inserir essas análises em bancos de leites, para que sempre seja feita uma pré-seleção dos mesmos, objetivando-os a RN que possam ter carência por determinados minerais. Vale ressaltar que a eficácia de leites selecionados por níveis qualitativos poderão salvar a vida de muitos prematuros e outros que possuam um diagnóstico para um tratamento terapêutico, evitando futuras doenças e enfermidades. Esses argumentos auxiliam para aquisição do equipamento Espectrofotômetro de Absorção Atômica, além da inserção de um corpo técnico capacitado nas atividades operacionais em bancos de leites. Podemos citar também que o custo com a compra do equipamento e operacional não seria tão elevado para um sistema de saúde tão abastado como é o brasileiro.

ANEXO A – Concentrações de Cálcio

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	4,0988	17	2,8433	33	4,2760	49	5,8417
2	4,8373	18	2,9467	34	9,7264	50	5,7826
3	4,8668	19	2,6660	35	4,4237	51	5,3690
4	4,9112	20	2,3115	36	1,7872	52	3,1832
5	6,9495	21	3,0796	37	1,6173	53	2,5714
6	4,6822	22	2,8580	38	1,1299	54	1,9596
7	7,3852	23	5,3506	39	3,5966	55	1,3478
8	7,3483	24	5,1852	40	6,7561	56	2,7360
9	7,0677	25	2,5723	41	1,3452	57	5,1242
10	9,8593	26	3,1413	42	2,9324	58	4,4876
11	4,6453	27	2,7103	43	3,5193	59	5,0994
12	4,4680	28	4,2793	44	5,1061	60	3,7112
13	2,1615	29	4,8483	45	1,6930	61	5,3230
14	4,4529	30	3,4173	46	2,2802	62	3,9348
15	1,6890	31	2,9863	47	0,8676	63	3,5466
16	4,1990	32	2,5553	48	2,4547	64	4,1584

ANEXO B – Estatística do Cálcio

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	1.6890	2.3115	0.8676	1.3478
Máximo	9.8593	5.3506	9.7264	5.8417
Amplitude Total	8.1703	3.0391	8.8588	4.4939
Mediana	4.7598	2.9665	2.6936	4.0466
Primeiro Quartil (25%)	4.3894	2.6992	1.6741	3.0714
Terceiro Quartil (75%)	6.9791	3.6328	4.3129	5.1739
Desvio Interquartilico	2.5896	0.9336	2.6389	2.1025
Média Aritmética	5.2264	3.3595	3.3445	4.0110
Variância	4.2272	0.9723	5.5243	1.9149
Desvio Padrão	2.0560	0.9860	2.3504	1.3838
Erro Padrão	0.5140	0.2465	0.5876	0.3460
Coeficiente de Variação	39.34%	29.35%	70.28%	34.50%
Assimetria (g1)	0.4686	1.1821	1.5123	-0.4036

Curtose (g2)	0.5929	-0.0129	2.5200	-0.8309
Média Harmônica =	4.3382	3.1447	2.2206	3.4049
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	4.8119	3.2426	2.7109	3.7363
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0893	1.0312	1.2150	1.0786
Desvio Padrão (geom.) =	1.5587	1.3047	1.9534	1.5179

ANEXO C – Concentrações de Cobre

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	8.0052	17	7.978	33	7.9845	49	7.8902
2	7.9822	18	7.9569	34	6.9776	50	7.8948
3	7.9799	19	7.9569	35	7.9891	51	7.8856
4	7.9385	20	7.9661	36	6.9546	52	7.0519
5	7.9385	21	7.9569	37	7.9523	53	6.2182
6	7.9385	22	7.9615	38	7.9431	54	5.3845
7	7.6646	23	7.0944	39	7.0991	55	7.5508
8	8.6485	24	7.1086	40	7.1346	56	7.7171
9	7.6600	25	7.1228	41	7.1701	57	6.8834
10	7.9845	26	7.1370	42	7.2056	58	7.0497
11	7.9845	27	7.1512	43	7.2411	59	6.2160
12	7.9730	28	7.1654	44	7.2766	60	7.3823
13	7.0944	29	7.1796	45	7.3121	61	5.4514
14	7.0826	30	7.1938	46	7.3476	62	7.2851
15	7.0921	31	7.2080	47	7.3831	63	7.1188
16	7.1180	32	7.2222	48	7.4186	64	5.9525

ANEXO D – Estatística do Cobre

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	7.0826	7.0944	6.9546	5.3845
Máximo	8.6485	7.9780	7.9891	7.8948
Amplitude Total	1.5659	0.8836	1.0345	2.5103
Mediana	7.9385	7.2009	7.2944	7.0854
Primeiro Quartil (25%)	7.5245	7.1477	7.1612	6.2177
Terceiro Quartil (75%)	7.9828	7.9569	7.5497	7.5924
Desvio Interquartilico	0.4583	0.8093	0.3885	1.3747
Média Aritmética	7.7553	7.4600	7.3994	6.9333
Variância	0.1979	0.1629	0.1312	0.7143
Desvio Padrão	0.4448	0.4036	0.3623	0.8452
Erro Padrão	0.1112	0.1009	0.0906	0.2113
Coeficiente de	5.74%	5.41%	4.90%	12.19%

Variação				
Assimetria (g1)	-0.2954	0.5486	0.8024	-0.6508
Curtose (g2)	-0.1182	-1.9224	-0.7705	-0.7559
Média Harmônica =	7.7309	7.4400	7.3833	6.8282
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	7.7432	7.4499	7.3912	6.8821
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0015	1.0012	1.0010	1.0071
Desvio Padrão (geom.)	1.0597	1.0549	1.0494	1.1362
=				

ANEXO E – Concentrações de Zinco

Leite	Zona A	Leite	Zona B	Leite	Zona C	Leite	Zona D
nº	(mg.L ⁻¹)						
1	269.2184	17	275.1402	33	276.5992	49	276.0843
2	269.0038	18	275.5264	34	276.6421	50	276.2345
3	269.0467	19	274.6682	35	276.4276	51	276.1916
4	267.5448	20	274.4751	36	275.1831	52	277.6643
5	268.1456	21	274.1318	37	275.3548	53	276.1916
6	268.1027	22	273.6383	38	275.1188	54	278.6643
7	265.9142	23	275.6573	39	276.6923	55	276.1916
8	265.9356	24	274.8537	40	270.6713	56	279.6643
9	265.9785	25	274.0501	41	264.6503	57	276.1916
10	265.0130	26	273.2465	42	258.6293	58	280.6643
11	265.0345	27	272.4429	43	252.6083	59	276.1916
12	265.0130	28	271.6393	44	246.5873	60	281.6643
13	267.3625	29	270.8357	45	240.5663	61	276.1916
14	260.3976	30	270.0321	46	234.5453	62	282.6643
15	263.8175	31	269.2285	47	228.5243	63	276.1916
16	265.7181	32	268.4249	48	222.5033	64	283.6643

ANEXO F – Estatística do Zinco

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	260.3976	268.4249	222.5033	276.0843
Máximo	269.2184	275.6573	276.6923	283.6643
Amplitude Total	8.8208	7.2324	54.1890	7.5800
Mediana	265.9571	273.8442	267.6608	276.2131
Primeiro Quartil (25%)	265.0291	271.4384	245.0821	276.1916
Terceiro Quartil (75%)	268.1134	274.7146	275.6230	279.9143
Desvio Interquartilico	3.0843	3.2762	30.5410	3.7227
Média Aritmética	266.3279	272.9994	259.4565	278.1444
Variância	5.2889	5.3388	372.3594	7.1357

Desvio Padrão	2.2998	2.3106	19.2966	2.6713
Erro Padrão	0.5749	0.5776	4.8242	0.6678
Coeficiente de Variação	0.86%	0.85%	7.44%	0.96%
Assimetria (g1)	-0.9620	-0.7810	-0.7559	1.0227
Curtose (g2)	1.5821	-0.6252	-0.9287	-0.4250
Média Harmônica =	266.3091	272.9810	258.0372	278.1205
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	266.3186	272.9902	258.7588	278.1324
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0000	1.0000	1.0025	1.0000
Desvio Padrão (geom.) =	1.0087	1.0085	1.0795	1.0096
=				

ANEXO G – Concentrações de Mg

Leite n°	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	150.5169	17	123.5120	33	121.2114	49	121.9390
2	142.0240	18	123.7369	34	120.7847	50	122.2218
3	144.4515	19	123.5620	35	121.2462	51	122.1559
4	145.7457	20	123.0933	36	122.0439	52	78.7818
5	146.8371	21	121.5542	37	121.1625	53	135.4077
6	147.5926	22	122.5686	38	121.3793	54	120.9663
7	126.8710	23	93.0813	39	88.9957	55	151.3405
8	127.3607	24	91.6261	40	77.7184	56	134.7146
9	127.4517	25	121.7544	41	125.1193	57	138.0887
10	127.4727	26	122.8827	42	152.5202	58	121.4628
11	127.4797	27	120.0110	43	119.9211	59	124.8369
12	127.5566	28	112.1393	44	167.3220	60	118.2110
13	84.0147	29	135.2676	45	114.7229	61	111.5851
14	88.1072	30	113.3959	46	162.1238	62	154.9592
15	90.1780	31	121.5242	47	109.5247	63	128.3333
16	73.6259	32	115.6525	48	156.9256	64	122.7074

ANEXO H – Estatística do Mg

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	73.6259	91.6261	77.7184	78.7818
Máximo	150.5169	135.2676	167.3220	154.9592
Amplitude Total	76.8910	43.6415	89.6036	76.1774
Mediana	127.4762	121.6543	121.2288	122.4646
Primeiro Quartil (25%)	117.6978	115.0884	118.6216	121.3387
Terceiro Quartil (75%)	144.7751	123.1980	131.9695	134.8879

Desvio Interquartilício	27.0773	8.1096	13.3480	13.5492
Média Aritmética	123.5804	117.8351	125.1701	125.4820
Variância	642.0893	125.5595	595.4020	292.9461
Desvio Padrão	25.3395	11.2053	24.4009	17.1157
Erro Padrão	6.3349	2.8013	6.1002	4.2789
Coefficiente de Variação	20.50%	9.51%	19.49%	13.64%
Assimetria (g1)	-0.9176	-1.4637	0.0954	-0.8892
Curtose (g2)	-0.5174	2.2761	0.0726	3.3059
Média Harmônica =	117.5718	116.6812	120.4656	122.8443
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	120.7634	117.2857	122.8667	124.2536
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0234	1.0046	1.0179	1.0098
Desvio Padrão (geom.) =	1.2596	1.1078	1.2239	1.1619

ANEXO I – Concentrações de Mn

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	8.2022	17	8.1380	33	8.0545	49	8.0416
2	8.2279	18	8.1315	34	8.1637	50	8.1026
3	8.0802	19	8.1444	35	8.0930	51	8.0802
4	8.0673	20	8.1219	36	8.1059	52	8.1256
5	8.2279	21	8.2086	37	8.0609	53	8.1710
6	8.2086	22	8.1315	38	8.1187	54	8.1216
7	8.1412	23	8.1797	39	8.1194	55	8.0262
8	8.0802	24	8.2569	40	8.3140	56	8.0307
9	8.1893	25	8.1541	41	8.5039	57	8.1352
10	8.2536	26	8.1113	42	8.0553	58	8.2980
11	8.1026	27	8.1885	43	8.2673	59	8.2443
12	8.0705	28	8.2657	44	8.6936	60	8.1488
13	8.1199	29	8.1429	45	8.1913	61	8.1534
14	8.2398	30	8.2015	46	8.0334	62	8.1579
15	8.3083	31	8.0973	47	8.1533	63	8.0625
16	8.1827	32	8.1745	48	8.2732	64	8.0670

ANEXO J – Estatística do Mn

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	8.0673	8.0973	8.0334	8.0262
Máximo	8.3083	8.2657	8.6936	8.2980
Amplitude Total	0.2410	0.1684	0.6602	0.2718

Mediana	8.1860	8.1493	8.1364	8.1236
Primeiro Quartil (25%)	8.0970	8.1315	8.0850	8.0659
Terceiro Quartil (75%)	8.2279	8.1918	8.2688	8.1545
Desvio Interquartilico	0.1309	0.0602	0.1838	0.0886
Média Aritmética	8.1689	8.1655	8.2001	8.1229
Variância	0.0057	0.0024	0.0323	0.0056
Desvio Padrão	0.0754	0.0490	0.1798	0.0749
Erro Padrão	0.0188	0.0122	0.0450	0.0187
Coeficiente de Variação	0.92%	0.60%	2.19%	0.92%
Assimetria (g1)	0.0658	0.7962	1.7515	0.8429
Curtose (g2)	-1.1379	-0.0155	2.9979	0.7061
Média Harmônica =	8.1682	8.1652	8.1965	8.1223
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	8.1686	8.1654	8.1983	8.1226
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0000	1.0000	1.0002	1.0000
Desvio Padrão (geom.) =	1.0093	1.0060	1.0218	1.0092

ANEXO K – Concentrações de Na

Leite n°	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	67.1527	17	55.2980	33	13.7015	49	92.1741
2	47.3333	18	57.0024	34	141.9973	50	137.0150
3	67.2626	19	55.2980	35	137.0150	51	87.1918
4	57.2980	20	57.0024	36	87.1918	52	63.0137
5	107.1211	21	82.2095	37	176.8735	53	81.2412
6	107.0035	22	92.1741	38	166.9088	54	87.6962
7	122.0680	23	34.5205	39	20.2740	55	79.4687
8	47.3333	24	33.1127	40	48.7671	56	112.3784
9	62.2803	25	41.7049	41	32.6557	57	80.1513
10	127.0503	26	50.2971	42	76.5443	58	95.9235
11	67.3458	27	48.8893	43	50.4328	59	128.8333
12	52.3156	28	27.4815	44	95.6785	60	120.6061
13	59.4521	29	36.0737	45	31.7899	61	97.061
14	27.3973	30	54.6659	46	87.9013	62	85.2886
15	34.5205	31	43.2581	47	64.0127	63	113.5161
16	36.7123	32	41.8503	48	80.1241	64	61.7434

ANEXO L – Estatística do Na

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16

Mínimo	27.3973	27.4815	13.7015	61.7434
Máximo	127.0503	92.1741	176.8735	137.0150
Amplitude Total	99.6530	64.6926	163.1720	75.2716
Mediana	60.8662	46.0737	78.3342	89.9352
Primeiro Quartil (25%)	47.3333	37.0450	44.7393	80.9687
Terceiro Quartil (75%)	77.2602	55.7241	106.0126	112.6628
Desvio Interquartilico	29.9269	18.6792	61.2734	31.6941
Média Aritmética	68.1029	50.8209	81.9918	95.2064
Variância	968.8304	347.5260	2598.2754	480.7762
Desvio Padrão	31.1260	18.6421	50.9733	21.9266
Erro Padrão	7.7815	4.6605	12.7433	5.4817
Coeficiente de Variação	45.70%	36.68%	62.17%	23.03%
Assimetria (g1)	0.8086	1.0617	0.5625	0.4039
Curtose (g2)	-0.4600	0.3713	-0.6677	-0.4995
Média Harmônica =	56.3865	45.5522	49.2048	90.5653
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	61.9193	47.9950	65.5882	92.8664
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0926	1.0523	1.2741	1.0235
Desvio Padrão (geom.) =	1.5706	1.4087	2.1105	1.2601

ANEXO M – Concentrações de Cd

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	0.0157	17	0.0138	33	0.0108	49	0.0551
2	0.0256	18	0.0669	34	0.0059	50	0.0630
3	0.0098	19	0.0039	35	0.0049	51	0.0777
4	0.0157	20	0.0767	36	0.0020	52	0.0250
5	0.0236	21	0.0069	37	0.0039	53	0.0071
6	0.0275	22	0.0748	38	0.0059	54	0.0084
7	0.0020	23	0.0250	39	0.0210	55	0.0031
8	0.0039	24	0.0210	40	0.0150	56	0.0018
9	0.0285	25	0.0632	41	0.0030	57	0.0023
10	0.0138	26	0.0036	42	0.0044	58	0.0029
11	0.0138	27	0.0732	43	0.0123	59	0.0043
12	0.0039	28	0.0090	44	0.0115	60	0.0096
13	0.9279	29	0.0015	45	0.0018	61	0.0049
14	0.9950	30	0.0583	46	0.0043	62	0.0150
15	0.0210	31	0.0480	47	0.0160	63	0.0055
16	0.0290	32	0.0230	48	0.0072	64	0.0060

ANEXO N – Estatística do Cd

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	0.0020	0.0010	0.0020	0.0018
Máximo	0.9950	0.0767	0.0330	0.0777
Amplitude Total	0.9930	0.0757	0.0310	0.0759
Mediana	0.0184	0.0120	0.0090	0.0066
Primeiro Quartil (25%)	0.0128	0.0064	0.0047	0.0040
Terceiro Quartil (75%)	0.0278	0.0220	0.0165	0.0175
Desvio Interquartilico	0.0150	0.0156	0.0119	0.0135
Média Aritmética	0.1348	0.0222	0.0118	0.0182
Variância	0.1044	0.0007	0.0001	0.0006
Desvio Padrão	0.3230	0.0260	0.0094	0.0244
Erro Padrão	0.0808	0.0065	0.0023	0.0061
Coefficiente de Variação	239.66%	117.18%	79.17%	133.78%
Assimetria (g1)	2.5129	1.5475	1.0120	1.6960
Curtose (g2)	4.9458	0.9115	0.1425	1.5756
Média Harmônica =	0.0099	0.0061	0.0062	0.0054
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	0.0223	0.0119	0.0086	0.0089
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	3.3546	1.8665	1.3734	1.8515
Desvio Padrão (geom.) =	5.3090	3.3159	2.3507	3.2902
=				

ANEXO O – Concentrações de Fe

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	0.2270	17	6.6518	33	0.3283	49	0.2756
2	0.2837	18	6.5181	34	6.7329	50	6.7126
3	0.9161	19	6.5789	35	0.2797	51	6.4775
4	0.3405	20	6.7370	36	6.7613	52	0.1543
5	0.3081	21	6.5262	37	0.3324	53	6.1689
6	0.2919	22	6.4289	38	6.5586	54	2.4921
7	1.2080	23	0.1584	39	0.1239	55	8.8153
8	0.3405	24	0.2111	40	0.2518	56	5.1385
9	0.2959	25	5.2638	41	6.3797	57	1.4617
10	0.3162	26	1.3165	42	5.5076	58	7.7849
11	1.2161	27	6.3692	43	6.6355	59	4.1081
12	0.3243	28	4.4219	44	1.7634	60	0.4313
13	0.1381	29	1.4746	45	2.8913	61	6.7545
14	0.1543	30	0.5273	46	1.0192	62	3.0777
15	0.7715	31	6.58	47	1.1471	63	9.4009

16	0.0731	32	6.6327	48	6.275	64	5.7241
----	--------	----	--------	----	-------	----	--------

ANEXO P – Estatística do Fe

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	0.0731	0.1584	0.1239	0.1543
Máximo	1.2161	6.7370	6.7613	9.4009
Amplitude Total	1.1430	6.5786	6.6374	9.2466
Mediana	0.3122	6.3991	2.3274	5.4313
Primeiro Quartil (25%)	0.2695	1.4351	0.3314	2.2345
Terceiro Quartil (75%)	0.4483	6.5792	6.4244	6.7231
Desvio Interquartilico	0.1787	5.1441	6.0931	4.4886
Média Aritmética	0.4503	4.5248	3.3117	4.6861
Variância	0.1342	7.4078	8.4813	9.3454
Desvio Padrão	0.3663	2.7217	2.9123	3.0570
Erro Padrão	0.0916	0.6804	0.7281	0.7643
Coeficiente de Variação	81.34%	60.15%	87.94%	65.24%
Assimetria (g1)	1.3559	-0.8015	0.1531	-0.1920
Curtose (g2)	0.5756	-1.3226	-2.0612	-1.2053
Média Harmônica =	0.2600	0.9893	0.6266	1.0381
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	0.3407	2.8395	1.6298	2.9271
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.2954	2.1121	2.5341	2.0870
Desvio Padrão (geom.) =	2.1641	3.7140	4.3199	3.6750

Anexo Q – Concentrações de Pb

Leite nº	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite nº	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	0.1563	17	0.0977	33	0.2149	49	0.1563
2	0.2344	18	0.0391	34	0.3516	50	0.1563
3	0.1172	19	0.0781	35	0.0781	51	0.1563
4	0.1172	20	0.1953	36	0.3201	52	0.5019
5	0.1172	21	0.1563	37	0.4354	53	0.4895
6	0.2344	22	0.1563	38	0.2503	54	0.1494
7	0.0977	23	0.7947	39	0.4691	55	0.5103
8	0.1758	24	0.4601	40	0.5856	56	0.1478
9	0.0391	25	0.0422	41	0.2558	57	0.5081
10	0.1563	26	0.1824	42	0.4701	58	0.1527
11	0.1172	27	0.0779	43	0.3224	59	0.5014
12	0.0391	28	0.153	44	0.2581	60	0.5089

13	0.6692	29	0.1556	45	0.2518	61	0.5534
14	0.4183	30	0.0975	46	0.5774	62	0.1479
15	0.4392	31	0.1946	47	0.2134	63	0.5194
16	0.4691	32	0.4582	48	0.2178	64	0.1497

ANEXO R – Estatística do Pb

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	0.0391	0.0391	0.0781	0.1478
Máximo	0.6692	0.7947	0.5856	0.5534
Amplitude Total	0.6301	0.7556	0.5075	0.4056
Mediana	0.1563	0.1560	0.2891	0.3229
Primeiro Quartil (25%)	0.1172	0.0927	0.2422	0.1496
Terceiro Quartil (75%)	0.2804	0.1948	0.4438	0.5083
Desvio Interquartilico	0.1632	0.1021	0.2017	0.3587
Média Aritmética	0.2249	0.2087	0.3295	0.3313
Variância	0.0323	0.0398	0.0202	0.0348
Desvio Padrão	0.1796	0.1994	0.1422	0.1867
Erro Padrão	0.0449	0.0499	0.0355	0.0467
Coefficiente de Variação	79.89%	95.57%	43.15%	56.34%
Assimetria (g1)	1.2983	2.0680	0.4413	0.0161
Curtose (g2)	1.0077	4.3712	-0.3913	-2.2761
Média Harmônica =	0.1223	0.1123	0.2599	0.2331
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	0.1675	0.1498	0.2978	0.2779
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.3365	1.3399	1.1132	1.1884
Desvio Padrão (geom.) =	2.2642	2.2722	1.6435	1.8786

ANEXO S – Concentrações de K

Leite n°	Zona A (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona B (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona C (mg.L ⁻¹)	Leite n°	Zona D (mg.L ⁻¹)
1	10.1418	17	1.9059	33	10.0669	49	10.0702
2	10.1087	18	7.4094	34	10.0493	50	9.4743
3	10.0226	19	10.1612	35	10.1678	51	10.1739
4	10.1240	20	10.1693	36	10.1698	52	10.8735
5	9.9538	21	10.1714	37	10.1701	53	8.5731
6	9.6860	22	10.1720	38	10.1734	54	10.2727
7	9.9566	23	10.1726	39	10.1767	55	9.9723
8	9.9558	24	10.1732	40	10.1800	56	9.6719
9	9.9479	25	10.1738	41	10.1933	57	9.3715

10	9.9584	26	10.1744	42	10.1866	58	9.0711
11	9.9578	27	9.1750	43	10.1899	59	9.7707
12	9.9572	28	9.1756	44	10.1632	60	10.4703
13	9.9566	29	9.1762	45	10.1665	61	10.1699
14	9.9560	30	10.1768	46	10.1998	62	10.8695
15	9.9554	31	10.1774	47	10.0731	63	10.5691
16	9.9548	32	10.1780	48	10.0864	64	10.2687

ANEXO T – Estatística do K

Estatística	Zona A	Zona B	Zona C	Zona D
Tamanho da amostra =	16	16	16	16
Mínimo	9.6860	1.9059	10.0493	8.5731
Máximo	10.1418	10.1780	10.1998	10.8735
Amplitude Total	0.4558	8.2721	0.1505	2.3004
Mediana	9.9566	10.1717	10.1700	10.1201
Primeiro Quartil (25%)	9.9553	9.1761	10.1440	9.6225
Terceiro Quartil (75%)	9.9745	10.1740	10.1817	10.3221
Desvio Interquartilico	0.0192	0.9979	0.0376	0.6996
Média Aritmética	9.9746	9.2964	10.1508	9.9777
Variância	0.0105	4.4448	0.0025	0.3999
Desvio Padrão	0.1026	2.1083	0.0503	0.6323
Erro Padrão	0.0257	0.5271	0.0126	0.1581
Coefficiente de Variação	1.03%	22.68%	0.50%	6.34%
Assimetria (g1)	-0.9577	-3.2765	-1.1913	-0.6277
Curtose (g2)	3.9705	11.4330	-0.2280	0.1875
Média Harmônica =	9.9736	7.7372	10.1506	9.9385
N (média harmônica) =	16	16	16	16
Média Geométrica =	9.9741	8.8100	10.1507	9.9584
N (média geométrica) =	16	16	16	16
Variância (geom.) =	1.0000	1.0784	1.0000	1.0018
Desvio Padrão (geom.) =	1.0104	1.5171	1.0050	1.0669
=				

ANEXO U – Requerimento para o comitê de ética do Banco de Leite



Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS
Mestrado em Ciências da Saúde

REQUERIMENTO

Macapá, 16 de maio de 2011

À Senhora

Andréia Malvão
Diretora do Banco de Leite do Estado do Amapá

Assunto: Solicitação de amostras de leites e declaração de aceite do projeto

1. O projeto, conforme apresentado, é investigativo para metais em leite humano, servindo para criar métodos analíticos que auxiliem no seu controle de qualidade. Contudo, o projeto é um dos requisitos para obtenção de Título de Mestre em Ciências da Saúde, com área de concentração em Ensaio Biológicos, sob a orientação do Professor Doutor Roberto Bezerra Messias;
2. Diante o exposto, solicito o aceite do projeto para realização das coletas de leites para as amostragens em absorção atômica, podendo ser pasteurizado ou não, juntamente com os de descartes;
3. Solicito também a emissão de declaração de aceite do projeto para apresentar junto a qualificação do mesmo.

Atenciosamente,

Danilo Monteiro Monteiro
Danilo Monteiro Monteiro
Engenheiro Químico
CREA: 356 D/AP
Danilo Monteiro Monteiro

Mestrando em Ciências da Saúde - UNIFAP

recebido
Cláudia Torres Carvalho
Téc. em Enfermagem
COREN/AP 280802
25.05.11
às 13:00

Autorização
Elvany de S.
14.07.11 (SEI)

ANEXO V – Autorização do Comitê de Ética do Banco de Leite

SERVIÇO PÚBLICO ESTADUAL
GOVERNO DO ESTADO DO AMAPÁ
HOSPITAL DA MULHER MÃE LUZIA

COMITÊ DE ÉTICA

AUTORIZAÇÃO

Macapá, 06 de setembro de 2011

O Banco de Leite do Estado do Amapá, anexo ao Hospital da Mulher Mãe Luzia, está autorizando a coleta de amostras de leite humano para fins científicos, sob o estudo "Fundamentação de Metodologias para a Determinação de Metais em Leite Humano", através do pesquisador Danilo Monteiro Monteiro, com orientação do Professor Doutor Roberto Bezerra Messias. As análises das amostras serão realizadas no Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Os resultados da pesquisa servirão para o Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde em nível de Mestrado. As amostras estão liberadas pelo Comitê de Ética do Hospital da Mulher Mãe Luzia, com ciência do Banco de Leite.

Recebido e autorizado

Em 08.09.11

Obzi

Drª Nírcia Corvalão da Silva
Coordenadora Clínica
CRM - 409 / AP

Referências Bibliográficas

BARROS, S. M. O.; MARIN, H. F.; ABRÃO, A. C. F. V. **Enfermagem obstétrica e ginecológica: guia para a prática assistencial**. São Paulo: Ed. Roca. 2002.

BENVENUTTI, E. V. **Química Inorgânica: átomos, moléculas, líquidos e sólidos**. 2º ed. ver. Pag. 15. Porto Alegre: Ed. da UFRGS. 2006.

CASAS, R.; BÖTTCHER, M. F.; DUCHÉN, K.; BJÖRKSTÉN, B. **Detection of IgA antibodies to cat, beta-lactoglobulin, and ovalbumin allergens in human milk**. J. Allergy Clin Immunol. 105(6 Pt 1):1236-40. 2000.

CUBADDA, F.; RAGGI, A.; MARCONI, E. **Effects of processing on five selected metals in the durum wheat food chain**. Microchem. J., 79 (1-2): 97-102. 2005.

DONANGELO, C.M.; TRUGO, M.F.; KOURY, J.C.; BARRETO, S.M.I.; FREITAS, L.A.; FELDHEIM, W. **Iron, zinc, folate and vitamin B12 nutritional status and milk composition of low-income Brazilian mothers**. Eur. J. Clin. Nutr., v. 43, p. 253-266, 1989.

DOWDY, R. P.; BURT, J. **Effect of intensive, long-term training on copper and iron nutriture in man**. Federation Proceedings. Vol. 39, Nº. 3, I pp. 786. 1980.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E. ; MARCHINI, J. S. Ciências Nutricionais. São Paulo: Sarvier; 1998.

ENGLISH, R. M.; BENNETT, S. A. **Iron status of Australian children**. Med. J.Aust.,152 (11): 582-586, 1996.

GIUGLIANI, E. R. J. **O aleitamento materno na prática clínica**. Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro, v. 76, supl. 3 p. S238-S252, 2000.

GONÇALVES, J. M.; ANTUNES, K. C. L.; ANTUNES, A. **Determinação de cálcio e ferro em leite enriquecido**. Química Nova na Escola, Nº 14. 2001.

GONÇALVES, J. R.; MESQUITA, A. J.; GONÇALVES, R. M. **Determinação de Metais Pesados em Leite Integral Bovino Pasteurizado no Estado de Goiás**.

Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, C.P. 131 CEP. 74001-970. Goiânia-GO. Brasil. 2008.

GUIMARÃES, F.P. **“Veiculação Hídrica das Doenças”**. Em: **Curso de Epidemiologia e Profilaxia das Doenças de Veiculação Hídrica**. IES – SURSAN, Rio de Janeiro. 1967.

HAMBIDGE, K. M. **Zinc and diarrhea**. Acta Pediatrics Suppl. 381: 82-6. 1992.

HURIE, M. B.; SAARI, T. N.; PROCTOR, M. E.; DAVIS, J. P. **Hospitals' Responses to Universal Infant Hepatitis B Vaccination Recommendations**. Pediatrics Vol. 96, Nº. 5. Pp. 875 -879. 1995.

JUNIOR, J. B. P.; FERNANDES, K. G.; MÜLLER, R. C. S.; NÓBREGA, J. A.; PALHETA, D. C. **Determinação Direta de Ca, Mg, Mn e Zn em Amostras de Leite de Búfala da Ilha de Marajó por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)**. Química Nova. Vol. 32, No. 9, pág. 2333-2335. 2009.

KOTZ, J. C.; TREICHEL, J. R. P. **Química e Reações Químicas**. 3ª ed. Vol. 1. Rio de Janeiro, LTC Livros Técnicos e Científicos, pág. 1-9, 1998.

LATHE, R. **Autism, brain, and environment**. British Library. Philadelphia, USA. 2006.

LAURINDO, V. M. **Composição nutricional do colostro de mães de recém-nascidos de termo adequados e pequenos para a idade gestacional**. Vol. II. Composição nutricional do leite humano nos diversos estágios da lactação. Vantagens em relação ao leite de vaca. 1992.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Campinas, 5ª Edição. São Paulo: Ed. Átomo. 2008.

LOPES, P. R. A. **As vantagens da amamentação. Por que amamentar?** In: REGO, J.D. Aleitamento materno: um guia para pais e familiares. São Paulo: Atheneu, 2002.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. Ed. Roca, 1998.

MAHAN, B. M.; MYERS, R. J. **Química: Um Curso Universitário**. Tradução da 4ª ed. Ed. Edgard Blucher. 2000.

MAHAN, K; ESCOTT-STUMP, S. **Krause - alimentos, nutrição & dietoterapia**. 10ª ed. São Paulo: Roca; 2002.

MARTINS, I. Manganês. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (eds). **Metais: gerenciamento da toxicidade**. Ed. Atheneu. São Paulo. 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 685: "**Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos**" e seu Anexo: "**Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos**". 1998.

MIGUEL, A. **Cádmio - Intoxicação**. Disponível em: <<http://www.medicinageriatrica.com.br/2008/01/14/saude-geriatria/camdio-intoxicacao/>>. Acessado em 2 de fevereiro de 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 2.914: "**qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**". 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Problemas Respiratórios, Cardiocirculatórios, Metabólicos, Neurológicos, Ortopédicos e Dermatológicos. Guia para os profissionais de Saúde**. Ed MS. Vol. 3. Brasília – DF. 2011.

MONTRONE, V. G.; ARANTES, C. I. S. **Prevalência do aleitamento materno**. **Jornal de Pediatria**. Vol. 76, n. 2, p. 138-42. São Paulo, 2000.

MORGANO, M. A.; SOUZA, L. A.; NETO, J. M.; RONDÓ, P. H. C. **Composição Mineral do Leite Materno de Bancos de Leite**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 819-824, out.-dez. 2005.

NÓBREGA, J. A.; GÉLINAS, Y.; KRUSHEVSKA, A.; BARNES, R. M. J. **Anal. At. Spectrom**. 12, 1243. 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Lactação**. In: **Organização Mundial da Saúde (OMS) Alimentação infantil bases fisiológica**. São Paulo (SP): IBFAN Brasil e Instituto de Saúde, OMS, OPAS e UNICEF Brasil; p. 17-35. 1994.

ORIENTAÇÕES SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIOS QUÍMICOS. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008. Revisão: 01. MARÇO, 2003.

PEIRANO, M. M. F. **Remoção de Metais Pesados no Tratamento Biológico – Sistema Biológico Tipo Lodos Ativados**. Revista Gerenciamento Ambiental, São Paulo, v.24, p. 51-53, 2003.

PRASAD, A. S. **Zinc and immunity**. Mol Cell Biochem. 188:63-69. 1998.

REILLY, C. **Metal Contamination of Food**. London: Elsevier. 1991. 284 p.

RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 4ª ed., 1033 p. 2003.

ROUGEMONT, A. J. **Alimentos Seguros – Necessidade ou Barreira comercial?** Perspectivas Online. Campos dos Goytacazes. v.1. n.2, p.62-70, 2007.

RUSSEL, J.B. **Química Geral**. McGraw-Hill. Ed. Makron-2ª Edição. Vol. 1. São Paulo-SP. 1994.

SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M. LYSIONEK, A.; CREMASCHI, G.; GOLDMAN, C. G.; CARO, R. et al. **Zinc Status and Immune System Relationship: A Review**. Biological Trace Element Research. 76:193-204. 2000.

SOKOL, E. J. **Em defesa da amamentação**. São Paulo: IBFAN Brasil. 1999.

TOMAR, V. M. B. N. **Estrutura Atômica e Tabela Periódica**. Arquivos do Curso de Química da UFAM. (2007).

VALSECHI, O. A. **Tecnologia de Produtos Agrícolas de Origem Animal**. Centro de Ciências Agrárias - Departamento de Tecnologia Agroindustrial de Socioeconomia Rural. Araras-SP. 2001.

VERRUMA, M. R.; SALGADO, J. M. **Análise Química do Leite de Búfala em Comparação ao Leite de Vaca**. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - ESALQ/USP - C.P. 9, CEP: 13418-900. Piracicaba-SP. Departamento de Economia Doméstica - ESALQ/USP - C.P. 9, CEP: 13418-900. Piracicaba,SP. 1994.

WATTIAUX, M. A. **Composição do Leite e seu Valor Nutricional**. Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional. 2000.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3^a ed. Wiley-VCH, Weinheim. Alemanha. 1999.

WHO. World Health Organization. **Summary and conclusions. Fifty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)**. Rome, Italy, 1999. 21p. Disponível em: <http://www.who.int/ipcs/food/jecfaaw/summaries/en/summary_53.pdf>. Acessado em: 13 fevereiro de 2013.