

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

DETERMINAÇÃO DE MACROELEMENTOS, OLIGOELEMENTOS E
CONTAMINANTES METÁLICOS EM PRÓPOLIS POR ESPECTROFOTOMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA E EM FORNO DE GRAFITE.

EFIGÊNIA QUEIROZ DE SANTANA

ORIENTADORA: Profa. Dra. Yoko Asakura Ribeiro

Co-ORIENTADORA: Profa. Dra. Chung Man Chin

ARARAQUARA - SP

2003

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

DETERMINAÇÃO DE MACROELEMENTOS, OLIGOELEMENTOS E
CONTAMINANTES METÁLICOS EM PRÓPOLIS POR ESPECTROFOTOMETRIA
DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA E EM FORNO DE GRAFITE.

EFIGÊNIA QUEIROZ DE SANTANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como
parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor
em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Yoko Asakura Ribeiro
Co-ORIENTADORA: Profa. Dra. Chung Man Chin

ARARAQUARA - SP

2003

Agradecimentos

A **Deus** pela dádiva maior: a vida.

“Esta é a confiança que temos nele, que, se lhe pedirmos alguma coisa, segundo a sua vontade, Ele nos ouve. I João 5:14.”

“A tua vida mais clara se levantará do que o meio dia”;
ainda que haja trevas, será como a manhã
– Jó 11:17.”

Agradecimentos

Aos meus pais: Diomedes “in memoriam” e Isaura

Às minhas filhas Renata e Fernanda.

Aos meus netos Gabriel e Lauren

E ao meu genro Anderson

“Ó minha alma, espera somente em Deus,
porque dele vem a minha esperança.

Salmo 62:5.”

Agradecimentos

À Professora Doutora Yoko Asakura Ribeiro por aceitar orientar esta tese e pela certeza de sua amizade e apoio.

“Felizes os que ouvem a palavra
de Deus e a põem em prática.
Lc 11,28”

Efigênia Queiroz de Santana

Agradecimentos

À Professora Doutora Chung Man Chin, muito querida co-orientadora, por sua sempre disponibilidade, incentivo quando acreditava que não chegaria ao final e pela especial amizade.

“A fé é o fundamento do que se espera
e a convicção das realidades que não se vêem
Hb 11,1”

À banca do exame de qualificação, composta pelos Professores Doutores Paulo Eduardo de Toledo Salgado, José Anchieta Gomes Neto e Chung Man Chin, pela orientação e correção desta tese, visando que de forma correta e concisa pudesse chegar à defesa.

“Por que o senhor dá a sabedoria; da sua boca vem o conhecimento e o entendimento.
– Provérbios 2:6.”

Agradecimentos

À comissão examinadora composta pelos Professores Doutores Valquiria Aparecida Polisel Jabor, Selma Lucy Franco, Wilma De Grava Kempinas, Antônio Francisco Godinho e Chung Man Chin, pela disponibilidade e aceitação em compor a mesa na defesa desta tese.

“E exultará o meu íntimo, quando os teus
lábios falarem coisas retas –
Provérbios 23:16.”

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o mínimo que se pode fazer, mas também é a única expressão de reconhecimento de tudo que recebi durante o período de execução desta tese.

No decorrer dos anos que pareciam não passar e que repentinamente estão no final, gostaria de ter a lembrança muito viva para individualmente agradecer a todos que de alguma forma estiveram comigo. Nesta impossibilidade, gostaria, desde já, de agradecer a tantos quantos, de alguma forma contribuíram para a realização e finalização deste estudo.

Contudo, algumas pessoas estão bem presentes em minha memória. A elas o meu carinho e agradecimento:

Professor Dr. Paulo Salgado, meu primeiro orientador, que mesmo com todas as suas ocupações quando ainda Diretor desta Faculdade, disponibilizou tempo, dando-me atenção. Foi graças a ele que iniciei esta jornada que ora está finalizando.

Sra. Sandra Maria Sanches da Vinha De Lorenzo, primeira a tentar a mineralização das amostras hidroalcoólicas de própolis e também a primeira a levar o primeiro susto quando a amostra, ao virarmos por alguns segundos, foi parar no teto da capela, ainda hoje com os vestígios daquele dia, quando a amostra “explodiu”.

Professora Doutora Chung Man Chin, pela amizade, incentivo e carinho a mim dedicado. Sua disponibilidade foi e é incomparável. Em todos os momentos em que quase parei, em que vacilei ante as dificuldades, ela estava sempre a dizer que eu fosse em frente, que seria um trabalho bonito, mesmo percebendo os erros e as fraquezas. A você, minha amiga, meu agradecimento especial.

Docentes que compõem o quadro do programa desta Pós-Graduação pelo empenho e conhecimento transmitido.

Agradecimentos

À Professora Doutora Selma Lucy Franco, que apesar de seus muitos afazeres no período em que ainda era doutoranda, esteve disponível para preparar extratos que seriam utilizados no estudo. Não posso deixar de citar que foi uma amizade a ser cultivada mesmo à distância.

Professora Doutora Wilma de Grava Kempinas, pela disponibilização do laboratório do Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX) e pela preciosa e inestimável amizade de longa data.

Amigo e colega Doutor Alaor Aparecido Almeida, sem o qual, a execução das análises não teria acontecido. Sua presteza, dedicação, inclusive permanecendo após seu horário naquele Centro, foi além das expectativas. A cada dúvida, a busca de uma resposta. Foi um colaborador inigualável.

Queridas ex-alunas Juliana Guimarães Lamoso e Paula Vanessa de Oliveira Vechetti, que acompanharam e executaram a mineralização das amostras, inclusive nos momentos de refluxo e de susto.

À querida amiga e ex-aluna Valéria Romero que me iniciou no “mundo do Excel”, com paciência, carinho e até altas horas da noite. É mais que uma amiga, é como uma filha!

Amiga Meggy Valéria Ricci dos Santos, a mais recente, que deixando o seu horário de janta, ou mesmo se atrasando para sua aula, dedicou-se à elaboração de gráficos, apesar das dificuldades inerentes à máquina.

Irmã Maria Alba Leite, diretora do Centro de Ciências Biológicas e Profissões da Saúde, da Universidade do Sagrado Coração (USC), em Bauru, por sua cooperação para aquisição de materiais para reposição parcial, do material utilizado no CEATOX, para execução deste trabalho.

Senhor Elísio Barbosa Rodrigues pelo empréstimo da lâmpada de cátodo de magnésio, o que possibilitou a análise desse metal.

Professor Dr. Luiz Sanches, pela intermediação e condução das amostras de própolis doadas pelo apiário Wenzel.

Agradecimentos

Produtores de própolis, dos apiários abaixo relacionados, pela doação da própolis *in natura* e/ou os extratos:

?? Pereira Brasil Própolis - Santa Rita/SP

?? Diamante – Produção e Comércio de Mel Ltda., (Apis Flora), em
Ribeirão Preto

?? Esquadrão da Vida, em Bauru

?? Apiário Wenzel, Picus/PI

Bibliotecárias da Universidade de São Paulo, em Bauru, Rita de Cassia Paglione, Vera R.C. Boccato e Thereza J. Werle e Bibliotecárias da USC, Claudia Maria Mendes de Oliveira e Flávia Cristina Ferreira, pela atenção dispensada na obtenção de artigos necessários para a revisão bibliográfica.

Claudia Molina, Sonia Ornellas e Laura Rosim pela forma cordial e amiga que sempre me atenderam. São pessoas especiais e queridas amigas.

Henrique Pachioni Martins, Analista de Sistema, pela diagramação desta tese, realizada com paciência e boa vontade.

Professora doutoranda Cinthia M. R. Remaeh, pela revisão de Língua Portuguesa.

Professora doutoranda Marineide Dias Esqueda pela versão do resumo para o inglês.

Ao Centro de Assistência Toxicológica pelo apoio financeiro o que possibilitou a realização deste trabalho.

A bibliotecária da UNESP, Campus de Araraquara, Senhora Maria Irani pela correção da bibliografia e pela sua sempre solícita disponibilidade.

Ao amigo James Welsh que dentre seus muitos afazeres, abdicando de momentos preciosos, procedeu a correção do abstract para versão final desta tese.

Agradecimentos

Finalmente, não posso deixar de citar a compreensão que minha mãe, Isaura e minha filha Fernanda, a mim dedicaram, pois mesmo morando sob o mesmo teto ficavam por longos períodos sem ao menos me dirigir a palavra, fazer alguma pergunta, ou mesmo comunicar uma situação de doença, para não interromper o trabalho que no momento estava sendo realizado. E minha filha Renata, com meus netos, que em visita, mesmo morando em outra cidade, tinham de se contentar em conversar, trocar umas idéias nos poucos momentos em que me afastava da frente do computador. É pouco, porém é o meu MUITO OBRIGADA!

“Porque tu tens sido o meu auxílio;
Jubiloso cantarei refugiado à sombra
das tuas asas. Salmo 63:7”

RESUMO

A própolis, oriunda de brotos e exsudatos de árvores, é uma resina balsâmica, de consistência viscosa, com variação na cor, de parda escura a vermelha, com sabor amargo e composição química complexa. Os compostos químicos presentes são: ácidos benzóico, salicílico e cinâmico, benzaldeído, compostos terpênicos e em maior concentração, flavonóides. Possui uma ampla utilização farmacológica, dentre as quais, destacam-se as ações: antimicrobiana, antiviral, antiparasitária e antiinflamatória. Por se tratar de produto oriundo de vegetais, está sujeito a contaminações ambientais. Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver metodologia de análise para determinar a presença de contaminantes metálicos, macroelementos e oligoelementos na própolis *in natura* e em extratos. Os metais pesquisados foram: cádmio, cálcio, chumbo, cobre, crômio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, tálio e zinco. Durante o processo analítico, a mineralização destas amostras só foi possível quando utilizado forno de microondas. As determinações foram realizadas em espectrofotometria de absorção atômica em chama (EAA-chama) e espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (EAA-FG). Em EAA-chama, não foram detectados ou foram em concentrações muito baixas em apenas algumas amostras de extratos, o cádmio, chumbo, crômio, mercúrio, níquel e tálio, enquanto cálcio e zinco foram detectados em todos os extratos. Na própolis *in natura*, além destes últimos, também houve detecção de magnésio, manganês e cobre em todas as amostras. Em 75% das amostras *in natura*, o chumbo foi detectado, atingindo concentrações de até $95,811\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em EAA-FG, os metais pesquisados foram o cádmio, chumbo, crômio e tálio. Este último, só foi detectado em 25% dos extratos e em concentrações muito baixas ($4,59\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, a maior). O chumbo foi detectado em 81% dos extratos, atingindo teores de até $12.618,513\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e 100% das amostras *in natura*, atingindo $79.105,60\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Os demais metais apresentaram-se em baixas concentrações. Este trabalho demonstra que produtos naturais, como a própolis, não estão isentos de possível contaminação por metais, sendo evidente a necessidade de uma legislação pertinente.

ABSTRACT

Propolis, originated from sprouts and trees exudates, is a balsamic resin, with a viscous consistency, presenting a variety of colors ranging from dark brown to red, a bitter taste and complex chemical composition. The chemical compounds found are: benzoic, salicylic and cinnamic acid as well as benzaldehyde, terpenic compounds and flavonoids of high concentration. It has large pharmacological utilization, amongst which the following actions have been distinguished: antimicrobial, antiviral, anti-parasite and anti-inflammatory. When derived from vegetable product, it is subjected to environmental contaminations. Thus, the objective of this study was to develop analytical methodology to determine the presence of metallic contaminants, macroelements and oligoelements in the propolis extracts and propolis *in natura*. The metals sought were: cadmium, calcium, lead, copper, chromium, magnesium, manganese, mercury, nickel, thallium and zinc. During the analytical process, the mineralization of these samples was possible only when microwave ovens were utilized. The determinations were carried out through spectrometry by flame atomic absorption (FAAS) and by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS). Through FAAS, the following metals were either not detected or found in very low concentrations in only some extract samples: cadmium, lead, chromium, mercury, nickel and thallium, while calcium and zinc were detected in all extracts. In the propolis *in natura*, besides these latter two, magnesium, manganese and copper appeared in all the samples. In 75% of the *in natura* samples, lead was detected, reaching concentrations up to **95.811** $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. FG-AAS yielded cadmium, lead, chromium and thallium. This last one was only detected in 25% of extracts and very low concentrations $4.59 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, the highest. Lead was detected in 81% of extracts, having reached rates up to $12,618.513\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and in 100% of the samples *in natura*, reaching $79,105.60 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The other metals presented low concentrations. This work demonstrates that natural products, such as propolis, are not exempt from possible contamination by metals, evidencing the necessity of pertinent legislation.

SUMÁRIO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA	1
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. PRÓPOLIS.....	4
2.2. METAIS.....	9
2.2.1. CÁDMIO.....	11
2.2.1.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	12
2.2.1.2. Intoxicação.....	14
2.2.1.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	14
2.2.1.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	14
2.2.2. CÁLCIO.....	18
2.2.2.1. Farmacocinética e Farmacodinâmica.....	18
2.2.2.2. Anormalidades no metabolismo.....	19
2.2.3. CHUMBO.....	20
2.2.3.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	21
2.2.3.2. Toxicidade.....	21
2.2.3.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	23
2.2.3.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	23
2.2.4. COBRE.....	30
2.2.4.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	31

2.2.4.3. Toxicidade	32
2.2.4.3.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	32
2.2.4.3.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	33
2.2.5. CRÔMIO	34
2.2.5.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	35
2.2.5.2. Toxicidade	35
2.2.5.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	36
2.2.5.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	36
2.2.6. MAGNÉSIO	37
2.2.6.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	38
2.2.6.2. Toxicidade	38
2.2.6.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	39
2.2.6.2.2. Toxicidade Crônica ou em longo prazo.....	40
2.2.7. MANGANÊS.....	40
2.2.7.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	40
2.2.7.2. Toxicidade	41
2.2.7.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	41
2.2.7.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	42
2.2.8. MERCÚRIO	43
2.2.8.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	44
2.2.8.2. Toxicidade	45

2.2.8.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	48
2.2.8.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	49
2.2.9. NÍQUEL.....	51
2.2.9.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	51
2.2.9.2. Toxicidade.....	52
2.2.9.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	53
2.2.9.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	53
2.2.10. TÁLIO	54
2.2.10.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica.....	55
2.2.10.2. Toxicidade.....	56
2.2.10.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	56
2.2.10.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo.....	57
2.2.11. ZINCO.....	58
2.2.11.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica	58
2.2.11.2. Toxicidade.....	59
2.2.11.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo.....	59
2.2.11.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo	60
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
3.1 Materiais	63
3.1.1. Amostras de própolis	63
3.1.2. Equipamentos e materiais	65

3.1.3. Soluções padrão e reagentes.....	66
3.2.1. Descontaminação dos materiais.....	68
3.2.1.1. Materiais empregados na preparação das amostras.....	68
3.2.1.2. Descontaminação dos frascos do forno de microondas.....	68
3.2.2. Procedimento de mineralização das amostras de própolis	68
3.2.2.1. Método de Fresenius e Babo.....	69
3.2.2.2. Mineralização das amostras de própolis empregando forno microondas.....	69
3.2.3. Análise quantitativa dos metais em amostras de própolis	70
3.2.3.1. Espectrofotômetro de absorção atômica em chama	72
3.2.3.2. Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite	72
3.2.3.3. Espectrofotometria de absorção atômica com vapor frio	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
4.3.1. Determinação elementar por espectrofotometria de absorção atômica em chama (EAA-chama) e espectrofotometria de absorção atômica do vapor frio (EAA-VF).....	91
4.3.1.1. Extratos hidroalcoólicos de própolis	91
5. CONCLUSÕES	132
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134

ANEXOS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Própolis <i>in natura</i>	4
Figura 2. (a) Nódulo eritematoso abaixo do nariz; (b) Alargamento marcado de nódulo linfático.....	7
Figura 3. Cádmio ligado a metalotioneína.....	13
Figura 4. Resultado patológico da contaminação por cádmio nos osso (direita) e osso normal (esquerda).....	16
Figura 5. Via biossintética do grupo heme, indicando as deficiências enzimáticas em porfíria com acúmulo de ácido 5-aminilevulínico (ALA). a) Retroinibição por heme, em porfíria aguda intermitente (AIP), ativada por fármacos e metabólitos; b) Inibição por chumbo (saturnismo); c) Inibição por succinilacetona (Tirosinemia); d) Bissíntese deficiente em porfíria aguda intermitente.....	24
Figura 6. Deslocamento de cálcio e zinco da proteína pelo chumbo.....	25
Figura 7. Lâmina de sangue normal.....	26
Figura 8. Lâmina de sangue com contaminação por chumbo.	26
Figura 9. Eritrócitos nucleados determinados pelo plumbismo, em cães.	26
Figura 10. Astrócitos reativos: glia fibrilarmente aumentada	28
Figura 11. Linha de Burton (seta).....	29
Figura 12. Acúmulo de cobre no fígado.....	33
Figura 13. Rim preto e icterícia.....	34
Figura 14. Sensibilidade alérgica ao cimento contendo crômio.....	37
Figura 15. Ciclo do mercúrio contaminando o homem, o ambiente e o alimento.....	46

Figura 16. Dermatite umbilical em uma menina de 7 anos.....	54
Figura 17. Alopecia provocada pela intoxicação por tálio.....	57
Figura 18. Avaliação da linearidade do cádmio obtida em EAA-chama	81
Figura 19. Avaliação da linearidade do cálcio obtida em EAA-chama	81
Figura 20. Avaliação da linearidade do chumbo obtida em EAA-chama.....	82
Figura 21. Avaliação da linearidade do cobre obtida em EAA-chama	82
Figura 22. Avaliação da linearidade do cromo obtida em EAA-chama	83
Figura 23. Avaliação da linearidade do magnésio obtida em EAA-chama.....	83
Figura 24. Avaliação da linearidade do manganês obtida em EAA-chama	84
Figura 25. Avaliação da linearidade do mercúrio obtida em EAA-VF.....	84
Figura 26. Avaliação da linearidade do níquel obtida em EAA-chama.....	85
Figura 27. Avaliação da linearidade do tálio obtida em EAA-chama.....	85
Figura 28. Avaliação da linearidade do zinco obtida em EAA-chama	86
Figura 29. Avaliação da linearidade do cádmio obtida em EAA-FG.....	87
Figura 30. Avaliação da linearidade do chumbo obtida em EAA-FG.....	87
Figura 31. Avaliação da linearidade do cromo obtida em EAA-FG	88
Figura 32. Avaliação da linearidade do tálio obtida em EAA-FG.....	88

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Concentração de metais em extratos hidroalcoólicos de própolis, determinada em EAA-chama.....	94
Gráfico 2. Concentração de metais nas amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis, retirados o cálcio e magnésio, determinada em EAA-chama.	96
Gráfico 3. Concentração de metais em amostras de própolis <i>in natura</i> , submetidas a EAA-chama.....	106
Gráfico 4. Concentrações de metais em amostras de própolis <i>in natura</i> , determinada em EAA-chama, sem o cálcio e o manganês.....	107
Gráfico 5. Concentração de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos, submetidas à EAA-FG.....	114
Gráfico 6. Concentração de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos, submetidas à EAA-FG, sem o chumbo.....	114
Gráfico 7. Concentração de metais em amostras de própolis <i>in natura</i> por EAA-FG.....	123
Gráfico 8. Concentração de metais, exceto o chumbo, em amostras de própolis <i>in natura</i> por EAA-FG.	124

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Composição total de minerais, representados pelos elementos constituintes, macroelementos, oligoelementos e minerais tóxicos no organismo. **10**
- Quadro 2.** Limite de detecção em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ em EAA-chama e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EAA-FG, fornecido pelo fabricante..... **80**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidades das amostras de própolis, em gramas, empregadas para o procedimento de mineralização.....	77
Tabela 2. Concentrações ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) utilizadas para obtenção dos gráficos analíticos em Espectrofotometria de Absorção Atômica por chama (EAA-Chama) e Espectrofotometria de Absorção Atômica do Vapor Frio (EAA-VF), para mercúrio $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	79
Tabela 3. Concentrações em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ utilizadas para obtenção das curvas analíticas em Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (EAA-FG).	79
Tabela 4. Resultados da determinação de metais em extratos de própolis por EAA-chama.	92
Tabela 5. Resultados da determinação de metais em própolis <i>in natura</i> por EAA-chama	105
Tabela 6. Resultados da determinação de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis por EAA-FG. Valores expresso em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	115
Tabela 7. Resultados da determinação de metais em amostras de própolis <i>in natura</i> por EAA-FG. Valores expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	127

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Medicamentos à base de ervas medicinais estão rapidamente ganhando popularidade em todo o mundo. Há uma crença que preparações à base de ervas são “naturais” e, portanto, seriam intrinsecamente inofensivas. Entretanto, seus efeitos podem ser mais poderosos e potencialmente letais, se usados incorretamente e seu uso alternativo substituto na medicina convencional pode ser ineficaz. Uma utilização inocente pode levar um indivíduo a um quadro de intoxicação grave.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 65 a 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional como sua primeira forma de cuidado com a saúde (DREW e MYERS, 1997). A OMS define a medicina tradicional como a soma total do conhecimento, habilidade, e práticas baseadas nas teorias, crenças e experiências indígenas das diversas culturas, explicáveis ou não, utilizadas para a manutenção da saúde, bem como na prevenção, diagnóstico, melhoramento ou tratamento de doenças físicas ou mentais (WHO, 1998).

Na Austrália, está difundido o uso de ervas medicinais. Inúmeros fatores foram avaliados por produzirem efeitos adversos, associados com estes preparados que são mais complexos do que produtos farmacêuticos. Os problemas têm resultado de contaminação por metais pesados e adulteração com prescrição de ervas de produtos estrangeiros (DREW e MYERS, 1997).

O processo de avaliação de ervas medicinais, para observação de efeitos farmacológicos, é complexo, e é necessário definir, cuidadosamente, estratégias de investigação, que conduzam a soluções seguras e eficazes desses produtos. Não obstante, apesar do imenso valor científico em se determinar a atividade farmacológica de uma erva, através de uma metodologia adequada, um caminho é desenvolver um extrato vegetal que produza atividade farmacológica consistente (CHANG, 2000).

A prevenção da carcinogênese tem sido relacionada com a utilização de muitos extratos de plantas. Uma associação entre carcinogênese e mutagênese foi observada

através de estudos que incluem extratos de plantas e seus produtos, capazes de modificar o processo de mutagêneses, o qual envolve alterações no material genético. Sob determinadas condições, produtos derivados de plantas podem induzir efeitos mutagênicos, devido a existência de múltiplas propriedades biológicas (SARKAR et. al., 1996).

Assim, a utilização de extratos vegetais deve ser cuidadosa visto que, como a sua composição química é diversificada, geralmente, quando em conjunto, pode resultar em propriedades farmacológicas realmente poderosas e favoráveis. Esses extratos igualmente podem conter propriedades muito tóxicas, inerentes a sua composição original ou mesmos através de contaminantes diversos que, ao longo de sua utilização em humanos, pode resultar em sérios danos à saúde. Dessa forma, devido ao uso dos extratos vegetais como medicamento, cada vez mais crescente, a sua avaliação quanto a segurança e eficácia é de importância fundamental para os profissionais de saúde (DREW e MYERS, 1997).

A própolis é um produto apícola, que se destaca tanto por suas propriedades terapêuticas quanto pela possibilidade de aplicação na indústria farmacêutica e alimentícias, na forma de alimentos funcionais. Atualmente existem diversos produtos contendo própolis comercializados em todo o mundo, principalmente no Japão, tais como balas, chocolates, doces, xampus, cremes para pele, soluções anti-sépticas, pastas dentais, etc. (ACKERMANN, 1991)

Com a ampla da utilização da própolis, principalmente na forma de extratos, faz-se necessário conhecer potenciais contaminantes metálicos e seus minerais naturais. Com a existência de interação entre os metais, a necessidade deste conhecimento ainda se torna maior, visto que alguns metais pesados poderão, ao competir com os metais naturais da composição da própolis, e que seriam benéficos à saúde, desde que em níveis normais, deixar de exercer seus efeitos, uma vez que a absorção poderia ocorrer, em maior teor, dos metais pesados.

Nesse sentido, este trabalho teve como principal objetivo desenvolver o procedimento de preparação da amostra de própolis sob a forma *in natura* e de extrato hidroalcoólico para a análise quantitativa de contaminantes metálicos (cádmio, chumbo, mercúrio, níquel e tálio), macroelementos (cálcio e magnésio) e oligoelementos (cobre, crômio, manganês, zinco) adquiridos comercialmente ou por doação.

Além disso, as amostras de própolis *in natura* também foram avaliadas comparativamente quanto à contaminação por metais pesados encontrados e avaliados comparativamente de acordo com suas procedências.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PRÓPOLIS

Própolis é o nome de uma resina balsâmica, de composição complexa, de consistência viscosa, odor agradável, que apresenta variação na cor (de parda escura a vermelha) e sabor amargo produzida por abelhas e usada no interior de suas colméias para selar e protegê-las contra invasores e outros insetos. O nome vem do grego “pro”, em frente, e polis, significando cidade (OTA et al., 2001; MIDORIKAVA et al., 2001).

É coletada pelas abelhas em brotos e exsudatos de árvores e modificada na colméia por adição de secreção salivar da abelha, sendo desta forma, não considerada vegetal. (MARUCCI, 1995; BANKOVA et al., 1982; VANHAELEN, 1979a).



Figura 1. Própolis *in natura*

A própolis sob a forma de extratos é preparada em solução aquosa e solução alcoólica, a partir da própolis *in natura*. A preparação de extrato etanólico, segundo Park e colaboradores (1998) que produziu melhores efeitos farmacológicos foi realizada com dois

gramas da própolis triturada e homogeneizada e acondicionada em tubos de ensaio (25x180mm), em seguida adicionado etanol nas concentrações de 60 a 80% termostatzada por 30 minutos sob agitação constante.

A preparação de extratos contendo 5, 10, 20 e 30% de própolis em álcool 96°, por turboextração, durante 15 minutos e por maceração, durante 42 dias foi realizado a fim de se determinar a otimização do processo extrativo de própolis. Os resultados demonstraram que o melhor procedimento foi por turboextração, quando os percentuais da própolis são menores e quando utilizado a maior concentração, 30%, o melhor rendimento acontece no processo de (FRANCO e BUENO, 1999).

A composição química da própolis é muito variada, apresentando 55% em resinas e bálsamos, 30% em ceras, 10% em óleos voláteis e 5% em pólen. Os compostos químicos presentes são ácido benzóico, álcool, ácido cinâmico, benzaldeído, compostos terpênicos, ácido salicílico e flavonóides em maior concentração. A própolis é composta também, de vários ácidos orgânicos, quantidade considerável de substâncias minerais, entre as quais, manganês, zinco, cálcio, fósforo, cobre, etc., vitaminas B₁, B₂, B₆, C, E, ácidos nicotínico, pantotênico e aminoácidos todos já comprovados. (BANSKOTA et al., 2001, 2002; KUJUMGIEV et al., 1999).

Na Argentina, pesquisas com a própolis proveniente de La Banda Este demonstraram atividade microbiológica contra bactérias gram-positivas, principalmente *Streptococcus pyogenes* (MIC = 7,8 µg-mL⁻¹) (NIEVA MORENO et al., 1999).

Estudos relatam efeitos farmacológicos da própolis para diferentes neoplasias. Luo e colaboradores (2001) demonstraram, em estudo com um dos compostos isolados da própolis brasileira, o ácido PM-3 (3-[2-dimetil-8-(3-metil-2-butenil)benzopirano]-6-propenóico), que marcadamente inibiu o crescimento de células MCF-7 de câncer de mama humano. Esta avaliação foi associada com a inibição de células no ciclo de progressão e indução de apoptose. Tratamento de células MCF-7 com PM-3 capturou células na fase G1, resultando em diminuição nos níveis de proteínas de ciclina D1 e ciclina E. Esta indução de apoptose por PM-3 ocorreu em 48 horas após o tratamento de células MCF-7. Estes estudos sugerem a utilização da própolis na quimioprevenção, ou como adjuvante na terapia neoplásica.

Bazo e colaboradores (2002), utilizando um carcinógeno 1,2 dimetilhidrazina (DMH 40 mg·kg⁻¹, s.c.) para produzir carcinogênese em cólon de ratos machos Wistar e danos em DNA e avaliaram o efeito quimioterápico da própolis. Concluíram que a própolis pode ter influência protetora na carcinogênese de cólon, suprimindo a expansão clonal de DMH em células iniciadas.

Por isso, dentre as inúmeras utilizações farmacológicas, destacam-se as ações bacteriostáticas contra bactérias gram-positivas, antiviral, antiparasitária e antiinflamatória. Na dermatologia é usada para cicatrização de ferimentos, regeneração de tecidos, tratamento de queimaduras, neurodermatite, eczemas, úlceras externas e pruridos, além de fortalecer o sistema imunológico. (MARUCCI, 1995; DOBROWOLSKI et al.; BANKOVA et al., 1982; VANHAELEN, 1979a).

A própolis tem efeito estimulante na regeneração dos tecidos ósseos, muscular e nervoso; possui claramente a capacidade de expressar o aumento da epitelização na cura de feridas. Por isso, foi usada na forma de pomadas e bálsamos no tratamento de ferimentos de soldados em batalhas (THOMPSON, 1990).

Atividade fungicida foi demonstrada em *Candida. albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Candida gillermonti*, em pessoas acometidas de estomatites (OTA, et al. 2001).

Quando analisada a propriedade antiviral da própolis proveniente de diferentes origens geográficas, observou-se que independentemente da origem, era ativa contra os fungos e bactérias gram-positivas e vírus (KUJUMGIEV et al., 1998). A própolis coletada no sul do Brasil, próximo à fronteira de Uruguaiana, mostrou significativa atividade anti-HIV, quando testada em cultura de células T H9 (ITO et al.; 2001; JUNKO et al., 2001).

Menezes e colaboradores (1999), utilizaram quatorze extratos hidroalcoólicos de própolis de origem brasileira, testaram a atividade antiinflamatória, em camundongos, induzidos pelo ácido araquidônico. Observaram que os flavonóides e compostos relacionados agem como inibidores da peroxidação do ácido araquidônico estando, portanto, envolvidos no processo antiinflamatório. Além disso, observaram que associados a antiinflamatórios esteróides e ácido acetil salicílico podem agir sinergicamente sobre atividade antiinflamatória.

Embora a própolis possua muitas propriedades terapêuticas, existem efeitos adversos, diagnosticados por teste de sensibilização, após a exclusão de contaminação por fungos e bactérias, no qual o paciente apresentou diagnóstico de granulomatose por dermatite de contato, acompanhado de linfadenopatia, por utilização da própolis sob a forma de abrasivo (TERAKI et al., 2001). A figura 2 mostra um nódulo eritematoso provocado pela própolis.

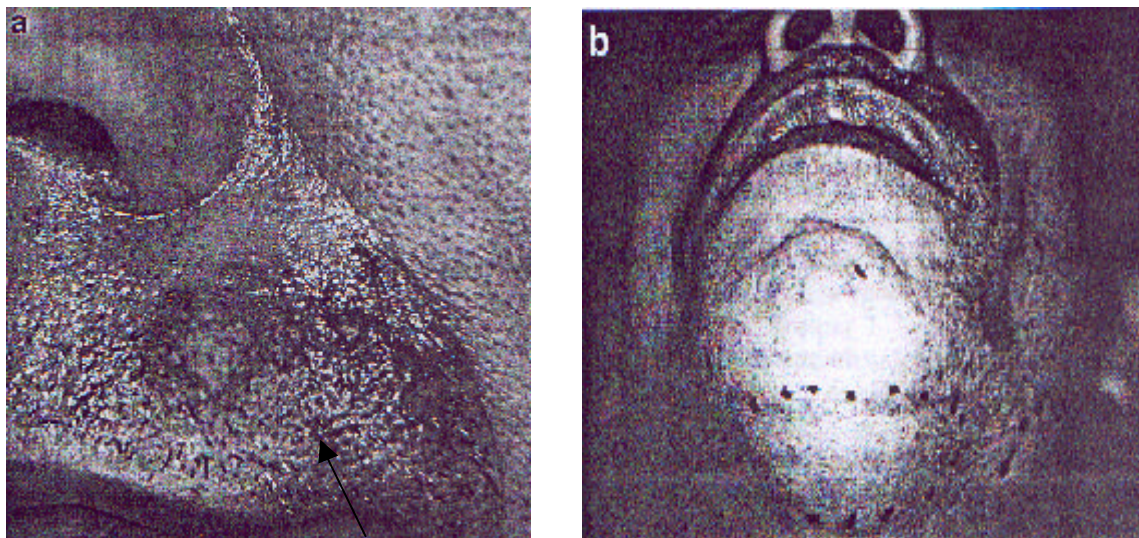


Figura 2. (a) Nódulo eritematoso abaixo do nariz; (b) Alargamento marcado de nódulo linfático.

Fonte: TERAKI et al., 2001.

Igualmente, foi observada por Lieberman e colaboradores (2002), dermatite de contato em músicos e marcadores de violino, devido à exposição química no local de trabalho, onde, no verniz italiano, foi demonstrada a presença de própolis no processo de acabamento do violino.

Efeitos tóxicos dermatológicos e oculares, em coelhos, produzidos pela própolis e testados por diversos autores, mostraram que o ácido dimetilcaféico é o componente responsável por tais danos e pode estar ausente em regiões tropicais. Assim, Lendón e colaboradores (2001) não conseguiram resultado significativo para estes danos, quando utilizaram cobaias e coelhos enquanto outros autores demonstraram os efeitos

tóxicos dermatológicos e oculares (HAUSEN et al., 1987; MARCUCCI, 1995; YOUNG, 1987).

Os produtos da abelha, incluindo a própolis foram utilizados também em pesquisa de determinação comparativa de grau de contaminação. Por este estudo, empregando a técnica de espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite foram determinados, cádmio, crômio e chumbo, sendo a própolis definida como um bom indicador de poluição ambiental, mostrando, dessa forma, que este insumo está sujeito a contaminantes metálicos (CONTI e BOTRÈ, 2001).

2.2. METAIS

Os metais, em relação à importância no organismo humano, podem ter importância vital, não essenciais ou tóxicos. Os metais pesados, tais como chumbo e cádmio, dentre outros, são tóxicos e podem resultar em sérios danos para a saúde humana e animal. Danos estes, resultantes da contaminação que tanto podem ser de fatores naturais como a erosão e desta forma contaminar o ambiente, e a mais danosa, antropogênica, como consequência de utilização diversificada na indústria, na agricultura, dentre outras e assim contaminar o homem e o ambiente.

A poluição no mundo iniciou-se pelo homem através do manuseio dos metais na pré-história agravando-se com a Revolução Industrial, no século XVIII. Atualmente, um dos grandes responsáveis pela poluição são os despejos industriais, originários principalmente de resfriamentos, lavagens, descargas, extrações, impregnações e tratamentos químicos (PIRES et al. 2003).

Os metais essenciais se apresentam como elementos-traço nos seres vivos, muitas vezes com função biológica bem definida e essencial aos processos metabólicos. Contudo, mesmo sendo essenciais, podem, quando acima de determinadas concentrações apresentar toxicidade. Os elementos (cádmio, mercúrio, chumbo, tálio, etc.) que não apresentam função biológica definida, possuem alta toxicidade quando os valores ultrapassam os valores de referência (CAMPOS, 1996).

Valores apresentados por Debski, (2002) relacionados com a terapia ortomolecular são apresentados no Quadro 1, onde é mostrado a composição total dos minerais no organismo relacionando-os com sua função ou níveis de tolerância.

Quadro 1. Composição total de minerais, representados pelos elementos constituintes, macroelementos, oligoelementos e minerais tóxicos no organismo humano adulto de 70 kg.

Os minerais		
Grupo	Mineral	Totais no organismo
Elementos Constituintes	Carbono Hidrogênio Oxigênio Nitrogênio	12 kg 6 kg 3 kg 2 kg
Essenciais Macroelementos	Cálcio Fósforo Potássio Enxofre Sódio Cloro Magnésio Silício	1200g 600g 225g 150g 100g 100g 35g 30g
Oligoelementos	Ferro Zinco Cobre Manganês Iodo Molibdênio Cromo Selênio Cobalto	4g 3g 150mg 20mg 15mg 9mg 6mg 4mg 0,3mg
Minerais tóxicos (tolerância)	Alumínio Arsênio Bário Cádmio Chumbo Mercúrio Níquel	14ppm 4ppm 8ppm <1ppm 5ppm 1ppm 1ppm

Fonte: DEBSKI (2002).

2.2.1. CÁDMIO

O cádmio é um metal de cor branca com brilhos azulados e amarelados, densidade 8,65 (25°C) e ponto de fusão de 321°C. É um subproduto da extração e fundição do zinco e chumbo. Desta forma, encontra-se muitas vezes acompanhado pelo zinco.

Foi descoberto somente em 1817, por Friederich Strohmeyer, professor de metalurgia em Goettingen, Alemanha, quando fazia experiências com carbonato de zinco. Strohmeyer (1817) descobriu que o aquecimento deste composto originava um material cuja cor era amarela em vez de branca e denominou-o de cádmio, por ter sido extraído de cádmia, termo para o minério calamite, rico em carbonato de zinco (ATSDR, 1998). Seu uso industrial era pequeno até a década de 1930. Atualmente, é um metal com diversas aplicações. Na indústria de acumuladores é utilizada na cadmiagem eletrolítica, que corresponde à proteção de ferro contra oxidação (em recipientes para conservação de alimentos), fundição de chumbo e fabricação de fusíveis. É, também, utilizado como um pigmento de tintas. Possui propriedades não corrosivas e é uma importante fonte de poluição ambiental (ATSDR, 1997; WHO, 1994; OECD, 1992).

O cádmio é um elemento relativamente raro e o encontrado na litosfera estimando-se em cerca de 0,5 ppm. Não existem minerais que contenham cádmio em quantidades para comercialização, o qual é obtido somente como um produto secundário da extração de outros elementos. O mineral mais comum é a *greenockite*, rica em sulfeto de cádmio, que ocorre associada a sulfureto de zinco. Quase todos os depósitos de zinco contêm cádmio, apesar de sua concentração não ultrapassar cerca de 1% (WHO, 1992).

Os fumantes, devido à alta concentração de cádmio no tabaco, possuem um teor deste metal de até duas vezes superior aos níveis encontrados em não fumantes. Conseqüentemente, os danos à saúde para os fumantes é maior que a contaminação que pode ocorrer através dos alimentos (VALLESPIN, 1999; ATSDR, 1997).

O cádmio está presente nos alimentos em diferentes concentrações que geralmente são baixas. No entanto, os alimentos de origem vegetal são os que apresentam

maior concentração, não chegando, entretanto, a superar $0,200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso fresco. As carnes e pescados possuem níveis de cádmio na ordem de $0,050 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (VALLESPIN, 1999). Sem dúvida, alguns alimentos podem conter concentrações excepcionalmente altas de cádmio, entre os quais se encontram alguns órgãos internos de animais de abate, principalmente o fígado e os rins que podem conter mais que $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; em crustáceos e moluscos encontram-se também níveis altos de cádmio, com concentrações superiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Contudo, estes alimentos são de uso esporádico, não chegando a resultar em risco para a saúde (VALLESPIN, 1999; ATSDR, 1998).

2.2.1.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

A absorção do cádmio é cerca de 5 a 8% e esta taxa estará aumentada numa dieta pobre em cálcio, ferro e proteínas, pois nestas condições, a ligação deste à proteína estará reduzida e o cádmio, por competição com o cálcio, será mais amplamente absorvido.

A absorção respiratória é maior que a gastrointestinal e independe da solubilidade do cádmio, ocorrendo em níveis de 15 a 30% e através do fumo de cigarros, este nível pode atingir até 50%. A inalação de cádmio pelo fumante foi estimada em torno de 10% do elemento presente no tabaco, estimando-se que o fumante esteja exposto com $1,7 \mu\text{g}$ de cádmio por cigarro, e absorção entre 1 a $3 \mu\text{g}$ por dia (ATSDR, 1997).

Após a absorção, é transportado através do sangue, ligado a eritrócitos e proteínas de alto peso molecular (albumina) do plasma e se distribui primariamente no fígado e rins. No fígado, induz a síntese de metalotioneína e é estocado sob a forma de complexo cádmio-metalotioneína (figura 3) e assim transportado para os rins, onde pode ser armazenado nos lisossomas, e podendo, desta forma, produzir toxicidade renal (WHO, 1992).

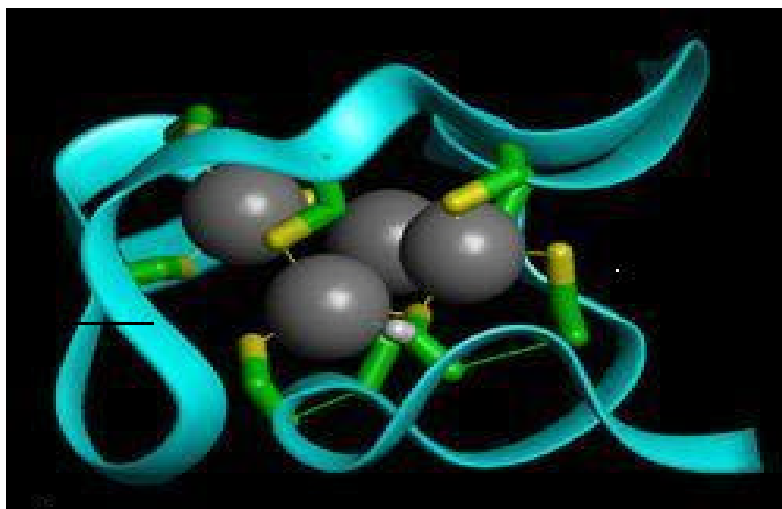


Figura 3. Cádmio ligado a metalotioneína.

Fonte: METALOTIONEÍNA, 2003.

A metalotioneína é uma proteína tissular encontrada em muitos órgãos, mas principalmente no fígado e rins. Enquanto o cádmio apresentar-se na forma de complexo com a metalotioneína, é inofensivo. Entretanto, se os níveis de cádmio sobrepassam a quantidade da proteína, os seus efeitos tóxicos se fazem presentes. Estes dados demonstram o relevante papel protetor da proteína metalotioneína nos casos de contaminações por cádmio (Del CARMEN, 2002; ATSDR, 1994).

As intoxicações crônicas são habituais as osteopatias, que podem estar relacionadas com o metabolismo do cálcio e, também, em alguns tipos de câncer relacionados com o aparelho reprodutor masculino (próstata) (VALLESPIN, 1999).

A placenta produz metalotioneína, o que pode, por isso, servir de barreira quando da contaminação materna. Entretanto, se a exposição é aumentada, o feto pode apresentar-se com cádmio.

A excreção em humanos é renal. Em animais, ocorre via gastrintestinal, particularmente pela bile, através de um complexo com glutathione (CASARETT, 2001; WHO, 1992).

2.2.1.2. Intoxicação

A exposição ao cádmio resultando em intoxicações é decorrente de poluição ambiental, ocupacional ou recreativa, através do ato de fumar, sendo esta via importante, pois como já referido, duplica a dose diária do cádmio absorvido (WHO, 1992).

Relatos de ocorrências individuais por cádmio existem. Uma mulher de 28 anos apresentou contaminação ocupacional pelo cádmio, decorrente de trabalho com manufatura de jóias por 3 anos. Apresentava, quando avaliada, dores no flanco esquerdo e poliúria quadro de ansiedade, dores no peito e dispnéia (WITTMAN e HU, 2002).

2.2.1.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

Relatos de contaminação pelo cádmio resultando em intoxicação aguda com seqüelas ou posterior óbito são observados através da população, haja vista a contaminação de arroz, no Japão (1956), resultando em danos à saúde e morte (YAMANAKA, 2002).

O quadro de toxicidade aguda é náusea, vômitos e dor abdominal. Se inalado, pode produzir pneumonite química e edema de pulmão, podendo ser letal tanto para o homem quanto para os animais. Quando do óbito, este ocorre por perda massiva de fluidos, edema e destruição generalizada de órgãos (ATSDR, 1997).

2.2.1.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

O cádmio produzindo depleção do cálcio provoca efeitos ósseos e cardíacos. A gravidade dos efeitos depende da intensidade de exposição, devido ao efeito cumulativo do

cádmio, sendo que o principal da intoxicação é a doença pulmonar obstrutiva crônica (ATSDR, 1997; GOYER, 1996; WHO, 1992).

O pulmão é um órgão alvo da toxicidade do cádmio. Lag e colaboradores (2002) induziram apoptose em células isoladas de pulmão de ratos após 20 horas de exposição de acetato de cádmio, em concentrações relativamente baixas (1 a 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Experiências de envenenamento por cádmio em humanos e mamíferos (focas), em laboratório, indicaram que concentrações acima de 50 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso úmido pode induzir alterações histopatológicas nos rins (SONNE-HANSEN et al., 2002). Alterações histopatológicas compatíveis com glomerulonefrite foram encontradas em 10 focas (n=100).

Järup (2002) demonstrou a associação entre a exposição ocupacional e ambiental pelo cádmio e os danos no sistema tubular renal. Nesse estudo foram observados danos renais em níveis abaixo do permitido pela Organização Mundial de Saúde. Este pesquisador observou que o cádmio está relacionado com diversas complicações clínicas, tais como disfunção renal e doença óssea e alguns tipos de cânceres. Além disso, a indução de proteinúria tubular é irreversível e se a exposição for continuada, pode produzir danos glomerulares com diminuição da taxa de filtração glomerular.

Nesse mesmo estudo, Järup (2002) relatou que o cádmio acumulado nos ossos está associado com a osteomalacia e osteoporose. A perda do cálcio determinada pela disfunção renal provocada pela presença de cádmio no organismo é fator determinante para a manifestação deste quadro ósseo.

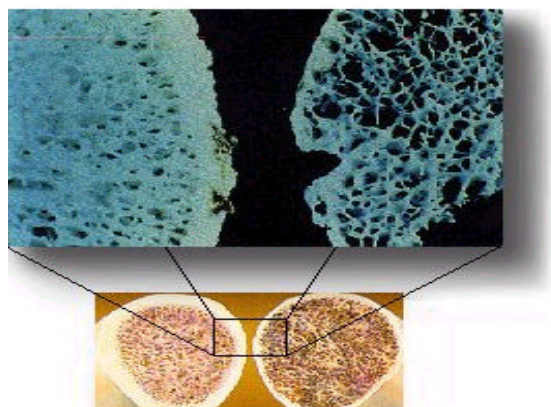


Figura 4. Resultado patológico da contaminação por cádmio nos osso (direita) e osso normal (esquerda).

Fonte: BHATTACHARYA, 2003.

Outra intoxicação foi observada em uma menina de 13 anos, vegetariana, apresentou quadro clínico de nefrite túbulo intersticial aguda (NTIA), com lesão confirmada através de biopsia. Entretanto, o cádmio encontrado na urina e nos vegetais, apresentava-se dentro das concentrações permitidas. Contudo, Subat-Dezulovic (2002) sugeriu que a utilização de diferentes vegetais contendo cádmio poderia ter sido a razão dos sérios danos renais.

No Japão, em Toyama, a doença denominada Itai-Itai caracterizada por dores nas pernas e costas, e que evoluía para fraturas em várias partes do esqueleto. Foi definida como osteomalacia com alterações tubulares renais tendo sido relacionada com excesso de cádmio captado. Naquela região, a maior prevalência de disfunção tubular renal foi encontrada na população da área de poluição pelo cádmio (SHIGEMATSU, 1984).

Além de causar danos renais e osteoporose, pode também estar envolvido com as patologias cardiovasculares. Estudos epidemiológicos sugerem que o cádmio é um dos agentes etiológicos da hipertensão essencial, tendo sido relacionada com alteração no transporte de colesterol (DALTON et al., 2000; ATSDR, 1997; WHO, 1992).

Embriões do peixe zebrafish, *Brachydanio rerio*, submetidos à exposição ao cádmio na concentração de 100µM, por 5 horas após a fertilização à 48 horas, foram examinados para verificação de viabilidade e malformações. Ocorreu mortalidade dentre os testados sendo que, 20,33% dos embriões sobreviventes apresentaram malformações. O desenvolvimento craniofacial também foi avaliado através de medidas digitalizadas nas áreas do cérebro e olhos. Também avaliou-se o desenvolvimento cardíaco, usando anticorpo específico MF20 para cadeias pesadas de miosina. A vasculatura embriônica dos que pareciam saudáveis foram submetidos a estudo pela microinjeção fluorescente. Todos os embriões submetidos à exposição ao cádmio apresentaram defeito vascular localizado na aorta dorsal, vaso segmental e veias cranianas, enquanto tais lesões não foram observadas no grupo controle. Este estudo demonstra a propriedade teratogênica deste metal (CHENG et al., 2001).

Um estudo que visou determinar a motilidade do espermatozóide foi realizado em ratos por exposição ao cádmio durante sete dias. Observou-se que o cádmio reduziu a motilidade do espermatozóide numa dose muito abaixo daquela que afeta a produção de esperma no período de tempo da exposição. Desta forma, o cádmio também produz um efeito tóxico na reprodução masculina (XU et al., 2001).

A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) classifica o cádmio como cancerígeno na Categoria I.

Foram observadas diferenças genéticas em humanos, relacionadas com a sensibilidade ao cádmio, no que se refere à toxicidade. Considerando variedades inatas entre os camundongos, existem dados genéticos inequívocos. Resistência aos danos testiculares induzidos pelo cádmio, relatados em 1973, foi associada com um único e maior gene recessivo nominado como *cdm*, localizado no cromossomo chr3 do camundongo o que foi confirmado quando utilizados marcadores microsatélite polimórfico e parâmetros histológicos semiquantitativos (DALTON et al, 2000).

2.2.2. CÁLCIO

O conhecimento das funções do cálcio no organismo humano é relativamente recente, quando considerados tantos outros metais que já foram conhecidos e utilizados desde a pré-história.

Algumas de suas funções biológicas são igualmente recentes. Contudo, o cálcio está presente em proporção muita elevada no organismo humano, sendo o osso o seu maior reservatório (99%). Quando fora do organismo, encontra-se sempre na forma de sais, tais como, carbonatos, hidróxidos, sulfatos, silicatos, etc.

Não foram encontrados, na literatura, relatos de intoxicação produzida por ingestão deste elemento. As alterações provocadas pelo cálcio foram encontradas como disfunção orgânica, isto é, como anormalidades do metabolismo.

A terminologia toxicocinética e toxicodinâmica para este, será alterada como farmacocinética e farmacodinâmica uma vez que a sua função no organismo é fundamental para o bom desempenho do mesmo.

2.2.2.1. Farmacocinética e Farmacodinâmica

O cálcio é um macroelemento essencial, sendo o maior íon divalente extracelular nos organismos vivos. O homem e a mulher adultos normais possuem cerca de 1300 e 1000 g de cálcio, respectivamente, dos quais 99% se encontram nos ossos e dentes sob a forma de fosfato de cálcio (apatita). O sangue também é um reservatório importante de íon cálcio. Geralmente, é encontrado em todos os tecidos animal, e apresenta diversas funções, como o controle da transmissão de impulsos nervosos, da ação muscular, da coagulação do sangue e da permeabilidade celular (HARDMAN e LIMBIRD, 2001; RAMALHO, 1998).

O cálcio é absorvido somente pelo intestino. Dois mecanismos diferentes contribuem para esse processo: o transporte ativo dependente da vitamina D e ocorre no duodeno proximal, e difusão facilitada em todo o delgado, respondendo por um grande percentual da captação total do cálcio. Há, também, perda intestinal diária de 150 mg/dia (HARDMAN e LIMBIRD, 2001).

A excreção urinária do cálcio é o resultado final da quantidade filtrada no glomérulo e da quantidade reabsorvida. Cerca de 9 g de cálcio são filtrados todos os dias. A reabsorção tubular é muito eficiente, com mais de 98% do cálcio filtrado retornando à circulação (HARDMAN e LIMBIRD, 2001).

2.2.2.2. Anormalidades no metabolismo.

Tanto o excesso, quanto a carência de cálcio podem resultar em danos ao organismo. Assim, estaremos referenciando estas anormalidades como hiper ou hipocalcemia.

?? **Hipercalcemia**

A ocorrência de hipercalcemia por ingestão de cálcio é rara, e quando ocorre são em circunstâncias especiais. Comumente, observa-se o quadro de hipercalcemia em diversas condições clínicas, sendo a causa mais freqüente em pacientes não hospitalizados, o hiperparatireoidismo primário (RAMALHO, 1998).

Alguns sais de cálcio podem, entretanto, provocar intoxicações. Dentre os sais, o carbonato de cálcio foi considerado o principal componente tóxico, na apresentação clínica do quadro de intoxicação por *Alocasis macrorrhiza* (L), em humanos, visto que este composto se encontra distribuído por toda superfície da planta. O autor relata que os sintomas que se apresentaram não eram compatíveis apenas para a planta. Vinte e sete casos de envenenamento com a planta, com idade entre 15 e 68 anos, sendo 12 mulheres e

15 homens. Destes, 25 consumiram a folha da planta ou o tubérculo e apresentaram entorpecimento da cavidade oral. Alguns apresentaram salivação, disfonia, dor abdominal, úlcera da cavidade oral, dificuldade de engolir, toracodinia, aperto no peito e lábios inchados (LIN et al., 1998).

Wayhs e colaboradores (2002), em estudo com pacientes assintomáticos, alertaram que valores elevados de cálcio apresentam risco extremamente elevado de anormalidade cardíaca, ou vascular. Igualmente em assintomáticos, foi proposta que um prognóstico significativo de depósito calcificado nas coronárias é uma tendência de alto risco. As calcificações foram detectadas fluoroscopicamente, tendo ocorrido óbito em 39% de um total de 852 pacientes. Desta forma, a calcificação coronária pode resultar em morte ou infarto e que o maior risco está naqueles indivíduos assintomáticos (DETRANO et al, 1997).

?? **Hipocalcemia**

A hipocalcemia se caracteriza pela deficiência dos valores de cálcio no sangue que pode resultar de algumas patologias (insuficiência das paratireóides, raquitismo) ou devido a redução da absorção do cálcio e vitamina D. O quadro clínico inclui tetania, parestesia, aumento da excitabilidade neuromuscular, laringoespasma, convulsões tônico-clônicas (RAMALHO, 1998).

2.2.3. CHUMBO

O chumbo foi um dos primeiros metais manipulados pelo homem, sendo conhecido desde 3500 a.C., de acordo com descobertas arqueológicas realizadas no Egito, e os aspectos toxicológicos do aumento de exposição foram observados no segundo século a.C. (DRASCH, 1982).

O chumbo foi disperso no ambiente através dos anos, desde o período medieval quando era utilizado na confecção de armas, artefatos e adornos. No final do século XIX, com a descoberta da pólvora, passou a ser intensamente utilizada na confecção de munição (NRIAGU, 1996). A possibilidade de exposição generalizada na antigüidade despertou interesse nas últimas décadas. (VUORINEN, 1994).

Os principais produtores de chumbo estão localizados nos Estados Unidos da América, China e Alemanha. No Brasil, a sua produção é referente apenas ao chumbo secundário e quando comparado com a produção mundial ocorre em pequena proporção, aproximadamente 0,63% (DNPM, 2000).

2.2.3.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

O adulto absorve de 5 a 15% do chumbo ingerido e usualmente retém menos que 5% do que é absorvido. Crianças têm maior absorção que os adultos, e é em média 41,5% e retém 31,8% numa dieta regular, sendo estes valores relacionados com a idade e o desenvolvimento do trato gastrintestinal (BERGLUND et al., 2000; CDC, 1991; LANPHEAR et al., 1998).

A absorção pela pele ocorre em menor grau, entretanto o chumbo tetraetil e seus derivados são capazes de penetrar no organismo através da pele intacta. Os vapores de chumbo são rapidamente absorvidos pelos alvéolos. Os sais inorgânicos são primariamente distribuídos do sangue para tecidos moles, tais como rins, pulmão, fígado e baço, posteriormente são redistribuídos e depositados nos dentes, cabelos, e ossos. Sob a forma de trifosfato chumbo insolúvel ocorre a maior deposição (GOSSEL e BRICKER, 1994).

2.2.3.2. Toxicidade

O chumbo é um metal tóxico detectável no ambiente inerte e em todos os sistemas biológicos.

O primeiro médico a relacionar o quadro clínico a relacionar o quadro clínico de cólica abdominal apresentado por um trabalhador de minas de metal e a intoxicação pelo chumbo foi Hipócrates, em 370 a.C. (AUB et al., 1925).

Para a população em geral, a maior fonte de exposição é através dos alimentos. A contaminação do ambiente se dá por fontes industriais produtoras de tintas, baterias, acumuladores, etc.

Níveis considerados seguros podem produzir efeitos adversos (limites no sangue para exposição ocupacional, no Brasil: para homens $60\mu\text{g-dL}^{-1}$, e para mulheres não consta (MAYER e WILSON, 1998).

O mecanismo de ação tóxica do chumbo ocorre primariamente pela ligação dos grupos sulfidrilas das proteínas, inativando, assim, diversos sistemas enzimáticos, produzindo muitas alterações funcionais e estruturais nas mitocôndrias das células (GOSSEL e BRICKER, 1994).

Em várias partes do mundo, crianças são afetadas pela contaminação pelo chumbo, ressaltando-se desde a ocorrência em Bauru, SP, quando da contaminação ambiental por uma indústria local, atingindo mais de 262 crianças, até a data daquele estudo (SANTANA et al., 2002), e 564.000 crianças em Northeast e Midwest, nos Estados Unidos da América (KAUFMANN et al., 2000).

A população mais susceptível são as crianças, principalmente aquelas que começam a andar, no período neonatal e os fetos. Nelas, por se encontrarem na fase de crescimento o chumbo pode se deslocar de sua deposição óssea, agravando a intoxicação (ATSDR, 1999). Os principais fatores que as fazem suas principais vítimas são:

- ☞ a relação absorção/deposição por peso corpóreo é maior do que em adultos;
- ☞ crianças colocam objetos contaminados com poeira atmosférica na boca com frequência;
- ☞ crianças pequenas estão em desenvolvimento rápido e constante, seus sistemas não estão completamente formados e assim são mais vulneráveis aos efeitos do chumbo;

☞ nível sócio-econômico baixo promove fator agravante na intoxicação, principalmente em criança.

Os níveis sanguíneos de chumbo em crianças, atualmente, determinado tanto pelo *Center for Disease Control and Preventions (CDC)*, em Atlanta quanto pela Organização Mundial de Saúde, e pela *Commission For Human Biomonitoring*, na Alemanha, estabeleceram o valor-guia de $10\mu\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$ (RAGHUNAT et al., 1999).

A exposição de crianças a concentrações de $25\mu\text{g}$ pode ocasionar danos no desenvolvimento intelectual com diminuição no QI de até 3 pontos (CHUMBO-QI, 2003).

2.2.3.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

A intoxicação aguda pelo chumbo é raramente observada e pode resultar de ingestão accidental de grandes quantidades dos sais de ácidos solúveis. Os sinais e sintomas desta intoxicação são inespecíficos e se manifestam por sialorréia, emese e cólicas intestinais e com a formação de sulfeto de chumbo, o paciente poderá apresentar fezes negras. Devido aos danos renais ocorre redução da taxa urinária e o vômito, quando ocorre, é branco leitoso devido à formação de cloreto de chumbo. Ingestão maciça de chumbo pode causar a morte como resultado de colapso cardiovascular (GOSSEL e BRICKER, 1994).

2.2.3.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

O saturnismo (plumbismo) foi uma das ocorrências que se evidenciou na revolução industrial. A comunidade científica, e entidades governamentais, então, tiveram de tomar uma posição para a observância da proteção do meio ambiente e da saúde individual e coletiva.

Uma série de sinais e sintomas caracterizam a intoxicação crônica que primariamente envolve o sistema hematopoiético, trato gastrointestinal e nervoso, renal e neuromuscular, causando anemia, cansaço e fraqueza (GOSSEL e BRICKER, 1994). Esta intoxicação se caracteriza como uma porfíria adquirida.

O chumbo afeta a biossíntese da heme, inibindo as enzimas ácido 5-aminolevulínico (ALA) desidratase, coproporfirinogênio oxidase e ferroquelatase, levando ao acúmulo de ALA, coproporfirina e zinco protoporfirina. Desta forma concentrações urinárias de ALA e de protoporfirina no sangue são indicadores biológicos da intoxicação por chumbo (ONUKEI et al., 2002).

A Figura 5 mostra o esquema de formação da porção *heme* e a inibição pelo chumbo, indicando as deficiências em porfíria com acúmulo de ácido 5-aminolevulínico (ALA).

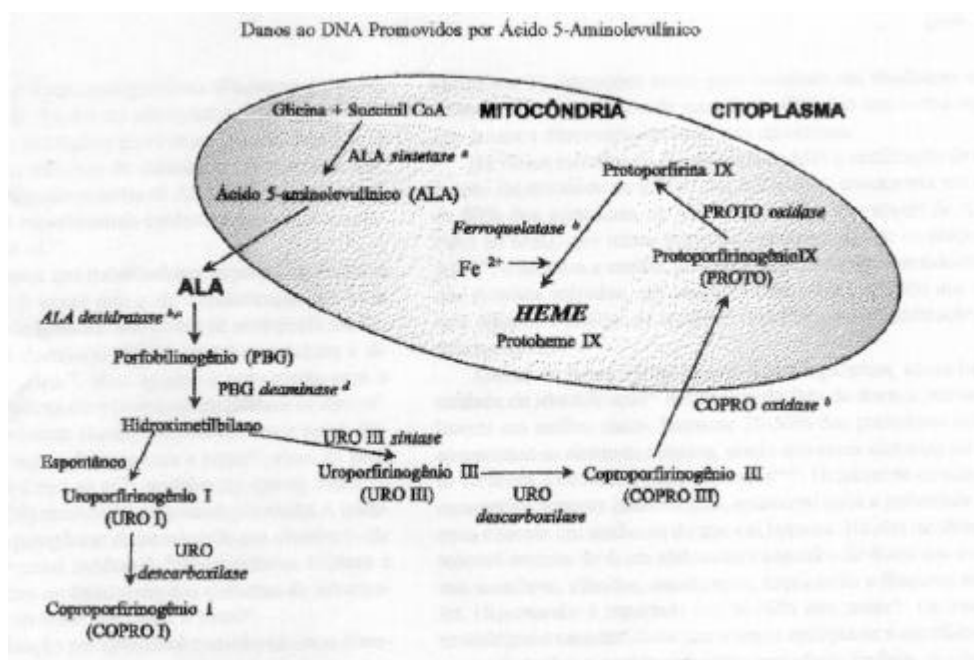


Figura 5. Via biossintética do grupo heme, indicando as deficiências enzimáticas em porfíria com acúmulo de ácido 5aminilevulínico (ALA). a) Retroinibição por heme, em porfíria aguda intermitente (AIP), ativada por fármacos e metabólitos; b) Inibição por chumbo (saturnismo); c) Inibição por succinilacetona (Tirosinemia); d) Bissíntese deficiente em porfíria aguda intermitente.

Fonte: ONUKEI et al., 2002.

A inibição das enzimas ocorre através da ocupação das valências de cálcio e do zinco pelo chumbo ligando-se aos grupamentos sulfidrila (SH), conforme a Figura 6. Assim, o chumbo compete com o cálcio e o zinco nas ligações nos sítios protéicos.

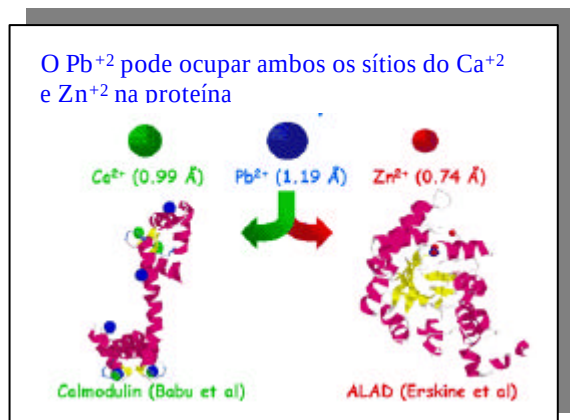


Figura 6. Deslocamento de cálcio e zinco da proteína pelo chumbo

Fonte: LEAD TOXICITY, 2003.

As alterações hematológicas resultam na diminuição da vida dos eritrócitos devido à interferência na síntese da porção *heme* da hemoglobina, ocorrendo assim anemia microcítica, hipocrômica e reticulocitose. Células hipocrômicas são resultantes da redução na síntese da *heme* e a reticulocitose, por sua vez, decorre de um processo compensatório devido à diminuição de hemáceas (GOSSEL e BRICKER, 2002; ONUKI et al. 2002).

Com o saturnismo há o aparecimento dos eritrócitos deformados e sua eliminação da circulação. Como resultante deste processo, há a necessidade de sua reposição, daí a reticulocitose.

A seguir estão apresentadas lâminas mostrando comparativamente esfregaços de sangue normal (Figuras 7), sangue de indivíduo com anemia hipocrômica como resultado da intoxicação pelo chumbo (Figura 8) e reticulocitose (Figura 9).

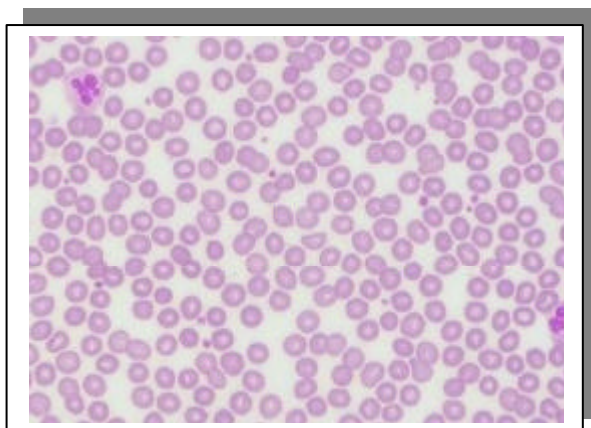


Figura 7. Lâmina de sangue normal.

Fonte: BLOOD - lead, 2003

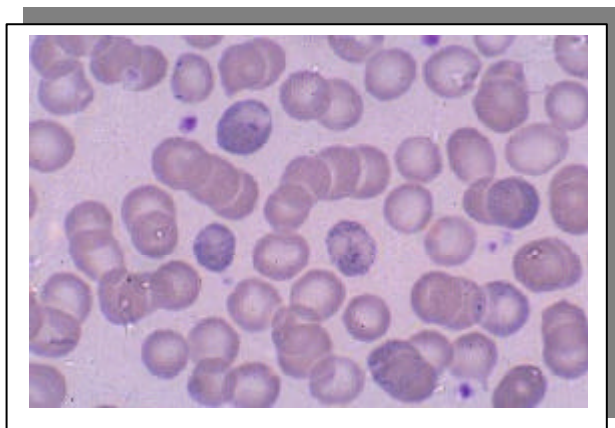


Figura 8. Lâmina de sangue com contaminação por chumbo.

Fonte: BLOOD - lead, 2003.

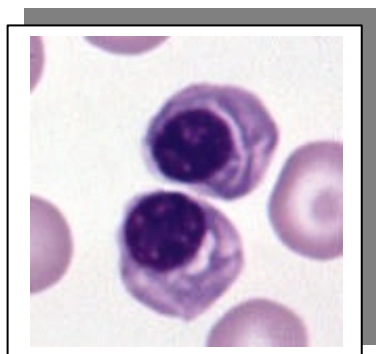


Figura 9. Eritrócitos nucleados determinados pelo plumbismo, em cães.

Fonte: ERITRÓCITO nucleado, 2003.

A síndrome no SNC relacionada à intoxicação pelo chumbo foi denominada de *encefalopatia do chumbo* e representa a manifestação mais grave do envenenamento. Observa-se incoordenação, vertigem, ataxia, quedas, cefaléia, insônia, inquietação e irritabilidade. O seu agravamento resulta em repetidas convulsões tônico-clônicas ou letargia e coma. Os vômitos são em jato e há perturbações visuais (HARDMAN e LIMBIRD, 2001; ATSDR, 1997).

Crianças intoxicadas podem ocasionalmente apresentar deterioração mental nítida e progressiva, podendo resultar em perda da capacidade motora e da fala, além de redução do aprendizado pela falta de percepção sensorial (HARDMAN e LIMBIRD, 2001).

Efeitos biológicos à exposição de chumbo em crianças mostram inibição da heme e síntese de hemoglobina, no SNC (encefalopatia, déficit neurofisiológico) disfunção do nervo periférico (velocidade de condução lenta, déficit eletrofisiológico) e efeitos renais, tais como insuficiência renal aguda, aminoacidúria e glicosúria (SIEGEL et al., 1989).

Dietrich e colaboradores (2001) associaram o comportamento anti-social e a delinquência de crianças e adolescentes (n= 195) com a exposição ao chumbo no período pré ou pós-natal (determinação nas amostras de sangue), no período de 1979 a 1985. Os autores concluíram que, independente de outros problemas sociais e biomédicos avaliados no estudo, a exposição ao chumbo gerou alterações no comportamento.

O mecanismo celular da neurotoxicidade causado pelo chumbo inorgânico, no SNC é explicado pelo acúmulo e armazenamento do chumbo pelas células, tais como a célula astroglia (astrócito). Esta célula serve como um depósito de chumbo no cérebro e possui um papel potencialmente contrário às células seqüestrantes de chumbo para os nervos sensitivos, enquanto o aloja no tecido. A indução de genes específicos e proteínas na glia (tecido de sustentação do sistema nervoso) pelo chumbo pode ser a chave para o entendimento do mecanismo pelo qual a glia tolera o chumbo intracelular (TIFFANY-CASTIGLIONI, 1998). A Figura 10 mostra um astrócito com chumbo armazenado.

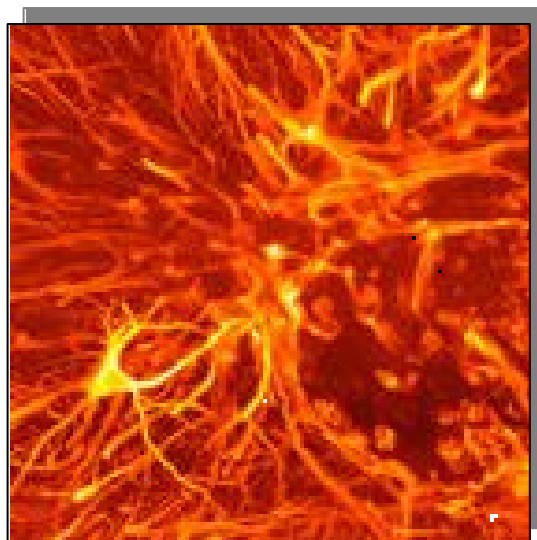


Figura 10. Astrócitos reativos: glia fibrilarmente aumentada

Fonte: TIFFANY-CASTIGLIONI, 1998.

O chumbo afeta a musculatura lisa do intestino, provocando sintomas intestinais que são importantes sinalizadores da exposição ao metal. A síndrome inicia-se com sinais vagos, tais como anorexia, desconforto muscular intestinal, mal-estar e cefaléia. Ocorre obstipação, especificamente em adultos, que se agravará com o decorrer da intoxicação; a diarreia aparece ocasionalmente (MARCUS, 2001).

Como síndrome abdominal avançada ocorre dor abdominal (cólica de chumbo), uma vez que os músculos abdominais se tornam rígidos com sensibilidade em especial na região umbilical (HARDMAN e LIMBIRD, 2001; BRITO, 1988; CASARETT, 2001).

A linha de Burton que corresponde a uma linha escura na gengiva é uma das características observadas no saturnismo e pode ser observado na Figura 11.



Figura 11. Linha de Burton (seta).

Fonte: GENGIVAL, 2003.

Manifestações de fraqueza muscular e fadiga são sintomas que antecedem a paralisia, conhecida como paralisia saturnina. A neuropatia periférica é a clássica manifestação da toxicidade do chumbo, particularmente a gota no pé e pulso, caracterizada em pintores de casa ou outros trabalhadores com exposição excessiva.

A nefropatia é o mais antigo efeito do chumbo sobre a saúde. O primeiro relato de nefrotoxicidade devido ao chumbo foi publicado em 1863 por Lancereaux. Ele observou atrofia do córtex renal e fibrose tubular no rim de um artista que habitualmente levava o pincel à boca (KATHURIA, 2003).

Em adultos e crianças, o chumbo provoca dois efeitos distintos em nível renal: um dano reversível no túbulo proximal e uma lenta e progressiva deficiência renal envolvendo redução na função glomerular associada a danos vasculares e fibrose (LARINI, 1987).

Correntemente são reconhecidos três tipos de nefropatia pelo chumbo:

- ☞ resultante do envenenamento agudo pelo chumbo, causando sintomas clássicos que incluem encefalopatia, anemia, neuropatia e síndrome de Fanconi;
- ☞ nefropatia crônica pelo chumbo, que é uma nefrite intersticial lentamente progressiva, resultante de exposição cumulativa ao chumbo e freqüentemente associada à hipertensão e gota;

☞ hipertensão plúmbica - associação epidemiológica do chumbo com o desenvolvimento da hipertensão.

Além disso, o chumbo pode ter efeito direto sobre o músculo liso por sua interferência com o metabolismo do cálcio. Como consequência da nefropatia originada pelo chumbo, a excreção de ácido úrico é desproporcionalmente inferior que a esperada para os pacientes com taxa de filtração glomerular reduzida. Estudos sugerem aumento da reabsorção e redução de secreção de ácido úrico, explicaria a alta incidência de gota (KATHURIA, 2003; CASARETT, 2001).

A toxicidade do chumbo interfere direta ou indiretamente em vários aspectos na função celular óssea. A retenção e mobilização do chumbo no osso envolvem o mesmo mecanismo de regulação de influxo e efluxo do cálcio (hormônio da paratireóide, calcitonina, vitamina D e outros hormônios). O chumbo também compete com o cálcio na absorção gastrointestinal (POUNDS et al, 1991) e está classificado como um carcinógeno 2B pelo IARC (1987).

2.2.4. COBRE

O cobre foi reconhecido como um metal essencial ao organismo humano a partir de 1928, quando Hart mostrou que uma suplementação de cobre era necessária para combater a anemia por falta de ferro em ratos nutridos exclusivamente com regime lácteo. O cobre é necessário à síntese da hemoglobina e juntamente com o zinco e selênio, está envolvido na destruição de radicais livres através do sistema enzimático reduzindo, assim, o risco de câncer. Por outro lado, o excesso desse elemento pode desenvolver doença e toxicidade (CHAN et al., 1998).

2.2.4.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

Geralmente, penetra no organismo por via oral e quando a ingestão é proposital, o próprio produto produz emese (principalmente o sulfato) (BRITO, 1988).

O organismo humano contém cerca de 80 mg de cobre para um homem de 70 kg. Os órgãos mais ricos em cobre são o fígado, cérebro e cerca de 1/3 encontra-se nos músculos e sistema ósseo. O fígado é o órgão de armazenamento e, portanto, mais susceptível à toxicidade (OLIGOELEMENTOS – cobre, 2003; KATOH et al., 2002; KURISAKI et al., 1988).

O cobre está ligado ao metabolismo de numerosas enzimas, a saber, (LEE et al., 2002; FERREIRA et al., 2000):

☞ceruloplasmina, proteína que permite o transporte do cobre e a utilização do ferro.

Quando este transportador está saturado, a sua absorção pelo intestino é diminuída.

☞citocromo-oxidase, enzima necessária à etapa terminal das oxidações. Um déficit desta enzima provoca alteração celular ou mesmo a morte.

☞transaminases, enzimas que participam do metabolismo dos aminoácidos.

☞lisina-oxidase, que favorece a reticulação do colágeno e da elastina (solidez dos ossos, dos tendões e a elasticidade das paredes das artérias). Em caso de déficit haverá falhas na reticulação do colágeno, problemas na plasticidade e solidez dos tecidos, em particular ao nível das artérias. Poder-se-á observar fraturas ósseas, aneurismas e dissecções arteriais, e em nível dos pulmões uma patologia semelhante ao enfisema (CHAN et al, 1998).

☞amino-oxidases que permitem o metabolismo das aminas biógenas.

☞tirosinase que possui um papel na pigmentação da pele.

2.2.4.3. Toxicidade

Os sinais de intoxicação pelo cobre são similares aos que ocorrem com a maioria dos metais, tais como vômitos, dores epigástricas e hemólise.

O contato direto com a pele provoca irritação com erupções papulovesiculosas e eczemática, inclusive com necrose de pele (BRITO, 1988).

Uma vez absorvido em doses tóxicas (15g/70kg de CuSO_4), lesam principalmente os rins, o fígado (com cirrose) e o SNC (depressão seguida de excitabilidade) (Brito, 1988). Em humanos, os relatos de intoxicação crônica estão relacionados com o curso da intoxicação aguda pelo sulfato de cobre, após uma ingestão com fins suicidas. Os principais sintomas são hematemesa, hemoglobinúria, oligúria, necrose hepática aguda, hipotensão, coma e morte. Cronicamente tem sido estudado como doença de Wilson (doença genética autossômica recessiva) e de Menkes (KURISAKI et al., 1988).

A deficiência de cobre em animais nutridos experimentalmente com alimentação carente em cobre provoca anemia, produz hipopigmentação e queratina com defeitos na lã dos cordeiros, distúrbios neurológicos graves (ataxia), deformações ósseas, distúrbios de reprodução, insuficiência cardíaca, aneurismas arteriais e cardíacos.

2.2.4.3.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

Altas doses de cobre podem produzir náuseas, vômitos, diarreia, danos hepáticos, gengivites, dermatites, descoloração da pele e/ou do cabelo (CHAN, 1998).

2.2.4.3.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

Na intoxicação crônica pode-se notar perfuração do septo nasal e se inalado é irritante para as mucosas do trato respiratório.

A intoxicação provoca hemólise e uma hepatite crônica, devido ao acúmulo de cobre no fígado, que pode levar à cirrose ou à necrose maciça. Se o paciente sobrevive, apresentará distúrbios neurológicos devido ao acúmulo de cobre no SNC (WHO, 1998).

A Figura 12 mostra o acúmulo de cobre no tecido hepático (WHO, 1998).

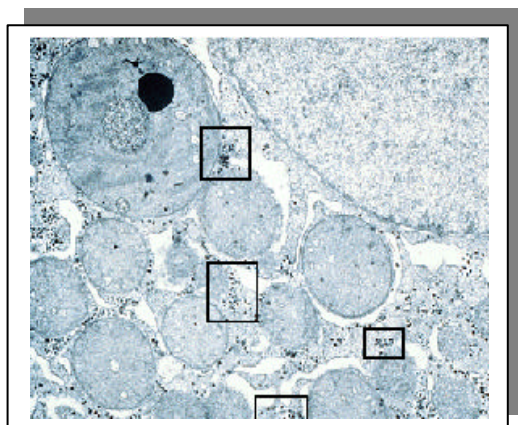


Figura 12. Acúmulo de cobre no fígado.

Fonte: WHO, 1998.

A captação continuada de cobre, mesmo em baixas doses, produz considerável acúmulo no fígado. Em ratos este fato resultou em redução de níveis de ferro na hemoglobina e icterícia hemolítica em alguns animais estressados.

A Figura 13 mostra os danos provocados ao nível de rim e fígado, observados *post-mortem* e que são indicativos de intoxicação por cobre.



Figura 13. Rim preto e icterícia

Fonte: SINAIS post-mortem, 2003.

A nefrite tóxica poderá ocorrer, resultando no aparecimento de urina corada de castanho devido à hemoglobina e seus produtos de degradação.

2.2.5. CRÔMIO

O crômio foi descoberto em 1765, na Rússia, porém, o elemento só foi isolado em 1797 pelo químico francês Louis-Nicholas Vauquelin, que o preparou com ácido clorídrico diluído a partir da crocoíta (PbCrO_2). Devido os seus compostos serem coloridos, denominou-o de crômio (do grego *chromos* que significa cor) (ARFSTEN et al., 1998).

O impacto do crômio nos sistemas biológicos pode ser benéfico ou não. O crômio reconhecido como essencial no metabolismo de carboidratos e lipídeos, e relacionado com o mecanismo de ação da insulina (crômio (III)). É um elemento essencial ao homem, com a captação diária de 50 a 200µg recomendado para o adulto. Para o animal, o Cr(III) possui toxicidade quando ingerido (FERREIRA, 2002).

O crômio VI, danoso à saúde é o que está relacionado como um composto mutagênico e carcinogênico em animais (IARC, 1990). Sua contaminação resulta numa

problemática relacionada com aqueles que trabalham diretamente com seus compostos, sendo considerado, também, um problema ambiental, conforme relata Ferreira (2002).

2.2.5.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

As formas do cromo que têm significado biológico são Cr^{+3} e Cr^{+6} e a absorção ocorre por via respiratório (Cr^{+6}), via oral e dérmica (Cr^{+3}) (Casarett, 2001).

Armazenam-se nos pulmões, pele, músculos e tecido adiposo. As maiores concentrações estão no cabelo e pulmões, porém, não há tendência de acúmulo. Possui uma meia vida de 5-21 horas e a eliminação ocorre via urinária (Casarett, 2001).

O cromo (VI), quando ingerido, é convertido a cromo (III) e as análises quantitativas da redução da capacidade do estômago em reduzir cromo (VI) a cromo (III) não têm sido bem conduzidas, portanto, o risco de ingestão de água contaminada por este metal é incerto (PAUSTENBACH et al., 2003).

2.2.5.2. Toxicidade

O cromo metálico e os compostos trivalentes não são tóxicos para os tecidos humanos. A toxicidade do cromo está limitada aos compostos hexavalentes, que têm uma ação irritante e corrosiva no organismo. Em certas condições, estes compostos podem precipitar as proteínas. Num ambiente industrial, podem afetar a pele e as vias respiratórias, provocando dermatites e ulcerações e a exposição prolongada a poeiras ricas nestes compostos, podem ter efeito cancerígeno para os pulmões. É reconhecido como um carcinógeno por inalação (PROCTOR et al., 2003; PAUSTENBACH et al., 2003).

Compostos de cromo VI podem também provocar anemia, alterações hepáticas e renais.

2.2.5.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

O trato respiratório, quando inalado, é o alvo principal para este contaminante (PROCTOR et al., 2003; PAUSTENBACH et al., 2003; FERREIRA, 2002).

A ingestão causa, tanto no homem quanto no animal, efeitos gastrointestinais, incluindo dores abdominais, vômitos e hemorragia e a exposição dérmica produz queimadura com cromo (VI). Além disso, efeitos neurológicos também podem ocorrer.

2.2.5.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

O principal alvo na intoxicação crônica é o trato respiratório, apresentando perfuração e ulceração do septo, bronquite, redução da função pulmonar, pneumonia, asma, prurido e ferida no nariz.

Tanto a exposição oral quanto a inalação podem produzir efeitos no fígado, rins, gastrintestinais e sistema imune e a exposição ao cromo em ambiente industrial, está associada com câncer do trato respiratório (PROCTOR et al., 2003).

Estudos em animais mostram o potencial carcinogênico do cromo (VI) para o trato respiratório. Acredita-se que o mecanismo dessa carcinogenicidade para o pulmão se deve a redução do Cr (VI) para Cr(III) e a geração de um intermediário reativo Cr(V) (PROCTOR et al., 2003; PAUSTENBACH et al., 2003; FERREIRA, 2002).

A exposição dérmica pode produzir dermatite de contato, sendo freqüente na exposição ocupacional com cimento, que é uma das fontes mais comuns de crômio. Contudo, consumidores de produtos como couro queimado com Cr (III) são, também, fontes importantes de exposição. Neste caso, por oxidação, haverá também, em mistura, o crômio (VI), que se formará da queima do Cr(III) (HANSEN et al, 2002). A Figura 14 abaixo mostra dermatite de contato provocado pelo crômio.



Figura 14. Sensibilidade alérgica ao cimento contendo crômio.

Fonte: HANSEN et al, 2002.

2.2.6. MAGNÉSIO

O magnésio foi por muito tempo confundido com o manganésio e sua diferenciação foi feita por Sir Humphrey Davy, em 1808.

O magnésio é o segundo maior cátion intracelular mais abundante no organismo. É co-fator de aproximadamente 300 reações enzimáticas, principalmente das que utilizam ligação fosfato de alta energia, assim participando de inúmeros processos metabólicos. Magnésio é um cofator de muitas enzimas envolvidas no metabolismo intermediário. No ciclo glicolítico convertendo glicose em piruvato, há sete enzimas-chave que requerem Mg^{2+} . Está também envolvido no ciclo do ácido cítrico na beta oxidação dos ácidos graxos (ELIN, 1994).

Terapeuticamente, os sais de magnésio representam uma importante classe e exibem uma variada ação farmacológica., tais como magnésio iônico e citrato de magnésio,

em nefrolitíase, salicilato de magnésio em artrite reumatóide, hidróxido de magnésio como antiácido, sulfato de magnésio na prevenção e tratamento da eclâmpsia (TABER et al., 2002; RANADE e SOMBERG, 2001; LU e NIGHTINGALE, 2000).

2.2.6.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

Sais de magnésio são pobremente absorvidos pelo intestino. É excretado no trato digestivo pela bile e suco pancreático e intestinal e em condições normais os rins são a principal via de eliminação. A excreção ocorre, também, através do leite materno e suor (CLASSEN et al, 1992).

O sulfato de magnésio é administrado por via intravenosa e intramuscular, na obstetrícia. É excretado nas primeiras 24 horas após administração venosa (TABER et al., 2002; LU e NIGHTINGALE, 2000).

2.2.6.2. Toxicidade

Como se trata de um metal componente do organismo, sua toxicidade se verifica em determinadas condições, quando de doses excessivas ou quando da deficiência do organismo em eliminá-lo.

A toxicidade do magnésio ocorre, geralmente, pela ingestão crônica de antiácidos, por indivíduos com insuficiência renal grave, os quais são deficientes em eliminá-lo (GARCIA et al., 2002).

Patologias associadas à deficiência de magnésio são generalizadas, tais como: doenças cardiovasculares, renal, hepática; danos no peroxinitrito (esclerose múltipla, glaucoma, doença de Alzheimer, etc), infecção bacteriana recorrente devido a redução de níveis de óxido nítrico nas cavidades (vaginal, ouvido médio, pulmão) síndrome pré-

menstrual, como sulfato de magnésio, na obstetrícia no tratamento da pré-eclâmpsia e eclâmpsia (JOHNSON, 2001; HERSCHEL e MITTENDORF, 2001).

2.2.6.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

Os sintomas agudos serão observados em pacientes cuja função renal está comprometida, uma vez que nos rins normais, o magnésio é eliminado rapidamente, o que previne a intoxicação. Assim, pessoas idosas, pela redução da função renal ou doentes de insuficiência renal têm acúmulo de magnésio em decorrência da redução na taxa de filtração glomerular.

Os sintomas de sobrecarga de magnésio incluem diarreia, dificuldade respiratória, depressão do SNC, resultando em fraqueza muscular, letargia, sonolência. Em estados extremos, a sobrecarga de magnésio pode ser fatal, devido à diminuição de cálcio que provoca a parada cardíaca em diástole (JONES et al., 1986).

Os sintomas supra descritos foram também observados em uma mulher de 39 anos, que apresentou acentuado aumento de níveis de magnésio no soro, devido a utilização de repetidas doses de carvão ativado e de citrato de magnésio, para tratamento de superdose de antidepressivo tricíclico, resultando em deterioração neuromuscular aguda e depressão respiratória (JONES et al., 1986).

Outro caso, envolvendo sulfato de magnésio utilizado em uma mulher de 31 anos, na sua primeira gestação (gêmeas), apresentou contrações na 32ª semana gestacional, o qual fora indicado o parto através de cirurgia cesariana. A paciente havia apresentado intoxicação pelo magnésio, determinado no soro ($9,0 \text{ mg-dL}^{-1}$) e uma das gêmeas, apesar de intenso recussitamento, não sobreviveu. O autor sugere que altas doses de sulfato de magnésio a que foram expostas as gêmeas teria sido a causa do óbito (HERSCHEL e MITTENDDDORF, 2001).

2.2.6.2.2. Toxicidade Crônica ou em longo prazo

A ocorrência da intoxicação crônica é mais incomum. Contudo pode ser observada, em nível de músculo esquelético, fraqueza generalizada.

O uso crônico de magnésio pode determinar diarreia (De FRANCESCHI et al, 1998). Além disso, tem sido relatada anormalidade óssea em neonatos, como resultado da administração de sulfato de magnésio como forma de tratamento na pré-eclâmpsia em mulheres grávidas (MATSUDA et al., 1997).

2.2.7. MANGANÊS

Os compostos de manganésio eram já utilizados na Antiguidade, sendo no entanto, difícil afirmar quando se começaram a usar, uma vez que eram confundidos com os compostos de ferro e de outros elementos. Já Plínio, na Era Romana, menciona o seu emprego sob o nome de *magnes*, considerando-o uma variedade de magnetite, i.e., um mineral magnético de ferro. Mais tarde, em livros do fim do século XVII, o termo *magnésia* foi usado como sinônimo de óxido de manganésio. J. H. Pott (1740) provou que a *pirolusite* (dióxido de manganésio) não continha ferro, como se acreditava até então, e produzia sais bastante diferentes daqueles obtidos a partir dos óxidos de ferro. C. W. Scheele, em 1774, distinguiu a magnetite da pirolusite, tendo no mesmo ano o seu colaborador Johann Gottlieb Gahn conseguido isolar o manganésio. O seu nome deriva do latim *magnes* e refere-se às propriedades magnéticas exibidas pela pirolusite (WHO, 1981).

2.2.7.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

A absorção gastrointestinal do manganês é menor que 5% e ocorre ao longo do intestino delgado. É transportado ao plasma ligado a β_1 -globulina, e é largamente

distribuído no organismo. Concentra-se em mitocôndrias e em tecidos ricos nesta organela, tais como pâncreas, fígado, rins e intestinos. A meia vida biológica é de 37 dias sendo que o cérebro uma vez que atravessa a barreira hemato-encefálica, sua meia vida é maior. É eliminado pela bile e reabsorvido no intestino delgado, mas a principal via de excreção são as fezes (CASARETT, 2001).

2.2.7.2. Toxicidade

O manganês é um elemento essencial ao homem. Entretanto, indivíduos podem se intoxicar com este metal e apresentar sintomas similares àqueles produzidos pelo mal de Parkinson (ARNOLD et al., 1999).

Manganismo é a forma como é conhecida a intoxicação ocupacional pelo manganês. Sintomas pré-clínicos de intoxicação por poeira de dióxido de manganês, no ar, foi detectado em trabalhadores de indústrias siderúrgicas (ARNOLD et al., 1999).

O mecanismo de ação tóxica não é bem conhecido. Considera-se que o SNC e os pulmões sejam órgãos críticos nas manifestações das intoxicações. As semelhanças clínicas entre o manganismo e o parkinsonismo e as respostas ao tratamento com L-dopa sugerem que as alterações bioquímicas precedem os danos histológicos no SNC (WHO, 1981).

2.2.7.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

A exposição dérmica e oral é reduzida devido à baixa solubilidade deste metal. A exposição em altas concentrações em ambiente de trabalho ($210\text{mg}/\text{m}^3$), resulta em pneumonite, produzindo tosse seca, náusea, cefaléia, fadiga, dispnéia, quando inalada (BARCELOUX, 1999).

O permanganato de potássio é um oxidante poderoso que produz uma necrose tipo coagulação. A ingestão de tabletes ou solução concentrada causa corrosão local e em altas doses podem causar pancreatite fatal (BARCELOUX, 1999).

2.2.7.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

Os alvos primários, na exposição crônica por manganês e seus compostos são os pulmões e o cérebro. A neurotoxicidade do manganês é bem conhecida, entretanto, os efeitos neuroquímicos produzidos por este metal são pouco investigados (AI et al., 1998).

Barceloux (1999) relata que a ingestão de permanganato de potássio a 8%, por quatro semanas, por uma pessoa, apresentou perturbações gastrintestinais, alopecia, parestesia, diminuição da concentração e fasciculação.

Ai e colaboradores (1998) pesquisaram produtos finais de metabolismo de catecolaminas, o ácido homovanílico e o ácido vanilmandélico em 39 trabalhadores com média de 17,4 anos de exposição ao manganês. Para este estudo foi utilizado um grupo controle de 19 trabalhadores não expostos. A análise foi realizada por espectrometria de absorção atômica em amostras de urina e os resultados foram compatíveis com observação em animais de laboratório, mostrando a interferência de manganês no metabolismo neuroquímico.

Numa fase subclínica, em nível de SNC, a sintomatologia é vaga. O paciente apresenta astenia, distúrbios do sono, dores musculares, excitabilidade mental e movimentos desajeitados. A fase clínica, com sintomas psíquicos e neurológicos se caracteriza por transtornos na marcha, dificuldades na fala, reflexos exagerados, tremor e sintomatologia extrapiramidal. Nesta fase, o paciente apresenta-se com psicose maníaco-depressiva (PMD) e a síndrome clássica que lembra o Parkinsonismo. Além desses efeitos, pode ocorrer também bronquite aguda, asma brônquica e pneumonia (BARCELOUX, 1999; OGA, 1996).

Em soldadores e maquinistas observa-se hipotensão ortostática resultante de intoxicação produzida por manganês. Estes trabalhadores após avaliação da função

cardiovascular autonômica, cognitiva e emocional apresentaram balanço simpátovagal diminuída (cinco); sete trabalhadores apresentaram disfunção autonômica e redução significativa da taxa cardíaca. Quatro trabalhadores apresentaram alterações de humor e associada à alteração de memória recente e atenção. O holter indicou uma diminuição na ativação parassimpática de alta frequência da variabilidade da taxa cardíaca, refletindo uma sensível disfunção autonômica, refletindo uma exposição aumentada ao manganês (BARRINGTON et al. 1998).

Em *macaca fascicularis*, foi avaliada lesão cerebral produzida pela administração de óxido de manganês (VI), através de injeção subcutânea. Foi observada degeneração dos nervos dopaminérgicos pela tomografia por emissão de positron e imagem por ressonância magnética, durante a intoxicação que ocorreu num período de 16 meses (ERICSSON et al., 1992).

2.2.8. MERCÚRIO

O homem pré-histórico utilizava o cinábrio (sulfeto de mercúrio, HgS), principal minério do mercúrio para executar desenhos nas paredes das cavernas em que habitavam. Foi encontrado, também, mercúrio em túmulos egípcios 1500 a.C. (GRAEME e POLLACK, 1998). As maiores reservas do cinábrio encontram-se na Espanha (Almaden) e na Itália (MICARONI et al, 2000).

Os antigos chineses acreditavam que o cinábrio e o mercúrio apresentavam propriedades medicamentosas que prolongavam a vida. Assim, vários imperadores, ingerindo constantemente o metal, morreram de mercurialismo na tentativa de assegurar a imortalidade (YAMADA et al., 1997).

No século XVI, o mercúrio, sob a forma de pomada, foi utilizado para tratar a sífilis, utilizada como massagem cutânea. Os sintomas psicóticos da intoxicação por mercúrio foram descritos no século XVIII, quando então as referidas pomadas ganhavam destaque (WALDRON, 1983). Paracelso, por volta de 1530, afirmava que a sífilis podia ser tratada por via interna com preparados mercuriais. No mesmo século, o francês Jean Fernal

descrevia sinais e sintomas da intoxicação por mercúrio, quando este, sob a forma de calamelano (Hg_2Cl_2), era aplicado amplamente como diurético (KNIGHT, 1975).

O mercúrio foi o primeiro metal a ser legislado para controle de doenças causadas em trabalhadores, em meados do século XVII. Nas Minas de Idrija, Iugoslávia, o dia de trabalho foi reduzido de 14 para 6 horas (KNIGHT, 1975).

Hunter e colaboradores descreveram a intoxicação por inalação do metilmercúrio de quatro trabalhadores, de uma indústria de fungicidas mercuriais, que resultou em óbito. O anatomopatológico daqueles trabalhadores revelou acentuada lesão neuronal e atrofia cerebral com perda cortical. Assim, esta intoxicação por mercúrio orgânico passou a ser conhecida como síndrome Hunter-Russel (SWENSSON e ULFARSSON, 1963).

A exposição ao metilmercúrio, por 17 anos, em ambiente de trabalho, foi demonstrada em trabalhador, mediante detecção na urina com sintomatologia clássica de mercurialismo. Após o seu óbito que decorreu de câncer de pulmão, através da necropsia foi detectado elevados níveis de mercúrio, no cérebro, rins e pulmão mediante análise por espectrofotometria de absorção atômica, mostrando o acúmulo deste metal, mesmo após tratamento específico (D-penicilamina) (OPITZ et al., 1996).

2.2.8.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

O metal que melhor possui representatividade em espécie química que pode produzir efeitos no homem é o mercúrio. É o único que à temperatura de 0°C se apresenta na forma líquida. Existe na forma Hg^0 (forma metálica ou como vapor, cuja maior fonte é a atmosfera), no estado mercúrico (Hg^{2+}) e mercurioso (Hg^+), produzindo sais de mercúrio inorgânicos e orgânicos. Os vapores são muito mais perigosos que sua forma líquida e a forma orgânica do mercúrio mais importante para a exposição humana é o metilmercúrio (CH_3Hg^+) (CASARETT, 2001; OLIVEIRA, 1996; GOSSEL e BRICKER, 1994).

Cada estado de oxidação e cada espécie orgânica têm característica toxicocinética e efeitos próprios sobre a saúde (USEP, 1997; WHO, 1989, 1990).

O mercúrio metálico líquido, que pode ser resultante da quebra de um termômetro, é absorvido lentamente pelo trato gastrointestinal (inferior a 0,01%) numa proporção relacionada com a vaporização do mercúrio elementar e é geralmente considerado sem conseqüências toxicológicas. Assim, é quase totalmente eliminado pelas fezes. Entretanto, na superfície do epitélio intestinal pode formar o sulfeto, ocorrendo, então, a absorção (NIELSEN e ANDERSEN, 1989).

Os vapores de mercúrio são prontamente absorvidos pelos pulmões, dissolvidos na corrente sanguínea e difundindo-se por todos os tecidos do corpo devido à sua alta lipossolubilidade. Atravessa, também, a barreira hemato-encefálica (FUORTES et al., 1995), sendo armazenada na sua forma oxidada (Hg^{2+}) (FUENTES e GIL, 2003).

A absorção gastrointestinal dos compostos de mercúrio oriundos dos alimentos é cerca de 15%, enquanto a absorção do metilmercúrio é cerca de 90 a 95%. O mercúrio no alimento é muito tóxico, principalmente quando comparado com o mercúrio em amálgamas (JONES, 1999).

Os rins contêm a maior concentração de mercúrio seguido por exposição de sais de mercúrio e vapor de mercúrio. Contudo a produção de metalotioneína, induzida pela presença do metal nos rins, resulta num importante papel na desintoxicação após a formação do complexo metalotioneína- Hg^{2+} (FUORTES et al., 1995).

2.2.8.2. Toxicidade

O mercúrio no ambiente é constantemente ciclado e reciclado através do ciclo biogeoquímico e ocorre por:

- ☞ mobilização do mercúrio de rocha, solos e superfície da água, ou emissão de vulcões ou ainda da atividade humana;
- ☞ movimento da forma gasosa através da atmosfera;
- ☞ deposição do mercúrio na terra ou superfície da água;

☞ precipitação ou bioconversão em forma mais volátil ou mais solúvel tal como metilmercúrio.

Desta forma, entra na atmosfera ou é bioacumulado na cadeia alimentar, conforme sugere a Figura 15.

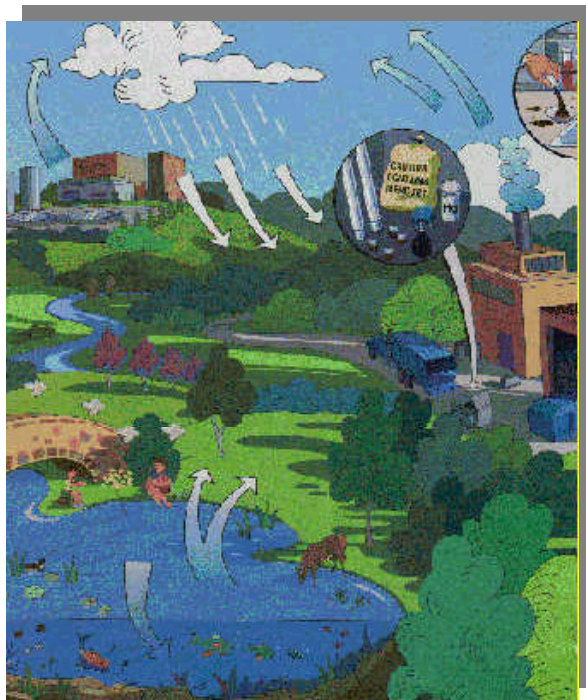


Figura 15. Ciclo do mercúrio contaminando o homem, o ambiente e o alimento.

Fonte: MERCURY CICLE, 2003.

Qualquer que seja a forma de emissão, tanto natural quanto antropogênica, o mercúrio está em forma inorgânica, predominantemente como vapor metálico (Hg^0). Na água, contudo, o mercúrio é transformado em metilmercúrio por ação microbiológica (HANSEN et al., 1997).

Os sinais e sintomas dessa intoxicação são tremores, vertigens, estomatite e diarreia, incoordenação motora progressiva, perda de visão e audição e deterioração mental decorrente de uma neuroencefalopatia tóxica e síndrome astênica vegetativa ou eretismo caracterizado por irritabilidade, instabilidade emocional, depressão, timidez e fadiga (FUENTES e GIL, 2003; ETO, 2002; ISHAHARA, 2002; HARADA et al., 2001; CAVALLERI e GOBBA, 1998; HARGREAVES et al., 1998; FUORTES et al., 1995).

Situações de exposição e suas conseqüências para o homem estão descritas abaixo.

Em 21 de abril de 1956, em Minamata, Japão, foi reportado uma criança com quadro característico de disfunção do SNC. Vinte dias após, tornou-se a data oficial de descrição do mal de Minamata, quando da internação de mais quatro crianças com sintomas similares. Naquele mesmo ano, um comitê especialmente designado, reconheceu o mal em 56 pessoas e a causa daquelas intoxicações estava relacionada com a contaminação de peixes e frutos do mar, principal alimentação daquela baía, provocadas pelos dejetos contendo mercúrio lançados nela pela indústria química Chisso, que os lançava no rio e este desembocava no mar. (HARADA et al., 1999).

Um total de 151 cordões umbilicais foi coletado no período de 1950 a 1969 de residentes da área de Minamata, incluindo 25 pacientes com doença congênita de Minamata para análise de metilmercúrio para comparação com a contaminação sofrida na baía, o que indicou a provável causa da doença congênita ter ocorrido pela contaminação e a presença de quantidades altas de metilmercúrio nos cordões umbilicais corroborou a hipótese da utilização do cordão umbilical na detecção do mercúrio (HARADA et al., 1999).

Grandes acidentes com vapores de mercúrio têm sido registrados no mundo, como o incêndio de Idria na Itália (1803), que levou à intoxicação 900 pessoas, e o vazamento de vapores de mercúrio do navio *Triumph*, que causou três mortes e a intoxicação de 200 pessoas (FARIA, 2003).

Pacientes (seis) que adoeceram após uma única exposição aos vapores de mercúrio em alta concentração, e foram acompanhados pelo período de quatro anos, todos apresentaram sintomas de intoxicação aguda por mercúrio, como febre, calafrios, dor no peito e fraqueza. Três deles apresentaram infiltrado difuso pulmonar e o R-X sugeriu pneumonite química. Dois deles apresentaram grande excreção de mercúrio pela urina. Seus sintomas crônicos diferiram em alguns aspectos, mas queixaram de nervosismo, irritabilidade, perda da libido e desmotivação. Apesar de mercurialismo ocorrer com exposições a longo tempo, esses pacientes, após breve exposição apresentaram um quadro característico de intoxicação crônica (MCFARLAND e REIGEL, 1978). Este relato serve para caracterizar, que mesmo num quadro em que a exposição seja única, a intoxicação crônica pode ser observada.

2.2.8.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

A intoxicação aguda pelo mercúrio apresenta aspectos que podem ser evidenciados por um conjunto de sinais e sintomas caracterizados por uma síndrome gastrointestinal e neurológica. O paciente apresentará aspecto cinza escuro na boca e faringe, decorrente da precipitação do protoplasma, dor intensa, vômitos que podem ser até sanguinolentos, sangramento da gengiva, sabor metálico na boca, ardência no aparelho digestivo, diarreia grave e sanguinolenta, estomatite, glossite, queda ou amolecimento dos dentes, tumefação da mucosa da gengiva, nefrose e problemas hepáticos graves o que pode resultar na morte em cerca de dois dias (CAVALLERI e GOBBA, 1998; HARGREAVES et al., 1998; HARADA et al., 2001; ISHAHARA, 2002).

A nefrotoxicidade associada ao mercúrio pode ser manifestada ou como necrose tubular aguda ou uma glomerulonefrite complexa imune, dependendo das condições nas quais o paciente foi exposto ao metal. Dois pacientes com exposição industrial por mercúrio desenvolveram síndrome nefrótica devido a glomerulonefrite membranosa (TUBBS et al., 1982).

A intoxicação por mercúrio pode igualmente determinar um quadro de hipertensão arterial, simulando o feocromocitoma, com cefaléia, irritabilidade e sudorese. Oliveira (1996) fez essa observação em um adolescente de 17 anos, que foi admitido num hospital com diagnóstico inicial de feocromocitoma e posteriormente, determinado à intoxicação por vapor de mercúrio. Submetido a tratamento específico para aquela intoxicação, a crise hipertensiva foi resolvida.

A forma aguda pode aparecer após exposição em níveis de 1,1 a 44 mg/m³ (McFARLAND e REIGEL, 1978). Asano et al. (2000) descrevem que por poucas horas, níveis de mercúrio acima de 1,2 mg/m³ causam bronquite química aguda e pneumonite e duas horas após a exposição, aparece injúria pulmonar com formação de membrana hialina e finalmente ocorre extensa fibrose. Ocorre pneumonia bilateral com edema intersticial e com sintomas de dor torácica, dispnéia, tosse, hemoptise, podendo resultar no óbito (FARIA, 2003).

2.2.8.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

A intoxicação crônica pelo mercúrio, também conhecida como “mercurialismo” ou hidragismo, via de regra é ocupacional e é conhecida desde a antigüidade, quando era usado na decoração e pintura de castelos e no trabalho de mineração, que foi intensificado durante o império romano. Na modernidade, a utilização de mercúrio inorgânico diversificou-se no setor industrial – metalurgia, produção de chapéus de feltro, equipamentos médicos e ambientais, química, refinarias de petróleo, nuclear, indústrias de cloroalcalis e de papel, cosméticos, amálgamas dentários, etc. Aproximadamente 90 ocupações estão sujeitas à exposição ao mercúrio (FARIA, 2003).

A legislação brasileira (NR 7/78, anexo1, do Ministério do Trabalho e Emprego) determina o limite de referência da normalidade de mercúrio na urina (HgU) em 5 µg/g de creatinina para a população, de 35µg de Hg/g creatinina para o trabalhador e 40µg de mercúrio/m³ no ar, que são muitas vezes ultrapassados. Sendo assim, o risco da intoxicação é alto (FARIA, 2003).

Os sintomas observados são: transtornos digestivos, transtornos nervosos, caquexia, estomatite, salivação, podendo ocorrer hipertrofia das glândulas salivares, mau hálito, aspecto acinzentado nos dentes com pequeníssimos pontos de incrustações de nitrato ácido de mercúrio, inapetência, anemia, hipertensão, afrouxamento dos dentes, perturbações vasomotoras (transpiração excessiva e rubor incontrolável, que, em conjunto são chamados de eretismo), problemas no sistema nervoso central, que é especialmente atingido, evidenciado pela depressão mental, alterações de comportamentos, insônia, irritabilidade, tremores de mandíbula e mãos e posteriormente membros superiores e até inferiores, alucinações, transtornos renais leves quando comparados aos da intoxicação aguda, e possibilidade de alteração cromossômica e aumento da captação de radioiodo pela tireóide, o que a faz aumentada (FARIA, 2003).

A função nervosa prejudicada tem sido investigada por métodos clínicos e neurofisiológicos. Polineuropatia, principalmente do tipo sensorial, mono ou

multineuropatia do tipo sensorial ou motor e envolvimento do sistema nervoso central foi encontrado em trabalhadores com exposição ao mercúrio (ANGOTZI et al., 1981).

Cavallieri e Gobba (1998) avaliaram a visão colorida em trabalhadores que apresentaram a média urinária de mercúrio/creatinina acima do limite biológico proposto pela Conferência Americana Higienistas Industriais Governamental. Foi observado prejuízo na visão colorida daqueles trabalhadores quando comparados com controles. Após 12 meses e reexame, os trabalhadores, cujos níveis de mercúrio e creatinina haviam sido reduzidos, mostraram melhora significativa na percepção da cor sem diferença quando comparados aos controles. Este dado indica que redução da visão colorida é reversível, quando a intoxicação pelo mercúrio é tratada.

Os sinais e sintomas dessa doença, resultantes da intoxicação pelo mercúrio, estão principalmente no sistema nervoso central. Deve ser ressaltado que esta doença difere da intoxicação causada pelo mercúrio inorgânico, causador de danos renais. Clinicamente, diversos sinais e sintomas são manifestados, sendo os principais: distúrbios sensoriais na porção distal de quatro extremidades, ataxia cerebelar, contração concêntrica bilateral do campo visual, distúrbio do movimento ocular diminuição da audição e distúrbio do equilíbrio causado pelo SNC. Também a Doença de Minamata fetal mostra prejuízos similares, promovendo paralisia cerebral infantil (NAKAI e SATOH, 2002; OLIVEIRA, 1996; ROELS et al., 1989; TUBBS et al., 1982; ANGOTZI et al., 1981).

A exposição ao mercúrio por dentistas, através da utilização de amálgamas dentais é uma ocorrência motivo de observação e estudo epidemiológico. Um estudo epidemiológico realizado no centro de Nova Iorque, em 1985, mostrou quando analisados cabelos desses profissionais que se utilizam amálgamas para realizar restauração, resultado significativo de mercúrio pesquisado em cabelo, quando comparados com outras especialidades de dentistas, como por exemplo, ortodontistas que não usam mercúrio (SCARLETT et al., 1988).

2.2.9. NÍQUEL

O níquel foi isolado pela primeira vez por Cronstedt, em 1751, tendo sido obtida a amostra purificada em 1804, por Richter, que realizou descrição pormenorizada das suas propriedades. Em 1870, Fleitmann descobriu que a adição de uma pequena quantidade de magnésio tornava o níquel maleável.

Estima-se que na crosta terrestre o níquel não exceda os 0,01%, sendo o 24º elemento mais abundante na terra (OLIVEIRA, 2003), sendo um elemento essencial para diversas espécies animais. Estudos em animais associados à privação de níquel com perda no crescimento reduziu as taxas de reprodução, produziu alterações de glicose e lipídios no soro. Embora havendo substancial evidência do status de essencial para o níquel em animais, para o homem não está claramente definida (BARCELOUX, 1999).

O níquel forma sais solúveis, tais como cloretos, nitratos e sulfatos, enquanto o níquel metálico, sulfetos e óxidos de níquel são pobremente solúveis (BARCELOUX, 1999).

2.2.9.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

Em locais de trabalho, a inalação é a via de maior importância toxicológica, seguida da exposição dérmica, sendo que 35% do níquel inalado é absorvido pelo trato respiratório (BARCELOUX, 1999). A deposição, absorção e eliminação dependem do tamanho e concentração da partícula de níquel no trato respiratório. Partículas maiores do que 30 µm são inaláveis. Partículas menores que 10 µm podem ser depositadas no trato respiratório inferior. A absorção dérmica depende da taxa de penetração da epiderme, que varia com as diferentes espécies químicas do níquel. Administrados parenteralmente em animais é rapidamente distribuído para os rins, pituitária, pulmão, pele, adrenais, ovários e testículos (NIELSEN et al., 1993).

Níveis de níquel no feto são similares aos do adulto, sugerindo que esse metal atravessa a placenta. A concentração média no leite de mães lactantes excede os níveis de níquel no soro dessas mães. O nível de leite obtido em uma semana pós-parto foi de $17 \pm 2 \mu\text{g Ni/kg}$ e o consumo pela criança é de $5\text{-}15 \mu\text{g/dia}$ (BARCELOUX, 1999).

2.2.9.2. Toxicidade

Em geral, a toxicidade do níquel é expressa pela exposição em ambiente de trabalho, em locais de niquelagem. Sua expressão clínica é conhecida por sua ampla diversidade, do clássico eczema de contato à rinite, incluindo alergia relacionada ao trabalho, e pela hipertermia secundária para válvula metálica do coração (HASSOUN et al., 1999).

As muitas formas químicas do níquel diferem em propriedades físico-químicas e efeitos biológicos. A avaliação da saúde para cada categoria principal de espécies de níquel é necessária (OLLER, 2002).

Evidências epidemiológicas indicam uma associação entre exposições por inalação em refinarias contendo pó de níquel e compostos de níquel solúvel e o risco aumentado de cânceres respiratórios (OLLER, 2002).

Para diversos animais, o níquel é um elemento essencial e nestes, o níquel está envolvido no metabolismo lipídico, particularmente, do lipídio contido nos tecidos e síntese de fosfolipídios. Em experimentos com ratos, observou-se que a deficiência de níquel na alimentação aumenta a mortalidade perinatal, bem como ocorrem alterações de comportamento e desenvolvimento do fígado. Em humanos, este fato não foi observado (BARCELOUX, 1999).

2.2.9.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

Quase todos os casos de intoxicação aguda pelo níquel, resulta de exposição por níquel carbonila ($\text{Ni}[\text{CO}]_4$) sendo a principal manifestação a dispnéia. Pacientes com envenenamento grave desenvolvem intensa toxicidade pulmonar e gastrintestinal. Pneumonite intersticial difusa e edema cerebral são a principal causa de óbito (OLLER 2002; CASARETT, 2001; BARCELOUX, 1999). Outros sinais são a hipertermia, tosse, tontura, mal-estar generalizado, vômitos, náuseas, pulso rápido e colapso.

2.2.9.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

Efeito crônico direto por inalação inclui asma, rinite hipertrófica crônica e sinusite, polipose nasal e perfuração do septo nasal. Via de regra é ocupacional, principalmente por sulfato de níquel (BARCELOUX, 1999).

Hassoun e colaboradores (1999) relatam o clássico eczema de contato a rinite, incluindo alergia relacionada ao trabalho. Sugere inclusive que alguns tipos de rinite ou de rinossinusite ocorrem também por ingestão de níquel, observados em uma criança de 11 anos e um paciente de 59 anos.

Kanerva e colaboradores (1999) relatam sintomas semelhantes à rosácea, com intenso prurido em um assistente de laboratório metalúrgico, com exposição de poeira de níquel. Efetivado o teste, ficou comprovada a alergia ao níquel. Igualmente, Mattila e colaboradores (2001) determinaram casos de alergia por este elemento, demonstrada em estudantes (ambos os sexos) de uma universidade. Verificou a ocorrência de dermatite atópica e eczema de mão.

Silverberg e colaboradores (2002), estudando crianças com hipersensibilidade de contato, observaram um grupo de 30 pacientes pediátricos com história de dermatite umbilical ou de pulso, ou história familiar de dermatite alérgica por níquel. Todos

apresentaram reação positiva para alergia a sulfato de níquel a 5%. A Figura 16 mostra uma dermatite umbilical.

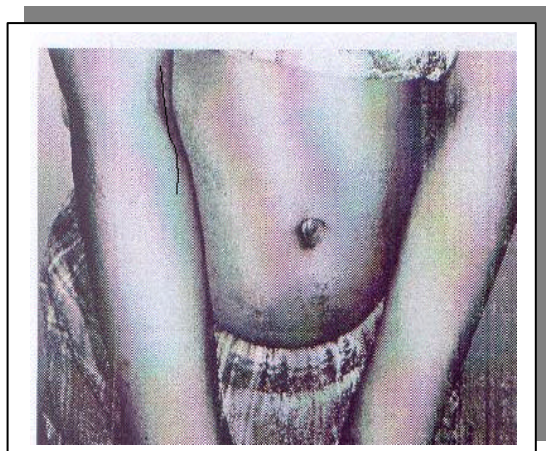


Figura 16. Dermatite umbilical em uma menina de 7 anos.

Fonte: SILVERBERG et al., 2002.

A prevalência de alergia e a associação com piercing de orelha, observados principalmente em meninas de 12 a 16 anos, na Dinamarca, mostrou-se relevante (MORTZ et al. 2002).

A avaliação de carcinogenicidade por compostos de níquel solúvel em água é particularmente difícil. Evidências epidemiológicas indicam uma associação entre exposição por inalação de poeira de refino de níquel contendo composto de níquel solúvel, e aumentando, assim, o risco de câncer respiratório, contudo, inconsistente pela variedade de contaminantes envolvidos (OLLER, 2002).

IARC, 1990, considera o níquel e compostos de níquel como carcinogênicos do trato respiratório (nasal e pulmonar), em humanos.

2.2.10. TÁLIO

O tálio foi descoberto, acidentalmente, em 1861 por Sir William Crookes e por Lamy, através de técnicas espectroscópicas, quando procurava telúrio, nos resíduos de algumas plantas, quando então encontrou, no espectro dos ácidos retirados, uma risca

verde, o que o fez pensar na hipótese de um novo elemento. Tálíio deriva da palavra latina *thallus*, que significa rebento. Neste mesmo ano, isolou o elemento e o expôs num encontro internacional, em Londres, em 1862 (GALVÁN-ARZATE e SANTAMARÍA, 1998; LÉONARD e GERBER, 1997).

Os sais de tálíio são usados em alguns venenos para roedores, na manufaturaçãoo de lentes ópticas, semicondutores, contadores de cintilação, termômetros de baixa temperatura, corante verde para fogos de artifício, imitação de jóias, etc. Na prática clínica, isótopo de tálíio (Tl-201) é utilizado na cintilografia de perfusão do miocárdio, como um método não invasivo (MOORE et al., 1993).

Até próximo do século XX, os sais de tálíio foram largamente usados para tratamento de sífilis (desde 1883), para reduzir suores noturnos em pacientes tuberculosos (desde 1898) e como depilatório (desde 1897). É extremamente tóxico e por isso foi utilizado com finalidades homicidas no princípio do século (LÉONARD e GERBER, 1997).

2.2.10.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

O tálíio é absorvido através da pele e do trato gastrintestinal. Concentra-se em maior proporção nos rins e grandes quantidades são excretadas na urina. Sofre recirculaçãoo entero-hepática, por sua secreção biliar. Armazena-se na zona da germinação dos folículos pilosos e apresenta eleição especial pelo SNC e simpático (CASARETT, 2001; BRITO, 1988).

O seu mecanismo de ação tóxica é bem conhecido. Interfere com o processo vital dependente de potássio na enzima (Na⁺/K⁺)-ATPase, por sua alta afinidade pelo grupamento sulfidríila (SH) das proteínas e outras biomoléculas. Provoca inibição da respiração celular, interação com riboflavina e com co-fatores base-riboflavina e disrupçãoo na homeostase do cálcio (MULKLEY e OHEME, 1993). Tálíio e potássio são univalentes, sendo assim, o tálíio é capaz de interferir no processo dependente do potássio, imitando-o no seu movimento, acumulando-se no tecido de mamíferos, uma vez que as membranas celulares são incapazes de os distinguir (GALVÁN-ARZATE e SANTAMARÍA, 1998).

2.2.10.2. Toxicidade

O envenenamento por tálio é um dos mais complexos e graves conhecidos pelo homem. Quando absorvido pela mucosa do trato digestivo, os sintomas clínicos poderão aparecer entre 12 e 24 horas após a ingestão (CASARETT, 2001; BRITO, 1988).

Sua sintomatologia é usualmente inespecífica, devido ao envolvimento de vários órgãos, os quais incluem febre, problemas gastrointestinais, delírio, convulsões e coma, que podem aparecer rapidamente, porém, comumente a intoxicação aguda diminui para dar lugar a um desenvolvimento gradual de distúrbios gastrointestinais, polineurites, encefalopatia, taquicardia, erupções da pele, estomatite, alterações atróficas da pele, unhas e parestesia, principalmente na sola dos pés e tíbia. Alterações degenerativas do coração, fígado e rins, hemorragia subaracnóide, depressão da medula óssea, desenvolvimento de comportamento psicótico com alucinações e demência também são relatados. Em humanos, o sinal mais característico é a alopecia, que aparece geralmente após 15 a 20 dias (SADDIQUE e PETERSEN, 1983).

Alopécia aguda pode ser um indício de toxicidade aguda pelo tálio, onde a perda completa dos cabelos pode ocorrer em um mês.

2.2.10.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

A Figura 17 mostra alopecia provocada pela intoxicação por tálio, sinal característico para este metal. A alopecia aguda pode ser um indício de toxicidade aguda pelo tálio, onde a perda completa dos cabelos pode ocorrer em um mês (FELDMAN e LEVISOHN, 1993). Em ratos, a perda de pelos é completa e as fêmeas são muito mais sensíveis a este veneno (BRITO, 1988), sendo a dose letal em humanos, estimada de 8 a 12 mg/kg (CASARETT, 2001).

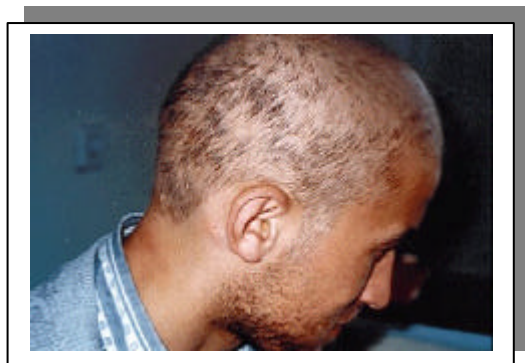


Figura 17. Alopecia provocada pela intoxicação por tálio.

Fonte: ALOPÉCIA, 2003.

Os efeitos tóxicos agudos do tálio para o sistema cardiovascular, provavelmente resultam da competição com o potássio pelo sistema de transporte da membrana, inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial e disrupção da síntese protéica. Altera, também, o metabolismo heme (CASARETT, 2001).

O tálio apresenta propriedades teratogênicas especialmente sobre a cartilagem e formação do osso, embora mais notável em pintainhos que em mamíferos. Mulheres grávidas não devem ser expostas a doses de tálio que possam produzir sintomas tóxicos (LÉONARD e GERBER, 1997).

2.2.10.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

Literatura sobre os efeitos mutagênicos e carcinogênicos promovidos pelo tálio são escassos e mesmo quando existem, podem, em todo o caso, serem mascarados pela alta toxicidade do referido metal (LÉONARD e GERBER, 1997).

A alta concentração de tálio nos rins, demonstrado em ratos albinos, através de exames bioquímicos e histopatológicos é indicativa da nefrotoxicidade desse elemento (LEUNG e OIO, 2000).

Estudo em ratos albino machos, através de determinação bioquímica, dose dependente, mostrou alterações de níveis séricos de aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, aumentados 16 horas da injeção ip em várias doses. E os níveis de creatinina elevados após 4 dias da administração. O tálio foi encontrado distribuído por vários tecidos, porém em maior concentração nos rins, seguido do íleo, estômago e fígado. Histologicamente foi demonstrada a ocorrência de necrose e vacuolização hepatocítica e alterações patológicas de túbulos renais (LEUNG e OIO, 2000).

2.2.11. ZINCO

O zinco foi descoberto por Andreas Marggraf, em 1500, na Alemanha. A origem da palavra é alemã, *Zink*. É um elemento ubíquo, que é essencial para a função normal de muitas vias metabólicas. Porém, o fato de ser essencial, não o isenta de que determinados sais possam prejudicar a vida e até levar um indivíduo à morte (HEIN, 2003).

2.2.11.1. Toxicocinética e Toxicodinâmica

O zinco é essencial para muitas funções metabólicas e enzimáticas para o homem, sendo importante na função de mais de 100 enzimas do organismo, como por exemplo na síntese de proteínas, DNA, RNA e a divisão celular (PRASAD, 1983).

O zinco é uma espécie atômica pequena e se comporta quimicamente como um ácido de Lewis, o que determina sua passagem pelas membranas biológicas tanto por difusão passiva quanto por transporte ativo. É transferido do lúmen intestinal para a circulação sanguínea através de um processo paracelular e transporte mediado por carreadores. Dentro da célula da mucosa, o zinco é regulado por proteínas que se ligam a metais como as metalotioneínas, que por sua vez, inibem a absorção do zinco (HENRIQUES et al., 2003).

Sua deficiência, atualmente, é bem reconhecida e ocorre somente como resultado de fatores nutricionais, e também em algumas doenças, tais como síndrome da malabsorção, doença de Crohn, alcoolismo, e cirrose hepática (PRASAD, 1983).

O zinco é o microelemento intracelular mais abundante encontrado em todos os tecidos corpóreos, porém 85% do seu total está concentrado nos músculos e ossos (KING et al., 2000). O zinco também é acumulado no pâncreas, o qual induzirá a produção de metalotioneína, que por sua vez reduzirá a toxicidade de outros metais, tais como Cd, Cu e Hg (ONOSAKA et al., 2002).

2.2.11.2. Toxicidade

Embora o elemento não seja considerado tóxico, a ingestão de certos sais de zinco, provocam náuseas e diarreia. Sua inalação pode provocar lesões nos pulmões e, de um modo geral, em todo o sistema respiratório.

O fosfeto de zinco (Zn_3P_2), desde 1919, tem sido usado como rodenticida na concentração de 1% ou mais. No Egito, era realizada manualmente a fusão de zinco e fósforo em recipiente aberto, até 1983 (AMR et al., 1997). Esta exposição ocupacional resultou em danos tais como degeneração gordurosa e necrose hepática, respiratória e hematológica. Também, há relatos de complicações renais e do sistema nervoso central. (AMR et al., 1984; El SAMRA et al., 1984; STEPHENSON, 1967).

2.2.11.2.1. Toxicidade aguda ou em curto prazo

A morte resulta de exposição aguda a compostos de zinco. O exemplo de ocorrência de exposição a altas concentrações (cerca de 33.000 mg/m³) de fumos de cloreto de zinco, na segunda guerra mundial, provocado pela explosão de alguns geradores, resultou na morte de 70 pessoas (ATSDR, 1994).

A toxicidade aguda do zinco é caracterizada por ansiedade, vertigens e mal-estar gástrico. Pode ocorrer, também, doença e inflamação pulmonar, principalmente se a exposição for via pulmonar (cloreto de zinco), e alterações no sistema hematológico, o que foi observado quando testado em três espécies de ratos expostos em ambientes com matéria particulada (KODAVANTI et al., 2002). Foi observado o quadro de pancreatite aguda quando da injeção de grande dose de zinco (ONOSAKA et al., 2002).

Alta concentração de zinco foi determinada em um soldador que cortava cano de placa de zinco, em ambiente mal ventilado. Os sinais para esta intoxicação foram de manifestações de síndrome psico-orgânica com tendência a reações pseudoneuróticas (ANDRZEJAK et al., 1992).

Estudos com peixes apresentaram uma concentração letal (CL-50) de 60 mg·L⁻¹ de água, para uma exposição de 24 horas (ZYADAH e ABDEL-BAKY, 2000).

2.2.11.2.2. Toxicidade crônica ou em longo prazo

O zinco é um elemento essencial para as diversas funções orgânicas como já citado, porém alguns compostos são tóxicos para o homem e podem determinar a intoxicação ao longo de um período.

A exposição dos sais que apresentam toxicidade para o homem, como por exemplo, o fosfeto de zinco, pode reagir em proporções consideráveis por longos períodos. A aplicação de rodenticida no campo, por equipamento inadequado, pode resultar em contaminação ao homem por inalação e ingestão. Assim, pode ocorrer estimulação psicomotora, alucinações e confusão mental (AMR et al., 1997).

Os sinais da intoxicação crônica pelo zinco incluem náuseas, vômitos, retardo do crescimento, função do ferro alterada, anemia, diminuição do cobre, redução da função imune, redução de HDL (lipoproteína de alta densidade) e aumento de LDL (lipoproteína de baixa densidade). Pode apresentar, ainda, danos no coração, dor retroesternal, palpitações e dispnéia (AMR et al., 1997).

2.3. INTERAÇÃO OU COMPETIÇÃO ENTRE OS METAIS

A presença traço de variados metais pode resultar, entre si, numa interação que tanto pode ser um benefício ou agravamento de toxicidade, quando este é exposto ao organismo tanto humano, animal ou vegetal.

Peraza e colaboradores (1998) separaram os efeitos dos micronutrientes sobre os metais tóxicos em três classes: interação de micronutrientes sobre o metabolismo durante a captação, ligação e excreção; influência de micronutrientes sobre o efeito tóxico de metais secundários.

A capacidade dos micronutrientes em modular a toxicidade dos metais é incontestável. Estes interagem com o metais tóxicos em diversos pontos no organismo: absorção e excreção de metais tóxicos, transporte, ligação com proteínas alvo, metabolismo e seqüestro de metais tóxicos. Além disso, alimentos deficientes de micronutrientes predisporão o indivíduo à toxicidade de metais não essenciais (PERAZA et al., 1998).

É de relevância o efeito protetor do zinco, para a integridade da membrana celular, protegendo o organismo celular contra a presença dos radicais livres. Também, compete com o cádmio, chumbo, cobre, ferro e cálcio por um sítio de ligação similar. Assim, a presença de zinco, no que se refere aos metais pesados, tem importância fundamental na tentativa de evitar uma intoxicação, pois reduz os efeitos tóxicos, por exemplo, de chumbo e cádmio, no homem (PRASAD, 1983).

A interação entre zinco e cádmio, quando testada, mostrou que o zinco, numa concentração 5 a 10 vezes maior, restaura os efeitos inibitórios produzidos pelo cádmio sobre a síntese e correção do DNA, mesmo parcialmente, e repara a capacidade celular e sua sobrevivência (NOCENTINI, 1987).

A interação de zinco e outros metais, tais como chumbo, mercúrio (II), cádmio e prata (II) sobre a atividade do ácido delta-aminolevulínico desidratase de eritrócitos, investigada *in vitro*, demonstra que o zinco elimina a inibição produzida pelo chumbo, dose

dependente. Entretanto, os efeitos de inibição produzidos pelo mercúrio (II), cádmio e prata (II) não foram removidos pela adição, *in vitro*, de zinco (TOMOKUNI, 1979).

A presença de zinco em doses crônicas impede a recuperação de uma anemia e severa nefrose por induzir a deficiência de cobre, visto que este mineral, por competição com o zinco não é absorvido (HEIN, 2003).

O cádmio interage com elementos essenciais, tais como zinco, cobre, ferro e cálcio. Particularmente, interagem com o metabolismo do cálcio e vitamina D, nos ossos, rins e intestino, resultando em desordem no metabolismo ósseo. Na lactação, esta interação é especialmente danosa. A absorção do cálcio é reduzida pela competição com o cádmio no intestino e mais, o cálcio é liberado do osso da mãe e transferido para o neonato pela lactação. Devido a esta interação, o cádmio causa uma diminuição acentuada na densidade óssea quando comparada à diminuição normal na densidade mineral durante a lactação (OTHA et al., 2002).

O tálio e potássio têm a mesma carga. O tálio segue a mesma via de distribuição do potássio e altera o número e processo dependente do potássio. Isto explicaria a toxicidade do tálio por sua ligação com os grupos sulfidrilas, inibição de respiração celular, interação com riboflavinas e co-fatores baseados na riboflavias e disfunção da homeostasia do cálcio (MULKEY e OEHME, 1993).

A ingestão oral de metais como metilmercúrio, cádmio e chumbo perturbam o metabolismo de elementos essenciais, especialmente o zinco, cobre, ferro e selênio. A composição elementar dos tecidos e fluidos corpóreos é um indicador do estado de nutrição e patológico dos seres humanos. A taxa total destes metais essenciais, devido à interação com aqueles metais pesados apresentar-se-á alterada. Aumento de cobre nos rins e perda urinária pode ser um denominador comum na manifestação de toxicidade renal induzida por metais pesados (ABDULLA e CHMIELNICKA, 1989-1990).

Estudos em adultos mostraram que alta captação de cálcio pode afetar negativamente a utilização de magnésio, podendo, portanto, resultar em danos resultantes da hipercalcemia (ANDON et al., 1996).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1. Amostras de própolis

As amostras de própolis, na forma de extratos ou *in natura*, foram adquiridas mediante compra em farmácia ou de produtores, ou por doação conforme está especificado na descrição de cada amostra. Os produtores foram informados quanto à finalidade da aquisição ou doação. As amostras foram numeradas de 1 a 23, independente de serem extratos ou *in natura*.

Foram compradas da Farmácia Véritas, fundação da Universidade do Sagrado Coração, em Bauru, SP, com a finalidade de testar a metodologia de mineralização, as amostras (de prateleira) infra descritas (amostras de 1 a 5):

?? própolis “Nese Draper”, em solução aquosa, segundo rótulo 40mg·mL⁻¹, da **Veromed**, em frasco de vidro âmbar com capacidade para 20 mL e tampa plástica branca, de pressão e conta-gotas de vidro e borracha amarela, com lacre. Localização do apiário: Rua 15 de novembro, 112, Pelotas/RS. (Amostra 1).

?? extrato de própolis, em solução alcoólica, da **Supermel**, em frasco de vidro âmbar, com tampa rosqueável, com capacidade para 30 mL, lacrado. Não consta a concentração. Localização do apiário: Rua Pioneiro José Jacinto Maia, 68, bairro Jd Copacabana, 68, Maringá/PR. (Amostra 2).

?? extrato de própolis, em solução alcoólica, à 12%, da **Visserex**, em frasco de vidro âmbar e tampa plástica branca, de pressão, com capacidade para 30 mL, lacrado. Localização do apiário: Rodovia SSP 226, km 6, Distrito Industrial, Paquera Açu/SP. (Amostra 3).

?? extrato de própolis, em solução alcóolica, a 30%, da **Herbarium**, em frasco de vidro âmbar e tampa plástica branca, de pressão, com capacidade para 30 mL, lacrado. Localização do apiário: Avenida Santos Dumont 1171, Colombo/PR. (Amostra 4).

?? extrato de própolis, em solução alcoólica a 11%, da **Apis Flora**, em frasco de vidro âmbar, com tampa plástica branca, de pressão, com capacidade para 30 mL, lacrado. Localização do apiário: Rua Triunfo, 945, Ribeirão Preto. (Amostra 5).

Na seqüência, foram adquiridas de produtores as demais amostras, como segue:

?? comprada do **Esquadrão da Vida/Bauru/SP** (EV), 210 mL, divididos em sete frascos âmbar e tampa rosqueável branca, identificados por nós, mediante informação obtida *in loco*, com capacidade para 30 mL, sem rótulo, onde em conversa com o químico, obteve-se a informação de que, para obtenção daqueles extratos, partiu-se de 40% em álcool de cereais. Igualmente foram preparadas duas amostras, retiradas aleatoriamente de dois frascos (amostras 6 e 7).

?? comprada da **Supermel/Maringá/PR**, 400 mL de tintura de própolis, que estava acondicionado em um frasco de plástico, com tampa verde rosqueável, envolta com fita adesiva incolor, com capacidade para 1 litro, segundo rótulo, na concentração de 30%. (amostras 8 e 9).

?? doação do **Esquadrão da Vida/Bauru/SP**, própolis *in natura*, sólido, pesando 200g (duzentos gramas), que inicialmente, *in loco*, encontrava-se em uma caixa de madeira, forrada com plástico. A própolis, na oportunidade, fora envolta em um saco de papel celofane (Amostras 10 e 11).

?? doação da **Apis Flora** dois frascos de vidro âmbar, com capacidade para 250 mL cada, fechados com tampa branca, rosqueável, lacrado, contendo extrato de própolis na concentração de 11%, localizada na Rua Triunfo, 945, Ribeirão Preto/SP (Amostras 12 e 13).

?? doação da **Brasil Própolis**, quatro frascos de vidro âmbar, com tampa branca rosqueável, lacrado, com capacidade para 30 mL, contendo extrato de própolis a

40% segundo consta do rótulo, localizado na Rodovia Anhanguera, km 252, Santa Rita/SP (Amostras 14 e 15).

?? doação da **Brasil Própolis**, em saco plástico transparente, fechado por um nó, 100 g de própolis *in natura* (amostras 16 e 17).

?? comprada da **CAPEL** – Cooperativa de Apicultores de Pernambuco, um frasco de polietileno, com tampa do mesmo material, rosqueável, com 50 mL de extrato de própolis (não constava concentração), localizado na Av. Caxangá, 2200, Recife/PE, (amostras 18 e 19).

?? doação um frasco de polietileno, transparente, próprio da **Apiário Wenzel** com tampa plástica branca, lacrado, contendo 200 mL de extrato hidroalcoólico de própolis, da Wenzel em Picus/Piauí. (não consta a concentração), (amostras 20 e 21).

?? doação **Wenzel/Piauí**, 100 gramas de própolis *in natura*, em saco de plástico transparente (amostras 22 e 23).

As amostras foram enumeradas de 1 a 23, pelo processo randômico, independentemente da forma de apresentação e da quantidade contida em cada frasco ou pacote. De cada amostras foram retiradas duas alíquotas para análises dos metais. As amostras em frasco único ou a própolis *in natura* que foi recebida em uma única embalagem, foram retiradas duas alíquotas e submetidas aos procedimentos de mineralização e determinação dos metais. Amostras em frascos separados, foram retiradas, aleatoriamente 2 frascos, identificadas e igualmente submetidas à mineralização.

3.1.2. Equipamentos e materiais

Para a realização das determinações dos metais foram utilizados:

?? Forno Microondas DGT-100, Provecto, Brasil, para mineralização das amostras, anexo 6;

- ?? Balança analítica marte, com certificado de aferição da InMetro n° 0985033-4, validada até 2002, com precisão de 0,01g utilizada para a pesagem das amostras;
- ?? Espectrofotômetro de absorção atômica GBC AA 932 (EAA-chama), anexo 7;
- ?? Espectrofotômetro de absorção atômica com forno de grafite AA-220Z, Varian, Austrália (EAA-forno de grafite), anexo 8;
- ?? Gerador de Hidreto GBC HG 3000;
- ?? Sistema de ultrapurificação de água Millipore Simplicity®, modelo 185;
- ?? Um jogo de tubos ou plataforma de grafite pirolítico, Varian;
- ?? Lâmpadas de cátodo oco (LCO) de cádmio, cálcio, chumbo, cobre, crômio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, tálio e zinco;
- ?? Frasco de reação oxtaflon®;
- ?? Filtro Whatman 40;
- ?? Tubo de polietileno de alta densidade, fundo chato;
- ?? Tubo eppendorf 2mL;
- ?? Pipetas automáticas Gilson (p20, p100 e p.1000 μ L);
- ?? Funil de polipropileno (HD), Nalgene, 7,5 cm de diâmetro.

3.1.3. Soluções padrão e reagentes

- ?? Solução estoque de metais (padrões) 1000 μ g-L⁻¹, certificados Carlo Erba e Merck.

?? Os gases, obtidos da AGA, em condições de ultrapuro e para utilização em absorção atômica foram o argônio (UP), acetileno (A/A) e nitrogênio (UP).

?? triton X-100 da Merck, foi utilizado como agente estabilizador.

?? Boro hidreto de sódio p.a., Merck, utilizado na determinação de mercúrio.

?? ácido nítrico p.a.r (Merck), foi utilizado para o processo de mineralização e preparo de branco e lavagem para descontaminação dos materiais utilizados.

?? Extran® utilizado para lavagem do material.

?? Foi também utilizado modificador de matriz (NH_4NO_3) com a finalidade de permanência do analito durante a secagem e calcinação, liberando-o apenas na fase de atomização.

?? Água mili-Q e deionizada.

?? Os padrões dos metais analisados foram preparados a partir da solução estoque de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, certificados da Carlo Erba e Merck, e desta procedeu-se diluições em água mili-Q em alíquotas apropriadas, conforme Tabelas 2 e 3, página 79.

3.2. Preparação dos padrões e amostras

A curva analítica de cada elemento foi obtida com as concentrações expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, excetuando-se o mercúrio, que foi em $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Para determinação em espectrofotometria de absorção atômica em chama e em forno de grafite, os padrões foram igualmente certificados Carlo Erba e Merck. Os padrões dos metais foram preparados a partir da solução estoque de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, e desta procedeu-se diluições com água mili-Q em alíquotas apropriadas, expressos conforme Tabela 2 e 3, página 79.

3.2.1. Descontaminação dos materiais

3.2.1.1. Materiais empregados na preparação das amostras

Os materiais utilizados (vidrarias) no procedimento de mineralização das amostras passaram pelo processo de lavagem para eliminar quaisquer presenças de metais contaminantes e que pudessem interferir nos resultados. Os materiais foram lavados com detergente Extran® e mantido por 18 horas em solução de ácido nítrico a 10%, após o que foi enxaguado em abundância em água destilada e em sequência, passado por triplice lavagem em água deionizada.

3.2.1.2. Descontaminação dos frascos do forno de microondas

A descontaminação dos frascos para mineralização foi realizada com ácido nítrico 65% e água deionizada (1:1), submetidos ao forno de microondas, utilizando o programa recomendado pelo fabricante: 5 minutos a 250W (etapa 1), 2 minutos a 500W (etapa 2), 4 minutos a 800W (etapa 3) e 4 minutos a 000W, com duração total de 15 minutos. Após o qual, procedeu-se triplice lavagem com água destilada e deionizada e secagem.

3.2.2. Procedimento de mineralização das amostras de própolis

Para otimização do procedimento de mineralização de amostras de própolis foram empregados dois métodos descritos da literatura para amostras biológicas.

3.2.2.1. Método de Fresenius e Babo

Este método baseia-se na ação oxidante do cloro, produzido pelo ácido clorídrico sobre o clorato de potássio.



O procedimento inicial com amostras aleatórias de própolis na forma de extratos hidroalcoólicos, adquiridas em farmácia local (Bauru/SP), a fim de verificar a possibilidade de uma metodologia de mineralização, considerando que o trabalho ocorreria com amostras hidroalcoólicas.

Foi, então, tomada uma alíquota de 5,0 mL do extrato hidroalcoólico acrescido de 4,0mL de ácido clorídrico (65%) e 1 ml de ácido perclórico e ao mesmo tempo, foi preparado um branco com iguais quantidades utilizadas na preparação das amostras, com água deionizada. Em outra amostra foi apenas utilizado o ácido clorídrico. Todos os preparados foram colocados em tubos de pyrex e levados ao aquecimento no bloco de mineralização.

3.2.2.2. Mineralização das amostras de própolis empregando forno microondas

Os procedimentos que seguem foram executados com apoio financeiro do Laboratório do Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX) da UNESP, Rubião Jr, Botucatu-SP, com a colaboração do Dr. Alaor Aparecido Almeida.

?? Método A.

Num estudo inicial, tentou-se a mineralização de 5 amostras, sendo 4 de extratos hidroalcoólicos e uma solução aquosa, enumeradas de 1 a 5 de diferentes laboratórios, adquiridas da Farmácia Véritas/USC, Bauru, SP, com 4,0 gramas de cada extrato adicionados 4,0 mL de ácido nítrico (65%) em frasco de reação oxtaflon®.

?? Método B. Método otimizado para mineralização das amostras de própolis

Para o preparo das amostras de própolis empregou-se a quantidade em gramas descritos na Tabela 1, página 77, conforme sua forma de apresentação (se extratos hidroalcoólicos ou *in natura*), diretamente nos frascos de reação, devidamente descontaminados, conforme descrição no item 3.2.1.2, acrescentado 4,0 mL de ácido nítrico p.a.r., acondicionados, individualmente nos suportes de mineralização, devidamente fechados, ajustados e travados. Estes frascos foram levados ao forno de microondas e submetidos, por 5 minutos, a 250W (etapa 1); 2 minutos a 500W (etapa 2); 4 minutos a 800W (etapa 3) e finalmente ajustados para 000W por 4 minutos. As amostras mineralizadas foram transferidas para frascos de polietileno, com enxágües de 3 mL de água mili-Q e o volume completado para 10 mL com água deionizada.

3.2.3. Análise quantitativa dos metais em amostras de própolis

Para validação da matriz própolis, foram realizados gráficos com os respectivos padrões certificados Carlo Erba e Merck nos níveis conforme constam nas Tabelas 2 e 3, páginas 79, observando-se a linearidade de resposta ($r > 0,98$). As amostras foram pesadas

em balança certificada pelo InMetro (2002), recuperação com 94% que corresponde o valor acrescentado do padrão e valor determinado pelo equipamento, após a mineralização. Procedeu-se à determinação da incerteza tipo A, análises de repetitividade e determinação de Coeficiente de Variação <2% (CV). Teste de interferência ou de efeito matriz sobre a curva de calibração.

O método para análise quantitativa dos metais em amostras de própolis foi validado segundo os parâmetros de linearidade, recuperação, precisão e exatidão, e interferentes.

A linearidade avalia a faixa de concentração do analito que produz linearmente uma resposta do detector, observada com a construção dos gráficos de calibração nas concentrações descritas nas Tabelas 2 e 3, página 79.

A recuperação avalia a eficiência do procedimento de preparação da amostra. Para este procedimento, as quantidades das amostras foram àquelas utilizadas na otimização para mineralização, constante da Tabela 1, página 77, e fortificada com cada analito na concentração menor (Tabela 2 e 3, página 79) utilizada para o gráfico de calibração.

Os estudos de precisão e exatidão avaliam quão eficientes é a determinação em ensaios repetitivos. A precisão expressa a concordância entre os vários valores experimentais obtidos. A exatidão traduz a concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro.

Interferentes avaliam a presença de componentes inerentes à matriz que possam interferir na análise. Devido inexistência de matriz própolis isenta de metais, os experimentos foram executados com brancos.

Os limites de detecção em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, para chama e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para forno de grafite foram estabelecidos pelos fabricantes dos equipamentos e confirmados e estão descritos na Quadro 2, página 80.

Para a escolha do equipamento foi considerada a sensibilidade de detecção do equipamento relacionado a cada metal e que são informados pelo fabricante e testados pelo laboratório para análise dos diferentes metais. As mesmas condições de temperatura e operador, durante todo o experimento foram mantidas. Os comprimentos de onda para

detecção dos metais foram compatibilizados para cada elemento. Assim, conhecendo-se estes parâmetros os metais foram submetidos às análises conforme segue nos itens 3.2.3.1 e 3.2.3.2

3.2.3.1. Espectrofotômetro de absorção atômica em chama

Todas as amostras, independente da sensibilidade do aparelho foram submetidas a análises neste equipamento.

As concentrações dos metais foram determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica GBC AA 932 (EAA-Chama). O equipamento foi calibrado empregando-se uma solução do padrão cobre na concentração de $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, conforme recomendação do fabricante.

Na ausência de matriz própolis sem metais, foram preparados dois brancos contendo as mesmas concentrações de ácido nítrico 65%, o mesmo utilizado no preparo das amostras e que foram utilizados em todo o procedimento analítico para cada amostra submetida à análise. Os padrões de cada metal foram preparados conforme consta na Tabela 1, página 77. Todas as amostras foram analisadas em triplicatas.

As amostras, cujos metais não foram detectados EAA-Chama, ou apresentaram-se em concentrações muito baixas, foram reanalisadas em EAA-FG, levando-se em consideração a maior sensibilidade deste equipamento, mostrada na Quadro 2, página.80.

3.2.3.2. Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite

A técnica de espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite foi empregada para determinação das concentrações de cádmio, chumbo, crômio e tálio.

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro de absorção atômica com forno de grafite (AA-220Z, Varian, Austrália), com injetor automático e correção de ruído por efeito Zeeman. Para todas as determinações foram utilizadas a metodologia de adição do analito para obtenção da curva analítica, a fim de minimizar o efeito matriz.

Os padrões foram preparados conforme constam na Tabela 2, página 79. Procedeu-se o desenvolvimento do método através da calibração do aparelho, inicialmente testado com o branco preparado de forma similar ao branco para o EAA-chama, depois branco com matriz, seguido dos padrões de cada elemento para construção da curva de calibração.

Neste equipamento, as amostras, os padrões e branco, injetados automaticamente, foram inicialmente desidratados, levados à calcinação a 400 °C, e posteriormente atomizadas a 2100 °C. Após a leitura do branco, foram feitas as leituras dos padrões e amostras, em triplicata.

3.2.3.3. Espectrofotometria de absorção atômica com vapor frio

A determinação de mercúrio nas amostras de própolis tanto na forma de extratos hidroalcoólicos como *in natura* foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica usando a técnica de geração de vapor frio (EAA-VF).

As condições da operação foram: corrente de lâmpada de cátodo de 7 mA; λ 253,7 nm; fenda 0,5 nm e o nitrogênio ultra puro. A análise foi efetuada em 3 replicatas. A introdução das amostras no equipamento foi manual e sempre pelo mesmo operador.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os procedimentos para determinação de metais em matrizes vegetais, alimentares, biológicas e extratos aquosos decorrem de prévio tratamento onde a matéria orgânica deve ser previamente destruída. Este procedimento de preparação da amostra para análise de metais é denominado de mineralização.

Silvester e colaboradores (1999) realizaram a mineralização em forno de microondas em leite materno para detectar e quantificar cobre, ferro e zinco. Para tanto, utilizaram-se de ácido nítrico e peróxido de hidrogênio e obtiveram o mineralizado. Os autores concluíram como sendo um método rápido e simples, além de vantajoso, devido ao pequeno volume da amostra necessário para as análises realizadas em EAA-chama.

Wieteska e colaboradores (1996) realizaram a mineralização em amostras de vegetais e posterior determinação de metais traços empregando espectrofotometria de absorção atômica. Segundo os autores o método de isolamento quantitativo é rápido e fácil de ser executado. Para a mineralização, em forno de microondas, os autores utilizaram os reagentes ácido nítrico, perclórico, clorídrico, e o fluórico objetivando a dissolução e quantificação de vários metais.

Para extratos não alcoólicos, inclusive em amostras de ervas medicinais existem várias pesquisas descrevem métodos de determinação de metais, os quais são similares aos acima exemplificados (WIETESKA et al., 1996; CAMPOS, 1996).

A primeira etapa para se determinar a presença de metais em material biológico consiste em promover a mineralização da matéria orgânica, uma vez que os metais se ligam às sulfidrilas (SH) das proteínas e a mineralização tem a finalidade de liberar o metal a ser analisado.

4.1. Otimização do procedimento de preparação das amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis e própolis *in natura* (mineralização)

Para a realização experimental, a deficiência de informações sobre mineralização de extratos hidroalcoólicos de própolis dificultou este procedimento, visto que não se possuía, naquela oportunidade, acesso ao equipamento (forno de microondas) necessário para tal.

O extrato hidroalcoólico de própolis resulta não só na presença de álcool como também de uma mistura complexa de substâncias e componentes químicos (resinas, bálsamos, ceras, óleos voláteis, pólen, ácido benzóico, álcool, ácido cinâmico, benzaldeído, compostos terpênicos, ácido salicílico e flavonóides em maior concentração), e para esta matriz, não foram encontrados na literatura um método de mineralização.

Desta forma, iniciou-se, os testes de mineralização utilizando tratamento com ácidos fortes e a ação oxidante de cloro, numa adaptação do método de *Fresenius e Babo*. Este método resultou em expansão (explosão) das amostras, inviabilizando o processo.

Possivelmente, a presença do álcool e o uso do aquecimento sugeriam ser o fator predisponente a dificultar o processo da mineralização com ácidos fortes. Assim, antes de acrescentar os ácidos nos extratos, com os meios de que se dispunha naquela oportunidade, buscou-se reduzir o teor de álcool, por evaporação. Diferentemente em análises de determinação de metais em bebidas alcoólicas como a pinga, os extratos resultaram num grumo dificultando o procedimento, mesmo após a adição dos ácidos em conjunto, ou somente o ácido clorídrico ou o perclórico. Esta tentativa resultou falha, vez que não se obtinha a mineralização.

Em uma nova tentativa, buscou-se diluir o álcool da amostra com água deionizada e o resultado da mineralização foi parcial. Para que esta mineralização fosse completa, seria necessária quantidade grande de ácido. Este procedimento (descrito em 3.2.2.1) tornou-se analiticamente inviável em função do alto volume de ácido e do tempo de preparo.

Outra tentativa seria a realização da mineralização em forno de microondas. Neste sentido, o Centro de Assistência Toxicológica da UNESP, Distrito de Rubião Jr., em Botucatu, disponibilizou o equipamento para os testes e execução da mineralização e posterior determinação dos metais. Porém, permanecia a problemática da expansão. Assim, iniciaram-se os experimentos para verificar a melhor metodologia para o procedimento da mineralização de extratos hidroalcoólicos de própolis (3.2.2.2. Método A).

No que se refere à própolis *in natura*, havia procedimento de mineralização descrito por Conti e Botrè (2001), efetuada em forno de microondas sem relato de quaisquer problemáticas. Igualmente, a mineralização para vegetais, plantas medicinais e seus extratos aquosos, alimentos em geral, água, dentre outros já foram executadas (GONZÁLEZ et al., 1999; OKAD, et al.; CAMPOS et al., 1996). Amostras alcoólicas para determinação de metais já foram anteriormente realizadas, onde o método descreve a secagem da matriz (levedura) retirando, assim, o álcool (VARMA, 1988).

Inicialmente, a mineralização das amostras dos extratos hidroalcoólicos em forno microondas era uma alternativa a ser testada. Quatro gramas da amostra foi pesada e adicionada de 4,0 mL ácido nítrico (65%), no frasco de análises, ocorreu expansão e conseqüente perda do material. Para se evitar o processo de expansão, foi realizada uma otimização da quantidade da amostra capaz de não sofrer expansão pela adição do ácido nítrico (1,5g). Entretanto, ao serem submetidas ao forno de microondas, verificou-se expansão com perda e desta forma, nova redução foi necessária.

Os resultados das quantidades ideais de amostra hidroalcoólica de própolis para a mineralização constam da Tabela 1.

Tabela 1. Quantidades das amostras de própolis, em gramas, empregadas para o procedimento de mineralização.

Amostras	Nº	Quantidade (g)
Extrato “Nese Draper” da Veromed	01	1,0
Extrato da Supermel	02	1,0
Extrato da Visserex	03	1,0
Extrato da Herbarium	04	1,0
Extrato de Apis Flora	05	1,0
Extrato do EV	06	1,0
	07	0,5
Tintura de Própolis – Supermel/Maringá/PR	08	0,7
	09	0,3
Própolis <i>in natura</i> (EV)	10	1,0
	11	1,0
Extrato de Própolis, da Apis Flora-Ribeirão Preto	12	0,5
	13	0,5
Extrato de Própolis da Brasil Própolis-Santa Rita/SP	14	0,6
	15	0,6
Própolis <i>in natura</i> da Brasil Própolis	16	1,1
	17	1,1
Extrato de Própolis da CAPEL/PE	18	0,6
	19	0,6
Extrato de Própolis da WENZEL/PI	20	0,6
	21	0,6
Própolis <i>in natura</i> da WENZEL/PI	22	1,1
	23	1,1

As amostras ao serem enumeradas, não mais permitiam conhecer suas procedências ou forma de apresentação (extratos ou *in natura*), caracterizando um estudo *duplo cego*. Para a confecção das tabelas, após as análises concluídas, separou-se as amostras de extratos de própolis das de própolis *in natura*.

As amostras *in natura* e extratos foram separadas para análises dos resultados, pois nas amostras *in natura* esperava-se concentrações maiores de metais, por se tratar de amostras concentradas e já utilizadas para biomonitorização ambiental (CONTI e BOTRÈ, 2002).

4.2. Validação do método analítico

Para o procedimento de validação de métodos analíticos foram adotados os critérios que seguem normas internacionais. Assim, foram avaliados os seguintes parâmetros: gráfico de calibração e linearidade, precisão, limite de quantificação e efeito matriz. Foram considerados aceitáveis os coeficientes de variação e erros relativos não superiores a 2%.

4.2.1. Gráficos de calibração e Linearidade

Neste estudo, as faixas de concentração dos padrões empregados para cada metal estão descritas nas Tabelas 1 e 2, empregadas para construção dos gráficos de calibração e avaliação da linearidade, obtidas nos equipamentos EAA-chama e EAA-FG, respectivamente. O tratamento estatístico de cada gráfico de calibração envolveu a determinação da equação da regressão linear e do coeficiente de correlação (r). Os valores obtidos para cada gráfico de calibração evidenciam linearidade satisfatória.

Os limites de detecção na faixa de concentração da ordem de $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para EAA-chama e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EAA-FG foram estabelecidos pelos fabricantes e confirmados pelo laboratório e estão descritos na Tabela 4.

Tabela 2. Concentrações ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) utilizadas para obtenção dos gráficos analíticos em Espectrofotometria de Absorção Atômica por chama (EAA-Chama) e Espectrofotometria de Absorção Atômica do Vapor Frio (EAA-VF), para mercúrio $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Cádmio	0,050	0,100	0,200	0,400
Cálcio	0,500	1,000	2,000	4,000
Chumbo	0,200	0,400	1,000	2,000
Cobre	0,250	0,500	1,000	2,000
Crômio	1,000	2,000	4,000	8,000
Magnésio	0,050	0,100	0,200	0,400
Manganês	0,050	0,100	0,200	0,400
Mercúrio	1,000	2,000	4,000	8,000
Níquel	0,050	0,100	0,200	0,400
Tálio	1,000	3,000	5,000	10,00
Zinco	0,050	0,100	0,200	-x-

Flame methods manual for atomic absorption by scientific GBC equipment. Victoria, Austrália, 1994, 18p.

Tabela 3. Concentrações em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ utilizadas para obtenção das curvas analíticas em Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (EAA-FG).

Cádmio	40,000	60,000	-x-
Chumbo	20,000	40,000	60,000
Crômio	20,000	40,000	-x-
Tálio	20,000	40,000	60,000

Analytical methods manual for graphite tube atomizers. Victoria, Australia, 1998, 193p.

Quadro 2. Limite de detecção em $\mu\text{g/mL}$ em EAA-chama e $\mu\text{g/L}$ para EAA-FG fornecido pelo fabricante

Metal*	FAAS	GFAAS
Cádmio	0,009	0,0002
Cálcio	0,02	0,0006
Chumbo	0,06	0,0006
Cobre	0,025	0,0006
Crômio	0,05	0,0002
Magnésio	0,003	0,0002
Manganês	0,02	0,0006
Níquel	0,04	0,0005
Tálio	0,35	0,002
Zinco	0,008	0,0002

* Neste quadro não constam os valores de detecção para o mercúrio, o qual é analisado em gerador de vapor frio de mercúrio e expresso em ng/mL .

Fonte: Flame methods manual for atomic absorption by scientific GBC equipment, 1994; Analytical methods manual for graphite tube, 1998.

Os gráficos de calibração de cada metal, e as respectivas equações da reta seguem, demonstrando a linearidade de resposta, segundo as análises em seus respectivos equipamentos.

4.2.1.1. Gráficos de calibração e linearidade obtidos em EAA-chama e EAA-VF (Hg).

Os gráficos de calibração que seguem mostram a linearidade dos metais cádmio, cálcio, chumbo, cobre, crômio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, tálio e zinco analisados em EAA-chama.

Os valores mostrados nas Figuras 18 a 28 evidenciam a linearidade satisfatória para os metais acima citados analisados em EAA-chama, como segue.

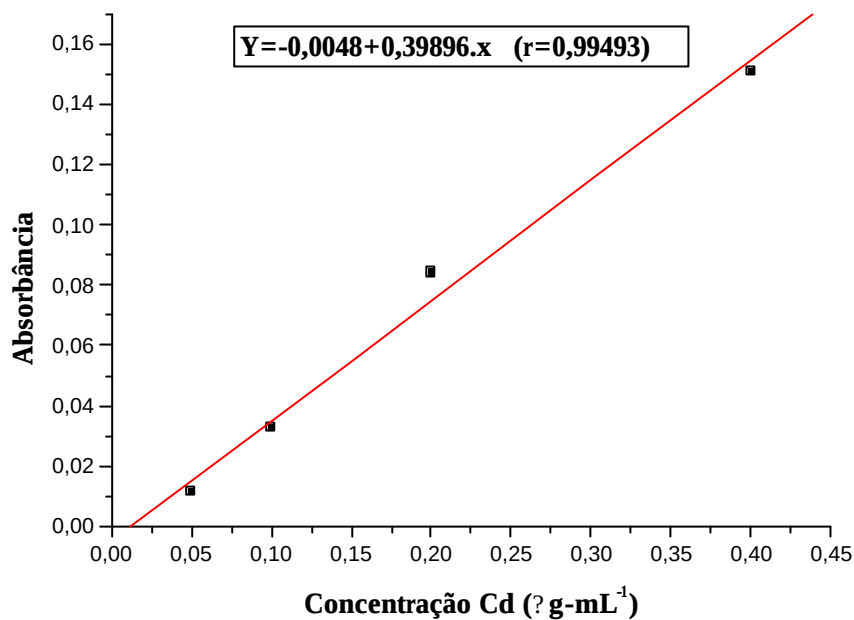


Figura 18. Avaliação da linearidade do cádmio obtida em EAA-chama

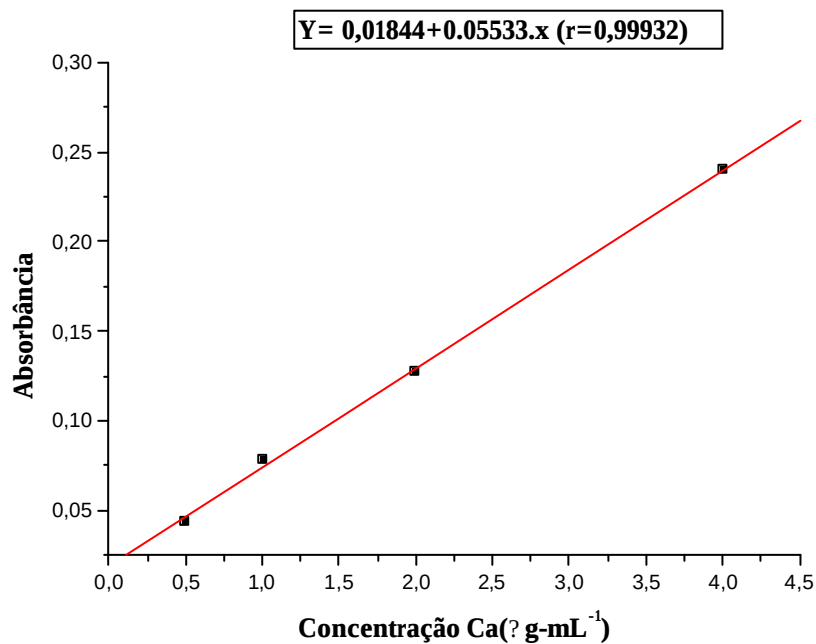


Figura 19. Avaliação da linearidade do cálcio obtida em EAA-chama

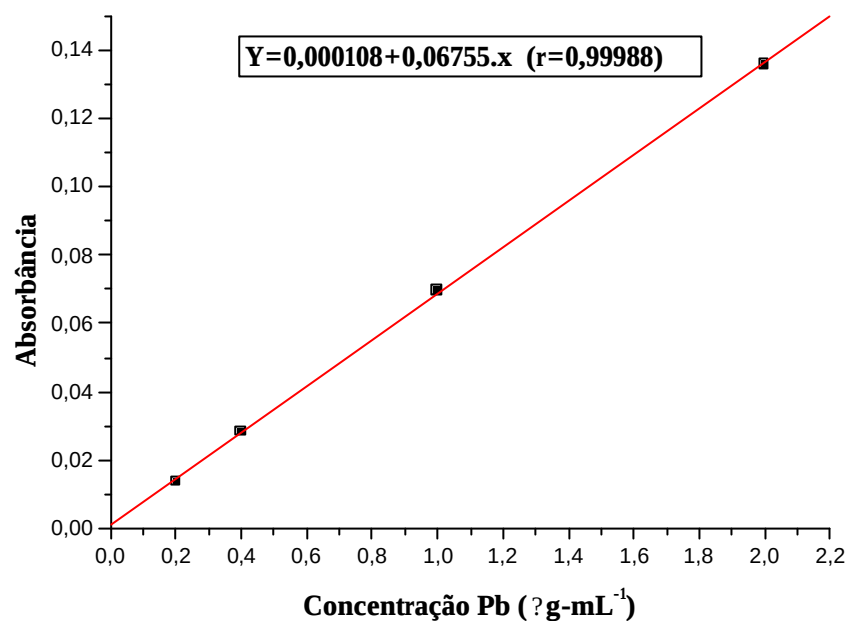


Figura 20. Avaliação da linearidade do chumbo obtida em EAA-chama

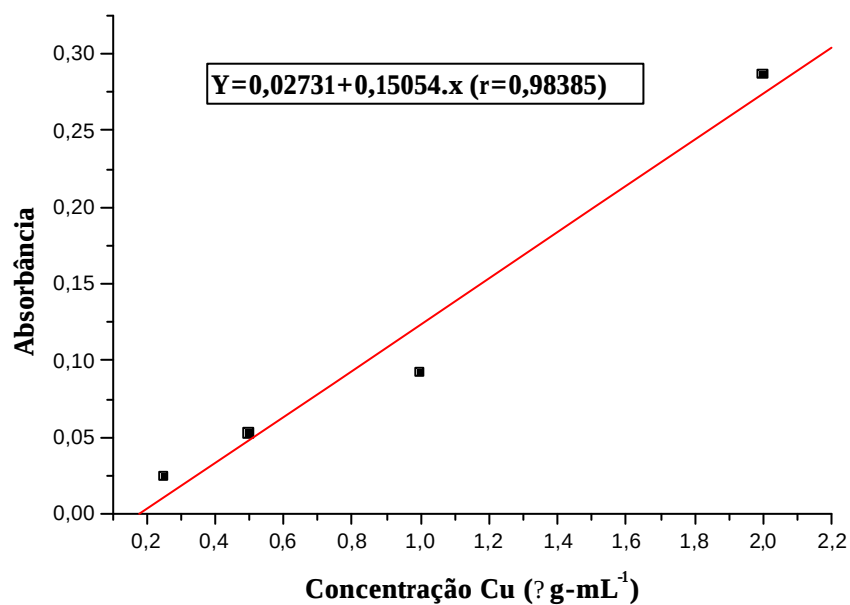


Figura 21. Avaliação da linearidade do cobre obtida em EAA-chama

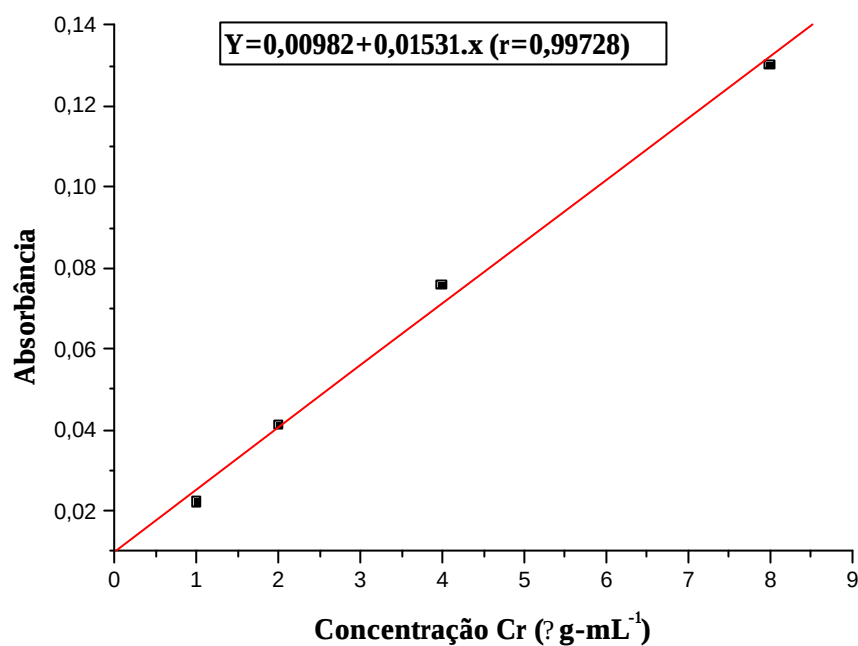


Figura 22. Avaliação da linearidade do cromo obtida em EAA-chama

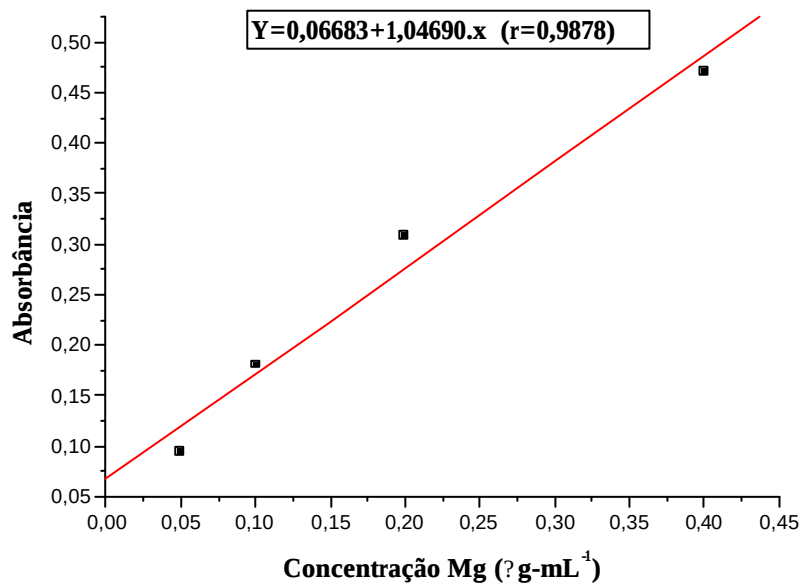


Figura 23. Avaliação da linearidade do magnésio obtida em EAA-chama

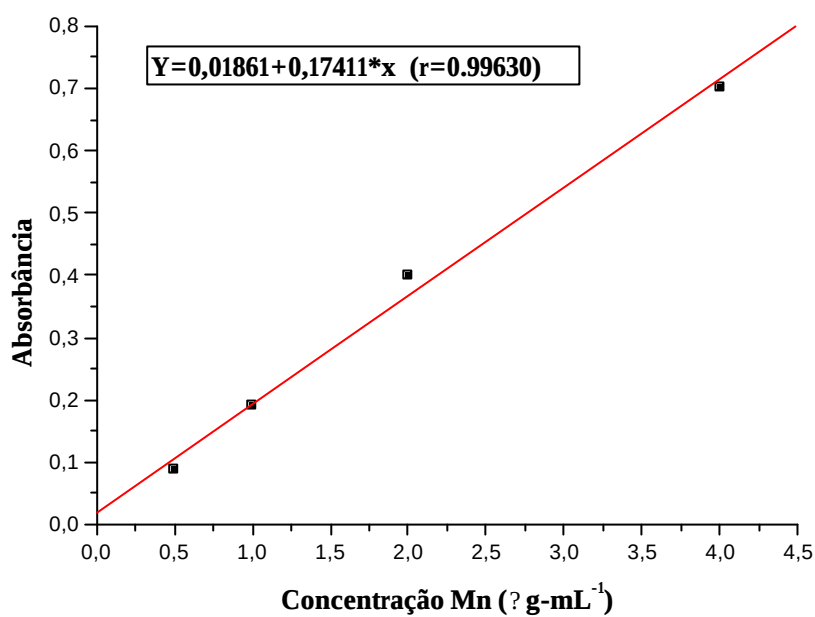


Figura 24. Avaliação da linearidade do manganês obtida em EAA-chama

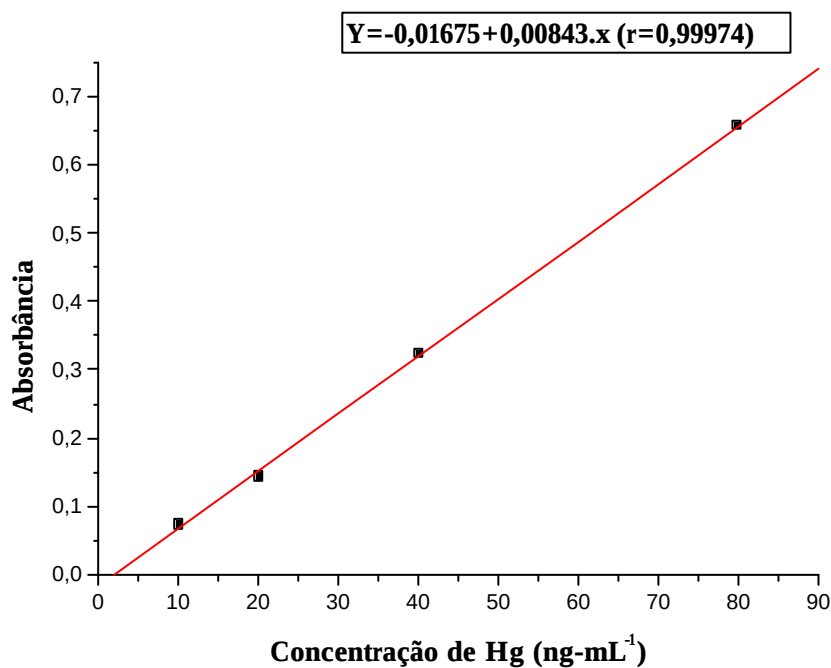


Figura 25. Avaliação da linearidade do mercúrio obtida em EAA-VF

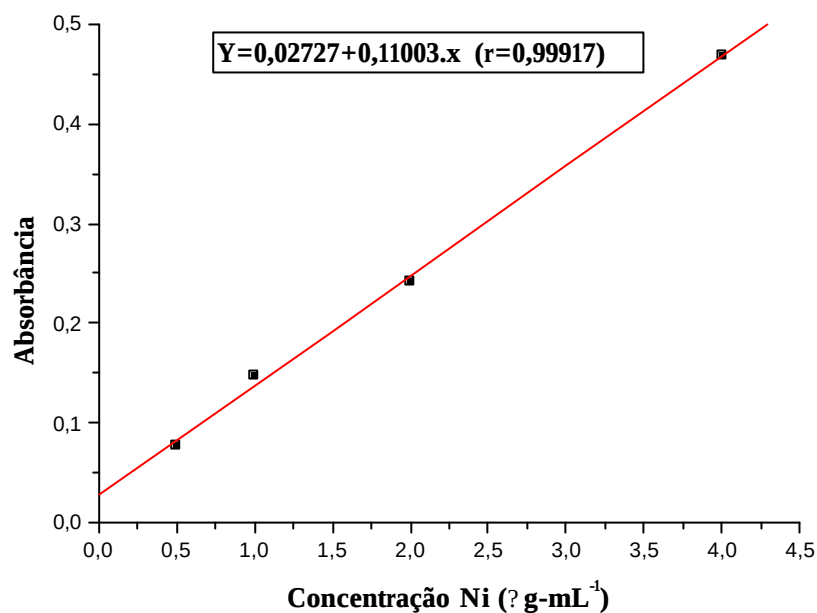


Figura 26. Avaliação da linearidade do níquel obtida em EAA-chama.

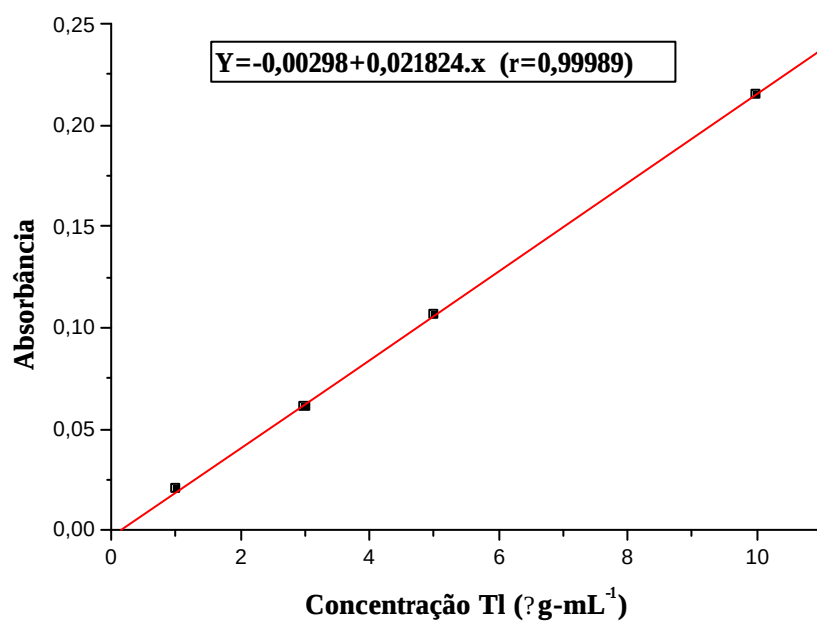


Figura 27. Avaliação da linearidade do tálio obtida em EAA-chama

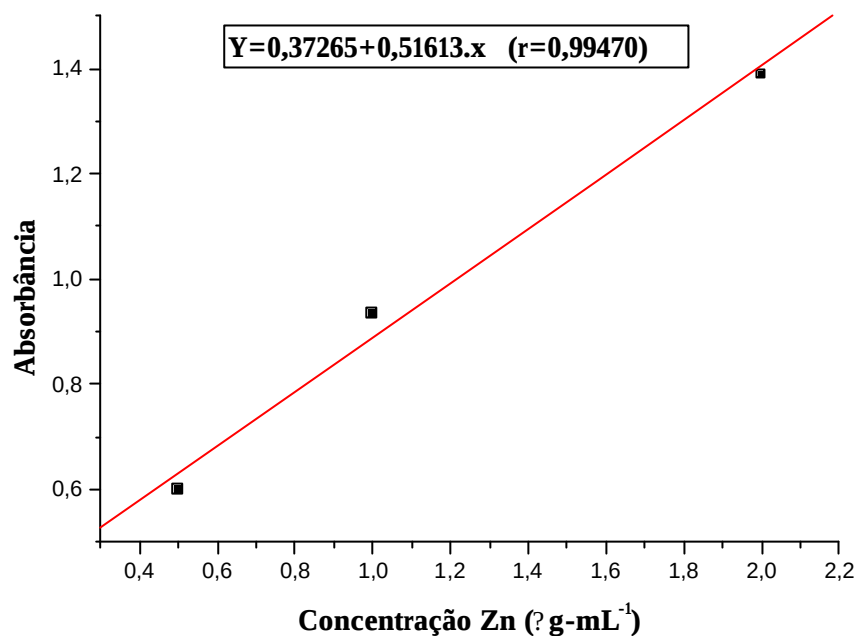


Figura 28. Avaliação da linearidade do zinco obtida em EAA-chama

4.2.1.2. Gráficos de calibração e linearidade obtidos em Espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite (EAA-FG)

Os gráficos de calibração que seguem mostram a linearidade dos metais cádmio, chumbo, cromo e tálio analisados em EAA-FG, representados pelas Figuras 29 a 32 evidenciam a linearidade satisfatória para estes metais, obtidos em EAA-FG.

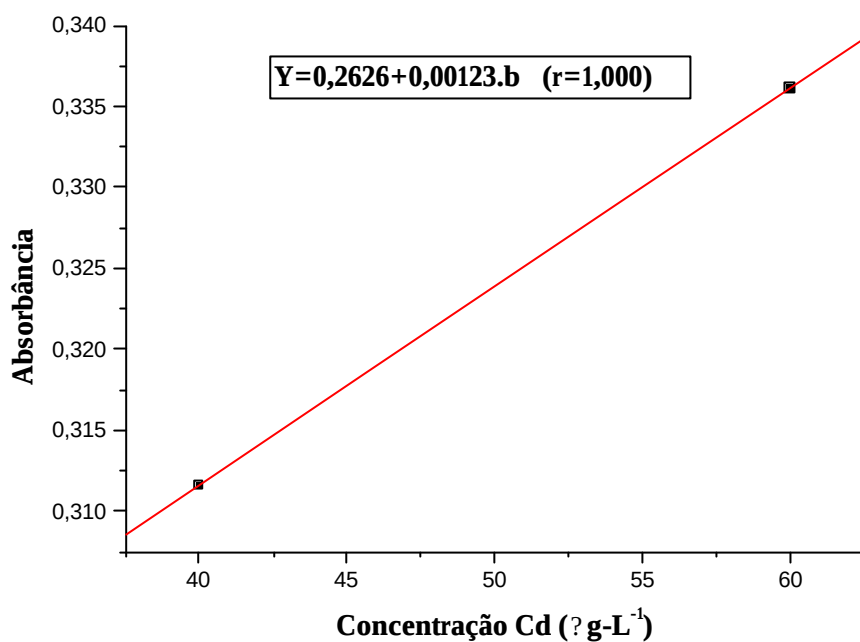


Figura 29. Avaliação da linearidade do cádmio obtida em EAA-FG

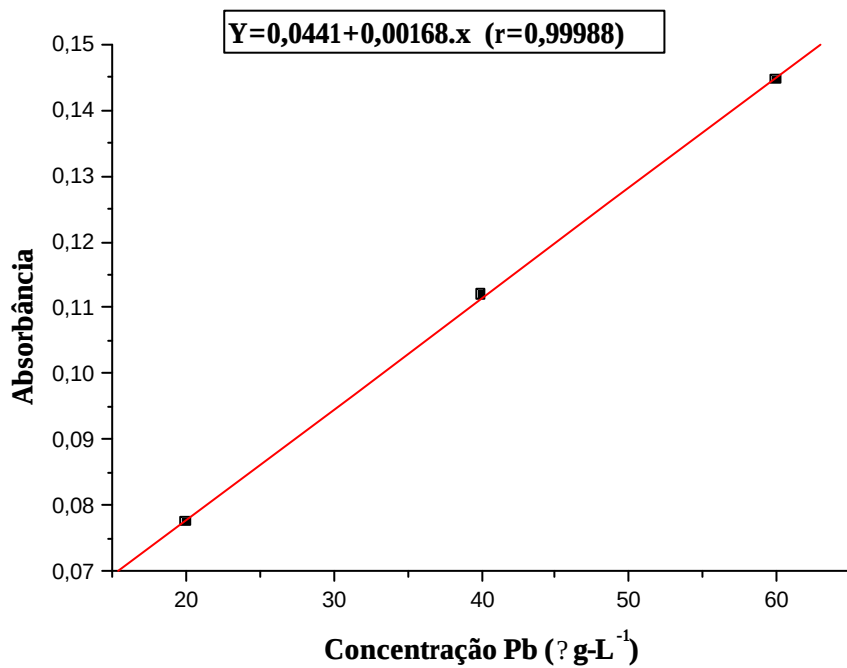


Figura 30. Avaliação da linearidade do chumbo obtida em EAA-FG

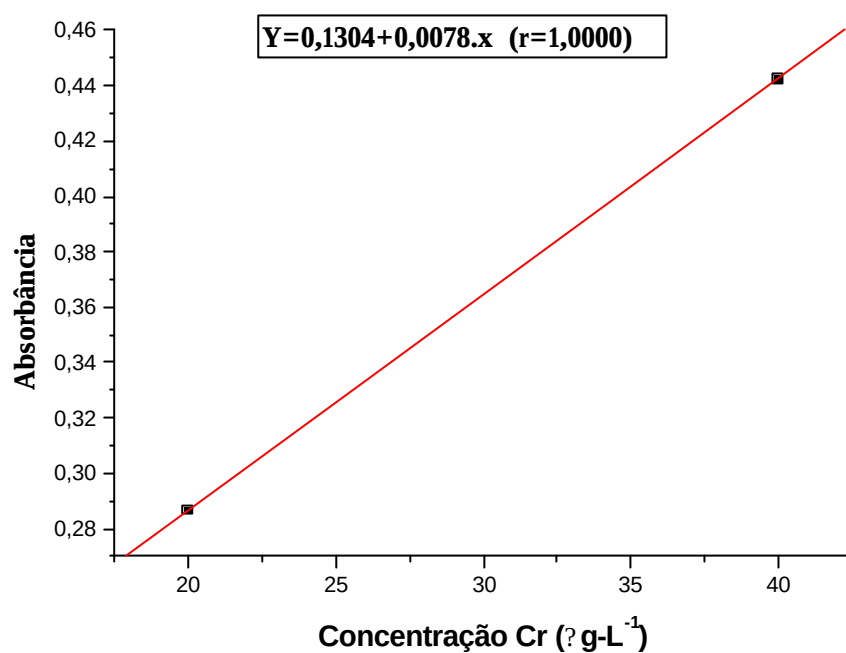


Figura 31. Avaliação da linearidade do cromo obtida em EAA-FG

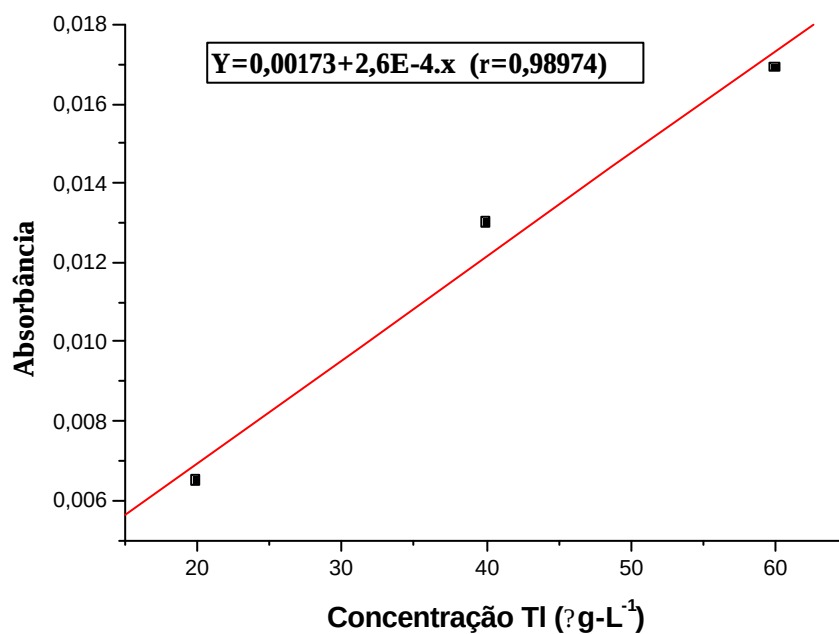


Figura 32. Avaliação da linearidade do tálio obtida em EAA-FG.

4.2.2. Recuperação

A recuperação absoluta de um método analítico é a medida da eficiência do procedimento analítico de extração. É mais bem estabelecida pela comparação das respostas de amostras de matrizes fortificadas, em replicata, com aquelas obtidas para as soluções padrões, as quais representam 100% de recuperação. Pode ser observada a repetibilidade dos processos. A recuperação média foi acima de 94%. Os coeficientes de variação não foram superiores a 2%, independente da concentração, indicando boa repetibilidade dos métodos.

4.2.3. Exatidão e Precisão

A precisão de um método analítico é a medida do erro aleatório definido como a concordância entre análises em replicata de uma mesma amostra. Para avaliar a precisão do método, foram empregadas amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis e própolis *in natura*, enriquecidas com as menores concentrações utilizadas para os gráficos de calibração de cada metal e que constam nas Tabelas 2 e 3, página 79.

Para o estudo da exatidão, observa-se a concordância entre o valor estimado pelo método e o valor real das amostras.

4.2.4. Seletividade

A seletividade de um método é fornecida pela função resposta que é dada para cada metal que podem ou não ser distinguidos entre si.

A matriz, após a mineralização, não apresentava os compostos orgânicos que poderiam interferir nas análises. Os metais, ao serem adicionados a matriz, assegurava a coerência dos resultados, observado no gráfico de calibração.

4.2.5. Limite de quantificação

O limite de quantificação foi considerado como sendo a menor concentração quantificada com precisão e exatidão, e que proporcionou um gráfico linear ($r > 0,9$).

4.2.6. Limite de detecção

O limite de detecção relaciona-se com a absorbância e representa a quantidade do analito cujo desvio padrão (SD) se apresenta acima do sinal de ruído do equipamento.

Depois de observados os limites de quantificação e detecção foram realizados as análises quantitativas dos metais.

4.3. Análise quantitativa dos metais

Todas as amostras foram submetidas EAA-chama, assim pela obtenção das concentrações, pela sensibilidade do aparelho indicada pelo fabricante (Tabela 4), alguns metais (cádmio, chumbo, crômio e tálio) foram também analisados em EAA-FG.

A sensibilidade do equipamento possibilita determinar a concentração de metais. Deve-se avaliar o seu limite de detecção e a concentração de metais na amostra a ser analisada, quando houver, e para tanto a concentração não é o determinante e sim a sensibilidade de detecção do equipamento, frente a um determinado metal. Para outras

amostras, a concentração de metais é elevada a ponto de não ser indicado a utilização de um equipamento de maior sensibilidade, como ocorreu com as amostras de própolis *in natura* (10 e 11) na determinação de chumbo em EAA-chama, mesmo quando a indicação é para pesquisa do metal num equipamento de maior sensibilidade, como resulta ser EAA-FG. Também, poderiam ser realizadas várias diluições e assim empregar o equipamento mais sensível, mas seria redundante posto que o de menor sensibilidade já fornecera as concentrações, além de que, várias diluições incorrem em perda de material, fornecendo deste modo um resultado diferente do real.

4.3.1. Determinação elementar por espectrofotometria de absorção atômica em chama (EAA-chama) e espectrofotometria de absorção atômica do vapor frio (EAA-VF).

Por este equipamento foram analisados os metais cádmio, cálcio, chumbo, cobre, crômio, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, tálio e zinco independente da sensibilidade do equipamento. As amostras se constituíram de extratos hidroalcoólicos de própolis e de própolis *in natura*.

4.3.1.1. Extratos hidroalcoólicos de própolis

Os resultados das análises em extratos estão visualizados na Tabela 4 e Gráfico 1.

Resultados e Discussão

Tabela 4. Resultados da determinação de metais em extratos hidroalcoólicos de própolis por EAA-chama.

Amostras Extratos	Metais (ug/mL)									
	Cádmio	Cálcio	chumbo	cobre	crômio	magnésio	manganês	níquel	tálio	zinco
1	ND	11,661±0,036	ND	ND	ND	6,294±0,818	ND	ND	ND	0,531±0,035
2	ND	1,4±0,030	0,955±0,137	0,753±0,003	ND	17,006±0,082	0,276±0,002	ND	ND	0,942±0,006 ±
3	ND	14,769±0,106	ND	0,922±0,023	ND	11,213±0,030	0,215±0,014	ND	ND	1,156±0,012
4	ND	2,082±0,028	ND	0,242±0,002	ND	9,232±0,091	0,292±0,003	ND	ND	0,365±0,010
5	ND	14,096±0,658	ND	1,179±0,019	ND	15,565±0,008	1,495±0,008	0,947±0,061	ND	2,005±0,015
6	ND	105,204±0,936	ND	0,554±0,032	ND	16,965±0,120	3,427±0,072	ND	ND	3,818±0,040
7	ND	139,127±4,688	ND	ND	ND	16,8440,027±	3,076±0,121	9,382±1,622	ND	5,298±0,056
8	ND	57,218±5,253	ND	ND	ND	16,025±0,074	0,685±0,013	ND	ND	3,825±0,056
9	ND	57,403±1,171	ND	ND	ND	15,61±0,068	ND	ND	ND	4,076±0,047
12	ND	63,315±0,975	4,732±0,766	2,058±0,059	0,816±0,114	63,228±0,120	1,562±0,043	ND	ND	4,123±0,063
13	ND	101,39±0,070	5,912±0,982	2,686±0,054	1,172±0,148	130,843±1,692	1,51±0,156	ND	ND	4,100±0,051
14	ND	10,988±0,14	ND	4,518±0,047	0,81±0,090	137,892±0,537	ND	ND	ND	2,663±0,057
15	ND	37,996±1,71	ND	4,163±0,016	ND	39,161±1,296	ND	ND	ND	2,77±0,062
18	ND	4,325±0,139	ND	1,653±0,069	ND	ND	ND	ND	ND	1,202±0,026
19	ND	7,279±0,066	ND	1,149±0,034	ND	ND	ND	ND	ND	1,118±0,012
20	ND	7,293±0,027	ND	1,236±0,035	ND	ND	ND	ND	ND	1,202±0,034
21	ND	91,412±0,804	ND	1,000±0,046	ND	10,605±0,468	ND	ND	ND	3,294±0,046

ND = **não detectável**. Obs.: valores para mercúrio: amostra 12 (153,431 ± 2,946) e amostra 13 19,683 ± 1,295 ng/mL

O **gráfico 1**, página 94 mostra os resultados das análises em EAA-chama.

Indubitavelmente o cálcio e o magnésio (macroelementos) foram os metais em maior concentração, visualizados no Gráfico 1, página 94 observados nas amostras 7, 6, 13 e 21 respectivamente. Estes metais poderiam igualmente ser analisados também em EAA-FG, porém, como a detecção observada os mesmos não difere significativamente de um equipamento para o outro, seno portanto submetidos apenas à EAA-FG.

As altas concentrações de cálcio e magnésio, observadas no Gráfico 1 impedem que os demais metais (chumbo, cobre, crômio, manganês, níquel, e zinco) sejam visualizados. Assim, o Gráfico 2, página 96, mostra a concentração desses metais.

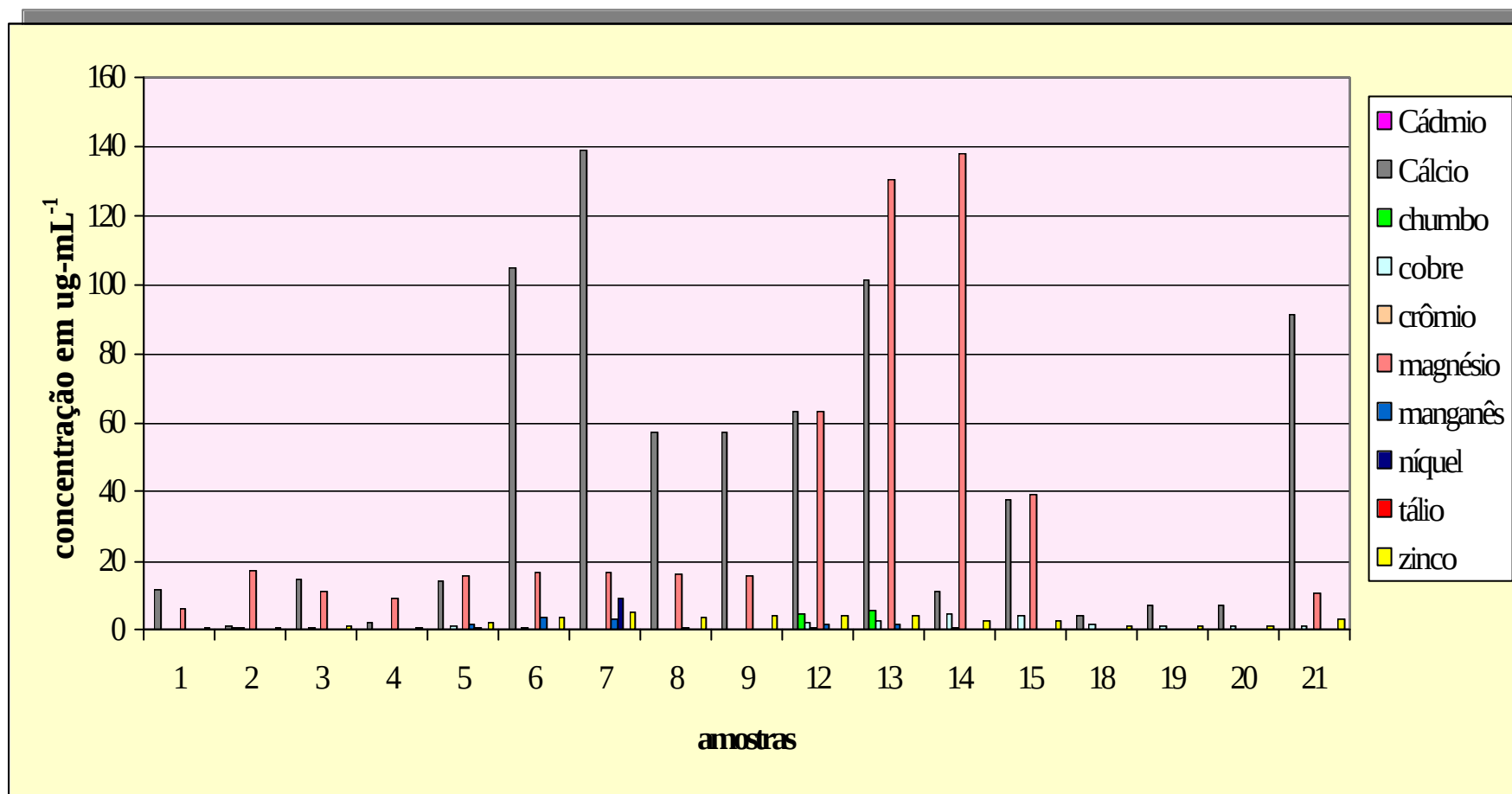


Gráfico 1. Concentração de metais em extratos hidroalcoólicos de própolis, determinada em EAA-chama.

Os resultados das análises serão apresentados e discutidos por amostra de extratos hidroalcoólicos de própolis. Contudo, agrupando todas as amostras, analisadas por este equipamento, os metais cádmio, e tálio não foram detectados. O níquel foi detectado em apenas duas amostras (amostra 5 que corresponde ao extrato da Apis Flora, obtido da prateleira e a amostra 7 que se refere ao extrato adquirido da Esquadrão da Vida, conforme descrição). A ausência desses metais na amostra é tranquilizador visto serem estes metais (cádmio e tálio) responsáveis por sérios danos à saúde. A presença do níquel na amostra 5 com 0,9 ppm está abaixo dos níveis de tolerância relacionado no Quadro 1, que é de 1,0 ppm no organismo humano. A amostra 7, apresentando 9 ppm, está acima dos níveis de tolerâncias no organismo humano, segundo o mesmo quadro. Entretanto, o maior dano que este metal pode determinar ao organismo decorre da absorção pulmonar e na forma de extrato que a amostra se encontra não apresenta importância toxicológica, mesmo se houvesse exposição dérmica pois é dependente da taxa de absorção por esta via.

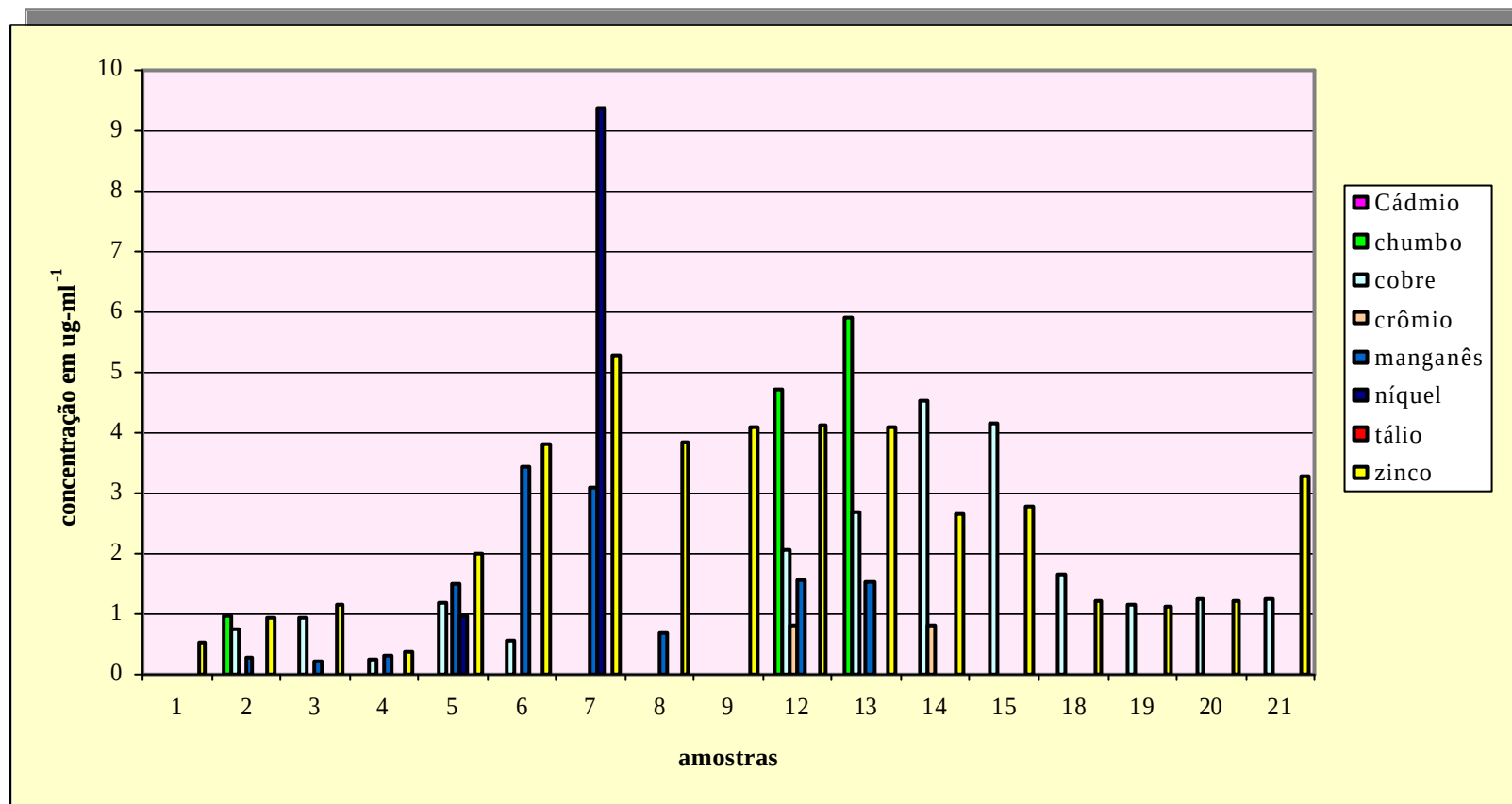


Gráfico 2. Concentração de metais nas amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis, determinada em EAA-chama.

Obs.: As concentrações de cálcio e magnésio constam na Tabela 3, página 92 e no Gráfico 1.

?? **Amostra 1.** Extrato *Nese Draper* da Veromed – Pelotas/RS.

Esta amostra não apresentou detecção de contaminantes metálicos por este equipamento. O mercúrio, em EAA-VF, também não foi detectado. Os metais detectados foram os macroelementos, cálcio e magnésio, nas concentrações de 11,66 e 6,29 ppm, portanto em baixa concentração e oligoelemento, zinco na concentração de 0,53 ppm. Nestas concentrações não apresenta importância fisiológica nem toxicológica.

A ausência de detecção dos demais metais pesquisados pode estar relacionada com a forma do preparo deste extrato, em ser aquoso, isto porque, a própolis em sendo pouco solúvel em água, apresentar-se-ia em menor concentração.

?? **Amostra 2.** Extrato hidroalcoólico da Supermel – Maringá/PR.

Neste extrato foram detectados os macroelementos cálcio e magnésio e neste o magnésio se apresentou em maior concentração (cálcio 1,40 ppm e magnésio 17,01 ppm), observando-se o antagonismo do cálcio/magnésio, porém de forma inversa ao geralmente observado. Foram também detectados os oligoelementos cobre, manganês e zinco nas concentrações de 0,75; 0,27 e 0,94 ppm respectivamente. Estes níveis representariam uma contribuição ao organismo humano.

Entretanto, observa-se, também, a detecção de chumbo, na concentração de 0,95 ppm, abaixo dos limites de tolerância para o organismo. Para o adulto não há importância toxicológica, mesmo porque, por via oral a absorção do chumbo seria de 5 a 15%. Entretanto, a criança, cuja absorção é em média 41%, poderia ocorrer danos à saúde, dependendo das doses administradas (em repetições) e também da idade da criança.

Não foram detectados o cádmio, crômio, mercúrio níquel e tálio.

?? **Amostra 3.** Extrato hidroalcoólico da Visserex – PaqueraAçu/SP.

Esta amostra apresentou detecção para os macroelementos, cálcio 14,76 ppm e magnésio 11,21 ppm e para os oligoelementos cobre com 0,92 ppm; manganês com 0,21 ppm e zinco com 1,15 ppm todos em níveis baixos quando se considera sua absorção, portanto, a contribuição fisiológica para o organismo humano será de pouca importância. Não houve detecção, por este equipamento, para todos os metais pesados pesquisados (chumbo, cádmio, tálio, mercúrio e níquel).

?? **Amostra 4.** Extrato hidroalcoólico da Herbarium – Colombo/PR.

Nenhum metal tóxico foi detectado nesta amostra. Os macroelementos, cálcio na concentração de 2,08 ppm e magnésio 9,23 ppm e novamente observando-se a inversão no antagonismo do cálcio e magnésio. Os oligoelementos foram detectados o cobre 0,24 ppm, manganês 0,29 ppm e zinco 0,36 ppm. Nestas concentrações a contribuição fisiológica para o organismo seria pequena e sem significado toxicológico.

?? **Amostra 5.** Extrato hidroalcoólico da Apis Flora – Ribeirão Preto/SP.

Nesta amostra, o metal pesado detectado foi o níquel, na concentração de 0,94 ppm, contudo, como a forma de absorção (gastrointestinal) para o níquel, nesta concentração não há importância toxicológica conforme já discutido acima.

Os macroelementos foram detectados, apresentando cálcio com 14,09 ppm e magnésio 15,56 ppm e nova inversão no antagonismo do cálcio com o magnésio é

observada. Os oligoelementos foram detectados o cobre com 1,17 ppm, o manganês com 1,49 ppm e o zinco com 2,00 ppm.

?? **Amostra 6.** Extrato hidroalcoólico do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Não foram detectados, nesta amostra, nenhum metal pesado. Os macroelementos foram detectados na concentração de 105,20 ppm para cálcio e 16,96 ppm para magnésio. O antagonismo natural entre o cálcio e o magnésio é observado. Também foram detectados os oligoelementos na concentração, o cobre 0,55 ppm, o manganês com 3,42 ppm e o zinco com 3,81 ppm.

A detecção de macroelementos e oligoelementos e a não detecção de metais pesados neste equipamento fazem desta amostra de importância fisiológica, mesmo estes metais se apresentado em baixa concentração.

?? **Amostra 7.** Extrato hidroalcoólico do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Nesta amostra, dentre os metais pesados analisados, apenas o níquel foi detectado na concentração de 9,38 ppm. Conforme se discutiu anteriormente este valor estaria em níveis acima da tolerância, conforme o quadro 1, se fosse detectado no organismo humano. Porém, a forma de apresentação e a via da administração no organismo, sendo a oral, os riscos seriam minimizados, vez que a via de absorção que poderia causar sérios danos ao organismo seria a pulmonar, com exposição inalatória. Entretanto, cuidados devem ser tomados para que se evite tal contaminação independente de possíveis danos ao organismo.

Os macroelementos apresentaram-se com seu natural antagonismo, com o cálcio na concentração de 139,12 ppm e o magnésio na concentração de 16,84 ppm. Em se tratando de elementos essenciais ao organismo humano, sua presença favorece o extrato. Os oligoelementos presentes foram o manganês, na concentração de 3,07 ppm e o zinco na

concentração de 5,29 ppm, sendo esta a maior concentração observada dentre as amostras de extratos. Nestas concentrações estes elementos não apresentam importância toxicológica, porém a presença desses metais normais no organismo é benéfica.

?? **Amostra 8.** Extrato hidroalcoólico da Supermel – Maringá/SP.

Nesta amostra não foi detectado nenhum metal tóxico (cádmio, chumbo, mercúrio, níquel e tálio). Dos macroelementos foram detectados o cálcio com 57,21 ppm e o magnésio 16,02 ppm. Não foram detectados os oligoelementos cobre e cromo. Os oligoelementos que detectados foram o manganês 0,68 ppm e o zinco 3,82 ppm. A ausência de metais pesados e a detecção dos macroelementos e oligoelementos, mesmo em baixa concentração, adicionados aos benefícios esperados pela ação farmacológica, se esta amostra contiver a sua composição química, é um bom indicativo no que se refere a sua importância fisiológica.

?? **Amostra 9.** Extrato hidroalcoólico da Supermel - Maringá/SP.

Nesta amostra não foram detectados os metais tóxicos (cádmio, chumbo, mercúrio, níquel e tálio). Dos macroelementos, o cálcio foi detectado na concentração de 57,40 ppm e o magnésio 15,61 ppm. Os oligoelementos cobre, cromo e manganês não foram detectados, apenas o zinco foi detectado na concentração 4,10 ppm.

A ausência de detecção, por este equipamento, de metais pesados é benéfico. Contudo, os oligoelementos não detectados empobrecem esta amostra.

?? **Amostra 12.** Extrato hidroalcoólico da Apis Flora – Ribeirão Preto/SP

Nesta amostra foram detectados metais pesados, tais como chumbo com 4,73 ppm, Mercúrio com 153,43 ppb. O teor de chumbo se a exposição ocorrer para o adulto, cuja absorção gastrointestinal é em torno de 5 a 15%, não haverá importância toxicológica. Para a criança, cuja absorção ocorre em torno de 41% e a permanência no organismo está em torno de 30%, dependendo de quanto a criança é exposta oralmente e da frequência com que se faria utilização do extrato, este poderia apresentar importância toxicológica. O cádmio, níquel e tálio não foram detectados.

Os macroelementos foram detectados, sendo o cálcio na concentração de 63,31 ppm e o magnésio 63,22 ppm. A presença dos metais pesados sugere alteração no antagonismo natural existente entre o cálcio e o magnésio, com concentrações similares.

Os oligoelementos detectados foram o cobre na concentração de 2,05 ppm, o cromo 0,81 ppm, o manganês 1,56 ppm e o zinco 4,12 ppm. Nesta amostra todos os oligoelementos pesquisados, mesmo em baixas concentrações, foram detectados.

Entretanto, a detecção de metais pesados, mesmo em baixas concentrações, sugere a modificação do antagonismo dos macroelementos, determinada pela possível interação entre eles, torna esta amostra, mesmo tendo sido detectado os oligoelementos, inadequada para fins fisiológicos.

?? **Amostra 13.** Extrato hidroalcoólico de própolis da Apis flora - Ribeirão Preto/SP.

A detecção dos metais tóxicos nesta amostra foi similar a amostra 12. Apresentaram detecção de chumbo com 5,91 ppm, mercúrio com 19,68 ppb. Os demais metais tóxicos (cádmio, níquel e tálio) não foram detectados.

Dos macromelementos pesquisados foram detectados o cálcio com 101,39 ppm e o magnésio 130,84 ppm igualmente conforme observado na amostra 12, ocorre a inversão do antagonismo do cálcio e magnésio.

Os oligoelementos foram igualmente detectados de maneira similar a amostra 12, onde o cobre foi detectado 2,68 ppm, o crômio 1,17 ppm, o manganês 1,51 ppm e o zinco 4,10 ppm. A importância fisiológica e toxicológica desta amostra é similar ao apresentado na amostra 12, da mesma origem.

Amostra 14. Extrato hidroalcoólico de própolis da Brasil Própolis – Santa Rita/SP.

Nesta amostra não foram detectados os metais tóxicos pesquisados (cádmio, chumbo, mercúrio, níquel e tálio).

Os macromelementos foram detectados em baixa concentração o cálcio 10,98 ppm e o magnésio 137,89 ppm, apresentando o antagonismo natural do cálcio com o magnésio modificado. Dos oligoelementos pesquisados, apenas o manganês não foi detectado; os demais, nas concentrações para o cobre de 4,51 ppm, o crômio 0,81 ppm e o zinco 2,66 ppm. Com estas concentrações a importância fisiológica seria discreta, se houvesse e nenhuma importância toxicológica haja vista a ausência de detecção de metais tóxicos.

Amostra 15. Extrato hidroalcoólico de própolis da Brasil Própolis - Santa Rita/SP.

A detecção dos metais foi de forma similar. Nenhum metal tóxico dos pesquisados foi detectado. Aparece um discreto antagonismo do cálcio e magnésio, mostrando uma divergência desta amostra para a amostra 14, o cálcio apresentou uma concentração de 37,99 ppm e o magnésio de 39,16 ppm. Nesta amostra o crômio não foi detectado. A concentração dos demais oligoelementos foi: o cobre com 4,16 ppm, teor discretamente menor do que o encontrado para a amostra 14; o zinco com 2,77 pp.

Estas concentrações não apresentam nenhuma importância toxicológica. A importância fisiológica seria discreta como na amostra 14.

Amostra 18. Extrato hidroalcoólico de própolis da CEPEL – Recife/PE

Nenhum metal pesado pesquisado foi detectado nesta amostra.

Dos macroelementos pesquisados, apenas foi detectado o cálcio na concentração de 4,32 ppm. O magnésio não foi detectado. Dos oligoelementos o manganês não foi detectado. O cobre foi detectado na concentração de 1,65 ppm e o zinco com 1,20 ppm. É uma amostra pobre e sem importância fisiológica ou toxicológica no que se refere aos metais.

Amostra 19. Extrato hidroalcoólico de própolis da CEPEL - Recife/PE

Similarmente a amostra 18, não foram detectados metais tóxicos. O macroelemento detectável foi o cálcio na concentração igualmente baixa, de 7,27 ppm, não foi detectado o magnésio. Dos oligoelementos, o manganês, igualmente não foi detectado. A cobre foi detectado na concentração de 1,14 ppm e o zinco 1,11 ppm. Igualmente, sem importância fisiológica e toxicológica no que se refere aos metais.

Amostra 20. Extrato hidroalcoólico de própolis da WENZEL – Picus/PI

Nesta amostra não houve detecção de metais tóxicos pesquisados. Dos macroelementos, apenas o cálcio foi detectado na concentração de 7,29 ppm. Dos oligoelementos foram detectados o cobre com 1,23 ppm e o zinco com 1,20 ppm.

Esta amostra não apresenta importância nem fisiológica pela baixa concentração dos elementos naturalmente encontrados no organismo humano e, nem toxicológica.

Amostra 21. Extrato hidroalcoólico de própolis da WENZEL

Esta amostra apresenta comportamento similar à amostra 20. Nesta também não há detecção de metais tóxicos. Diverge da amostra 20, pois nesta há detecção dos macroelementos, apresentando o cálcio a concentração de 91,41 ppm e o magnésio com 10,60 ppm. Quanto aos oligoelementos esta amostra apresentou detecção de cobre na concentração de 1,00 ppm e o zinco 3,29 ppm.

As amostras hidroalcoólicas podem-se observar que as originadas do nordeste (Pernambuco, amostras 18 e 19 e Piauí, amostras 20 e 21) não apresentaram detecção, por este equipamento, para metais tóxicos, contudo os macroelementos e oligoelementos apresentaram concentrações muito inferiores às aquelas originadas do sul e sudeste. As amostras oriundas do nordeste não foram detectados todos os oligoelementos pesquisados e o magnésio igualmente não foi detectado em todas as amostras do nordeste.

4.3.1.2. Amostras de própolis *in natura*

A Tabela 5 (página 105) e o Gráfico 3 (página 106) mostram as concentrações nas amostras de própolis *in natura* 10, 11, 16, 17, 22 e 23 analisadas em EAA-chama.

Tabela 5. Resultados da determinação de metais em própolis *in natura* por EAA-chama

Amostras						Metais				
<i>In natura</i>	Cádmio	Cálcio	Chumbo	Cobre	Crômio	Magnésio	Manganês	Níquel	Tálio	Zinco
10	ND	2798,09 ± 3,91	1899,297 ± 22,221	5,957 ± 0,016	ND	18,762 ± 0,121	1347,478 ± 7,950	ND	ND	217,828±0,010
11	ND	1399,45 ± 41,959	9581,16 ± 360,251	11,192 ± 0,094	6,906 ± 0,284	18,165 ± 0,051	1880,204 ± 0,529	ND	ND	108,914± 1,121
16	ND	1116,953 ± 12,622	4,481 ± 0,207	28,533 ± 0,131	2,723 ± 0,191	108,511 ± 0,087	85,186 ± 0,477	ND	ND	52,191 ± 0,193
17	ND	1253,09 ± 9,511	ND	24,042 ± 0,098	ND	91,319 ± 0,264	34,45 ± 0,089	ND	ND	289,123± 1,908
22	ND	555,645 ± 9,390	133,182 ± 25,478	5,531 ± 0,029	3,73 ± 0,154	78,323 ± 0,102	177,71 ± 12,652	ND	ND	396,378± 2,536
23	ND	435,377 ± 2,720	129,483 ± 24,770	5,338 ± 0,013	3,113 ± 0,192	77,69 ± 0,047	165,361 ± 1,785	ND	ND	555,848± 5,780

ND = Não detectável.

Obs.: Concentração de Mercúrio: amostra 10 (16,378 ng-mL⁻¹± 1,072), amostra 11 (20,203 ng-mL⁻¹±1,329) e amostra 16 (20,203 ng-mL⁻¹±1,329)

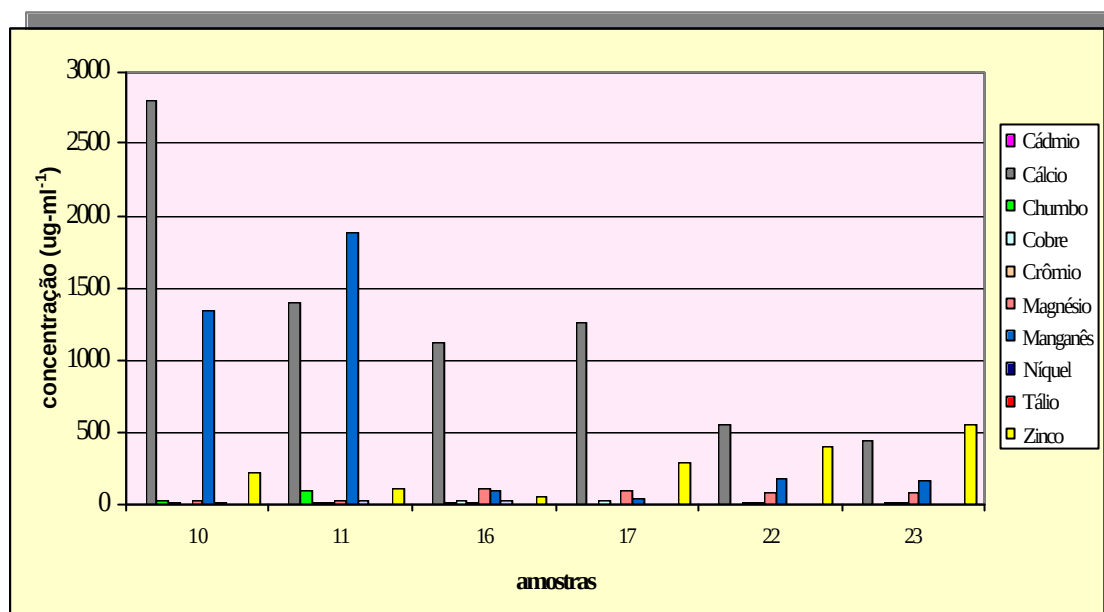


Gráfico 3. Concentração de metais em amostras de própolis *in natura*, submetidas a EAA - chama.

Os resultados, igualmente serão apresentados, por amostra de própolis *in natura*.

Neste gráfico o cálcio e o manganês foram os metais que apresentaram maior concentração, encobrendo, devido a uma escala maior, os demais metais detectados. Para que os demais metais pesquisados fossem visualizados nas suas concentrações, será exibido o Gráfico 4, contudo, neste sendo retirado o cálcio e o manganês e assim, apresentados os resultados. Os Gráficos 3 e 4, (páginas 106/7) e a Tabela 5 (página 105) mostram os resultados destas amostras.

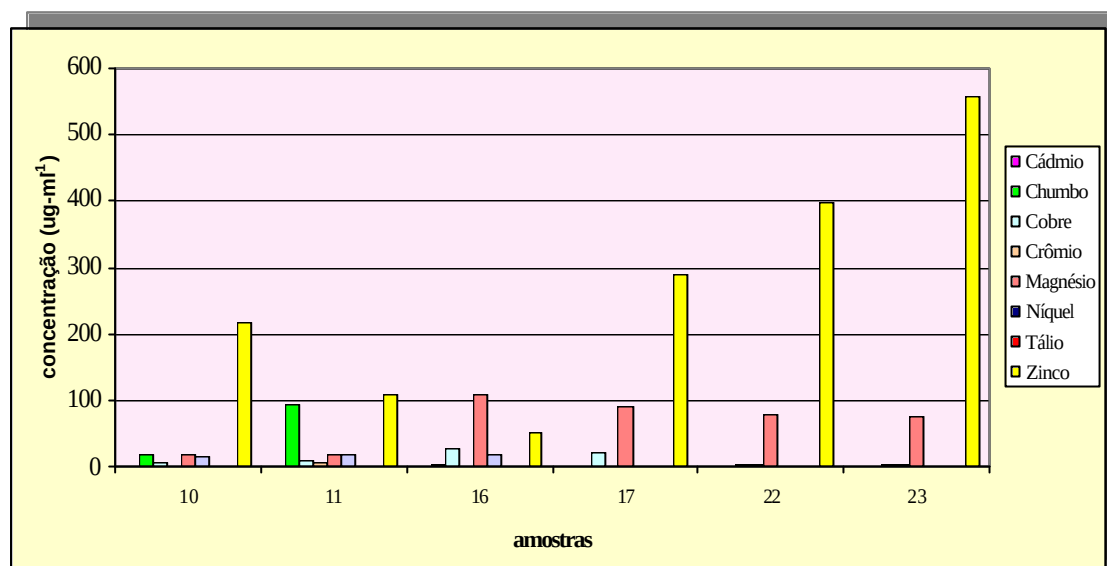


Gráfico 4. Concentrações de metais em amostras de própolis *in natura*, determinada em EAA-chama.

Obs.: Não constam neste gráfico os metais cálcio e manganês, cujas concentrações são mostradas na Tabela 5, página 105.

?? **Amostra 10.** Amostra de própolis *in natura* do Esquadrão da Vida – Bauru/SP

Nesta amostra e por este equipamento não foram detectados os metais tóxicos o cádmio, o níquel e o tálho. O chumbo aparece numa concentração de 18,99 ppm e o mercúrio na concentração de 16,37 ppb. O mercúrio está numa concentração muito baixa e não apresentaria alterações toxicológicas evidentes se a própolis fosse utilizada em doses terapêuticas. Contudo, a utilização da própolis *in natura*, sendo esporádica, a possibilidade de consequências pela presença, tanto do chumbo quanto do mercúrio, nesta amostra, seria mínima ou até mesmo inexistente.

Dos macroelementos que é visualizado em alta concentração é o cálcio com 2798,09 ppm, enquanto o magnésio apresenta concentração de 18,72 ppm. Um forte antagonismo é observado entre o cálcio e o magnésio. Esse teor de cálcio, pela eventual utilização da própolis nesta forma, poderia resultar em uma captação maior deste elemento no organismo. As possíveis consequências orgânicas dependeriam de fatores relacionados com a absorção e o metabolismo de quem utilizasse esta amostra de própolis *in natura*.

Dos oligoelementos observa-se o cobre na concentração de 5,95 ppm, o manganês 1347,47 ppm e o zinco na concentração de 217,82 ppm. No Quadro 1, página 9, de Debski (2002) o manganês está relacionado um total de 20 mg no organismo humano, desta forma, considerando este total no organismo e a concentração que se apresenta a amostra, se fosse absorvido pelo organismo humano, poder-se-ia esperar consequências toxicológicas, provocadas pelo manganês. Entretanto, a absorção oral, deste metal, sendo menor que 5%, ocorrência toxicológica não seria observada. O crômio não foi detectado, nesta amostra.

?? **Amostra 11.** Amostra de própolis *in natura* do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Nesta amostra também não foram detectados os metais tóxicos cádmio, níquel e tálio. O mercúrio foi detectado na concentração de 20,20 ppb e o chumbo numa concentração elevada, de 95,81 ppm, quando comparado as demais amostras de própolis *in natura*. Considerando a menor sensibilidade deste equipamento para este metal, e a concentração determinada, este não foi submetido a análise em EAA-FG, mesmo porque, para que se pudesse analisar, neste equipamento (EAA-chama) a amostra teve de ser diluída 1:10 (v/v), uma que a primeira leitura não pode ser realizada (superou o limite de detecção do equipamento). Entretanto, observa-se que a amostra 10, também do mesmo produtor apresentou uma concentração passível de leitura por este equipamento. Esta ocorrência pode ser explicada pela heterogeneidade das amostras da própolis *in natura*. Esta heterogeneidade pode ocorrer:

?? produção da própolis

?? coleta (caixa de produção da própolis pintada)

A caixa de produção da própolis, quando pintadas, mesmo com todo o cuidado para a retirada da própolis, é possível, durante a raspagem, a retirada da tinta (contendo chumbo), sendo assim processada conjuntamente.

?? armazenamento

No momento do armazenamento, quando de forma não apropriada, coloca-se estas amostras em vasilhames com pinturas, podendo, também ocorrer contaminação. A exposição a contaminantes ambientais pode ter sido um fator determinante de contaminação, vez que a matéria prima (própolis *in natura*), se encontrava acondicionada em caixas abertas (observado no momento da recepção *in loco*), portanto, em maior contato com o meio ambiente. Estas amostras estiveram expostas à ocorrência de contaminação ambiental no período que foi adquirida.

Acredita-se que, crianças as quais o chumbo pode causar maiores danos à saúde, não iria receber a própolis nesta forma *in natura*, haja vista o seu sabor pouco agradável ao paladar infantil. Entretanto, ocorrências esporádicas de utilização em adultos podem ser observadas, assim, mesmo sendo o chumbo menos absorvido trato gastrointestinal, a forma como é utilizada, “mascando”, o contato maior na boca e palato mole, dependente da frequência de utilização, poder-se-ia observar, então, uma absorção maior do que somente no trato gastrointestinal, e assim a possibilidade toxicidade pelo chumbo.

Dos macroelementos, o cálcio apresentou nesta amostra a maior concentração dentre todas as amostras, com 1399,45 ppm e o magnésio apresentando uma concentração muito baixa de 18,16 ppm. Os condições do cálcio produzir uma importância toxicológica está também relacionada com fatores individuais como relatado na amostra 10.

Todos os oligoelementos pesquisados foram detectados nesta amostra. O cobre na concentração de 11,19 ppm, o cromo na concentração de 6,90 ppm, o manganês, este numa concentração elevada quando comparada às demais amostras de própolis *in natura*, na concentração de 1880,20 ppm, o zinco na concentração de 108,91 ppm. Mesmo o manganês, numa concentração elevada não produziria efeitos tóxicos, visto sua baixa absorção por via oral, além de ser um elemento essencial. Os efeitos fisiológicos seriam benéficos, desta amostra, não fossem os metais tóxicos detectados.

?? **Amostra 16.** Amostra de própolis *in natura* da Brasil Própolis – Santa Rita/SP.

Nesta amostra não foram detectados os metais tóxicos tais como, o cádmio, o níquel e o tálio por este equipamento. O chumbo e o mercúrio foram detectados em baixa concentração de 4,48 ppm e 20,20 ppb, respectivamente. Nestas concentrações não apresentariam importância toxicológica.

Dos macroelementos analisados o cálcio foi detectado numa concentração também elevada de 1116,95 ppm, o magnésio apresentando uma concentração de 108,51 ppm, sendo esta concentração a maior dentre estas amostras de própolis *in natura*, no que se refere ao magnésio; o manganês a concentração de 85,18 ppm e o zinco 52,19 ppm. Esta amostra apenas apresentando uma concentração baixa de chumbo, mas com os macro e oligoelementos detectados, mesmo em baixa concentração, apresenta importância fisiológica, mesmo que discreta.

?? **Amostra 17.** Amostra de própolis *in natura* da Brasil Própolis – Santa Rita/SP.

Nesta amostra não foram detectados metais tóxicos analisados neste estudo (cádmio, chumbo, mercúrio, níquel e tálio), mesmo pertencente ao mesmo produtor mas possivelmente também devido a heterogeneidade comum dessas amostras.

Os macroelementos foram detectados, e o cálcio na concentração de 1253,09 ppm e o magnésio 91,31 ppm apresentando o antagonismo natural cálcio/magnésio.

Dos oligoelementos pesquisados apenas o crômio não foi detectado. Os demais o foram na concentração de: o cobre 24,04 ppm, o manganês 34,45 ppm, e o zinco 289,12 ppm.

Resultados e Discussão

Observa-se também que duas amostras de mesma origem apresentam concentrações divergindo uma (16) da outra (17) e este fato também se deve a heterogeneidade das amostras da própolis *in natura* conforme referendado anteriormente.

Esta amostra, pela não detecção de metais pesados e pela detecção de quase a totalidade dos elementos normais pesquisados, no organismo, apresenta importância fisiológica, vez que estes elementos não estariam em concentrações que poderiam induzir a uma toxicidade se administrado por via oral.

?? **Amostra 22.** Amostra de própolis *in natura* da Wenzel – Picus/PI.

Não foram detectados, por este equipamento, nesta amostra os metais tóxicos cádmio, mercúrio, níquel e tálio. O chumbo foi detectado na concentração de 13,31 ppm. Em se tratando de amostras *in natura* pode não ser considerada uma concentração elevada, haja vista que, por via oral a absorção do chumbo, em adultos, corresponde, em média de 5 a 15%, assim, se o ato de mascar a própolis *in natura* for esporádico, nenhuma importância toxicológica apresentará o chumbo nesta concentração. A criança, pelo sabor desagradável que esta amostra apresenta, não haveria importância toxicológica, mesmo nesta concentração.

Dos macroelementos analisados o cálcio foi detectado na concentração de 555,63 ppm e o magnésio 78,32 ppm. Todos os oligoelementos pesquisados neste estudo foram detectados na concentração de: o cobre 5,53 ppm, o cromo 3,73 ppm, o manganês 177,71 ppm e o zinco 396,37 ppm. Estes macro e oligoelementos apresentariam importância fisiológica, mesmo com presença do chumbo contaminando a amostra, por sua baixa concentração.

?? **Amostra 23.** Amostra de própolis *in natura* da Wenzel – picus/PI

Neste equipamento não foram detectados os metais tóxicos o cádmio, o mercúrio, o níquel e o tálio. O chumbo foi detectado na concentração de 12,94 ppm e como já foi referendado na amostra 22, a forma e sabor desta amostra não determinaria importância toxicológica.

Os macroelementos pesquisados, apresentando seu natural antagonismo, foram detectados o cálcio com 435,37 ppm e o magnésio 77,69 ppm.

Os oligoelementos analisados todos foram detectados nas concentrações que seguem: o cobre com 5,33 ppm, crômio 3,11 ppm, manganês 165,36 ppm e o zinco 555,84 ppm. Considerando os valores citados por Debski (2002) estes valores apresentariam importância fisiológica conforme já exposto para a amostra 22.

Estes resultados mostram, comparativamente e como era esperado, que todos os metais que foram detectados nas amostras, por este equipamento, nos extratos o foram e em concentrações amplamente menor ou não foram detectados. Nas amostras *in natura*, onde pode ser exemplificar o cálcio que apresenta a maior concentração (2798,09 ppm), e os extratos a maior concentração foi de 139,12 ppm, a concentração da amostra *in natura* se apresentou 20 vezes maior, haja vista que, os extratos são amostras preparadas a partir de pequenas quantidades da própolis *in natura* e diluídas, no caso das amostras hidroalcoólicas, em solução alcoólica que pode ser a 70%. Assim, tanto os metais tóxicos, quanto os macro e oligoelementos estão em menor concentração nos extratos.

Esta observação se reverte em preocupação quando se encontra extratos com metais pesados detectáveis por este equipamento, como se verificou nas amostras 2, 12 e 13 de extratos hidroalcoólicos de própolis, pois se mesmo em pequena concentração foi detectado neste equipamento menos sensível para o chumbo, então por quais causas esta contaminação ocorreu, não há, neste estudo como assegurar. Pode-se sugerir que o frasco estaria contaminado, ou que a matéria prima estivesse com uma contaminação acentuada. Pode-se apenas sugerir principalmente porque, nas amostras 12 e 13 houve, mesmo em

concentração ao nível de ppb, detecção de mercúrio, ratificado por várias repetições do procedimento analítico. Ratifica a hipótese destas amostras estarem contaminadas não devido ao seu insumo, mas possivelmente uma contaminação dos frascos que a acondicionava visto que, a amostra 5, igualmente da Apis Flora, adquirida em farmácia, de prateleira, o chumbo não foi detectado por este equipamento (EAA-chama).

Observa-se, também que o cálcio detectado nas amostras de própolis *in natura* a concentração das amostras oriundas de São Paulo apresentaram concentração mais que duas vezes maior que as amostras oriundas do nordeste (Picus/Piauí). Pode-se notar, entretanto, que o antagonismo observado entre cálcio e magnésio na amostra oriunda de Bauru (10 e 11) se encontra presente, porém, apresentando o magnésio, nestas, concentrações muito baixas, quando comparadas às demais amostras, e quase se aproximando das encontradas nos extratos hidroalcoólicos.

Nas amostras de extratos o efeito de competição ou antagonismo se fez mais evidente, possivelmente pela diluição em que se encontravam aquelas amostras.

Notadamente, as amostras *in natura*, a maioria dos elementos naturais no organismo humano foram detectados e em concentrações maiores que dos extratos.

4.3.2. Determinação elementar por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (EAA-FG).

Os metais cujas concentrações se apresentaram muito próximas ao limite de detecção ou não detectáveis pelo equipamento EAA-chama, foram processadas para análises em EAA-FG, equipamento de maior sensibilidade como pode ser observado na Quadro 2.

Deste modo, os metais analisados, por este equipamento, foram o cádmio, o chumbo, o cromo e o tálio.

O Gráfico 5 e 6, na página seguinte e Tabela 6 (página 115) mostram os resultados das análises dos extratos submetidos a este equipamento.

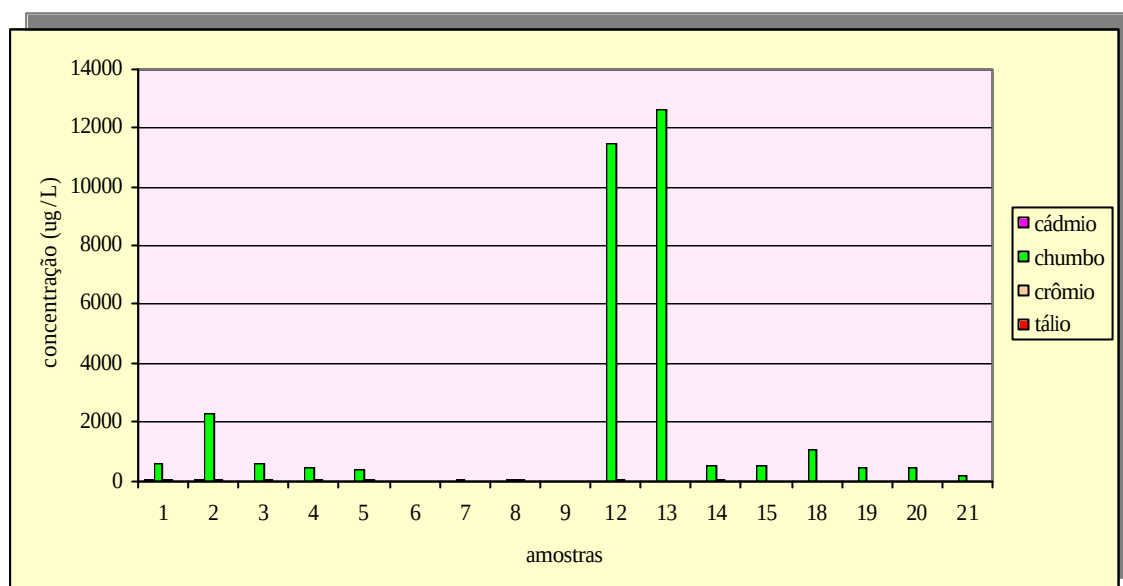


Gráfico 5. Concentração de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos, submetidas à EAA-FG.

Devido a alta concentração das amostras 12 e 13, quando comparadas com as demais amostras, neste gráfico apenas o chumbo está evidenciado. Para que possam ser visualizados os demais metais, do gráfico 6 será excluído o chumbo.

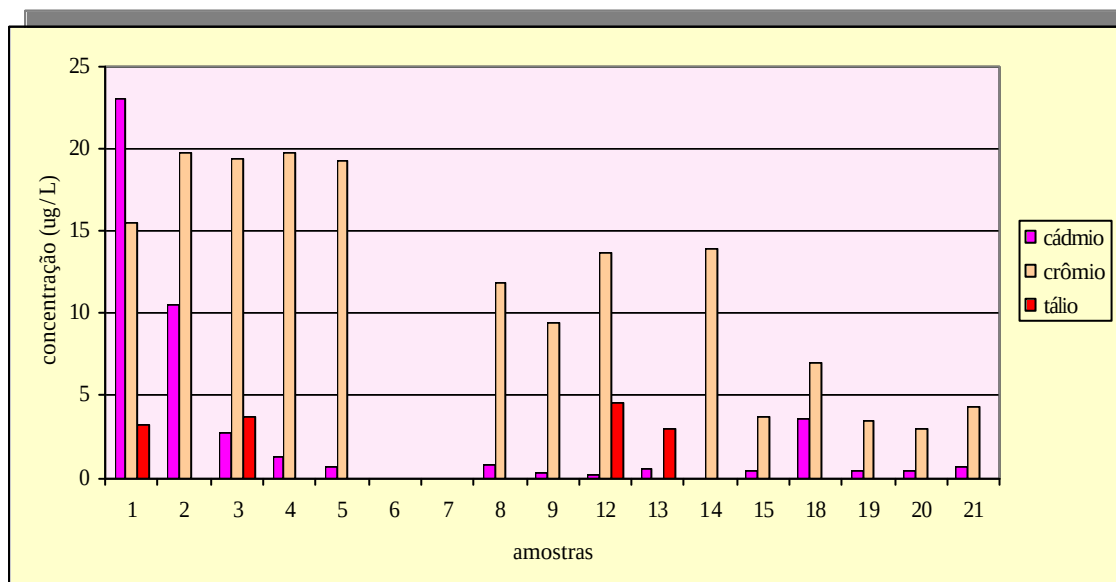


Gráfico 6. Concentração de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos, submetidas à EAA-FG, sem o chumbo.

Os resultados das análises por este equipamento também estão apresentados por amostras.

Tabela 6. Resultados da determinação de metais em amostras de extratos hidroalcoólicos de própolis por EAA-FG. Valores expresso em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Extratos	Metais			
	cádmio	chumbo	crômio	tálio
1	23,012 $\pm$ 0,437	560,062 $\pm$ 23,522	15,44 $\pm$ 0,200	3,25 $\pm$ 0,975
2	10,461 $\pm$ 0,010	2309,68 $\pm$ 143,200	19,79 $\pm$ 0,515	ND
3	2,763 $\pm$ 0,080	597,929 $\pm$ 11,956	19,44 $\pm$ 0,156	3,66 $\pm$ 0,062
4	1,33 $\pm$ 0,035	447,344 $\pm$ 20,130	19,71 $\pm$ 0,237	ND
5	0,72 $\pm$ 0,065	385,974 $\pm$ 10,421	19,22 $\pm$ 0,173	ND
6	ND	ND	ND	ND
7	ND	57,226 $\pm$ 12,818	ND	ND
8	0,827 $\pm$ 0,022	52,338 $\pm$ 10,153	11,83 $\pm$ 1,727	ND
9	0,346 $\pm$ 0,045	ND	9,400 $\pm$ 0,677	ND
12	0,238 $\pm$ 0,029	11444,403 $\pm$ 308,998	13,700 $\pm$ 0,562	4,59 $\pm$ 1,166
13	0,595 $\pm$ 0,010	12618,513 $\pm$ 340,698	ND	2,99 $\pm$ 0,087
14	ND	498,230 $\pm$ 20,205	13,87 $\pm$ 0,679	ND
15	0,465 $\pm$ 0,040	505,328 $\pm$ 18,192	3,780 $\pm$ 0,412	ND
18	3,563 $\pm$ 0,064	1070,43 $\pm$ 77,071	7,040 $\pm$ 2,260	ND
19	0,380 $\pm$ 0,120	466,917 $\pm$ 23,346	3,49 $\pm$ 0,222	ND
20	0,489 $\pm$ 0,006	480,854 $\pm$ 20,196	3,03 $\pm$ 0,255	ND
21	0,689 $\pm$ 0,077	184,418 $\pm$ 10,143	4,300 $\pm$ 0,211	ND

ND = Não detectável

4.3.2.1. Extratos hidroalcoólicos de própolis

?? **Amostra 1.** Extrato *Nese Draper* da Veromed – Pelotas/RS.

Nesta amostra foram detectados, em concentrações muito baixas o cádmio com 23,01ppb, o chumbo 560,06ppb, o crômio 15,44ppb e o tálio 3,25 ppb e só foram detectados pela sensibilidade do equipamento. Este resultado demonstra a segurança no que se refere a este extrato aquoso concernente a contaminantes metálicos, vez que, estas concentrações detectadas não produziram danos toxicológicos ao ser humano, quer fosse criança ou adulto.

?? **Amostra 2.** Extrato hidroalcoólico da Supermel – Maringá/PR.

Ratificando o que foi observado no EAA-chama, não foi detectado, por este equipamento o tálio. O chumbo que fora detectado, mesmo em baixa concentração, neste equipamento foi detectado na concentração de 2309,68 ppb, contudo também em baixa concentração; o cádmio na concentração de 10,46 ppb e o crômio 19,79 ppb. A concentração detectada para o chumbo não oferece importância toxicológica visto ser de pouca absorção por via oral, no adulto. Para a criança, cuja absorção e sensibilidade, nesta concentração existe importância toxicológica, principalmente considerando que o chumbo apresenta efeito cumulativo dose dependente.

?? **Amostra 3.** Extrato hidroalcoólico da Visserex – PaqueraAçu/SP.

Todos os metais detectados, mesmo em baixas concentrações, por este equipamento foram detectados. O cádmio foi detectado na concentração de 2,76 ppb, o chumbo 597,92 ppb, o crômio 19,44 ppb e o tálio 3,66 ppb. Nestas concentrações, os metais tóxicos detectados nesta amostra não apresentam importância toxicológica.

?? **Amostra 4.** Extrato hidroalcoólico da Herbarium – Colombo/PR.

Nesta amostra o tálio não foi detectado. Os demais metais foram detectados em baixas concentrações. O cádmio foi detectado na concentração de 2,76 ppb, o chumbo 447,34 ppb, o crômio 19,44 ppb. Igualmente, nestas concentrações, estes metais não apresentam importância toxicológica.

?? **Amostra 5.** Extrato hidroalcoólico da Apis Flora – Ribeirão Preto/SP.

O tálio não foi detectado nesta amostra. O cádmio foi detectado em baixa concentração 0,72 ppb, o chumbo 385,97 ppb e o crômio 19,22 ppb. Nestas baixas concentrações estes metais não apresentam importância toxicológica.

?? **Amostra 6.** Extrato hidroalcoólico do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Nesta amostra nenhum dos metais pesquisados por este equipamento foi detectado (cádmio, chumbo, crômio e tálio). Nesta amostra foram detectados os macroelementos e oligoelementos determinados em EAA-chama. A presença de macroelementos e oligoelementos e ainda a não detecção de metais tóxicos fariam desta uma amostra seleta, ainda mais se apresentassem concentrações de macro e oligoelementos satisfatórias, ou seja, em teor maior desses metais.

Entretanto, convém lembrar que esta amostra foi adquirida do Esquadrão da Vida, Bauru, cujo insumo (amostras 10 e 11) apresentava elevada concentração de chumbo à ponto de não serem submetidas a este equipamento (EAA-FG).

Esta amostra caracteriza o que se esperaria em detecção de elementos metálicos. A ausência de metais tóxicos mostrou que, ou a procedência deste extrato era outro insumo, sem contaminantes de metais tóxicos ou que, pela baixa concentração da própolis os metais tóxicos, que são contaminantes, no preparo do extrato foram expurgados.

?? **Amostra 7.** Extrato hidroalcoólico do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Nesta amostra apenas o chumbo foi detectado em concentração muito baixa, 57,22 ppb. Os demais metais analisados por este equipamento não foram detectados. O chumbo detectado nesta concentração não apresenta importância toxicológica.

Esta amostra também é oriunda do Esquadrão da Vida, Bauru, e apresentou-se de forma diversa da amostra 6. Na análise em EAA-chama foi detectado um metal tóxico, o níquel. Os oligoelementos pesquisados não se apresentaram de forma completa como a amostra 6. Esta observação serve para mostrar a heterogeneidade das amostras *in natura*, no que se refere aos metais.

?? **Amostra 8.** Extrato hidroalcoólico da Supermel – Maringá/SP.

O tálio não foi detectado nesta amostra. Os demais foram detectados em concentrações muito baixas e não apresentando, portanto, importância toxicológica. Foram detectados o cádmio com 0,82 ppb, o chumbo 52,33 ppb e o cromo 11,83 ppb.

Igualmente pobre foram as concentrações dos macro e oligoelementos detectados.

?? **Amostra 9.** Extrato hidroalcoólico da Supermel - Maringá/SP

Nesta amostra não foram detectados o chumbo e o tálio. O cádmio e cromo em concentrações muito baixa 0,34 ppb e 9,40 ppb respectivamente. Similarmente as demais amostras também não apresentam importância toxicológica.

A concentração dos macroelementos também foi baixa e os oligoelementos, analisados em EAA-Chama também foram escassos.

?? **Amostra 12.** Extrato hidroalcoólico da Apis Flora – Ribeirão Preto/SP

Esta amostra, considerando todas as demais, apresentou-se com a detecção de chumbo elevada na concentração de 11444,40 ppb, divergindo de todas as amostras de extratos hidroalcoólicos, excetuando-se a 13 que apresentou comportamento similar no que se relaciona ao chumbo. Apesar de ainda assim, não representando uma concentração elevada, mas em se tratando de extrato, este achado passa a representar importância toxicológica se esta amostra fosse administrada em crianças. Os demais metais, sem

importância toxicológica, apresentaram baixa concentração, sendo que o cádmio 0,23 ppb, o crômio 13,79 ppb e o tálio 4,59 ppb.

?? **Amostra 13.** Extrato hidroalcoólico da Apis Flora – Ribeirão Preto/SP

O crômio não foi detectado por este equipamento. No que se refere ao chumbo, este similarmente ao encontrado na amostra 12, se apresentou até mais elevado que aquela amostra na concentração de 12618,51 ppb. Se para estas amostras houvesse também amostra de própolis *in natura*, poder-se-ia observar se estas apresentariam concentrações que pudessem ser transferidas para os respectivos extratos, contaminando-o. Entretanto, se observarmos as amostras de extratos, das quais as amostras *in natura* apresentavam detecção elevada, em EAA-chama, aquelas apresentaram baixa concentração, ou até mesmo nem foi detectado o chumbo (amostras 6 e 7 do Esquadrão da Vida). Assim, por esta comparação, a própolis *in natura*, nesta situação, não contaminou a amostra que, pretensamente teria sido originada desse insumo. Se for aceito esta possibilidade, resta então, que este extrato, assim como a amostra 12, com maior possibilidade, os frascos no qual acondicionou as amostras estariam contaminados. Não foi possível determinar a procedência desta contaminação.

Nas concentrações em que o chumbo foi detectado, tanto na amostra 12 quanto na amostra 13, se ministrado em crianças, pela maior absorção e cumulação no organismo em desenvolvimento e pela maior toxicidade que este metal produz nelas, haveria que ser observada a importância toxicológica se administrado oralmente.

O cádmio foi detectado em baixa concentração de 0,59 ppb, portanto não resultando em importância toxicológica.

?? **Amostra 14.** Extrato hidroalcoólico de própolis da Brasil Própolis – Santa Rita/SP

Não foram detectados, nesta amostra, o cádmio e o tálio. O chumbo e o cromo foram detectados em baixa concentração de 498,23 ppb e 13,87 ppb, respectivamente, e sem importância toxicológica.

?? **Amostra 15.** Extrato hidroalcoólico de própolis da Brasil Própolis – Santa Rita/SP

O tálio não foi detectado por este equipamento. Os demais elementos foram detectados em concentrações baixas, a saber: o cádmio 0,46 ppb, o chumbo 505,32 ppb e o cromo 3,78 ppb, todos sem importância toxicológica.

?? **Amostra 18.** Extrato hidroalcoólico de própolis da CEPEL – Recife/PE

Nesta amostra não foi detectado o tálio. Foram detectados o cádmio com 3,56 ppb, o chumbo 1070,43 ppb e o cromo 7,04 ppb, portanto pela baixa concentração não apresentando importância toxicológica.

?? **Amostra 19.** Extrato hidroalcoólico de própolis da CEPEL – Recife/PE

O tálio não foi detectado por este equipamento. Os demais metais foram detectados em concentrações baixas e sem importância toxicológica. O cádmio apresentando uma concentração de 0,38 ppb, o chumbo 466,91 ppb e o cromo 3,49 ppb.

?? **Amostra 20.** Extrato hidroalcoólico de própolis da WENZEL – Picus/PI

Não foi detectado o tálio por este equipamento. O cádmio, o chumbo e o crômio foram detectados em baixas concentrações, apresentando respectivamente 0,48 ppb; 480,85 ppb e 3,03 ppb e nestes teores não apresentam importância toxicológica.

?? **Amostra 21.** Extrato hidroalcoólico de própolis da WENZEL – Picus/PI

Similarmente à amostra 20, do mesmo produtor, o tálio não foi detectado. Os demais metais pesquisados neste equipamento foram detectados nas concentrações: o cádmio 0,68 ppb, o chumbo 184,41 ppb e o crômio 4,30 ppb e igualmente não apresentam importância toxicológica.

Mesmo não havendo estudo quanto a contaminantes metálicos em própolis e também não existindo valores de referência para estes metais, no que se refere a estas amostras pode-se observar que a detecção de metais tóxicos, com exceção das amostras 12 e 13 foram em níveis de ppb, enquanto que os limites de contaminação para os diferentes tipos de alimentos e bebidas alcoólicas são em ppm (Quadro 2 e 3, anexos 1 e 2).

Observa-se ainda neste no anexo 1, entretanto, que o chumbo seria o metal que mais se aproximou, quando não ultrapassou (amostras 12 e 13) do valor de tolerância no Quadro 1, página 9, sugerindo assim, que a própolis deveria ser submetido a um controle, no que se refere a este metal, de tal modo que um indivíduo, principalmente a criança, não ficasse exposto a ingestão, quando da utilização da própolis.

4.3.2.2. Amostras de própolis *in natura*

O Gráfico 7 e a Tabela 7, página 128 mostram as concentrações nas amostras 16, 17, 22 e 23 de própolis *in natura* analisadas em EAA-FG, onde foram pesquisados o cádmio, o chumbo, o crômio e o tálio.

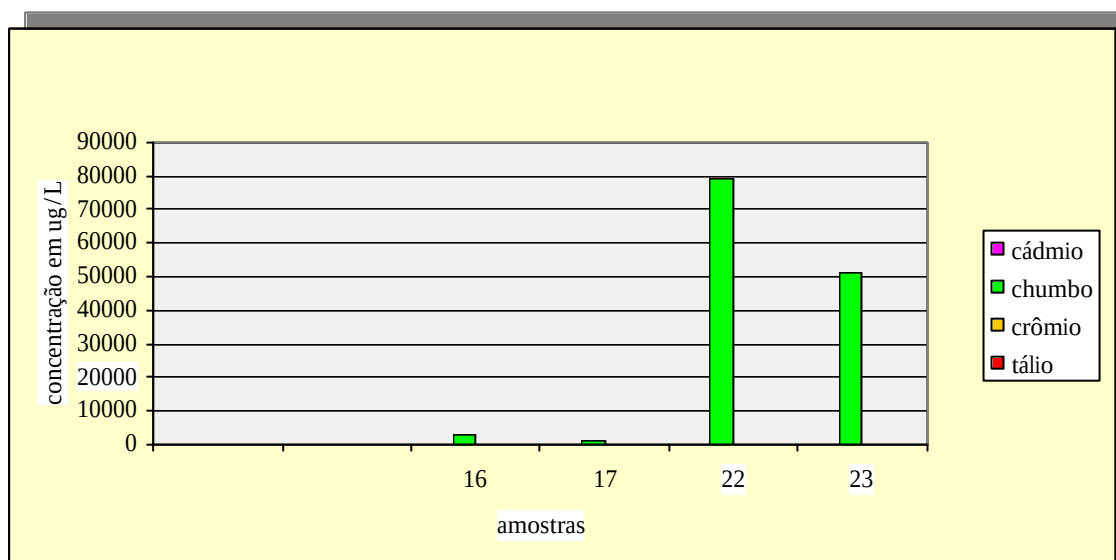


Gráfico 7. Concentração de metais em amostras de própolis *in natura* por EAA-FG.

Observa-se que as amostras 10 e 11 não constam no gráfico 7, nem na tabela 7, página 128. Isto se deve ao fato destas amostras não ter sido submetidas a este equipamento para detecção de chumbo. Quando das análises em EAA-chama, estas amostras, principalmente a amostra 11, a concentração de metal só foi possível ser realizada após a diluição de 1:10, manualmente, e desta forma, possibilitou a detecção e leitura da referida amostra. A amostra 10 foi detectada sem a necessidade de diluição, mas como já havia apresentado uma concentração que ainda resultou ser maior do que as demais amostras *in natura*, deixou-se de analisá-la em EAA-FG.

O comportamento analítico em não submeter a amostra 10 à EAA-FG, mostrou-se coerente quando das análises das amostras 22 e 23, que apresentaram em menor concentração que a amostra 10, em EAA-chama, como pode ser observado na

Resultados e Discussão

Tabela 4, página 92, mas que, para que o equipamento procedesse a análise destas amostras (22 e 23) fez três consecutivas diluições, promovidas automaticamente pelo equipamento.

Desta forma, já se sabia do alto teor de contaminação para o chumbo que as amostras 10 e 11 apresentavam e como já foi referido quando da apresentação dos resultados dessas amostras submetidos a EAA-chama.

Os resultados que serão apresentados serão das amostras 16 e 17 e 22 e 23 de própolis *in natura*.

As amostras 10 e 11, no entanto foram submetidas ao EAA-FG para análises dos metais cádmio, crômio e tálio.

O chumbo, pela concentração alta, encobre os demais metais que foram pesquisados por este equipamento, assim, para a construção do gráfico 8, este metal foi retirado e assim pode-se visualizar os metais presentes nas amostras, inclusive as amostras 10 e 11.

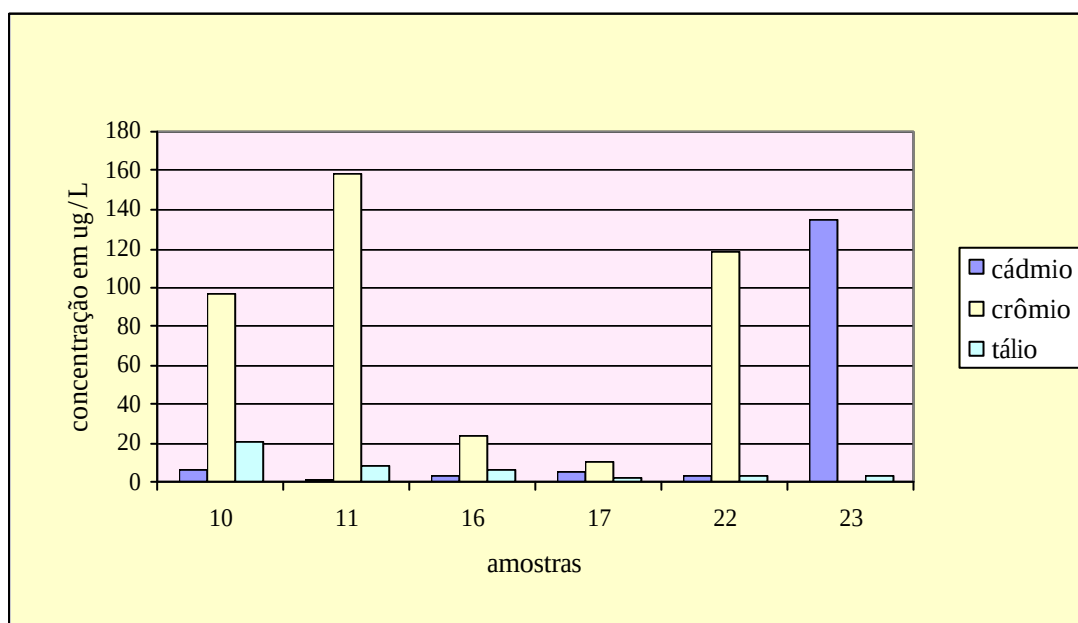


Gráfico 8. Concentração de metais, exceto o chumbo, em amostras de própolis *in natura* por EAA-FG.

?? **Amostra 10.** Amostra de própolis *in natura* do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

A amostra 10 apresentou uma concentração de cromo de 96,77 ppb. Entretanto esta concentração é baixa. O cádmio na concentração de 6,82 ppb e o tálio 21,09 ppb igualmente muito baixa e sem importância toxicológica. Como já foi relatado, o chumbo não foi submetido a este equipamento.

?? **Amostra 11.** Amostra de própolis *in natura* do Esquadrão da Vida – Bauru/SP.

Nesta amostra foi detectado o cromo, excetuando o chumbo que não foi submetido a este equipamento, em maior concentração, com 158,04ppb. O cádmio em muito baixa concentração, com 1,6 ppb, e o tálio 8,52 ppb que, mesmo sendo muito baixa a concentração, é a amostra que apresentou a maior concentração deste metal, mas ainda assim sem importância toxicológica.

?? **Amostra 16.** Amostra de própolis *in natura* da Brasil Própolis – Santa Rita/SP.

O cádmio, cromo e tálio foram detectados em concentrações muito baixas, apresentando 4,01 ppb, 24,20 ppb e 6,34 ppb respectivamente.

A própolis *in natura* é o insumo concentrado que originará os extratos, e que está exposta a possíveis contaminantes ambientais. Nesta amostra foi detectada baixa concentração do chumbo com 2910,02 ppb. Assim, nesta concentração possivelmente os extratos oriundos deste insumo seriam isentos ou com baixa concentração deste e outros metais contaminantes. Pelas concentrações dos metais tóxicos, esta amostra não apresenta importância toxicológica.

?? **Amostra 17.** Amostra de própolis *in natura* da Brasil Própolis – Santa Rita/SP.

Esta amostra, do mesmo apiário da amostra 16 e apresentou concentrações similares, onde os metais pesquisados apresentaram-se em baixas concentrações, a saber, o cádmio, ligeiramente maior que na amostra 16, com 5,69 ppb, o chumbo 1200,39ppb, o crômio 11,12 ppb e o tálio 2,82 ppb representando valores ínfimos. Mesmo nesta concentração, esta amostra apresentou um teor baixo de chumbo. Semelhante a amostra 16, do mesmo apiário, esta amostra não apresenta importância tóxica.

?? **Amostra 22.** Amostra de própolis *in natura* da Wenzel – picus/PI

Dentre as amostras submetidas a análises em EAA-FG, a amostra 22 foi a que apresentou maior concentração de chumbo. Esta amostra, para que pudesse ser determinada a concentração do chumbo por este equipamento, sofreu tríplex diluição realizada automaticamente pelo equipamento.

Assim, tem-se na amostra de Picus, Piauí, de uma área de menor desenvolvimento, excetuando a amostra oriunda de Bauru, SP, a que apresentou a maior concentração de chumbo, no teor de 79105,60 ppb. Há de se ressaltar que apesar do teor de chumbo, as amostras de extratos hidroalcoólicos (20 e 21), deste mesmo produtor, este metal não foi detectado em EAA-chama (Tabela 4, página 92) e detectado em baixo teor em EAA-FG (Tabela 7, página 128).

Nesta concentração, a importância toxicológica desta amostra se restringe àqueles que fazem uso da própolis nesta forma de apresentação.

Foram detectados em baixas concentrações os demais metais submetidos a este equipamento, sendo o cádmio na concentração de 3,39 ppb, crômio 134,51 ppb e tálio 3,26 ppb.

?? **Amostra 23.** Amostra de própolis *in natura* da Wenzel – picus/PI

Nesta amostra o chumbo, mesmo numa concentração menor que a amostra 22, com 51165,60 ppb também se apresenta em concentração elevada, porém, em se tratando de amostra *in natura* a sua importância toxicológica estaria restrita a usuários esporádico de consumir a própolis nesta forma de apresentação.

Os demais metais foram detectados em baixa concentração: o cádmio sendo detectado na maior concentração dentre todas as amostras 134,51 ppb, mas apesar disso, ainda é baixa a concentração; o cromo na concentração de 118,74 ppb e o tálio na concentração de 3,62 ppb, portanto em concentrações baixíssimas, só detectáveis devido a sensibilidade do equipamento.

Tabela 7. Resultados da determinação de metais em amostras de própolis *in natura* por EAA-FG. Valores expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Amostras <i>in natura</i>	Metais			
	cádmio	chumbo	cromo	tálio
10	$6,826 \pm 0,000$	*	$96,77 \pm 1,451$	$21,09 \pm 1,539$
11	$1,673 \pm 0,090$	*	$158,04 \pm 2,054$	$8,52 \pm 2,112$
16	$4,016 \pm 0,002$	$2910,02 \pm 0,121$	$24,20 \pm 1,040$	$6,34 \pm 0,684$
17	$5,691 \pm 0,057$	$1200,39 \pm 208,87$	$11,12 \pm 0,133$	$2,82 \pm 1,754$
22	$3,398 \pm 0,465$	$79105,60 \pm 1028,37$	$134,51 \pm 5,515$	$3,26 \pm 0,251$
23	$134,51 \pm 5,514$	$51165,60 \pm 1995,45$	$118,74 \pm 2,968$	$3,62 \pm 1,111$

Valores expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

ND = Não detectável

* Amostras não submetidas à EAA-FG

Os valores aparentemente elevados, detectados nas amostras 12 e 13, de extratos hidroalcoólicos de própolis são na concentração, respectivamente como já citados, são 11.444, 40 e 12.618,51 em ppb, portanto se comparasse com o teor de chumbo permitido para água doce (0,03 mg/L, ppm), por exemplo, este estaria muito além daquelas concentrações permitidas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (quadro 7, anexo 5). Entretanto, não há como comparar substâncias com usos e propriedades diferentes.

O consumo de água é muitas vezes maior que a quantidade diária de própolis, entretanto, a concentração nestas amostras está elevada e como não se tem a dose e frequência que cada indivíduo utilizaria, é difícil realizar uma comparação entre estes valores, já que existem outras formas de utilização (oralmente, chicletes *in natura*)

Estes resultados de teores de chumbo os extratos hidroalcoólicos (amostras 12 e 13) pode decorrer, possivelmente, pela utilização de embalagem (frascos) contaminados.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, através de portarias normatizadoras, relaciona uma série de produtos alimentícios e determina as concentrações máximas permitidas para diferentes metais, entretanto, não foi encontrada qualquer referência a produtos oriundos da abelha, como a própolis, sob qualquer forma, no que se refere ao chumbo (anexo 2, quadro 4).

Os níveis de chumbo em materiais biológicos, de acordo com várias agências constam no quadro 6, anexo 4, onde se pode observar, no Brasil que o valor de referência da normalidade em sangue é até 40 $\mu\text{g-dL}^{-1}$ e o índice biológico máximo no sangue, 60 $\mu\text{g-dL}^{-1}$, determinado pelo Ministério do Trabalho (PAOLIELLO, 2002).

Muitas crianças recebem como primeira medida de tratamento de doenças, principalmente as respiratórias, produtos resultantes de abelhas, incluindo a própolis. A utilização de produtos naturais contaminados pode produzir efeitos tóxicos, mesmo em baixas concentrações. Uma vez que as crianças encontram-se em fase de desenvolvimento, é natural que estejam mais expostas às contaminações ambientais. Neste caso, a própolis contaminada com o chumbo, poderá resultar num dano sério à saúde quando da utilização a longo prazo.

No anexo 3, quadro 5 estão relacionados os níveis de ingestão diária de chumbo, em µg, em americanos, relacionando-os com a faixa etária e o sexo. Não foi encontrada nenhuma referência para a própolis. Unicamente no referido quadro, sem referir o que estaria sendo consumido, limita a concentração diária por faixa etária. Se pretendesse extrapolar para a própolis, esta concentração tanto poderia ultrapassar este limite, no caso de crianças, dependendo da dose/freqüência, como poderia sequer aproximar-se delas.

Estudou-se a própolis de algumas regiões do país e nestas, buscou-se conhecer se as procedências de localizações mais e menos desenvolvidas poderiam resultar em uma menor concentração de metais. Verificou-se que a própolis *in natura* de Bauru/SP (Tabela 3) apresentou uma concentração muito maior que as demais, não foi sequer submetido a EAA-FG, pois, no equipamento de menor sensibilidade, já fora suficiente para detecção do alto teor do chumbo. Este alto teor pode estar relacionado com a contaminação sofrida em Bauru em junho de 2002 (SANTANA et al., 2002). Corroborado por uma outra amostra também do estado de São Paulo, mesmo tendo apresentado chumbo em própolis *in natura*, esta estava aquém da própolis de Bauru em concentração 21 vezes menor, comparadas quando analisadas por EAA-chama, com a amostra de Santa Rita/SP. A amostra de Picus/Piauí quando comparada igualmente à de Bauru, apresentou-se numa concentração 7 vezes menor. Mesmo assim, surpreendentemente, as amostras originárias de Picus/PI, sofreram várias diluições a fim de possibilitar a leitura em EAA-FG.

Observa-se a maior concentração na amostra 11 (tabela 6), representando um percentual de 65% de chumbo de todas as amostras de própolis *in natura*, seguida da amostra 10, com 13% (ambas de Bauru) e as amostras 22 com 9% e a 23 com 7 %. Dentre estas amostras (22 e 23), considerando serem amostras de mesma origem e recebidas numa embalagem única, o percentual é coerente. Entretanto, as amostras 10 e 11, igualmente recebidas na mesma embalagem e igualmente retiradas duas alíquotas para análises, não houve coerência (65 e 13%). Este fato pode ser explicado pela heterogeneidade das amostras e a possível origem diversa da matéria prima.

Desta forma, esperava-se o mesmo grau de contaminação para as amostras de extratos obtidos a partir das própolis *in natura* (mesma procedência).

Contrariamente ao esperado, nestas amostras, o chumbo foi encontrado em níveis de ppb, por EAA-FG. Em EAA-chama, estas amostras, 6 e 7 (EV/Bauru), 14 e 15 (Brasil Própolis) e 20 e 21 (Wenzel/PiauÍ) o metal não foi detectado. Estes dados sugerem que muito provavelmente, o extrato não fora obtido daquelas própolis *in natura*, ou ainda, que o procedimento para obtenção dos extratos expurgam os metais que estariam contaminando a própolis *in natura*.

As amostras 12 e 13 apresentaram os maiores teores de chumbo entre todas as amostras de extratos hidroalcoólicos (36 e 39%, respectivamente), quando analisados por EAA-FG. Estes dados sugerem contaminação da matéria prima ou contaminação via recipientes. Estas amostras de extratos não havia como comparar com os amostras *in natura* pois não se teve acesso a elas.

Nas amostras originárias de Bauru, além do chumbo, também foram detectados outros metais quando analisados em EAA-FG (Cd, Cr e Tl). O significado toxicológico desta contaminação dependerá de fatores individuais e da proporção de uso, o que provavelmente não atingiria os limites permitidos, visto que estes metais foram detectados ao nível de ppb. Deve-se considerar que os valores permitidos para águas no que refere ao cádmio, variam de $0,00001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a $0,005 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, dependendo do tipo de água doce (anexo 5). É necessário considerar, também, que a quantidade de água ingerida será maior que a quantidade de própolis utilizada, e assim, a concentração determinada nas amostras de própolis não apresentaria um significado toxicológico.

A análise realizada para determinação de crômio não determina se é o Cr(VI) ou Cr (III). O primeiro pode produzir danos ao organismo e o segundo é um oligoelemento. A quantidade total no organismo é de $6 \text{ mg}/70\text{kg}$ e, portanto, a concentração na própolis *in natura* é aceitável, independente da valência deste elemento.

Neste trabalho não se busca afetar a credibilidade da própolis, pois sua ação e eficácia terapêutica são indiscutíveis. Mas o que se pretende é que seja acercada de cuidados, visando ao bem-estar e à saúde daqueles que necessitam e têm seus problemas patológicos resolvidos ou minimizados com este produto. Neste sentido, a metodologia de mineralização de extratos hidroalcoólicos e análise de metais em extratos de própolis e própolis *in natura* em EAA-FG deveriam ser incluídos como metodologia de rotina nos procedimentos de controle de qualidade principalmente para chumbo, uma vez que, com o

Resultados e Discussão

desmatamento e a urbanização, as abelhas tendem a buscar o insumo para a produção da própolis em ambientes poluídos (como área asfáltica, locais próximos a fábricas, etc), ficando sujeitas à probabilidade de contaminação com a exposição.

5. CONCLUSÕES

~~ ~~ A complexidade da matriz própolis inviabilizou a retirada do álcool para que se procedesse a mineralização.

~~ ~~ Os extratos hidroalcoólicos podem ser analisados utilizando técnica de mineralização em forno de microondas e Espectrofotometria de Absorção Atômica – Forno de grafite.

~~ ~~ O chumbo foi o metal detectado na maioria dos extratos e em todas as amostras *in natura*, entretanto não foi observada contaminação por chumbo de amostras que poderiam ser provenientes daquelas amostras *in natura* contaminada.

~~ ~~ Detectou-se chumbo em amostras da própolis *in natura* de procedência distante de locais de maior risco de poluição, sugerindo que a localização não as isenta de estarem contaminadas por metais.

~~ ~~ Detectou-se chumbo em amostras da própolis *in natura* de procedência distante de locais de maior risco de poluição, sugerindo que a localização não as isenta de estarem contaminadas por metais.

~~ ~~ O chumbo encontrado em níveis elevados em duas amostras hidroalcoólicas de própolis (12 e 13) sugerem a possibilidade de contaminação nos frascos que as contiveram, recebidas do produtor.

~~ ~~ A possibilidade de metal contaminar o extrato demonstra a necessidade de cuidados na utilização por idosos e crianças por serem mais susceptíveis aos seus efeitos danosos.

Conclusões

~~Os~~ ~~relatos~~ de dermatite por utilização de própolis podem, eventualmente, estar relacionados com um possível contaminante metálico.

~~Os~~ ~~resultados~~ sugerem a necessidade de uma legislação cuidadosa e pertinente, considerando-se para tal, a necessidade de análises com a finalidade de detecção de metais.

~~Em~~ ~~se~~ tratando de uma técnica dispendiosa, metais que não foram detectados neste trabalho ou que foram fracamente detectados poder-se-ia não relacioná-los na determinação, quando de possível legislação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLA, M; CHMIELNICKA, J. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 23, p. 25-53, 1989-1990.

ACKERMANN, T. Fast Chromatography study of propolis crude. **Food Chemistry**, v. 42, p. 135-138, 1991.

AI, L. B.; CHUA, L. H.; NEW, A. L.; LEE, B. L.; LIU, Y. M.; CHIA, S. E.; ONG, C.N. Urinary homovanillic acid (HVA) and vanillylmandelic acid (VMA) in workers exposed to manganese dust. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 64, n. 1-3, p. 89-99, 1998.

ALOPECIA. Disponível em: <http://www.pathology.com>. Acesso em 19 de maio de 2003.

AMR, M. M.; ABBAS, E. Z.; EL-SAMRA, G. M.; EL BATANUONI, M.; OSMAN, A. M. Neuropsychiatric syndromes and occupational exposure to zinc phosphide in Egypt. **Environ. Res.**, v. 73, p. 200-206, 1997.

AMR, M. M.; ABBAS, E. Z.; EL-SAMRA, G. M.; AYAD, F. A. Clinical and biochemical evaluation of hazards in workers occupationally exposed to zinc phosphide pesticide. **Med J. Cairo Univ.** v. 52, n.2, p. 233-242, 1984.

ANALYTICAL METHODS MANUAL FOR GRAPHITE TUBE ATOMIZERS. Victoria, Austrália, 1-193p. 1998.

ANDON, M. B.; LLICH, J. Z.; TZAGOURNIS, M. A.; MATKOVIC, V. Magnesium balance in adolescent females consuming a low- or high-calcium diet. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 63, n. 6, p. 950-953, 1996.

ANDRZEJAK, R.; ANTONOWICZ, J; ANDREASIK, Z. An atypical case of acute zinc poisoning. **Med. Pr.** v. 43, n. 4, p. 329-333, 1992.

ANGOTZI, G.; BATTISTINI, N.; CARBONCINI, F.; CIONI, R.; DESIDERI, E.; PARADISO, C.; NUTI, D.; SARTORELLI, E. Impairment of nervous system in workers exposed to inorganic mercury. **Toxicol. Eur. Res.**, v. 3, n. 6, p. 275-8, 1981.

ARFSTEN, D. P.; AYLWARD L. L.; KARCH N. J. Chromium. In ZELIOKOFF, J. T., THOMAS P. T. **Imunotoxicology of environmental and occupational metals**. London: Taylor & Francis, p. 63-92, 1998.

ARNOLD, M. L.; Mc NEIL, F. E.; CHETTLE, D. R. The feasibility of measuring manganese concentration in human liver using neutron activation analysis. **Neurotoxicol.**, v. 20, n. 2-3, p. 407-12, 1999.

ASANO, S.; ETO, K. KURISAKI, E.; GUNJI, H.; HIRAIWA, K.; SATO, M.; SATO, H.; HASUIKE, M.; HAGIWARA, N.; WAKASA, H. Review article: Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning. **Pathol. Int.**, v. 50, n. 3, p.169-74, 2000.

ASTRÓCITOS reativos: glia fibrilarmente aumentada. Disponível em <http://www.wadsworth.org/.../nervous/images/RGO4thum.jpg>. Acesso em: 15 maio 2003.

ATSDR – Agency for Toxic Substance and Disease Registry. **Cadmium** (Update). Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Service, 1998.

ATSDR – Agency for Toxic Substance and Disease Registry. **Toxicological profile for zinc**. Atlanta, 1994. 243p.

ATSDR – Agency for Toxic Substance and Disease Registry. **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta: ATSDR, 1997, 347P.

ATSDR: Agency for Toxic Substance and Disease Registry **Toxicological profile for lead**. Washington, DC: US Department of Health Human and services, Agency for Toxic Substance and Disease Registry, 1997. p 1-262.

ATSDR: Agency for Toxic Substance and Disease Registry **Toxicological profile for lead**. Atlanta,:ATSDR, 1999. 587p.

AUB, J. C.; FAIRHALL, L. T.; MINOT, A. S.; REZNIKOFF, P. Lead poisoning. **Med**, v. 5. p. 399-404, 1925.

BANKOVA, V. S.; POPOV, S. S.; MAREKOV, N. L. High-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. **J. Chromatogr**, v. 242, p.135-143, 1982.

BANSKOTA, A. H.; NAGAOKA, T.; SUMIOKA, L. Y.; TEZUKA, Y.; AWALE, S.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis its active principles in cancer lines. **J. Ethnopharm.**, v. 80 n. 67-73, 2002.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I. K.; ISHII, E.; MIDORIKAWA, K.; KADOTA, S. Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**, v. 8, n.1, p.16-23, 2001.

BANSKOTA, A. H.; TEZUDA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in Pharmacological Research of propolis. **Phytoter. Res.**, v. 15, p. 561-571, 2001.

BARCELOUX, D.G. Manganese. **Clin. Toxicol.**, v. 37, n. 2. P. 293-307, 1999;

BARCELOUX, D.G. Niquel. **Clin. Toxicol.**, v.37, n.2, p. 239-258, 1999.

BARRINGTON, W. W.; ANGLE C. R.; WILLCOCKSON, N. K.; PADULA M. A.; KORN, T. Autonomic Function in manganese alloy workers. **Environ. Res.**, v. 78, n. 1, p. 50-58, 1998.

BASELT, R. C. **Disposition of toxic drugs and chemical in man**. 3th ed., California, 1990. 875p.

BAZO, A. P.; RODRIGUES, M. A. M.; SFORCIN, J. M., de CAMARGO, J. L. V.; RIBEIRO, R. R.; SALVADORI, D. M. F. Protective actions of propolis on the rat colon carcinogenesis. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**, n. 22, p. 183-194, 2002.

BERGLUND, M.; LIND, B.; SÖRENSEN, S.; VAHTER, M. Impact of soil and dust lead on children's blood lead in contaminated areas of Sweden. **Arch Environ Health**, v. 55, p. 93-97, 2000.

BHATTACHARYA, M. Biochemical toxicology of osteoporosis: Mechanisms of cadmium-induced bone loss. In **Biosciences Division**. Disponível em: <http://www.bio.anl.gov/research/images/cadmium.jpg>. Acesso em: 21/06/2003.

BLOOD-lead. Disponível em: <http://courses.nus.edu.sg/course/patleesh/morph/016.jpg>. Acesso em 16 de maio de 2003.

BRITO, F. D. **Toxicologia Humana e Geral**, 2ª ed. Rio de Janeiro, Atheneu: 678p. 1988.

CAMPOS, R. C.de, Avaliação do Conteúdo de Metais em Plantas de Uso na Medicina Popular e em seus Extratos Aquosos. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 16, n. 3, p. 184-187, 1996.

CASARETT, S. L.; DOULL, J. **Toxicology: The Basis Science of Poisoning**. 6th ed. Kansas: McGraw-Hill, Interamericana, 2001. 1236p.

CAVALLERI, A.; GOBBA, F. Reversible color vision loss in occupational exposure to metallic mercury, US. **Environ. Res.**, v. 77, n. 2, p 173-7, 1998.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Preventing lead poisoning in young children: a statement by the Centers for Disease Control. Atlanta: **CDC**, 1991.

CHAN, S.; GERSON, B.; SUBRAMANIAM, S. The role of copper , molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. **Clin. Lab. Med.**, v. 18, n. 4, p. 673-685, 1998

CHANG, J. Medicinal Herbs: Drugs or Dietary Supplements? **Biochem. Pharmacol.**, v. 59, p. 211-219, 2000.

CHENG, S. H.; CHAN, P. K.; WU, R. S. S. The use of microangiography in detecting aberrant vasculature in zebrafish embryos exposed to cadmium. **Aquatic Toxicol.**, n. 52, p. 61-71, 2001.

CHUMBO – QI. Disponível em <http://boasaude.uol.com.br/lib/showDoc.cfm?LibDocID=3859&ReturnCatID=1773-2k>. Acesso em 15 de junho de 2003.

CLASSEN, H. G.; CLASSEN, U. G.; GRIMM, P.; SPEICH, M. Pharmacokinetics or magnesium salts. **Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.**, v. 14, n. 4, p. 261-8, 1992.

CONTI. M. E.; BOTRÈ, F. Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. **Environ. Monit. Assess.**, v. 69, n. 3, p. 267-82, 2001.

DALTON, T. P.; MILLER, M. L.; WU, X.; MENON, A; CIANCIOLO, E.; MCKINNON, R. A.; SMITH, P. W.; ROBINSON, L. J.; NEBERT, D. W. Refining the

mouse chromosomal location of Cdm, the major gene associated with susceptibility to cadmium-induced testicular necrosis. **Pharmacogenetics**, v 10, n. 2, p 441-451, 2000.

De FRANCESCHI, L.; CAPPELLINI, M. D.; GRAZIADEI, G.; MANZATO, F.; OLIVIERI, O.; CORROCHER, R.; FIORELLI, G. BEUZARD. Y.; BRUGNARA, C. The effect of dietary magnesium supplementation on the cellular abnormalities of erythrocytes in patients with beta thalassemia intermedia. **Haemathologica**, v. 83, n. 2, p. 118-125, 1998 .

DEBSKI, R. Terapia ortomolecular e radicais livres. **Rev. Internews**, p 1-16, 1997.

Del CARMEN, E. Ma.; SOUZA, V.; BUCIO, L.; HERNÁNDEZ, E.; DAMIÁN-MATSUMURA, P.; ZAGA, V.; GUTIÉRREZ-RUIZ, Ma. C.. Cadmium induces a1 collagen (I) and metallothionein (II) gene and alters the antioxidant system in rat hepatic stellate cells. **Toxicol.**, n. 170, p. 63-73, 2002.

DETRANO, R. C.; WONG, N. D.; DOHERTY, T. M.; SHAVELLE, R. Prognostic significance of coronary calcific deposits in asymptomatic high-risk subjects. **Am. J. Med.**, v. 102, n. 4, p. 344-9, 1997.

DIETRICH, K.N.; RIS, M. D.; SUCCOP, P. A.; BERGER, O. G.; BORNSCHEIN, R. L. Early exposure to lead and juvenile delinquency. **Neurotoxicol. Teratol.**, v.23, n. 6 p. 511-518, 2001.

DNPM – Departamento Nacional de Produção Mineral. Anuário estatístico do setor metalúrgico 2000. Disponível em [HTTP://www.mme.gov.br](http://www.mme.gov.br). Acesso em 04 de maio de 2001.

DOBROWOLSKI, J. W.; VOHORA, S. B.; SHARMA, K.; SHAH, S. A.; NAQVI, S. A.; DANDIYA, P. C. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **J. Ethnopharmacol.**, v. 35, p. 77-82, 1991

DRASCH, G. A. Lead burden in prehistorical, historical and modern human bones. **Sci. Total Environ.**, v.24, n. 3, p. 199-231, 1982.

DREW, A. K.; MYERS, S. P. Safety issues in herbal medicine: implications for the health professions. **Med. J. Aust.**, v. 166, n. 10, p. 538-541, 1997.

EL SAMRA, G. M.; AMR, M. M.; OSMAN, A. M.; NAHLAH, M. A.. Neuropsychiatric manifestations due to zinc phosphide exposure. **J. Occup. Med.**, v.8, n. 2, p. 177-188, 1984.

ELIN, R. J. Magnesium: the fifth but forgotten electrolyte. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 102, n. 5, p. 616-622, 1994.

ERICSSON, H.; TEDROFF, J.; THOUMAS, K. A.; AQUILONIUS, S. M.; HARTVIG, P.; FASTH, K. J.; BJURLING, P.; LANGSTRÖM, B.; HEDSTRÖM K. G.; HEILBRONN, E. Manganese induced brain lesions in macaca fascicularis as revealed by positron emission tomography and magnetic resonance imaging. **Arch. Toxicol**, v. 66, n. 6, p. 403-407, 1992.

ERITRÓCITO nucleado. Disponível em <http://web.vet.cornell.edu/.../hemogram/images/leadtox2.jpg>. Acesso em: 16 May 2003.

ETO, K.; TOKUNAGA, H.; NAGASHIMA, K.; TAKEUCHI, T. Na autopsy case of minamata disease (metilmercury poisoning)—pathologica view of peripheral nerves. **Toxicol. Pathol.**, v. 30, n. 6, p. 714-722, 2002.

FARIA, M. de A. Merculismo metálico crônico ocupacional. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n.1, p. 116-127, 2003.

FELDMAN, J.; LEVISOHN D. R. Acute Alopecia: Clue to Thallium Toxicity. **Pediatr. Dermatol.**, v. 10, n.1, p. 29-31, 1993.

FERREIRA, A. M. C.; dos SANTOS, M. L. P.; FERREIRA, M. E.; DAMASCENO, M. O., ALVES, W. A. Mimics of copper proteins: structural and functional aspects. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 72, n. 1, p. 51-57, 2000.

FERREIRA, A. D. de Q. O impacto do crômio nos sistemas biológicos. **Quím. Nova**, v. 25, n.4, p.572-578, 2002.

FLAME METHODS MANUAL FOR ATOMIC ABSORPTION BY SCIENTIFIC GBC EQUIPAMENT. Victória, Australia, 1994, 18p.

FRANCO, L. S.; BUENO, J. H. F. Otimização de processo extrativo de própolis. **Infarma**, n. 17, v. 11, 1999.

FUENTES, I. M.; GIL, R. R. Mercurio y salud en la odontología. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n.2, 2003.

FUORTES, L. J., WEISMAN, D. N.; GRAEFF, M. L.; BALE, J. F.; TANNOUS, R.; PETERS, C. Immune thrombocytopenia and elemental mercury poisoning. **Clin.Toxicol.**, v. 33, n.5, p. 449-455, 1995.

GALVÁN-ARZATE, S.; SANTAMARÍA, A. Thallium Toxicity. **Toxicol. Lett.**, v. 99, n. 1, p. 1-13, 1998.

GARCIA, M. C.; BYRD, R. P.; ROY, T. M. Lethal Iatrogenic Hypermagnesemia. **Tenn. Med.**, v. 5, n.8, p. 334-6, 2002.

GENGIVAL lead line in adult with lead poisoning, Disponível em <http://emedicine.com/emerg/images/302Pbline.jpg>. Acesso em: 07 maio 2003.

GONZÁLEZ, M.; GALLEGU, M.; VALCÁRCEL, M. Determination of nickel, chromium and cobalt in wheat flour using slurry sampling eletrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v.48, p. 1051-1060, 1999.

GOSSEL, T. A.; BRICKER, J. D. **Principles of clinical toxicology**. 3th ed. New York: Raven Press, 1994. 447p.

GOYER, R. A.. Toxic effects of metals in: KLASSEN C. D. – Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons, 5th ed. Mc. Graw Hill, p 691-736, 1996.

GRAEME, A. K.; POLLACK, C. V. Heavy metal toxicity, part I: arsenic and mercury. **J. Emerg. Med.**, v. 16, n. 1, p. 45-56, 1998.

HANSEN, J. C.; DANSCHER, G. Organic mercury: an environmental threat to the health of dietary–exposed societies? **Rev. Environ. Health**, v. 12, n. 2, p. 107-116, 1997.

HANSEN, M. B.; RYDIN, S.; MENNE, T.; DUUS JOHANSEN, J. Quantitative aspects of contact allergy to chromium and exposure to chrome-tanned leather. **Contact Dermatitis**, v. 47, n. 3, p. 127-136, 2000.

HARADA, M.; NAKANISHI, J.; YASODA, E.; PINHEIRO, M. C.; OIKAWA, T.; de ASSIS, GUIMARÃES, G.; da SILVA CARDOSO, B.; KIZAKI, T.; OHNO, H. Mercury

pollution in the Tapajos River basin, Amazon: mercury level of head hair and health effects. **Environ. Int.**, v. 27, n.4 p. 285-290, 2001.

HARADA, M.; AKAGI, H.; TSUDA, T. KIZAKI, T.; OHNO, H.. Methylmercury level in umbilical cords from patients with congenital Minamata disease. **Sci. Total Environ.**, v.234, p. 59-62, 1999.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **The Pharmacological basis of therapeutics**. 10th ed. New York: McGraw-Hill International, 2001. 1436p.

HARGREAVES, R.J.; EVANS, J. G.; JANOTA, I.; MAGOS, L.; CAVANAGH, J. B. Persistent mercury in nerve cells 16 years after metallic mercury poisoning. **Neuropathol. Appl. Neurobiol.**, v. 14, p 443-452, 1988.

HASSOUN, S.; SABBAH, A.; BOUCHEREAU, J. L. Rhinite non allergique ou rhinite intrinseque? Aspectos inhabituels de l' allergie au nickel. **Allerg. Immunol.**, v. 31, n. 2, p. 57-9, 1999.

HAUSEN, B. M.; WOLLENWEBER, E.; SENFF, H.; POST, B. Propolis allergy (I). Origin, properties, usage and literature review. **Contact Dermatitis**, v. 17, p. 163-170, 1987.

HEIN, M. S. Copper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxicity: a case report. **S D J Med**, v. 56, n. 4, p. 143-147, 2003.

HEMÁCEAS. Disponível em <http://courses.nus.edu.sg/courses/patleesh/morph/016.jpg>. Acesso em: 13 mar. 2003.

HENRIQUES, G. S.; HIRATA, M. H.; COZZOLINO, S. M. F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da enzima conversora angiotensina. **Rev. Nutr.**, v. 16, n. 3, p. 333-345, 2003.

HERSCHEL, M.; MITTENDORF, R. Toxicolytic magnesium sulfate toxicity and unexpected neonatal death. **J. Perinatol.**, v.24, n. 4, p 261-262, 2001.

HUNTER, D.; BOMFORD, D. S.; RUSSEL, R. R. Poisoning by methylmercury compounds. **Quart. J. Med.**, 9, p. 193-213, 1940.

IARC: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Update of **IARC** Monographs. Vols 1 to 42. Suppl 7. Lyons, France: IARC, 1987. p 230-232.

IARC. Chromium, nickel and welding. Lyon: WHO/IARC, 1990. (**IARC** Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemical to man, v. 49).

ISHIHARA, H. Bibliographical study of Minamata disease. **Nippon Eiseigaku Zasshi**, v. 56, n. 4, p. 649-54, 2002.

ITO, J.; CHANG, F-R.; WANG, H-K.; PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; KILGORE, N.; LEE, K-H. . Anti-AIDS agents. 48.1 Anti- HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from brazilian propolis. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p 1278-1281, 2001.

JÄRUP, L. Cadmium overload and toxicity. Nephrol. **Dial. Transplant.**, v. 17, suppl. 2, p. 35-39, 2002.

JOHNSON, S. The multifaceted and widespread pathology of magnesium deficiency. **Med Hypothesis**, v. 56, n. 2, p. 163-170, 2001

JONES, D. W. Exposure or absorption and the crucial question of limits for mercury. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 65, n. 1, p. 42-46, 1999.

JONES, J.; HEISELMAN, D.; DOUGHERTY J.; EDDY, A. Cathartic-induced magnesium toxicity during overdose management. **Ann. Emerg. Med.**, v. 15, n. 10, p. 1214 – 1218, 1986.

JUNKO, I.; CHANG, F-R.; WANG, H-K.; PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; KILGORE, N.; LEE, K-H. Anti-AIDS agents. 48.¹ Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from brasilian propolis. **J. Nat. Prod.** V.64, p. 1278-1281, 2001.

KANERVA, L.; ALANKO, K.; JOLANKI, R.; ESTLANDER, T. Laboratory assistant's occupational allergic airborne contact dermatitis from nickel presenting as rosacea. **Eur. J. Dermatol.**, v. 9, n. 5, p. 397-8, 1999.

KATOH, Y.; SATO, T.; YAMAMOTO, Y. Determination of multielement concentration in normal human organs from Japanese. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 90, n. 1-3, p. 57-70, 2002.

KATHURIA, P.; JADAV, P. Lead nephropathy, **Pharmacy EMedicine**, 13 Mar 2003, Disponível em: [HTTP://www.emedicine.com/med/images/3716batumanhist.jpg](http://www.emedicine.com/med/images/3716batumanhist.jpg). Acesso em: 07 maio 2003.

KAUFMANN, R. B.; CLOUSE, T. L.; OSLOM, D. R.; MATTE, T. D. Elevated blood lead levels and blood screening among US children aged one to five years: 1988-1994, **Pediatrics**, v. 106, n.6, 2000.

KING, N. F.; SHAMES, D.M.; WOODHOUSE, L. R. Zinc homeostasis in humans. **J. Nutr.**, v. 130, p. 130, p. 1360S-1366S, 2000.

KNIGHT, A. L. Mercury and its compounds. In ZENZ, C. (Ed.) Occupational Medicine: principles and practical applications. **Year Book Med. Pub.**, 1975. P. 668-677.

KODAVANTI, U. P.; SCHLADWEILER, M. C.; LEDBETTER, A. D.; HAUSER, R.; CHRISTIANI D. C.; SAMET, J. M.; MCGEE, J.; RICHARDS, J. H.; COSTA, D. L. Pulmonary and systemic effects of zinc containing emission particles in three rat strains: multiple exposure scenarios. **Toxicol. Sci**, 70, n° 1, p. 73-78, 2002.

KOSONOCKA, L. Propolis fortalece o sistema imunológico. **Rev. Bras. Apicultura**, p. 22-24, 1991. (Retirado e traduzido da revista Am. Bee J. (julho) 1990).

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y. BANKOVA, V. CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **J. ethnopharmacol.**, v. 64, p. 235-240, 1999.

KURISAKI, E.; KURODA, Y.; SATO, M. Copper-binding in acute copper poisoning. **Forensic Sci. Int.**, v. 38, p 3-11, 1988

LAG, M.; WESTLY, S. LERSTAD, T.; BJORNSRUD, C.; REFSNES, M; SCHWARZE, P. E. Cadmium induced apoptosis of primary epithelium lung cells: involvement of Bax and p53, but not of oxidative stress. **Cell. Biol. Toxicol.**, v.18, n.1, 29-42, 2002.

LANPHEAR, P. B.; MATTE, T. D.; ROGERS, J.; CLICKNER, R. P.; DIETZ, B.; BORNSCHEIN, R. L.; SUCCOP, P.; MAHAFFEY, K. R.. The contribution of lead contaminated house dust and residential soil to children's blood lead levels. **Environ. Res.**, v. 79, p. 51-68, 1998.

LARINI, L. **Toxicologia**. Ed Manole Ltda, 315p, 1987.

LEAD TOXICITY. Disponível em: <http://emedicine.com/emerg/images/302Pbline.jpg>. Acesso em: 4 de maio de 2003.

LEAD TOXICITY. Disponível em: <http://www.chem.nwu.edu/~hagodwin/toxicity.html>. Acesso em: 4 de maio de 2003.

LEDON, N.; CASACÓ, A.; GONZÁLEZ, R.; BRACHO, J.; ROSADO, A. Assessment of potential dermal and ocular toxicity and allergic properties of an extract of resin propolis. **Arch. Dermatol. Res.**, n. 293, p. 594-596, 2001.

LEE, J.; PEÑA M.M.; NOSE, Y.; THIELE, D. J. Biochemical characterization of the human copper transporter Ctr1. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n.6, p. 4380-4387, 2002.

LÉONARD, A.; GERBER, G. B. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of thallium compounds. **Mut. Res.**, n. 387, p. 47-53, 1997.

LEUNG, K. M.; OIO, V. E. Studies on thallium toxicity, its tissue distribution and histopathological effects in rats. **Chemosphere**, v. 41, n. 1-2, p.155-9, 2000.

LIEBERMAN, H. D.; FOGELMAN, J. P.; RAMSAY, D. L.; COHEN, D. E. Allergic contact dermatitis to propolis in a violin marker. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 46, n. 2, p. 530-531, 2002.

LIN, T. J.; HUNG, D. Z.; HU, W.H.; YANG, D. Y.; WU, T. C.; DENG, J. F. Calcium oxalate is the main toxic component in clinical presentations of alopecia macrorrhiza (L) Schot and Endl poisonings. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 40, n. 2, p. 93-95, 1998.

LU, J. F.; NIGHTINGALE, C. H. Magnesium sulfate en eclampsia and pre-eclampsia: pharmacokinetic principles. **Clin. Pharmacokinet**, v. 38, n.4, p305-314, 2000.

LUO, J.; SOH, J. W.; XING, W. Q.; MAO, Y.; MATSUNO, T.; WEINSTEIN, I. B. PM-3 a benzo-gamma-pyran derivative isolated from propolis, inhibits grow of MCF-7 human breast cancer cells. **Anticancer Res**, v. 21, n.3B, p. 1665-1671, 2001.

MARCUCCI M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutics activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.

MARCUS, S. Toxicity, lead, em 4 de junho de 2001. Disponível em: <http://www.emedicine.com/emerg/topic293.htm>. Acesso em: 30 de abril de 2003.

MATSUDA, Y.; MAEDA, Y.; ITO, M.; SAKAMOTO, H.; MASAOKA, N.; TAKADA, M.; SATO, K. Effect of magnesium sulfate treatment on neonatal bone abnormalities. **Gynecol. Obstet. Invest.**, v. 44, n. 2, p 82-88, 1997.

MATTILA, L.; KILPELÄINEN, M.; TERHO, E. O.; KOSKENVUO, M.; HELENIUS, H.; KALIMO, K. Prevalence of nickel allergy among Finnish university students in 1995. **Contact Dermatitis**, v. 44, n. 4, p. 218-23, 2001.

MAYER, M. G.; WILSON, D. N. Health and safety – the downward trend in lead levels. **J. Power Sources**, v. 73, p. 17-22, 1998.

McFARLAND, R. B.; REIGEL, H. Chronic mercury poisoning from a single brief exposure. **J. Occup.Med.**, v. 20, n. 8, 1978.

MENEZES, H.; ALVAREZ, J. M.; ALMEIDA, E. Mouse ear edema modulation by different propolis ethanol extracts. **Arzneimittel-Forschung**, v. 49 (II), n. 8, p. 705-707, 1999.

MERCURY CICLE. Disponível em: <http://www.pasture.enn.purdue.edu/~mercury/scr/cycle.htm>. Acesso em: 09 de outubro de 2003.

METALOTIONEÍNA. Disponível em: http://www.anl.gov/OPA/factsheets/r7_2.jpg. Acesso em: 12 de março de 2003.

MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA, T.; MATSUSIGE, K.; MASSAGE, D.; HUERTAS, A. A. G.; KADOTA, S. Liquid

Chromatography-mass spectrometry analysis of Propolis. **Phytochem. Anal.**, v.12, p. 366-373, 2001.

MORTZ, C. G.; LAURITSEN, J. M.; BINDSLEV-JENSEN, C.; ANDERSEN, K. E. Nickel sensitization in adolescents and association with ear piercing, use of dental braces and eczema. The Odense Adolescence Cohort Study on Atopic Diseases and Dermatitis (TOACS). **Acta Derm. Venereol.**, v. 82, n. 5, p. 359-364, 2002.

MOORE, D; HOUSE, I.; DIXON, A. Thallium poisoning. Diagnosis may be elusive but alopecia is the clue. **BMJ**, v. 306, n. 6891, p. 1527-9, 1993.

MULKEY, J.P.; OEHME, F. M. A Review of Thallium Toxicity. **Vet Hum Toxicol**, v. 35, n.5, p. 445-53, 1993. Erratum in: **Vet. Hum. Toxicol**. v. 35, n.6, p.511, 1993.

NAKAI, K.; SATOH, H. Development neurotoxicity following prenatal exposures to methylmercury and PCBs in human from epidemiological studies. **Tohoku J. Exp. Med.**, v. 196, n.2, p. 89-98, 2002.

NIELSEN, J. B.; ANDERSEN, O. Oral mercury chloride exposure in mice: effect of dose on intestinal absorption and relative organ distribution. **Toxicol.**, v. 59, n.1, p. 1-10, 1989.

NIELSEN, G. D.; ANDERSEN, O. JENSEN. M. Toxicokinetics of nickel in mice studied with the gamma-emitting isotope ⁵⁷Ni. **Fundam. Appl. Toxicol.**, v. 21, n. 2, p. 236-243, 1993.

NIEVA MORENO, M.I.; ISLA, M.I.; CUDMANI, N. G.; VATUONE M. A; SAMPIETRO, A. R. Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. **J. Ethnopharmacol.**, v. 68, n.1-3, p. 97-102, 1999.

NOCENTINI, S. inhibition of DNA replication and repair by cadmium in mammalian cells. Protective interaction of zinc. **Nucleic Acid Res.**, v.15, n. 10, p. 4211-4225, 1987.

NRIAGU, J. O. A history of global metal pollution. **Science**, v.272, p. 223-224, 1996.

OGA, SEIZE. **Fundamentos de Toxicologia**, São Paulo: Atheneu, 1996. 515 p.

OKADA, I. A.; SAKUMA, A. M.; MAIO, F. D.; DOVIDAUSKAS, S.; ZENEBO, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação

ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.31, n. 2, p. 140-143, 1997.

OLIGOELEMENTOS – cobre. Disponível em:
<http://www.oligopharma.com.br/oligoelementos/cobre.htm>. Acesso em: 29 de março de 2003.

OLIVEIRA, J. J.; SILVA, S. R. A. S. Hipertensão arterial secundária a intoxicação por mercúrio com síndrome laboratorial simulando feocromocitoma. **Arq. Bras. Cardiol**, v.66, n.1, p.29-31, 1996.

OLIVEIRA, J. P. Níquel. In: AZEVEDO, A.; CHASIN, A.A. M. Metais – Gerenciamento da toxicidade, São Paulo: Atheneu, 2003. p. 127-142.

OLLER, A. R. Respiratory carcinogenicity assesement of soluble nickel compounds. **Environ. Health. Perspect**, v. 110, suppl 5, p. 841-4,. 2002.

ONOSAKA, S.; TETSUCHIKAHARA, N.; MIN. K. S. Paradigm shift in zinc: metal pathology. **Tohoku J. Exp. Med.**, v. 196, n. 1, p. 1-7, 2002.

ONUKE, J.; TEIXEIRA, P. C.; MEDEIROS, M. H. G.; Di MASCIO, P. Danos ao DNA Promovido por Ácido 5-aminolevulínico: Possível Associação com o Desenvolvimento de Carcinoma Hepatocelular em Portadores de Porfiria Aguda Intermitente. **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 594-608, 2002.

OPTIZ, H.; SCHWEINSBERG, F.; GROSSMANN, T.; WENDT-GALLITELLI, M. F.; MEYERMANN, R. Demonstration of mercury in the human brain and other organs 17 years after metallic mercury exposure. **Clin. Neuropathol.**, v. 15, n.3, p. 139-144, 1996.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD), Risk Reduction Monograph n.5: Cádmium. OECD Environment Directore, Paris, France, 1994.

OTA, C.; URTERKIRCHER, C.; FANTINATO, V.; SHIMIZU, M. T. Antifungal activity of propolis on different species of candida. **Mycoses**, v. 44, p. 375-378, 2001.

OTHA, H.; ICHIKAWA, M.; SEKI, Y. Effects of cadmium on bone metabolism of mothers during pregnancy and lactation. **Tohoku J. Exp. Med.**, v. 196, n. 1, p. 33-42, 2002.

PAOLIELLO, M. M. B. **Exposição humana ao chumbo e cádmio em áreas de mineração, Vale do Ribeira, Brasil**. 2002. 173f. Tese (Doutoramento em Saúde Coletiva) Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. da S.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 18, n.3, 1998.

PAUSTENBACH D. J.; FINLEY, B. L.; MOWAT, F. S.; KERGER, B. D. Human health risk and exposure assessment of chromium (VI) in tap water. **J. Toxicol. Environ. Health**, v. 66, n. 14, p. 1295-339, 2003.

PERAZA, M. A.; AYALA-FIERRO, F.; BARBER, D. S.; CASAREZ, E.; RAEL, L. T. Effect of micronutrients on metal toxicity. **Environ Health Perspect**, v. 106, suppl 1, p. 203-216, 1998

PIRES, J. M. M.; LENA, J. C.; MACHADO, C. C.; PEREIRA, S. P. potencial poluidor de resíduo sólido da Samarco Mineração: estudo de caso da barragem de Germano. **Rev. Árvore**, v.27, n. 3, p. 393-397.

POUNDS, J.G.; LONG, G.J.; ROSEN, J.F. Cellular and molecular toxicity of lead in bone. **Environ. Health Perspect**, v. 91, p. 91-117, 1991.

PRASAD A. S. The role zinc in gastrointestinal and liver disease. **Clin. Gastroenterol.**, v. 12, n. 13, p. 713-741, 1983.

PROCTOR D. M.; PANKO, J. P.; LIEBIG, E. W.; SCOTT, P. K.; BUCZYNSKI, M. A.; BARNHART, R. J.; HARRIS, M. A.; MORGAN, R. J.; PAUSTENBACH, D. J. Workplace airborne hexavalent chromium concentrations for the Painesville, Ohio, chromate production plant (1943-1971). **Appl. Occup. Environ. Hyg.**, v. 14, n. 6, p 430-449, 2003.

RAGHUNAT, R.; .TRIPATHI, R. M.; KUMAR, A. V.; SATHE, A. P.; KHANDEKAR, R. N.; NAMBI, K. S. V. Assessment of Pb, Cd, Cu and Zn exposures of 6-to 10- year-old children in Muumbai. **Envirn. Res.**, v. A80, p. 215-221, 1999.

RAMALHO, A. C.R. Farmacologia do cálcio, vitamina D, paratormônio, calcitonina e bifosfonatos. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 5ª ed. Rio de Janeiro: 1998. p. 737-745.

RANADE, V. V.; SOMBERG, J.C. Bioavailability and pharmacokinetics of magnésium after administration of magnesium salts to humans. **Am. J. Ther.**, v.8, n. 5, p.. 345.357, 2001.

ROELS, H.; ABDELADIM, S.; BRAUN, M.; MALCHAIRE, J.; LAUWERYS, R. Detection of hand tremor in workers exposed to mercury vapor: a comparative study of three methods. **Environ. Res.**, v. 49, p. 152-165, 1989.

SADDIQUE, A.; PETERSON, C. D. Thallium poisoning: a review. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 25, n. 1, p 16-22, 1983.

SANTANA, E. Q. AHAGON, S. N.; RIBEIRO, Y. A.; CHUNG, M. C. Detecção de chumbo em vegetal coletado na área externa da fábrica de baterias Ajax, em Bauru/SP. JORNADA FARMACÊUTICA, UNESP, **CD-ROM**, Campus de Araraquara, realizada de 17 a 23 agosto de 2002,

SARKAR, D.; SHARMA, A.; TALUKDER G. Plant extracts modulators of genotoxic effects. **Botan. Rev.**, v. 62, n. 4, p. 275-300, 1996.

SCARLETT, J. M.; GUTENMANN, W. H.; LISK, D. J. A study of mercury in the hair of dentist and dental-related professionals in 1985 and subcohort comparison of 1972 and 1985 mercury hair levels. **J. Toxicol. Environ. Health**, v. 25, n. 3, p. 373 – 381, 1988.

SHIGEMATSU, I. The epidemiological approach pollution in Japan. **Ann. Acad. Med.**, v. 13, n.2, p 232-6, 1984.

SIEGEL, M.; FORSYTH, B.; SIEGEL, L.; CULLEN, M. R. The effect of lead on thyroid function in children. **Environ. Res.** v. 48 p. 190-196, 1989.

SILVERBERG, N. B.; LICHT, J.; GRIEDLER, S.; SETHI, S.; LAUDE, T. A. Nickel contact hypersensitivity in children. **Pediat. Dermatol.**, v. 19, n.2, p 110-113, 2002.

SILVESTER, M. D.; LAGARDA, M. J.; FARRÉ, R.; MARTÍNEZ-COSTA, C.; BRINES, J. Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion. **Food Chem.**, v. 68, p. 95-99, 1999.

SINAIS postmortem da toxicidade do cobre: rim preto e icterícia. Disponível em: http://www.pipevet.com/images/photos/copper_1.jpg. Acesso em: 18 maio 2003.

SONNE-HANSEN, C.; DIETZ, R.; LEIFSSON, P. S.; HYLDSTRUP, L.; RIGET, F. F. Cadmium toxicity to ringed seals (*phoca hipida*): na epidemiological study of possible cadmium-induced nephropathy and osteodystrophy in ringed seals (*phoca hispida*) from Qaanaaq in Northwest Greeland, **Sci. Total Environ.**, v. 295, n. 1-3, p. 167-81, 2002.

STEPHENSON, J. B. P. Zinc phosphide poisoning. **Arch. Environ. Health**, v.15, p. 83-85, 1967.

SUBAT-DEZULOVIC, M. Drug-induced acute tubulointerstitial nephritis: a case with elevated urinary cadmium. **Pediatr. Nephrol.**, v. 17, p.382-385, 2002.

SWENSSON, A.; ULFARSSON, V. Toxicology of organic mercury compounds used as fungicides. **Occup. Health Rev.**, v. 15, p. 5-11, 1963.

TABER, E. B.; TAN, L.; CHAO, C. R.; BEALL, M. H.; ROSS, M. G. Pharmacokinetics of ionized versus total magnesium in subjects with preterm labor and preeclampsia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 186, n. 5, p. 1017-21, 2002.

TERAKI, Y.; SHIOHARA, T. Propolis induced granulomatous contact dermatitis accompanied by marked lymphadenopathy. **Br. J. Dermatol.**, v. 144, n. 6, p. 1262-1295, 2001.

THOMPSON, W. M. Propolis. **Med. J. Aust.** v. 153, p 654, 1990,

TIFFANY-CASTIGLIONI, E. Astroglia in metal metabolism and toxicity: commentary on a forum paper. **Neurotoxicol.**, v. 19, p. 19-22, 1998.

TOMOKUNI, K. Interaction of zinc and other metal on the activity of erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydratase in vitro. **J. Toxicol. Sci.**, v. 4, n. 1, p. 11-17, 1979.

TUBBS, R. R.; GEPHARDT, G. N.; MCMAHON, J. T.; POHL, M. C.; VIDT, D. G.; BARENBERG, S. A.; VALENZUELA, R. Membranous glomerulonephritis associated with industrial mercury exposure. Study of pathogenetic mechanisms. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 77, n. 4, p. 409-413, 1982.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Mercury study report to congress**. Health effects of mercury and mercury compounds, 1997. v. 5.

VALLESPIN, L. M.; SANCHEZ, L.; CALVO, M. Cadmio en leche y otros alimentos. **MedSpain**, Zaragova, 1999. Disponível em: http://www.medspain.com/h3_jun99/cadmio.htm. Acesso em: 01 dez. 2002.

VANHAELEN, M.; VANHAELEN-FASTRÉ, R. Propolis – I Origine, micrographie, composition chimique et activité therapeutique. **J. Pharm. Belg.**, v. 34, p 253-259, 1979a.

VARMA, A. **Handbook of atomic absorption analysis**. 3 ed. Boca Ranton: CRC Press, 1988. V. 2. Cap. 02, p. 73-184: Group II B elements (Zn, Cd, Hg).

VUORINEN, H. S. Lead and health during antiquity. **Hipokrates**, v. 11, p. 9-22, 1994.

WALDRON, H. A. Did the mad hatter have mercury poisoning? **Br. Med. J.**, v. 287, n. 6490, p. 1961, 1983.

WAYHS, R.; ZELINGER, A.; RAGGI, P. High coronary artery calcium scores pose an extremely elevated risk for hard events. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 39, n. 2, p. 225-230, 2002.

WHO/FOOD. FAO Nutrition Meeting, report series n. 48 A. **Toxicological avaluation of some extracton solvents and certais other substances**. Disponível em: <http://incchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48aje08.htm>. Acesso em: 18 maio 2003.

WIETESKA, E.; ZIÓEK, A.; DRZEWINSKA, A. Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 330, p. 251-257, 1996.

WITTMAN, R.; HU, H. Cadmium exposure and nephropathy in a 28-year-old female metals worker. **Environ. Health Perspect**, v. 110, n.12, p. 1261-1266, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. cadmium. WHO. **Environmental Health Criteria**. Geneva. n. 134, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Copper. WHO. **Environmental Health Criteria**. Geneva. N. 200, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manganese. WHO, **Environmental Health Criteria**. Geneva, n. 17, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Mercury – environmental aspects. **Environmental Health Criteria**. Geneva, n. 86, 1989. 115p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Methylmercury. **Environmental health Criteria**, n. 101. 1990. 144p.

XU, L.C.; WANG, S. Y.; YANG, X. F.; WANG, X. R. Effects of cadmium on rat sperm motility evaluated with computer assisted sperm analysis. **Biomed. Environ. Sci.**, v. 14, n. 4, p. 312-7, 2001.

YAMADA, M.; MINAMI, T.; YAMADA, G.; TOHNO, Y.; TOHNO, S.; IKEDA, Y.; TASHIRO, T. KOHNO, Y.; KAWAKAMI, K. Different element ratios of red cosmetics excavated from ancient burial of Japan. **Sci. Total Environ.**, v. 199, n. 3, p. 293-298, 1997.

YAMANAKA, Y. History of heavy pollution, aid to adversely affected parties and dispute settlement (Heavy metal and other hazardous substance pollution control), 31 may 2002. Disponível em: <http://pansy.unep.org.jp/gec/network.nsf>. Acesso em: 05 jul. 2003.

YOUNG, E. Sensitivity to propolis. **Contact Dermatitis**, v. 16, p 49-50, 1987.

ZYABAH, M. A.; ABDEL-BAKY, T. E. Toxicity and bioaccumulation of copper, zinc, and cadmium in some aquatic organisms. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 64, p. 740-747, 2000.

Quadro 3. Limites de contaminantes em alimentos fixado pela legislação brasileira.

Alimentos	Contaminantes inorgânicos (mg/kg)						
	Cd	Cr	Cu	Ni	Hg	Pb	Zn
Bebidas alcoólicas fermentadas	0,50	5,00	0,20		0,50		5,00
Bebidas alcoólicas fermento-destiadas	0,20		10,00	3,00		0,50	5,00
Côco ralado	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	0,50	25,00
Doce em parta	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	0,50	25,00
Frutas cristalizadas ou glaceadas	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	1,00	25,00
Frutas em conserva	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	0,50	25,00
Hortaliças em conserva	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	0,50	25,00
Picles	0,20	0,10	15,00	1,00	0,01	0,50	25,00
Refrigerantes e refrescos	0,20		5,00	0,10		0,20	5,00
Sucos de frutas e xaropes naturais	0,50		30,00	3,00		0,50	25,00
Outros alimentos	1,00		30,00	3,00		8,00	50,00

Fonte: I Encontro Nacional sobre contaminantes inorgânicos em alimentos, dias 9,10 e 11/11/1998.

Anexo 1. Limites de contaminantes inorgânicos em alimentos fixado pela legislação brasileira

Quadro 4. Limites máximos de Contaminantes em alimentos

Metal	Alimento	Conc. máxima. Permitida mg/kg
Cd	Peixe e produtos de pesca	1,0
Hg	Peixes e produtos de pesca exceto predadores	0,5
	Peixes predadores	1,0
Pb	Óleos, gorduras e emulsões refinadas	0,1
	Caramelos e balas	2,0
	Cacau(exceto alguns derivados)	2,0
	Chocolate adoçado	1,0
	Dextrose	2,0
	Sucos de frutas cítricas	0,3
	Leite fluido pronto para consumo	0,05
	Alimentos preparados especialmente para lactentes e crianças até 3 anos	0,2
	Partes comestíveis cefalópodes	2,0
Cobre	Caramelos e balas	10,0
	Bebidas alcoólicas fermentadas	10,0
	Frutas, hortaliças e sementes <i>in natura</i> e industrializadas	10,0
	Gelados comestíveis	10,0
	Mel	10,0
	Lactose	2,0

Fonte: Portaria nº 685, de 27/08/1998 – ANVISA.

Anexo 2. Limite máximo de contaminantes em alimentos fixados pela ANVISA..

Quadro 5. Ingestão média diária de chumbo (μg) em americanos, de acordo com a faixa etária e o sexo.

População Idade	Sexo	Ano 1990
6-11 meses	masc/fem	3,8
2 anos	masculino	4,3
	feminino	sem dados
14-16 anos	feminino	6,1
	masculino	8,5
25-30	feminino	6,7
	masculino	8,5
60-65	Feminino	2,2
	masculino	8,1

Fonte: ATSDR.

Anexo 3. Ingestão média diária de chumbo (μg), em americanos de acordo com a faixa etária e sexo.

Quadro 6. Níveis de chumbo em materiais biológicos, de acordo várias agências

Agência	Descrição	Níveis de chumbo	Referência Bibliográfica
ACGIH	Índices de exposição biológicos ?? Sangue ?? urina	30µg/dL 150µg/g creatinina	ACGIH
Brasil	Valor de referência da normalidade em sangue Ind. biol. máximo no sangue	Até 40 µg/dL 60µg/dL	Ministério do Trabalho, Portaria nº 3.214, de 8 de junho de 1978
CDC	Níveis de alerta de chumbo em crianças	10µg/dL	CDC, 1991

Fonte: Paoliello, 2002.

Anexo 4. Níveis de chumbo em materiais biológicos de acordo várias agências.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece os níveis máximos permitidos de substâncias em águas, e as classifica:

?? Água doce (salinidade $<0,50$ 0/00)

?? Águas salobras (salinidade = ou $< 0,50$ e 30 0/00)

?? Águas salinas (salinidade = ou > 30 0/00)

Quadro 7. Níveis máximos permitidos de metais em águas pelo CONAMA.

Classe I: uso doméstico e preservação do equilíbrio natural sem tratamento prévio		Classe II: uso doméstico e preservação do equilíbrio natural, com tratamento	
Metal	mg/L	Metal	mg/L
Cádmio	0,001	Cádmio	0,00001
Chumbo	0,03	Chumbo	0,2
Cobre	0,02	Cobre	0,5
Crômio (III)	0,5	Crômio (III)	0,5
Crômio (VI)	0,05	Crômio (VI)	0,05
Manganês	0,1	Manganês	0,5
Mercurio	0,0002	Mercurio	0,002
Níquel	0,025	Níquel	0,025

Anexo 5. Níveis máximos permitidos de metais em águas pelo CONAMA

Foto do equipamento de microondas utilizado na mineralização das amostras



Anexo 6. Foto do equipamento de microondas.

Foto do equipamento de Espectrofotometria e Absorção Atômica em chama, utilizado na determinação dos metais.



Anexo 7. Foto do Espectrofotômetro de Absorção Atômica em chama

Foto do equipamento de Espectrofotometria e Absorção Atômica em Forno de Grafite, utilizado na determinação dos metais.



Anexo 8. Foto do Espectrofotômetro de Absorção Atômica em forno de grafite