Teresa Sofia Lopes Coelho

Avaliação de risco dos teores de zinco e cobre determinados no fígado de leitão

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, orientada pelo Professor Doutor Fernando Ramos e co-orientada pela Engenheira Maria da Graça Campos, e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Junho 2018

· U C ·

Universidade de Coimbra

FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Teresa Sofia Lopes Coelho

Avaliação de risco dos teores de zinco e cobre determinados no fígado de leitão

Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar, sob orientação do Professor Doutor Fernando Ramos e da Chefe de Divisão do LFQ, Engenheira Maria da Graça Campos, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, cujo trabalho analítico foi realizado no Laboratório de Segurança Alimentar, da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, ASAE.

Coimbra, Junho de 2018

“A vida sem ciência é uma espécie de morte”

- Sócrates, 469 a.C.- 399 a.C.

O trabalho apresentado nesta dissertação foi realizado no Laboratório de Física e Química (LFQ) do Laboratório de Segurança Alimentar, da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), sob a orientação do Professor Doutor Fernando Ramos e da Engenheira Maria da Graça Campos, chefe de divisão, no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Direção da ASAE (Inspetor-Geral Dr. Pedro Portugal Gaspar e Subinspetora-Geral, Engª Filipa Melo de Vasconcelos) pela oportunidade que me concedeu de realizar o meu estágio na ASAE, onde enriqueci o meu saber e aprimorei o meu sentido crítico. Foi uma experiência que nunca esquecerei.

Agradecer também, à Engenheira Maria da Graça Campos, a minha orientadora, que sempre se mostrou disponível ao esclarecimento de dúvidas e sempre me motivou na realização da minha tese, traçando pequenas metas que me mantiveram focada.

A todos os profissionais que trabalham no Laboratório de Física e Química da ASAE pela boa disposição e por me auxiliarem e acolherem como se fosse um deles, e em particular à Engenheira Aida Martins que me tratou como uma filha, e que sempre andou comigo desde o primeiro ao último dia. A todo o laboratório de Microbiologia que sempre me acolheu à hora de almoço, e em particular à Cristina e à Nice com as quais mantenho uma amizade. Ao laboratório dos Vinhos e à Câmara de Provadores. A todos, muito obrigada, foram fantásticos.

Agradeço também ao Professor Doutor Fernando Ramos, o meu orientador interno, pelo auxílio na elaboração da presente tese e pela disponibilidade e sabedoria.

A todos os professores e auxiliares da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, que me acompanharam ao longo do meu trajeto académico.

À Olga, pela perseverança e persistência, pela amizade e lealdade, e por seres "uma mulher do Norte", mesmo que mores no Alentejo. À Filipa, pelo carinho, meiguice, amizade e lealdade, e por seres a pessoa humilde que és. A estas meninas com quem vivi durante 5 anos, um obrigado do fundo do coração. Há pessoas que levamos no bolso toda a vida.

Às «broínhas», Bousbaa, Maria e Rita, pela amizade, pela irmandade e pelos bons momentos. Por sempre nos cultivarmos a ser mais e melhor, e pela vitória individual que é sempre celebrada em conjunto. Obrigada.

A todos os meus amigos da "santa terrinha", e em especial à Cátia, pela lealdade, jovialidade e fraternidade, e por me ensinar que a idade é só mais um número perdido. A todos vocês, obrigada por me verem crescer e crescerem comigo.

A todos os amigos que esta jornada me deu, em Coimbra, na faculdade, na vizinhança.

À minha cara metade, que embora tenha aparecido mais tarde no processo e tão de repente, faz os meus dias mais felizes. Dá-me sentido e motivação para alcançar tudo e faz-me querer ser alguém melhor. Todos os dias me sinto agradecida por isso.

(And the last but not the least) Aos meus pais e a toda a minha família, um enorme obrigada! Sem vocês, nada disto teria sido possível, sem o vosso amor e incentivo eu não seria quem sou hoje. E embora eu possa não o dizer todos os dias, vocês são o melhor de mim e eu amo-vos muito.

Índice

Índice de Figuras ix

Índice de Tabelas x

Abreviaturas xi

Resumo xiii

Abstract xiv

1. Introdução 15

2. Enquadramento Teórico 17

2.1. A Segurança Alimentar 17
2.2. A Alimentação animal 19
2.3. A Legislação 20
2.3.1. Regulamento (CE) n° 178/2002 20
2.3.2. Regulamento (CE) n° 854/2004 20
2.3.3. Regulamento (CE) n° 1831/2003 20
2.3.4. Regulamento (CE) n° 1333/2008 e suas alterações 21
2.4. Os Aditivos na Alimentação animal 21
2.4.1. Aditivos Tecnológicos 24
2.4.2. Aditivos Organoléticos 25
2.4.3. Aditivos Nutritivos 25
2.4.4. Aditivos Zootécnicos 25
2.4.5. Aditivos Coccidiostáticos e Histomonostáticos 25
2.5. Os minerais 25
2.5.1. Elementos Fundamentais *26*
2.5.1.1. Sódio 26
2.5.1.2. Potássio 26
2.5.1.3. Cálcio 26
2.5.1.4. Magnésio 26
2.5.1.5. Cloro 27
2.5.1.6. Fósforo 27
2.5.2. Elementos Vestigiais/ Oligoelementos *27*
2.5.2.1. Ferro 27
2.5.2.2. Iodo 28
2.5.2.3. Flúor 28
2.5.2.4. **Zinco** 28
2.5.2.5. **Selénio** 32
2.5.2.6. **Cobre** 33
2.5.2.8. Crómio 34
2.5.2.9. Molibdénio 35
2.5.3. Elementos Ultra-Vestigiais *35*
2.5.3.1. **Cádmio** *35*
2.6. A Espetrofotometria de Absorção Atómica 36
2.6.1. Fontes de Radiação 38
2.6.2. Monocromador 39
2.6.3. Detetor 39
2.7. A Avaliação de risco 41

3. TRABALHO EXPERIMENTAL 42

4. MATERIAIS E MÉTODO DE ANÁLISE 43

4.1. EQUIPAMENTO, MATERIAL E REAGENTES ... 43
4.2. AMOSTRAS - CARACTERIZAÇÃO E PREPARAÇÃO ... 44
4.3. PROCEDIMENTO ANALÍTICO ... 46
4.3.1. Digestão da amostra - via seca ... 46
4.3.2. Dissolução das cinzas ... 46
4.3.3. Leitura no espectrofotómetro Absorção Atómica com Chama ... 47
4.3.4. Caraterísticas específicas do método instrumental para cada elemento em análise ... 48
4.3.5. Cálculo de resultados ... 49

5. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO ... 50

5.1. ZINCO ... 50
5.2. COBRE ... 50
5.3. CÁDMIO ... 51
5.4. SELÉNIO ... 51
5.5. AVALIAÇÃO DA PRECISÃO DOS RESULTADOS DE TEORES DE COBRE E ZINCO ... 52

6. AVALIAÇÃO DE RISCO ... 54

6.1. SEGURANÇA PARA O CONSUMIDOR - ZINCO ... 55
6.1.1. Cenário para uma ingestão de 100 g de fígado/dia (valor médio na Europa) ... 56
6.1.2. Cenário português para uma ingestão de 10 g de fígado/dia ... 56
6.1.3. Cenário agudo para uma ingestão de 300 g de fígado ... 57
6.1.4. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 43 g de fígado/dia ... 58
6.1.5. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 22 g de fígado/dia ... 58
6.2. SEGURANÇA PARA O CONSUMIDOR - COBRE ... 59
6.2.1. Cenário para uma ingestão de 100 g de fígado/dia (valor médio na Europa) ... 59
6.2.2. Cenário português para uma ingestão de 10 g de fígado/dia ... 60
6.2.3. Cenário agudo para uma ingestão de 300 g de fígado ... 60
6.2.4. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 43 g de fígado/dia ... 60
6.2.5. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 22 g de fígado/dia ... 61
6.3. SEGURANÇA PARA OS UTILIZADORES/TRABALHADORES - ZINCO ... 61
6.4. SEGURANÇA PARA OS UTILIZADORES/TRABALHADORES - COBRE ... 62
6.5. SEGURANÇA PARA O MEIO AMBIENTE - ZINCO ... 62
6.6. SEGURANÇA PARA O MEIO AMBIENTE - COBRE ... 63

7. CONCLUSÕES ... 63

8. BIBLIOGRAFIA ... 66

Anexo I ... 72

Anexo II ... 73

Índice de Figuras

Figura 1. Cadeia de Segurança Alimentar. 17
Figura 2. Interação entre os diferentes componentes para a decisão de concessão ou negação de um aditivo. 22
Figura 3. Classes de minerais. 25
Figura 4. Paciente com "*Itai- itai*". 36
Figura 5. Vantagens do equipamento de Absorção Atómica. 37
Figura 6. Esquema de uma lâmpada de cátodo oco. 38
Figura 7. Esquema de um monocromador. 39
Figura 8. Corte esquemático de válvula fotomultiplicadora. 39
Figura 9. Esquema de funcionamento do Espetrofotómetro de Absorção Atómica com chama. 40
Figura 10. Conjunto nebulizador/queimador. 40
Figura 11. Diagrama do processo de análise de risco. 41
Figura 12. Gráfico correspondente aos teores de zinco nas amostras de fígado. 50
Figura 13. Gráfico correspondente aos teores de Cobre nas amostras de fígado. 51
Figura 14. Diferença Relativa entre valores de duplicados e limite de repetibilidade relativa para o zinco. 52
Figura 15. Diferença Relativa entre valores de duplicados e limite de repetibilidade relativa para o cobre. 53
Figura 16. Disponibilidades Diárias per capita de carne em Portugal. 54

Índice de Tabelas

Tabela 1. Necessidade média estimada (NME) e Ingestão diária Recomendada (IDR) de Zinco 30
Tabela 2. Ingestão diária Recomendada (IDR) de Selénio 33
Tabela 3. Ingestão diária Recomendada (IDR) de Cobre 34
Tabela 4. Funções e Sintomas de Deficiência e Excesso de Cobre 34
Tabela 5. Cádmio: fontes e toxicidade 35
Tabela 6. Recolha das amostras e menções na IRCA 45

Abreviaturas

ADI – Ingestão Diária Aceitável, do inglês Acceptable Daily Intake

ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar Económica

EAA – Espetrofotometria de Absorção Atómica

EAAC – Espetrofotometria de Absorção Atómica com Chama

EAAAEG – Espetrofotometria de Absorção Atómica com Atomização Eletrotérmica em forno de Grafite

EAR – Referência Média Estimada, do inglês Estimated Average Reference

E.coli – *Escherichia coli* (bactéria)

EFSA – Agência Europeia de Segurança Alimentar, do ingleês European Food Safety Agency

FEEDAP – Painel em Aditivos e Produtos ou Substâncias usadas em Alimentação Animal, do inglês Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed

IDR – Ingestão Diária Recomendada

LOAEL – Nível Mínimo de Efeito Observado, do inglês Lowest Observed Adverse Effect Level

MBM – Ossos e Carne de Mamíferos, do inglês Mammal Bone and Meat

MRSA – *Estafilococos aureus* Resistentes à Meticilina, do inglês Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

NME – Necessidade Média Estimada

NOAEL – Nível de Efeito Adverso não Observável, do inglês No Observed Adverse Effect Level

QPA10 – Procedimento Auxiliar de Química – circulação e lavagem do material

QPA19 – Procedimento Auxiliar de Química – preparação de amostras

RNI – Referência de Ingestão de Nutrientes de, do inglês Reference Nutrient Intake

RTE – Pronto a Comer, do inglês Ready to Eat

SCF – Comité Científico dos Alimentos, do inglês Scientific Commitee on Food

SOD – Superóxido Dismutase

UE – União Europeia

UL – Nível superior, do inglês Upper Level

Resumo

O presente trabalho experimental tem como objetivo a avaliação de risco após determinação de teores de zinco, cobre, cádmio e selénio nos fígados de leitões da zona da Bairrada. A dieta dos leitões vai influenciar a acumulação destes metais, sendo que os mesmos são adicionados às rações.

A determinação dos teores foi realizada com espectrofotometria de absorção atómica com chama.

O número de amostras de fígado avaliadas foi de 48, provenientes de diferentes explorações pecuárias, nomeadamente interpostos, pequenas e grandes explorações suinícolas. Uma vez realizadas as determinações dos teores de minerais em apreço, e após tratamento de dados e avaliação dos resultados, foi realizada a avaliação de risco da utilização dos mesmos para o animal, para o Homem, leia-se consumidor, e para o ambiente.

Algumas amostras de zinco ultrapassaram os limites de ingestão máxima em adultos e crianças (25 mg/dia e 13 mg/dia respetivamente), com um valor máximo de 382 mg que ultrapassa 29 vezes o valor de ingestão máxima tolerável. Amostras de cobre ultrapassaram também os limites de ingestão máxima em adultos e crianças (5 mg/kg e 5> mg/kg, respetivamente), com um valor máximo de 22 mg que ultrapassa 10 vezes o valor de ingestão máxima tolerável.

Os resultados mostraram-se alarmantes principalmente para o zinco que poderá estar presente a mais do que a dose tolerável para o Homem. Após a avaliação de risco para o consumidor, concluiu-se que em todos os cenários em que é usada a quantidade mais alta de zinco (worst case scenario) obtida num dos fígados de leitão, ultrapassaram-se os limites toleráveis de ingestão diária. Esta é uma realidade bastante preocupante principalmente devido ao efeito cumulativo do zinco.

Futuramente, e uma vez que este foi o primeiro estudo realizado acerca do tema, seria de valor aprofundar as questões pertinentes da multirresistência ao zinco na microflora intestinal dos leitões, com outros estudos.

Palavras-chave: Zinco, Cobre, Fígado, Leitões, Segurança Alimentar, Alimentos Compostos para Animais, Absorção Atómica, Aditivos, Avaliação de Risco.

Abstract

The aim of this experimental work is to evaluate the risk after determination of zinc, copper, cadmium and selenium contents in the livers of piglets from Bairrada. The diet of the piglets will influence the accumulation of these metals, and they are added to the rations.

The determination of the contents was performed with flame atomic absorption spectrophotometry.

The number of liver samples evaluated was 48, from different farms, including small and large pig farms. Once the determinations of the mineral contents under consideration were made, and after data treatment and evaluation of the results, the risk assessment of the use of the same for the animal, for the Man, for the consumer, and for the environment was carried out.

Some zinc samples exceeded the maximum intake limits in adults and children (25 mg/day and 13 mg/day respectively), with a maximum value of 382 mg that exceeds 29 times the maximum tolerable intake value. Copper samples also exceeded the maximum intake limits in adults and children (5 mg/kg and 5> mg/kg, respectively), with a maximum value of 22 mg that exceeds 10 times the maximum tolerable intake value.

The results were mostly alarming for zinc which may be present at more than the tolerable dose for Man. After the risk assessment for the consumer, it was concluded that in all scenarios where the highest case scenario obtained in one of the livers of piglets is used, the tolerable limits of daily intake were exceeded. This is a very worrying reality mainly due to the cumulative effect of zinc.

In the future, and since this was the first study carried out on the subject, it would be of value to delve into the pertinent issues of multidrug resistance in the intestinal microflora of piglets with other studies.

Keywords: Zinc, Copper, Liver, Piglets, Food Safety, Feeds, Atomic Absorption, Additives, Risk Evaluation.

1. Introdução

A alimentação é um requisito fundamental à vida humana e por isso o direito à alimentação pode também ser interpretado de forma implícita no âmbito do "Direito à Vida" consagrado em todas as Constituições.[1]

A alimentação faz parte de um processo condicionado por múltiplos fatores: biológico, ecológico, económico, político e sociocultural. O homem alimenta-se em função da sociedade a que pertence; a cultura define os produtos que são comestíveis e as proibições alimentares, e segundo estes moldes, a alimentação é veiculada pelo homem para os destinos que ele definir e segundo as formas em que é praticada.[2]

Desde 2013, a forte dimensão cultural da alimentação tornou-se ainda mais patente com o reconhecimento, pela Unesco, da dieta mediterrânica como património cultural e material da humanidade. Longe das luzes da ribalta, o peso cultural da alimentação está também visível no consumo rotineiro de certos alimentos associados a eventos ou festividades (tal como a tradição de comer bacalhau, peru ou polvo no Natal, e cordeiro e ovos na Páscoa), ou com finalidades específicas (por exemplo, a tradição de oferta de chocolate como prenda).[3]

Destaca-se ainda na alimentação o consumo de produtos tradicionais, considerados parte da dieta mediterrânica; eles incluem propriedades gastronómicas valiosas e, portanto, são atraentes para o mercado internacional. Por essas razões, o comércio destes produtos tem vindo a alargar a sua área geográfica de comercialização, estendendo-se aos vários continentes.[4]

Paralelamente, tem-se verificado uma mudança de hábitos nas sociedades modernas, nomeadamente no que respeita à alimentação. Esta tem adquirido novas formas de modo a corresponder aos padrões de exigência dos consumidores. Se por um lado eles se tornaram mais ocupados e com menos tempo para a alimentação, por outro a ideia de "mente sã em corpo são" está cada vez mais na moda. De facto, uma das manifestações desta mudança é o aumento do consumo de alimentos prontos a comer, também designados por alimentos RTE (do inglês Ready-To-Eat), tais como saladas contendo vegetais e outros ingredientes como carne ou peixes e outros produtos da pesca, muitas vezes consumidos crus ou mal cozinhados. Outra dessas alterações é o aumento de exigência dos produtos consumidos,

nomeadamente da preferência por alimentos menos processados ou naturais, com a ideia subjacente de que serão mais saudáveis.[5]

Nesse sentido, e como contributo para um melhor conhecimento da alimentação na zona de Coimbra, o trabalho experimental que se descreve de seguida tem como objetivo principal a determinação dos teores de zinco, cobre, selénio e cádmio presentes nos fígados de leitões que são abatidos na região da Bairrada. Com base na referida determinação foi realizada a correspondente avaliação de risco para a espécie-alvo (o leitão), Homem (consumidor e utilizador) e o ambiente.

Para além do objetivo principal, pretendeu-se, também, avaliar se a legislação em vigor para os referidos elementos foi ou não cumprida quanto aos teores previstos em alimentação animal, de forma a estabelecer uma relação entre o que é mencionado nas informações que acompanham o leitão para abate, com a quantidade de aditivos encontrada nos seus fígados.

Sendo que a alimentação tem mudado e evoluído, é necessário que haja a mesma evolução na segurança alimentar.

2. Enquadramento Teórico

2.1. A Segurança Alimentar

"Todas as pessoas têm direito a uma alimentação eficiente e saudável, sendo um dever garantir a segurança dos alimentos em todos os níveis exigidos pelos consumidores".[6]

A segurança alimentar existe quando as pessoas têm, a todo momento, acesso físico e económico a alimentos seguros, nutritivos e suficientes para satisfazer as suas necessidades dietéticas e preferências alimentares, a fim de levarem uma vida ativa e sã.[7]

De acordo com a abordagem atual da segurança dos alimentos, o controlo da qualidade e da inocuidade deve ser realizado em toda a cadeia alimentar (**Figura 1**.) - produção, armazenagem, distribuição, processamento, até o consumo do alimento *in natura* ou processado - sendo responsabilidade de todos os profissionais envolvidos nessas atividades, órgãos governamentais e também dos consumidores.[8]

Figura 1. Cadeia de Segurança Alimentar.[9]

Os termos *segurança alimentar* e *qualidade dos alimentos* às vezes podem ser confundidos. A segurança alimentar refere-se a todos os perigos, crónicos ou agudos, que possam causar alimentos prejudiciais à saúde dos consumidores, como é o caso das bactérias, dos vírus, contaminantes tóxicos, antibióticos, fragmentos de vidro, metal e madeira, entre outros. Não é negociável. A qualidade inclui todos os outros atributos que influenciam o valor de um produto para o consumidor. Isso inclui atributos positivos, como a origem, cor, sabor, textura e método de processamento dos alimentos e negativos, como deterioração, contaminação com sujidade, descoloração e maus cheiros. Esta distinção entre

segurança e qualidade tem implicações para a política pública e influencia a natureza e o conteúdo do sistema de controlo de alimentos mais adequado para atender objetivos nacionais predeterminados.[10]

A preocupação com a proteção da vida e da saúde das pessoas e animais é, por isso, uma das razões relevantes para justificar proibições ou restrições à importação, exportação ou trânsito de mercadorias, como aconteceu sempre que, em situação de suspeita de riscos alimentares, a União Europeia decretou a proibição de circulação de um determinado alimento (porcos, pelo risco de gripe suína, aves por ocasião da grive aviária, bovinos, devido à encefalopatia espongiforme, rebentos de soja por causa da *E. coli*, amendoins pelo risco de aflatoxinas, entre outras matrizes alimentares.)[3]

A União Europeia tem um dos mais altos padrões de segurança alimentar no mundo - em grande parte graças ao sólido conjunto de legislação da UE em vigor, o que garante que os alimentos são seguros para os consumidores.[11]

A regulamentação da segurança alimentar desempenha um papel essencial nas economias modernas. À medida que os países se desenvolvem economicamente, uma parcela crescente da população deixa a agricultura e adquire alimentos de outras proveniências, nomeadamente através de transações no mercado. Faltando conhecimento de primeira mão de como os alimentos oferecidos no mercado são processados, os consumidores não têm meios de verificar a segurança alimentar antes de os adquirir. Além disso, se e quando o consumidor adoece, pode achar-se difícil identificar o papel dos alimentos individuais no surgimento dessa doença para encontrar o responsável e, assim, obter uma compensação por danos.[12]

A ASAE é a autoridade administrativa nacional especializada no âmbito da segurança alimentar e económica. É responsável pela avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, bem como pela disciplina do exercício das atividades económicas nos setores alimentar e não alimentar, mediante a fiscalização e prevenção do cumprimento da legislação reguladora das mesmas.

No exercício da sua missão, a ASAE rege-se pelos princípios da independência científica, da precaução, da credibilidade e transparência e da confidencialidade.[13]

A ASAE é também ponto focal da EFSA que é a agência europeia para a segurança alimentar, financiada pela União Europeia que opera independentemente das instituições legislativas e executivas europeias (Comissão, Conselho, Parlamento) e Estados-Membros da UE.[14]

A EFSA é o organismo de referência para a avaliação dos riscos de alimentos e alimentos para animais na União Europeia. O seu trabalho abrange toda a cadeia alimentar – "do prado ao prato" e é um dos vários órgãos responsáveis pela segurança alimentar na Europa.[15]

Tem como objetivos fornecer conselhos científicos independentes e apoio aos gestores de risco da UE e aos decisores políticos sobre segurança alimentar; fornecer comunicação de risco independente e atempada e promover a cooperação científica.[15]

Foi criada em 2002, após uma série de crises alimentares no final da década de 1990, para ser uma fonte de aconselhamento científico e comunicação sobre os riscos associados à cadeia alimentar. A agência foi legalmente estabelecida pela UE nos termos da chamada Lei Geral da Alimentação - Regulamento 178/2002.[14]

2.2. A Alimentação animal

A alimentação animal segura é importante para a saúde dos animais, do meio ambiente e dos alimentos de origem animal. Existem muitos exemplos da estreita ligação entre a segurança da alimentação animal e os alimentos que comemos.[16]
Por exemplo, a farinha de carne e osso de mamíferos (MBM) foi proibida em todas as rações animais na UE em 2001 porque estava ligada à propagação da Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) no gado e a carne infetada com BSE estava associada à variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) em humanos.[17]

O que os agricultores usam para alimentar o gado depende de uma série de fatores, incluindo a espécie e a idade dos animais, o tipo de alimento produzido - como carne, leite ou ovos - disponibilidade e valor nutritivo de diferentes alimentos e fatores geográficos, incluindo o tipo de solo e clima. Os tipos de alimentação incluem forragens - como feno, palha, silagem, óleos e grãos - e produtos manufaturados que tipicamente são misturas compostas de materiais para alimentação animal que podem conter aditivos.[17]

2.3. A Legislação

2.3.1. Regulamento (CE) nº 178/2002

O regulamento (CE) nº 178/2002 do parlamento europeu e do conselho de 28 de janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, criou a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e estabeleceu procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.

Este Regulamento é o alicerce da Segurança Alimentar na Europa.[18]

Prevê os fundamentos para garantir um elevado nível de proteção da saúde humana e dos interesses dos consumidores em relação aos géneros alimentícios, tendo em conta a diversidade da oferta de géneros alimentícios, incluindo produtos tradicionais, e assegurando, ao mesmo tempo, o funcionamento eficaz do mercado interno. Estabelece princípios e responsabilidades comuns, a maneira de assegurar uma sólida base científica e disposições e procedimentos organizacionais eficientes para servir de base à tomada de decisões em questões de segurança dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais.[18]

2.3.2. Regulamento (CE) nº 854/2004

O Regulamento (CE) nº 854/2004 diz respeito à organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano. A legislação abrange diferentes tipos de géneros alimentícios como é o caso de: carnes frescas, moluscos bivalves vivos, produtos da pesca e leite cru e produtos lácteos.[19]

Só podem ser importados para a UE géneros alimentícios provenientes de países e de instalações que demonstrem cumprir as normas da UE.[19]

2.3.3. Regulamento (CE) nº 1831/2003

O Regulamento (CE) nº 1831/2003 do parlamento europeu e do conselho de 22 de setembro de 2003 diz respeito aos aditivos destinados à alimentação animal. Este regulamento tem por objetivo estabelecer um procedimento comunitário para a autorização da colocação no mercado e do uso de aditivos para a alimentação animal, bem como definir regras para a supervisão e a rotulagem daqueles aditivos e de pré-misturas, a fim de constituir uma base para assegurar um elevado nível de proteção da saúde humana e animal, do bem-estar dos animais, do ambiente e dos interesses dos utilizadores e consumidores relativamente aos aditivos para a alimentação animal, assegurando simultaneamente o funcionamento eficaz do mercado interno.[20]

2.3.4. Regulamento (CE) nº 1333/2008 e suas alterações

O regulamento (UE) nº 1129/2011 da comissão de 11 de novembro de 2011 altera o anexo II do regulamento (CE) nº 1333/2008 do parlamento europeu e do conselho mediante o estabelecimento de uma lista de aditivos alimentares da UE. Este regulamento prevê o estabelecimento de uma lista de aditivos alimentares da União aprovados para utilização nos géneros alimentícios bem como as respetivas condições de utilização.[21]

2.4. Os Aditivos na Alimentação animal

Com o desenvolvimento da indústria alimentar na segunda metade do século XX, foram progressivamente introduzidos novos aditivos, de origem natural e artificial, permitindo a produção em larga escala e o transporte de alimentos a grandes distâncias, assegurando que o produto chega ao consumidor com um aspeto atrativo. Os aditivos utilizados num determinado alimento devem ser obrigatoriamente discriminados na sua embalagem, incluídos na lista de ingredientes utilizados na sua elaboração.[22]

Os aditivos de alimentação animal podem representar ferramentas adicionais. Acredita-se que ao equilibrar a microbiota intestinal dos leitões, bem como os ecossistemas microbianos do ambiente do animal, pode-se ter uma abordagem virtuosa para a saúde dos leitões.[23]

A utilização de aditivos nos alimentos é regulada por legislação própria, tanto em Portugal como em todos os países da União Europeia. Para que possa ser utilizado no processamento de alimentos, qualquer aditivo tem que fazer parte das listas positivas de aditivos alimentares.[22]

Estas listas incluem todos os aditivos alimentares autorizados, são específicas para grupo de alimentos e indicam os teores máximos permitidos para cada aditivo. A autorização dos aditivos é concedida mediante a demonstração da sua inocuidade para a saúde do consumidor através da realização de estudos toxicológicos rigorosos e da demonstração da sua necessidade tecnológica, feitos por autoridades reconhecidas nomeadamente pela Autoridade Europeia para a Segurança dos alimentos (EFSA), pelo Comité Científico da Alimentação Humana da União Europeia e pelo Comité Misto de Peritos em Aditivos Alimentares da FAO/OMS.[16]

Os aditivos, uma vez autorizados, podem ser reavaliados se surgir alguma suspeita sobre a sua inocuidade.[22]

A EFSA tem um papel fundamental na prestação de pareceres científicos independentes para apoiar o processo de autorização para aditivos alimentares. Este trabalho, na área dos aditivos para animais, é realizado pelo painel da EFSA sobre aditivos e produtos ou substâncias utilizadas na alimentação animal (FEEDAP).[24]

O Painel FEEDAP analisa esta informação e examina a eficácia e segurança do aditivo em termos de saúde humana e animal, bem como para o meio ambiente, incluindo resíduos no solo, águas subterrâneas e águas superficiais. Paralelamente, o Laboratório Comunitário de Referência para aditivos alimentares avalia os métodos analíticos utilizados para determinar a presença do aditivo na alimentação e seus possíveis resíduos nos alimentos.[15]

Se o parecer da EFSA for favorável, a Comissão Europeia elabora um projeto de regulamento para autorizar o aditivo, num processo que envolve os Estados-Membros representados no Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal-Nutrição Animal (**Figura 2**.). As autorizações são concedidas para determinadas espécies de animais e/ou condições de uso e são limitadas a períodos de dez anos que podem ser renovados.[25]

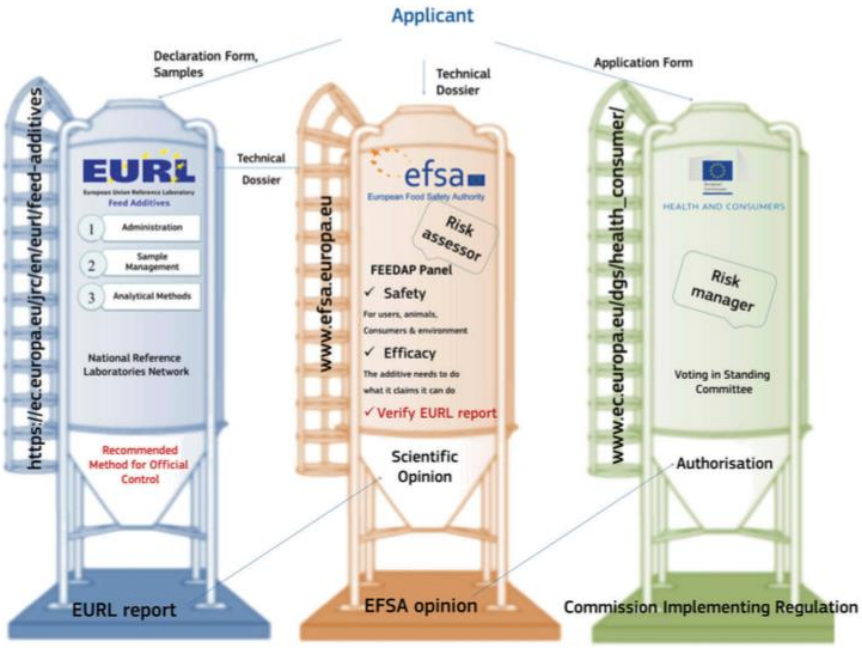


Figura 2. Interação entre os diferentes componentes para a decisão de concessão ou negação de um aditivo.[27]

Devido ao seu papel fundamental na alimentação animal, estes produtos já são usados há muito tempo na UE e, desde o início de 1970, estão autorizados de acordo com a Diretiva 70/524/CEE. Após uma análise minuciosa da aplicação desta Diretiva, tendo em conta o progresso científico no campo dos aditivos para alimentação animal e os requisitos da legislação alimentar básica, o Regulamento (CE) n.° 178/2002 (Comunidades Europeias 2002), o Parlamento Europeu e o Conselho adotou o Regulamento (CE) n.° 1831/2003 (União Europeia, 2003), especificando novas regras para a autorização de aditivos para alimentação animal. Um dos principais componentes do procedimento de autorização, após revisão, é a separação de avaliação de risco a ser conduzida pela Autoridade de Segurança dos Alimentos (EFSA) e a gestão de risco que cai sob a responsabilidade da Comissão Europeia (CE).

A avaliação de risco neste contexto específico é a avaliação científica de um aditivo para alimentação animal, enquanto que a gestão de riscos refere-se à decisão final sobre a concessão ou negação de um pedido de autorização tendo em conta o parecer emitido pela EFSA.[26]

Definições de aditivo:

> "... toda substância, adicionada ao alimento com a finalidade de impedir alterações, manter, conferir ou intensificar seu aroma, cor e sabor; modificar ou manter seu estado físico geral, ou exercer qualquer ação exigida para uma boa tecnologia de fabricação do alimento".[27]

> "Substâncias adicionadas intencionalmente com finalidade tecnológica ou organolética durante o fabrico, transformação, preparação, tratamento, acondicionamento, transporte ou armazenamento de um produto alimentar, que pode ter ou não valor nutritivo, que não são normalmente consumidos isoladamente como alimentos, não sendo também utilizados como ingredientes típicos dos alimentos".[13]

A necessidade de harmonizar as normas da indústria alimentar em todo o espaço da União Europeia tornou indispensável identificar de forma inequívoca os diversos aditivos alimentares de utilização autorizada, de forma a serem considerados seguros do ponto de

vista da saúde humana. Assim para referenciar cada um desses aditivos, foi-lhes atribuída a letra E associada a um número de 3 ou 4 algarismos.[28]

Os aditivos desempenham um papel importante na nutrição animal, abordando diferentes aspetos, tais como segurança alimentar, redução de emissões ambientais e sustentabilidade de produção de alimentos. Antes de colocar esses produtos no mercado da União Europeia, a indústria precisa de solicitar autorização. Os aditivos para alimentação são bastante diferentes em termos de composição química e funções. Mais de 1000 aditivos alimentares estão atualmente autorizados na UE e exemplos importantes são vitaminas, oligoelementos, aminoácidos, enzimas e probióticos.[26]

"Aditivos para a alimentação animal" designa substâncias, microrganismos ou preparados, que não sejam matérias para a alimentação animal nem pré-misturas, que sejam intencionalmente adicionados aos alimentos para animais ou à água, nomeadamente a fim de desempenharem pelo menos uma das funções mencionadas no n° 3 do artigo 5° do Regulamento 1060/2013:[29]

a) alterar favoravelmente as características dos alimentos para animais;
b) alterar favoravelmente as características dos produtos de origem animal;
c) alterar favoravelmente a cor dos peixes e aves ornamentais;
d) satisfazer as necessidades nutricionais dos animais;
e) influenciar favoravelmente as consequências da produção animal sobre o ambiente;
f) influenciar favoravelmente a produção, o rendimento ou o bem-estar dos animais, influenciando particularmente a flora gastrointestinal ou a digestibilidade dos alimentos para animais;
g) produzir um efeito coccidiostático ou histomonostático.

2.4.1. Aditivos Tecnológicos

Um aditivo tecnológico é qualquer substância adicionada aos alimentos para animais para efeitos tecnológicos;[20]

Fazem parte dos aditivos tecnológicos substâncias com ação preservante, antioxidante, emulsionante, estabilizante, espessante, gelificante, de ligação, substâncias para o controlo da contaminação com radionuclídeos, prevenção da formação de grânulos

(anticaking), reguladores de acidez, aditivos de silagem, desnaturantes e substâncias que contribuam para a redução da contaminação por micotoxinas.[20]

2.4.2. Aditivos Organoléticos

Qualquer substância cuja adição a um alimento para animais melhore ou altere as propriedades organoléticas desse alimento ou as características visuais dos géneros alimentícios de origem animal.[20]

2.4.3. Aditivos Nutritivos

Fazem parte deste grupo as vitaminas e pró-vitaminas, compostos de oligoelementos, aminoácidos e ureia e os seus derivados.[20]

O zinco faz parte desta Categoria de Aditivos.

2.4.4. Aditivos Zootécnicos

Qualquer aditivo utilizado para influenciar favoravelmente o rendimento de animais saudáveis ou para influenciar favoravelmente o ambiente.[20]

2.4.5. Aditivos Coccidiostáticos e Histomonostáticos

Os coccidiostáticos e os histomonostáticos são substâncias destinadas a matar ou inibir o desenvolvimento de protozoários.[30] São xenobióticos.

2.5. Os minerais

Os minerais são os constituintes que permanecem cinza após a combustão das plantas ou tecidos animais. Estão divididos em três classes, conforme se pode observar na **Figura 3**:

Figura 3. Classes de minerais.

2.5.1. Elementos Fundamentais

Os elementos fundamentais são o Sódio (Na), o Potássio (K), o Cálcio (Ca), o Magnésio (Mg), o Cloro (Cl) e o Fósforo (P). Estes são essenciais ao ser humano em concentrações superiores a 50 mg/dia.[32]

2.5.1.1. Sódio

O sódio está presente maioritariamente como um constituinte extracelular e mantem a pressão osmótica do fluido extracelular. Em adição, este ativa algumas enzimas, tais como a amílase. A absorção do sódio é rápida.[31] A quantidade de sódio presente em fígado de porco, é, em média 77 mg/100 g de porção edível.[32]

2.5.1.2. Potássio

O potássio está localizado maioritariamente no fluido intracelular. Regula a pressão osmótica dentro da célula, está envolvido no transporte membranar e também na ativação de numerosas enzimas glicolíticas e respiratórias.[31] A quantidade de potássio presente em fígado de porco, é, em média 363 mg/100 g de porção edível.[32]

2.5.1.3. Cálcio

O cálcio é um dos minerais mais importantes, devido à grande quantidade que existe em todo o corpo. É abundante no esqueleto e em vários tecidos. O cálcio é um nutriente essencial porque está envolvido na estrutura do sistema muscular e controla processos muito importantes como a contração muscular (sistema locomotor, batimento cardíaco), a coagulação do sangue, a atividade das células cerebrais e o crescimento celular.[33] A quantidade de cálcio presente em fígado de porco, é, em média 7,6 mg/100 g de porção edível.[32]

2.5.1.4. Magnésio

Como constituinte e ativador de muitas enzimas, particularmente as que estão associadas com a conversão de compostos fosfato ricos em energia, como estabilizador de membranas de plasma, membranas intracelulares e ácidos nucleicos, o magnésio é um elemento de suporte de vida.[34]

2.5.1.5. Cloro

O cloro, enquanto ião cloreto, serve como um contra-ião do sódio (Na) no fluido extracelular e de iões hidrogénio no suco gástrico. A absorção de cloreto é tão rápida como a sua excreção na urina.[35]

2.5.1.6. Fósforo

O fósforo, na forma de fosfato, livre ou ligado como éster ou presente como anidrido, tem um papel importante no metabolismo e, portanto, é um nutriente essencial. As formas orgânicas de fosforo nos alimentos são clivadas pelas fosfatases intestinais e, desse modo, a absorção ocorre maioritariamente na forma de fosfato inorgânico.[36] A quantidade de fósforo presente em fígado de porco, é, em média 407 mg/100 g de porção edível.[32]

2.5.2. Elementos Vestigiais/ Oligoelementos

Os elementos vestigiais ou Oligoelementos são o Ferro (Fe), o Iodo (I), o Fluor (F), o Zinco (Zn), o Selénio (Se), o Cobre (Cu), o Manganês (Mn), o Crómio (Cr), o Molibdénio (Mo), o Cobalto (Co) e o Níquel (Ni). Estes são essenciais ao ser humano em concentrações até 50 mg/dia[33].

Os oligoelementos são libertados no ambiente de fontes naturais e antropogénicas. A importância das atividades humanas para a poluição ambiental aumentou nas últimas duas décadas. Uma vez no ambiente, transformações e ciclos biogeoquímicos resultam na exposição de plantas, animais e seres humanos, a estes oligoelementos potencialmente com impactos na saúde. Alguns oligoelementos, como o cobre (Cu) e o zinco (Zn), são exigidos pelos organismos vivos e autorizados, sob certas condições, como aditivos na alimentação dos animais, para cobrir os seus requisitos fisiológicos.[37]

2.5.2.1. Ferro

A maior parte do ferro presente no corpo está na hemoglobina (sangue) e na mioglobina (tecido muscular). Este metal está também presente em muitas enzimas (peroxidase, catálase, hidroxilases e flavinas), consequentemente, é um ingrediente essencial na dieta diária. Geralmente, o ferro é indesejado no processamento dos alimentos, pois, por exemplo, o ferro catalisa a oxidação de óleos e gorduras, aumenta a turvação do vinho e, como constituinte da água de beber, suporta o crescimento de bactérias requerentes de ferro.[38] A ingestão recomendada de uma dieta ocidental com uma biodisponibilidade

estimada de ferro de 15% é de aproximadamente 6 mg/dia para lactentes e crianças (6 meses-10 anos), cerca de 9-12,5 mg/dia para adolescentes do sexo masculino (11-18 anos) e cerca de 9-22 mg/dia para adolescentes do sexo feminino. As ingestões recomendadas para mulheres adultas são de 20 mg/dia; para mulheres em pré-menopausa e homens com idade superior a 18 anos são recomendados 7,5 mg/dia.[39] A quantidade de ferro presente em fígado de porco, é, em média 718 mg/100 g de porção edível.[32]

2.5.2.2. Iodo

A absorção do iodo dos alimentos ocorre exclusivamente e rapidamente como iodeto e é utilizada na glândula tiroide para a biossíntese da hormona tiroxina (tetraiodotironina) e triiodotironina. Uma deficiência em iodo resulta num aumento da glândula tiroide.[40]

2.5.2.3. Flúor

O flúor tem um papel muito importante. Experiências com ratos demonstraram que doses baixas de flúor resultam em falhas no crescimento e reprodução. O efeito positivo do flúor nas cáries dentárias está bem estabelecido. Este efeito benéfico assenta no retardamento da solubilização do esmalte dos dentes e na inibição das enzimas responsáveis pelo desenvolvimento de cáries.[41]

2.5.2.4. **Zinco**

O zinco é um componente de inúmeras enzimas (álcool desidrogenase, lactato desidrogenase, malato desidrogenase, glutamato desidrogenase, carboxipeptidases A e B e anidrase carbónica). Outras enzimas como, dipeptidases, fosfatase alcalina, lecitinase e enolase, são também ativadas pelo zinco e por outros iões metálicos divalentes. Deficiência em zinco, causa danos muito graves nos animais, enquanto que a ingestão alta de zinco pelos humanos é tóxica.[32]

O zinco possui uma vasta gama de funções fisiológicas vitais. Tem um papel catalítico em cada uma das seis classes de enzimas. O transcriptoma humano possui 2 500 "finger proteins" de zinco, que possuem ampla distribuição intracelular e as atividades das quais incluem a ligação de moléculas de RNA e envolvimento nas interações proteína-proteína. Assim, as suas funções biológicas incluem controlo/modulação transcricional, translacional e transdução de sinal.[42]

A maioria do zinco dietético é absorvida no intestino delgado superior. O conteúdo luminal do duodeno e do jejuno, notadamente o fitato, pode ter um impacto importante na percentagem de zinco disponível para absorção. A absorção de zinco pelo enterócito é regulada em resposta à quantidade de zinco biodisponível ingerido. A albumina é o principal transportador de zinco na circulação portal e sistémica. Praticamente nenhum zinco circula em forma ionizada livre, e a maioria do zinco total do corpo está no músculo e no osso. A quantidade de zinco absorvida e excretada a partir do trato intestinal depende das concentrações de zinco corporais, e as quantidades de zinco endógeno nas fezes e zinco exógeno absorvido em adultos normais estão relacionadas. Os rins e tegumento são pequenas vias de perda de zinco endógeno.[42]

A deficiência de zinco é um problema nutricional mundial que afeta países desenvolvidos e em desenvolvimento. Os recém-nascidos, crianças, mulheres grávidas e idosos são considerados os mais expostos ao risco de deficiência de zinco. A deficiência de zinco pode causar atraso de crescimento, hipogonadismo masculino, pele áspera, falta de apetite, cicatrização tardia de feridas, disfunção imune mediada por células e alterações neurossensíveis anormais.[43]

Sabe-se que a deficiência de zinco, comum nos idosos, está ligada à deficiência da função imunológica e ao aumento do risco de infeção, pode ser corrigida pela suplementação de zinco. No entanto, a administração de doses superiores ao recomendado para o zinco pode afetar negativamente a função imune.[44]

As altas ingestões de zinco podem resultar em deficiência de cobre, porque o zinco aumenta a síntese de metalotioneína que liga certos metais e previne a absorção no intestino.[43]

De acordo com a OMS, o padrão para a ingestão de zinco é baseado na soma das perdas endógenas totais de zinco (sem considerar a influência da variação na absorção). No entanto, devido à variação na biodisponibilidade do zinco, a OMS estabelece padrões para alta, moderada e baixa disponibilidade em dietas nas quais 50, 30 e 15% do zinco dietético é absorvível, respetivamente. Os requisitos de zinco em adultos basearam-se na determinação da perda basal durante estudos metabólicos de privação, tempo de rotatividade de conjuntos de zinco endógeno radiomarcado e estudos fatoriais. No entanto, nenhum deles é ideal, mas todos indicam necessidades sistémicas de 2-3 mg/dia; assumindo uma eficiência de absorção de 30%, esses números traduzem-se em RNI de 7,0-9,5 mg/dia.[39] (**Tabela 1**.)

Tabela 1. Necessidade média estimada (NME) e Ingestão diária Recomendada (IDR) de Zinco[43]

Idade	NME (mg/dia)	IDR (mg/dia)
0-6 meses	3,3	4,0
7 meses a 3 anos	3,8	5,0
4-6 anos	5,0	6,5
7-10 anos	5,4	7,0
11-14 anos (masculino)	7,0	9,0
15+ anos (masculino)	7,3	9,5
11-14 anos (feminino)	7,0	9,0
15+ anos (feminino)	5,5	7,0

Os compostos de zinco mais usados em suplementos e como fortificação de alimentos incluem óxido de zinco e sulfato de zinco. O sulfato de zinco possui biodisponibilidade adequada, mas interage com a matriz de alimentos causando sabor característico à comida. O óxido de zinco só pode ser usado em alimentos sólidos, pois precipita em líquidos.[43]

Óxido de zinco

O óxido de zinco é um aditivo utilizado na alimentação animal como pré-mistura para alimento medicamentoso para suínos (leitões) com o objetivo de prevenir diarreias pós-desmame resultantes de inflamação.[45]

A inflamação crónica é uma questão subjacente na produção animal com implicações para nutricionistas, veterinários e produtores em todos os cantos do mundo. Embora seja necessária uma resposta inflamatória apropriada, inflamação excessiva ou prolongada pode ser prejudicial para o animal. Quando um animal sofre de inflamação crónica e prolongada, isso pode reduzir a eficácia das suas respostas imunes no futuro. A inflamação crónica também extrai nutrientes e energia de outras funções-chave do animal, como crescimento, reprodução e produção de carne, leite ou ovos.[46]

Dada a tendência recente, em muitos países de se eliminar o uso de antibióticos, métodos eficazes para gerir e minimizar a inflamação tornam-se cada vez mais importantes. Muitos ingredientes alimentares potenciais, incluindo oligoelementos, são promovidos como

alternativas aos antibióticos para melhorar o bem-estar e o desempenho em aves e suínos, bem como em muitas outras espécies.[46]

A inflamação é entrelaçada com a resposta imune. As condições e os alimentos para animais ou ingredientes que ajudam a modular a resposta inflamatória e a função imunológica subsequente são vitais para a produção animal. Os dados recentes mostraram o benefício que os elementos vestigiais (oligoelementos) fornecem às respostas imunes e à inflamação associada.[46]

A administração proposta para o óxido de zinco provoca elevados níveis de zinco no plasma, fígado e rins. O zinco é excretado principalmente, através das fezes e, em menor extensão, através da urina. Existe um mecanismo de regulação homeostática do zinco no intestino através do qual o zinco excretado no lúmen intestinal é reabsorvido.[47]

Estudos revelaram que o óxido de zinco é benéfico nos leitões em risco de desenvolvimento de diarreia ligeira a moderada. Porém, não estão disponíveis quaisquer estudos acerca do risco dos leitões desenvolverem formas graves/hemorrágicas de diarreia. A administração da pré-mistura para o alimento pode alterar alguns parâmetros biológicos (fosfatase alcalina, atividade α-amilase), mas estas alterações desaparecem logo que se retire o aditivo.[47]

O óxido de zinco é administrado a animais com risco de diarreia, por exemplo, se os leitões forem crias de porcas com um historial de casos regulares de diarreia pós-desmame.

Os alimentos com concentrações elevadas de zinco podem estimular a ocorrência de resistências ao zinco na microbiota intestinal dos leitões e podem desempenhar um papel na co-seleção de MRSA e no aumento da proporção de *E.coli* multirresistente.[47]

Uma vez que o zinco se acumula no solo e pode, a partir de determinadas concentrações, afetar a fauna e a flora, devem ser assim tomadas precauções no tratamento e utilização de estrumes provenientes de leitões tratados. O zinco é muito tóxico para organismos aquáticos, pode afetar o crescimento, sobrevivência e reprodução de plantas e animais aquáticos e terrestres. O zinco é persistente nos solos e pode acumular-se em sedimentos. A toxicidade dependerá das condições ambientais e tipos de habitat.[47]

A biodisponibilidade do zinco, e consequentemente o risco ambiental, varia entre tipos de solo. O estrume de leitões tratados não deve ser espalhado sobre tipos de solo vulneráveis, que tenham sido identificados como solos arenosos, bem drenados e ácidos (pH ≤6). O estrume contendo zinco não deve ser espalhado na mesma área de terra em anos

sucessivos para evitar a acumulação de zinco, o que pode causar efeitos adversos no ambiente.[47]

2.5.2.5. **Selénio**

O selénio é um antioxidante e pode aumentar a atividade do tocoferol. A enzima glutationa peroxidase contem selénio, e catalisa a seguinte reação, protegendo as membranas da destruição oxidativa:

$$ROOH + 2GSH \text{ ---» } ROH + H2O + GSSG$$

A toxicidade do selénio, por exemplo, a sua forte atividade carcinogénica, é bem conhecida através dos numerosos estudos de alimentação animal, e de doenças provenientes da pastagem de gado em solos ricos em selénio.[32]

O selénio está presente no solo e entra na cadeia alimentar através das plantas. A maioria do selénio dietético vem de pão, cereais, carne, peixe e aves de capoeira. Existem diferenças geográficas devido à disponibilidade de selénio no solo. O selénio existe em duas formas: a forma orgânica que inclui selenocisteína (fontes animais) ou selenometionina (fontes vegetais e animais e suplementos) e as formas inorgânicas que incluem selenato e selenitose (suplementos). A biodisponibilidade do selénio é baixa e diminuiu devido à chuva ácida e à fertilização excessiva. A biodisponibilidade e a distribuição nos tecidos dependem da forma em que o selénio é ingerido. Dietas ricas em proteínas e ácido ascórbico aumentam a biodisponibilidade do selénio, embora o selénio seja destruído durante o processamento e o refinamento dos alimentos.[43]

O selénio está presente em alimentos, particularmente peixes (0,32 mg/kg), "vísceras" (0,42 mg/kg), nozes do Brasil (0,25 mg/kg), ovos (0,16 mg/kg) e cereais (0,02 mg/kg). A ingestão diária recomendada para adultos é de 60-70 mg/dia. (**Tabela 2.**) Nos alimentos, o selénio está geralmente presente como derivados de aminoácidos selenometionina e selenocisteína. O selénio está presente em vários medicamentos permitidos, isoladamente e em combinação com outras substâncias, e está presente em vários suplementos alimentares com doses até 0,3 mg por dia. Os compostos de selénio são facilmente absorvidos pelo intestino delgado.[48]

Tabela 2. Ingestão diária Recomendada (IDR) de Selénio.[43]

Idade	IDR (mg/dia)
0-3 meses	10
4-6 meses	13
7-12 meses	10
1-3 anos	15
4-6 anos	20
7-10 anos	30
11-14 anos	45
15+ anos (masculino)	70
15+ anos (feminino)	60

2.5.2.6. **Cobre**

O cobre é um componente vital de inúmeras enzimas, incluindo citocromo c oxidase e a superóxido dismutase (SOD). As enzimas de cobre também estão envolvidas na síntese de uma série de aminas e péptidos neuroativos tais como catecolaminas e encefalinas. O cobre auxilia na formação de glóbulos vermelhos, mantém as células nervosas e o sistema imunológico saudável, ajuda a formar colagénio, ajuda o corpo a absorver o ferro e é necessário para a produção de energia.

O cobre está presente em todo o cérebro. Numerosas enzimas no sistema nervoso central são cobre-dependentes, incluindo a tirosinase (necessária para a formação de melanina), ceruloplasmina, β-hidroxilase de dopamina (posteriormente é convertida em noradrenalina) e citocromo c oxidase.) O citocromo c oxidase é importante para a produção de energia dentro das células já que catalisa a redução de oxigénio na água dentro das mitocôndrias, criando um gradiente elétrico para produzir ATP. A lisil oxidase é necessária para a reticulação de colagénio e elastina, que são necessários para a formação de tecido conjuntivo forte e flexível de vasos sanguíneos e cardíacos. O citocromo c oxidase também está envolvido na síntese da baínha de mielina.[43]

A ingestão diária recomendada de cobre para um adulto é de cerca de 1,2 mg/dia. (**Tabela 3.**) [43]

A maioria das nozes (nozes brasileiras e cajus), sementes (papoila e girassol), grão-de-bico, fígado e ostras são ricas em cobre. Os suplementos de cobre estão disponíveis sob a forma de óxido cúprico, gluconato de cobre, sulfato de cobre e quelatos de aminoácidos de cobre.[43]

Em lactentes e crianças com deficiência de cobre, os sintomas (**Tabela 4**.) incluem leucopenia (um número anormalmente baixo de leucócitos), fragilidade esquelética e maior suscetibilidade ao trato respiratório e outras infeções. Se a deficiência for prolongada,

também se podem desenvolver anemia e osteoporose. Neutropenia (um número anormalmente baixo de neutrófilos), é um sinal clínico de deficiência de cobre. A doença de Wilson é uma doença genética hereditária em que os depósitos de cobre nos tecidos do cérebro, fígado e outros órgãos conduzem a hepatite, distúrbios cerebrais e problemas renais. A doença de Menkes é outro distúrbio genético que causa uma grave deficiência de cobre, em que os doentes sofrem de infeções frequentes e graves.[49]

Tabela 3. Ingestão diária Recomendada (IDR) de Cobre.[43]

Idade	IDR (mg/dia)
0-12 meses	0,3
1-3 anos	0,4
4-6 anos	0,6
7-10 anos	0,7
11-14 anos	0,8
15-16 anos	1,0
18+ anos	1,2
Lactação	+0,3

Tabela 4. Funções e Sintomas de Deficiência e Excesso de Cobre.[49]

Elemento	Funções Fisiológicas	Sintomas da deficiência	Sintomas do excesso
Cobre	Papel importante na cadeia de transporte de eletrões	Anemia, neutropenia, redução na atividade catalítica das enzimas	Cardiomiopatia, toxicidade crónica inclui efeitos no coração, tiroide e possibilidade de doenças hepáticas devido à expressão dos transportadores de cobre

2.5.2.7. Manganês

O manganês é o metal ativador da enzima piruvato carboxilase e, tal como outros iões metálicos divalentes, ativa variadas enzimas, tais como a arginase, aminopeptidase, fosfatase alcalina, lecitinase ou enolase. O manganês, mesmo em grandes quantidades, é relativamente pouco tóxico.[32]

2.5.2.8. Crómio

O crómio é muito importante na utilização da glicose. Por exemplo, ativa a enzima fosfoglucomutase e aumenta a atividade da insulina, e por isso, deficiência em crómio causa uma diminuição na tolerância à glucose e o risco de doença cardiovascular aumenta.[32]

2.5.2.9. Molibdénio

É um componente da enzima aldeído oxidase e da xantina oxidase. A enzima nitrato oxidase bacteriana envolvida na cura da carne e nos processos de produção de pickles contém molibdénio. Níveis altos deste metal são tóxicos, e isso foi demonstrado através de pastagens de gado em solos ricos em molibdénio.[32]

2.5.3. Elementos Ultra-Vestigiais

Os elementos ultra-vestigiais são o alumínio (Al), o bário (Ba), o cádmio, (Cd), o mercúrio (Hg), entre muitos outros. Estes elementos, cuja essencialidade foi testada em experiências com animais ao longo de várias gerações e sob condições extremas, originaram sintomas de deficiência característicos. Para cada um desses elementos, se for possível detetar uma função bioquímica ou qualquer questão em órgão vital, é porque esse elemento se pode classificar de oligoelemento.[35]

2.5.3.1. **Cádmio**

Os géneros alimentícios são a principal fonte de exposição ao Cd para a população em geral. O conteúdo de Cd nos alimentos é muito baixo. Assim, o contributo da dieta para a ingestão diária de cádmio é, portanto, pequeno.[50] (**Tabela 5.**)

Os grupos de alimentos que mais contribuem para a exposição ao Cd dietético, principalmente devido ao alto consumo, são cereais e produtos de cereais, nozes e legumes, raízes ou batatas e carne e produtos à base de carne. A exposição dietética média de cádmio em países europeus pode ser vista na **Tabela 5**. A exposição média para adultos em toda a Europa é próxima ou ligeiramente acima de 2,5 μg/kg de peso corporal.[43]

Tabela 5. Cádmio: fontes e toxicidade.[43]

Cádmio	
Fontes na alimentação	Vísceras (fígado e rins), marisco (moluscos bivalves: ostras, crustáceos, cefalópodes), peixe, algas marinhas, chocolate e comida de dietas especiais.
Ingestão	Média: 1,9-3,0 μg/kg peso corporal/semana Alta: 2,5-3,9 μg/kg peso corporal/semana Vegetarianos: 5,4 μg/kg peso corporal/semana Consumidores regulares de moluscos bivalves e cogumelos selvagens: 4,6 e 4,3 μg/kg peso corporal/semana, respetivamente.
Exposição e Toxicidade	Carcinogénico (grupo1) Ingestão Tolerável Semanal Provisória: 7μg/kg peso corporal.

Dietas deficientes em cálcio aumentam a retenção de Cd, sendo particularmente importante devido ao possível papel de Cd no desenvolvimento de osteomalácia, caracteristicamente visto na intoxicação por Cd (doença de *itai-itai*)[43], conforme se pode observar na **Figura 4**.

Figura 4. Paciente com "*Itai- itai*".

Cd e Zn são antagonistas mútuos. A absorção de Cd aumenta quando o conteúdo de Zn da dieta é baixo e a concentração deste no córtex renal aumenta com o aumento da concentração de Cd.[43]

Um estado nutricional adequado protege contra os efeitos adversos do Cd. Nesse sentido, verificou-se que famílias japonesas que consomem arroz rico em Cd e pobres em Zn desenvolveram o síndrome de Fanconi (proteinúria tubular renal proximal causada por Cd), enquanto os consumidores de ostras contaminadas com cádmio (5 mg/kg) na Nova Zelândia não apresentaram esse síndrome. A principal diferença entre as duas populações foi a maior provisão dietética de Ca, Fe e Zn na Nova Zelândia.[51]

2.6. A Espetrofotometria de Absorção Atómica

As técnicas de espetrofotometria de absorção são aplicadas há anos para analisar os átomos vaporizados de metais e não metais numa grande quantidade de amostras diferentes. Esta aplicação evoluiu a partir dos antigos espectrógrafos de emissão de centelhas usados nas décadas de 50 a 60 do século passado, até ao aparelho mais sofisticado utilizado hoje. As

vantagens desta técnica podem ser consultadas na **Figura 5**. É por essas razões que os elementos em estudo, zinco, cobre, selénio e cádmio irão ser avaliados por espetrofotometria de absorção atómica com chama. A determinação de elementos individuais em alimentos é de extrema importância, porque estes podem ser essenciais para o corpo humano ou atuar como compostos extremamente tóxicos. Este comportamento diferente depende em muitos casos da concentração em que os compostos são encontrados (por exemplo, Se). Atualmente, as técnicas de EAA são usadas na análise de alimentos, principalmente em três formatos fundamentais: A espectrofotometria de absorção atômica de chama, a espectrofotometria de absorção atômica eletrotérmica (forno de Grafite) e a espectrofotometria de emissão atómica de plasma acoplado indutivamente.[41]

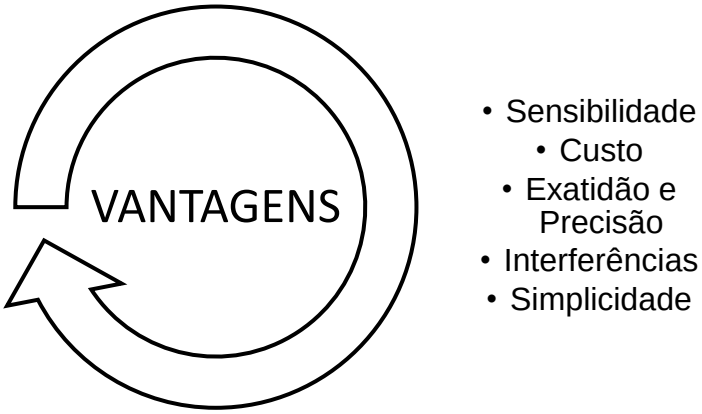


Figura 5. Vantagens do equipamento de Absorção Atómica.

As amostras foram analisadas pelo método interno do LFQ, QMI 126.

É um processo físico que mede a absorção da radiação pelos átomos livres de um elemento, radiação essa de comprimento de onda específico desse elemento. Baseia-se na passagem de um átomo do estado fundamental a um estado excitado.

Os dois tipos de atomizadores mais usados em espetrofotometria de absorção atómica são a chama e o forno de grafite. A espetrofotometria de absorção atómica com chama (EAAC) é a técnica mais utilizada para análises elementares nas concentrações da ordem de mg/L, enquanto que a espetrofotometria de absorção atómica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (EAAAEG) é utilizada para determinações de baixas concentrações, da ordem de μg/L.[27]

2.6.1. Fontes de Radiação

As três principais fontes de radiação são lâmpada de cátodo oco, fontes de espetros contínuos e lâmpadas de descarga sem elétrodos. Na determinação efetuada no nosso trabalho usou-se a lâmpada de cátodo oco.[27]

As lâmpadas de cátodo oco são construídas num tubo de vidro preenchido com gás inerte, onde, numa das extremidades se posicionam os elétrodos, sendo um cátodo confecionado com o próprio elemento metálico de interesse, ou revestido pelo mesmo, e um ânodo constituído por um bastão de zircónio ou tungsténio. A outra extremidade é selada com uma janela transparente ao comprimento de onda de interesse, sendo geralmente quartzo.[27]

O funcionamento básico de uma lâmpada de cátodo oco, cujo esquema se pode observar na **Figura 6**, consiste na aplicação de uma diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo, promovendo-se uma descarga dentro de um recipiente lacrado, contendo um gás nobre à baixa pressão. A tensão aplicada varia entre 150 e 400 volts, provocando-se a ionização do gás de enchimento. Os catiões formados são atraídos e acelerados em direção ao cátodo, colidindo violentamente com as paredes internas da cavidade do mesmo, arrancando átomos que ficam no estado vapor, e confinados no interior do cátodo oco. Esses átomos sofrem colisões com os iões do gás de enchimento, recebendo energia suficiente para passar ao estado excitado. O átomo neste estado é instável, e readquire a sua estabilidade quando volta ao estado fundamental, emitindo a energia armazenada na forma de radiação eletromagnética, cujo(s) comprimento(s) de onda é (são) característico(s) do elemento que constitui o cátodo.[27]

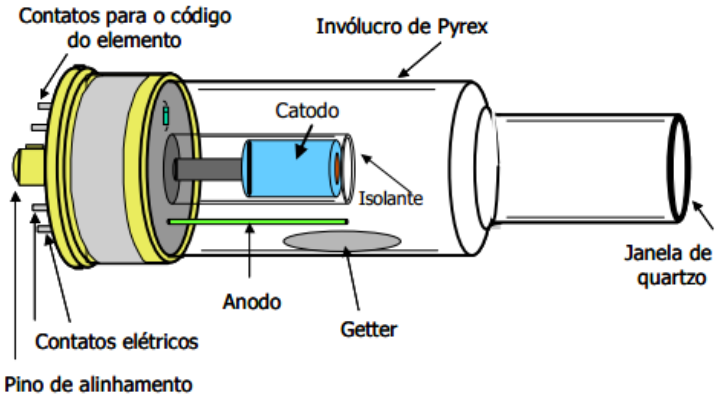


Figura 6. Esquema de uma lâmpada de cátodo oco.[27]

2.6.2. Monocromador

O monocromador (**Figura 7.**) separa a linha espetral de interesse das outras linhas emitidas pela fonte de radiação através da utilização de um prisma ou rede de difração associado a duas fendas estreitas que servem para entrada e saída de radiação. O prisma ou rede de difração irá decompor o feixe de radiação em comprimentos de onda discretos, com diferentes ângulos. Dessa forma, através da fenda de saída, é possível selecionar apenas a linha de comprimento de onda desejado.[27]

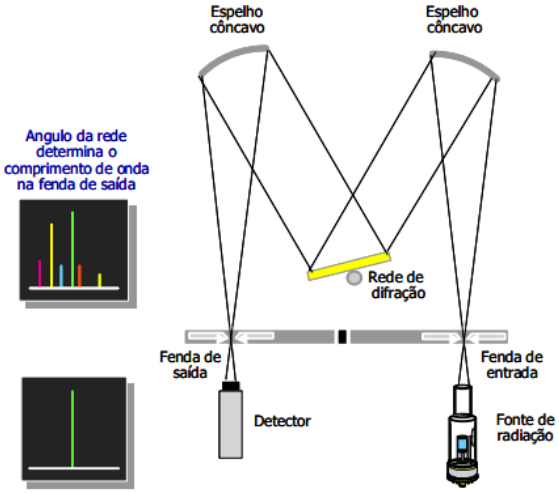


Figura 7. Esquema de um monocromador.[27]

2.6.3. Detetor

Os detetores encontrados nos espetrofotómetros de absorção atómica são as válvulas fotomultiplicadoras, cujo esquema se pode observar na **Figura 8**, ou detetores de estado sólido.[27]

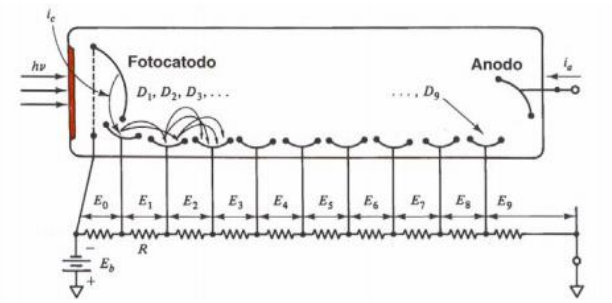


Figura 8. Corte esquemático de válvula fotomultiplicadora.[27]

Neste trabalho a quantificação de metais é feita por EAAC.

A chama tem a finalidade de transformar iões e moléculas em átomos no estado fundamental para um estado excitado. O tipo de chama mais utilizado em EAAC é a mistura ar/acetileno numa proporção relativamente elevada de oxidante em relação ao combustível (chama azul).[27]

A amostra em solução é aspirada (**Figura 9**.); passa para um nebulizador (**Figura 10**.) onde se forma uma neblina fina (aerossol).[52]

Os átomos mantêm-se no estado fundamental, podendo absorver radiação de comprimento de onda conveniente. Na chama, a radiação é convertida em átomos livres. O átomo no estado fundamental passa para um estado energético mais elevado (excitado).[52]

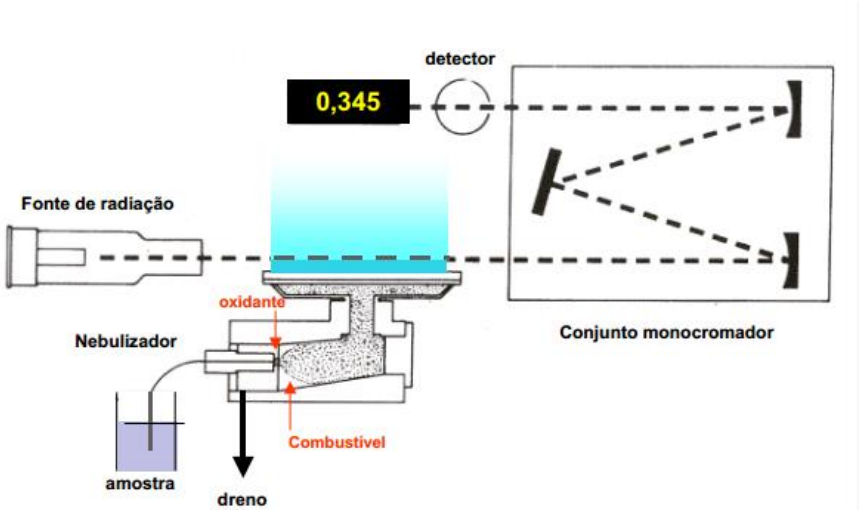


Figura 9. Esquema de funcionamento do Espetrofotómetro de Absorção Atómica com chama.

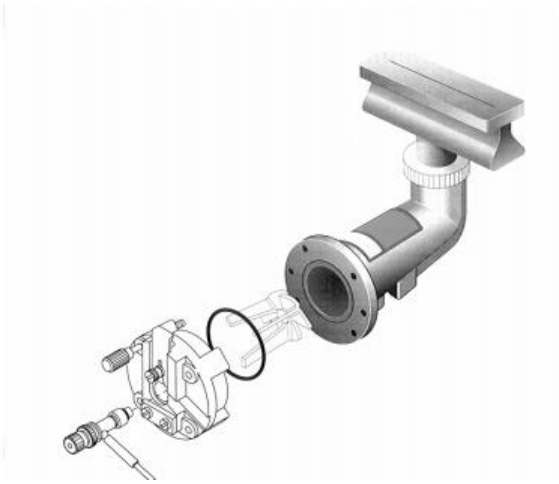


Figura 10. Conjunto nebulizador/queimador.[27]

2.7. A Avaliação de risco

Os seres humanos hoje estão expostos a uma infinidade de produtos químicos em alimentos, seja de origem antropogénica ou natural, e as agências de saúde pública desenvolveram métodos de avaliação de risco para obter níveis seguros de exposição e prevenir efeitos adversos para a saúde.[53]

Figura 11. Diagrama do processo de análise de risco.[54]

A Avaliação de Risco é um componente da análise de risco (**Figura 11.**) que estima a associação entre a exposição a um perigo e a incidência de resultados adversos.[19]

A Avaliação de Risco é um campo especializado de ciência aplicada que envolve a avaliação de riscos associados a fatores específicos (ou perigos). No caso do bem-estar dos animais, um fator é algo que tem potencial para afetar o bem-estar do animal, como as condições em que está alojado, como é transportado da exploração pecuária para o matadouro ou a forma como é abatido. Até agora, não havia diretrizes internacionais específicas sobre avaliação de risco para o bem-estar dos animais, o que significa que diferentes abordagens foram seguidas por especialistas científicos envolvidos com esse tipo de trabalho.[55]

Para uma correta avaliação de risco, é necessário que se realizem a identificação do perigo, a caracterização do perigo, a avaliação da exposição e a caracterização do risco.

3. Trabalho Experimental

De acordo com o objetivo principal, foi elaborado um plano de trabalho de forma a avaliar o risco para a saúde pública, ambiental e animal, associado aos teores dos elementos cobre, zinco, selénio e cádmio determinados em fígado de leitão. Em primeiro lugar recolheram-se as amostras provenientes de diferentes explorações pecuárias; de seguida, prepararam-se as amostras para as análises a realizar; procedeu-se à quantificação de cobre, zinco, cádmio e selénio nos fígados de leitão, pela técnica de absorção atómica por chama. Uma vez que o método utilizado na ASAE é um método de referência, procedeu-se à sua validação mediante os parâmetros: Limite de Deteção, Limite de Quantificação, Linearidade (através de padrões de referência) e Exatidão. No **Anexo II** encontra-se o exemplo da validação do método em cada leitura. De forma a confirmar a precisão dos resultados avaliou-se também a diferença entre os duplicados.

4. Materiais e método de análise

4.1. Equipamento, material e reagentes

O equipamento, material e reagentes utilizados neste trabalho experimental foram os seguintes:

- Espetrofotómetro de absorção atómica, de chama, UNICAM Solaar M6
- Mufla Nabertherm, com rampa de temperatural
- Balança analítica Mettler, de resolução 0,0001
- Arca Congeladora a -14°C
- Picadora Elétrica
- Máquina de lavar loiça
- Sacos de Polietileno
- Cadinhos de porcelana
- Balões Volumétricos
- Pipetas Volumétricas
- Micro Pipetas automáticas Brand (várias gamas de medição)
- Copos de vidro
- Espátulas
- Papel de filtro isento de cinzas
- Funis
- Frascos de Polietileno
- Pompete
- Banho de areia
- Placa de aquecimento elétrico
- Lâmpadas de Cátodo Oco dos metais zinco, cobre, selénio e cádmio
- Lâmpada de Deutério
- Água tipo I, (condutividade ≤0,055 μS/cm)
- Ácido Clorídrico 37% ρ_{20}=1,19 g/ml
- Ácido Nítrico 10% (m/m)
- Soluções comerciais de padrão para os metais zinco, cobre, selénio e cádmio para EAA (usualmente a 1000 mg/l)

- Soluções padrão intermédias e da curva de calibração - Partindo das soluções comerciais foram preparadas as soluções padrão intermédias e da curva de calibração, de acordo com a gama de trabalho, de cada metal (ver **Ponto 4.3.4.**). Estas soluções foram preparadas em HCl 0,3 M, tendo sido também preparada uma solução em branco nas mesmas condições dos padrões mas sem adição de qualquer quantidade destes.

O material necessário a cada série foi preparado no dia que antecedia a sua utilização. O material antes de ser utilizado foi sempre devidamente descontaminado. Os procedimentos de descontaminação do material seguem a QPA10.[63] Sucintamente, o material foi submetido a uma lavagem manual simples, a que se segue uma lavagem mecânica em máquina de lavar apropriada. O material, após lavagem mecânica, foi colocado em ácido nítrico a 10% (m/m) ficando em contacto durante 12/24h. Após esse tempo foi lavado abundantemente com água tipo I.

4.2. Amostras - Caracterização e preparação

As amostras de fígados foram adquiridas no dia 10 de novembro de 2017 num matadouro da zona da Bairrada, Coimbra. Os fígados recolhidos foram agrupados em grupos de três explorações pecuárias, incluindo interpostos e produção familiar. No total foram recolhidas 48 amostras e a **Tabela 6**. mostra as menções do aditivo de zinco utilizadas na alimentação dos leitões a ser abatidos.

Quando é administrado aos leitões o óxido de zinco, este deverá ser registado na IRCA (informação relativa à cadeia alimentar)[56] e sendo assim, o fígado não poderá ser utilizado para consumo humano.

A identidade da origem da produção suína foi anonimizada, sendo atribuído um código que diferencia os diferentes produtores, apenas desvendável no matadouro da recolha.

Tabela 6. Recolha das amostras e menções na IRCA.

Amostra	Óxido de zinco na IRCA
1[c]	Não mencionado
2[c]	Não mencionado
3[c]	Não mencionado
4[c]	Não
5[c]	Não
6[c]	Não
7[c]	Não
8[c]	Não
9[c]	Não
10[c]	Não mencionado
11[c]	Não mencionado
12[c]	Não mencionado
13[c]	Não
14[c]	Não
15[c]	Não
16[a]	Não
17[a]	Não
18[a]	Não
19[b]	Não
20[b]	Não
21[b]	Não
22[c]	Não
23[c]	Não
24[c]	Não
Amostra	Óxido de zinco na IRCA
25[c]	Não
26[c]	Não
27[c]	Não
28[c]	Não
29[c]	Não
30[c]	Não
31[b]	Não
32[b]	Não
33[b]	Não
34[b]	Não
35[b]	Não
36[b]	Não
37[c]	Não mencionado
38[c]	Não mencionado
39[c]	Não mencionado
40[c]	Não mencionado
41[c]	Não mencionado
42[c]	Não mencionado
43[a]	Não mencionado
44[a]	Não mencionado
45[a]	Não mencionado
46[b]	Não
47[b]	Não
48[b]	Não

a) Centro de Agrupamentos INTERPOSTO
b) Pequeno produtor EXPLORAÇÃO FAMILIAR
c) Produção em GRANDE ESCALA

A conservação das amostras, após a recolha, foi realizada por meio de congelamento a -14°C, em sacos de plástico devidamente rotulados. A descongelação apenas ocorreu no dia de preparação da amostra.

As amostras foram preparadas em séries de 5 a 6 amostras. Cada fígado foi triturado numa picadora elétrica na sala de preparações e dividido em dois frascos de polietileno: um para análise imediata e outro congelado com a alíquota, caso houvesse necessidade de uma repetição.

4.3. Procedimento analítico

4.3.1. Digestão da amostra - via seca

A toma das amostras foi de cerca de 5 g, pesadas em balança analítica. Todas as amostras foram analisadas em duplicado e todas as séries tiveram um branco de procedimento. Em cada série foi também introduzido um material de referência certificado para controlo complementar do processo.

As amostras (em duplicado) foram colocadas num banho de areia a 250°C de forma a retirar toda a humidade da amostra para evitar projeções quando fossem a carbonizar. Foi, depois, efetuada a carbonização das amostras em placa elétrica de aquecimento até cessar a libertação de fumo. Salienta-se que a matriz "fígado" tem muita gordura pelo é morosa a sua carbonização.

Após carbonização as amostras, os duplicados, o material de referência e o branco de procedimento foram colocados na mufla, onde se procedeu à incineração, que foi programada para uma temperatura final de 400°C, com rampa de aquecimento de 100°C/h.

Passadas 24h na mufla a 400°C, as amostras, os duplicados, o material de referência e o branco de procedimento foram retirados da mufla de forma a verificar-se se havia formação de cinzas brancas, pois só desta forma se considera completa a digestão por via seca. Caso não houvesse ainda formação de cinzas brancas, procedia-se à solubilização do resíduo, que consiste em colocar 2 mL de água tipo I em todos os cadinhos de forma a desagregar as cinzas para que incinerem mais depressa. Como já anteriormente referido, o fígado é uma matriz muito gordurosa e como tal, sempre que necessário adicionou-se uma gota de ácido nítrico de forma a acelerar a digestão da amostra. Os cadinhos foram de novo ao banho de areia e após secagem, recolocados na mufla a 400°C. O processo repetiu-se até serem obtidas cinzas brancas.

4.3.2. Dissolução das cinzas

Às cinzas brancas das amostras foram adicionados 10 mL de ácido clorídrico 3M e levadas a banho de areia até praticamente à secura. Após secagem, foi-lhes adicionado 2,5 mL de ácido clorídrico a 3M e transferidas quantitativamente para um balão de 25,0 mL com água de tipo I. Seguidamente todas as soluções foram filtradas com papel de filtro, isento de cinzas.

4.3.3. Leitura no espectrofotómetro Absorção Atómica com Chama

Para cada elemento realizaram-se sequencialmente as seguintes operações:

- Iniciação e estabilização do equipamento com escolha da lâmpada do elemento alvo (Zinco, Cobre Cádmio ou Selénio). Lâmpada de Deutério e seleção de método analítico;
- Otimização do sinal, com padrão de concentração conhecida, por meio de ajuste do caudal de aspiração;
- Leitura de cinco padrões na gama de trabalho (ver **Ponto 4.3.4.**) e estabelecimento da curva de calibração;

  Critério de aceitação da curva: resposta linear (observação visual) e coeficiente de correlação ≥ 0,995;

  Critério de validação da curva: leitura de um padrão independente de concentração conhecida que testa a veracidade da curva e ou de um material de referência;

  Validação do limite de quantificação *(LQ)* e de deteção *(LD)* (Ver **Anexo II**.) na sessão de trabalho pelos valores da curva de calibração $LQ = \frac{S_Y/_S}{b} \times 10$ menor ou igual ao padrão mais baixo da gama de quantificação;
- Leitura do branco de procedimento;
- Leitura das amostras em análise;
- Se necessário, realização de diluições adequadas para cada amostra;
- Confirmação da resposta instrumental com releitura de um padrão independente de concentração conhecida.

4.3.4. Caraterísticas específicas do método instrumental para cada elemento em análise

- Dados relevantes na análise do Zinco

Lâmpada de Cátodo Oco	Zinco
Lâmpada de Deutério	Sim
Linha principal de leitura	213,9 nm
Tipo de chama	Ar/Acetileno
Fluxo de gases	0,9 l/min
Altura do queimador	8,3 mm
Gama usual de trabalho	0,05 a 0,5 mg/l

- Dados relevantes na análise do Cobre

Lâmpada de Cátodo Oco	Cobre
Lâmpada de Deutério	Sim
Linha principal de leitura	324,8 nm
Tipo de chama	Ar/Acetileno
Fluxo de gases	1,0 l/min
Altura do queimador	8,4 mm
Gama usual de trabalho	0,05 a 1,0 mg/l

- Dados relevantes na análise do Cádmio

Lâmpada de Cátodo Oco	Cádmio
Lâmpada de Deutério	Sim
Linha principal de leitura	228,8 nm
Tipo de chama	Ar/Acetileno
Fluxo de gases	1,0 l/min
Altura do queimador	7,7 mm
Gama usual de trabalho	0,02 a 0,2 mg/l

- Dados relevantes na análise do Selénio

Lâmpada de Cátodo Oco	Selénio
Lâmpada de Deutério	Sim
Linha principal de leitura	196,0 nm
Tipo de chama	óxido nítrico/acetileno
Fluxo de gases	4,0 l/min
Altura do queimador	7,8 mm
Gama usual de trabalho	20 µg/l

4.3.5. Cálculo de resultados

O teor na amostra do elemento a determinar, C, expresso em mg/kg é dado por:

$$C = \frac{C_L \times Vd}{m} \times Fd$$

onde:

– C_L é a concentração obtida na solução amostra através da curva de calibração (descontando o valor obtido para o ensaio em branco), em mg/l;

– V*d* é o volume de solubilização da amostra após incineração, em ml;

– m é a massa da toma da amostra, em g;

– F*d* é o fator de diluição, se usado.

Os métodos usados têm como limite de repetibilidade (diferença absoluta entre os resultados de dois ensaios da mesma amostra, em condições de repetibilidade), o valor calculado a partir da equação do Horwitz modificada (ðH= $0.02c^{0.8495}$).[57]

5. Resultados obtidos e discussão

5.1. Zinco

A figura 12 apresenta os teores de zinco obtidos para as 48 amostras de fígado de leitão usadas neste estudo. Verifica-se que 36 amostras têm teor inferior a 400 mg/kg (que corresponde a 75%). Das restantes 12 amostras, 5 ultrapassam os 800 mg/kg sendo o valor máximo observado de 1272 mg de zinco por kg de fígado de leitão, corresponde à amostra número catorze. (**Anexo 1**.)

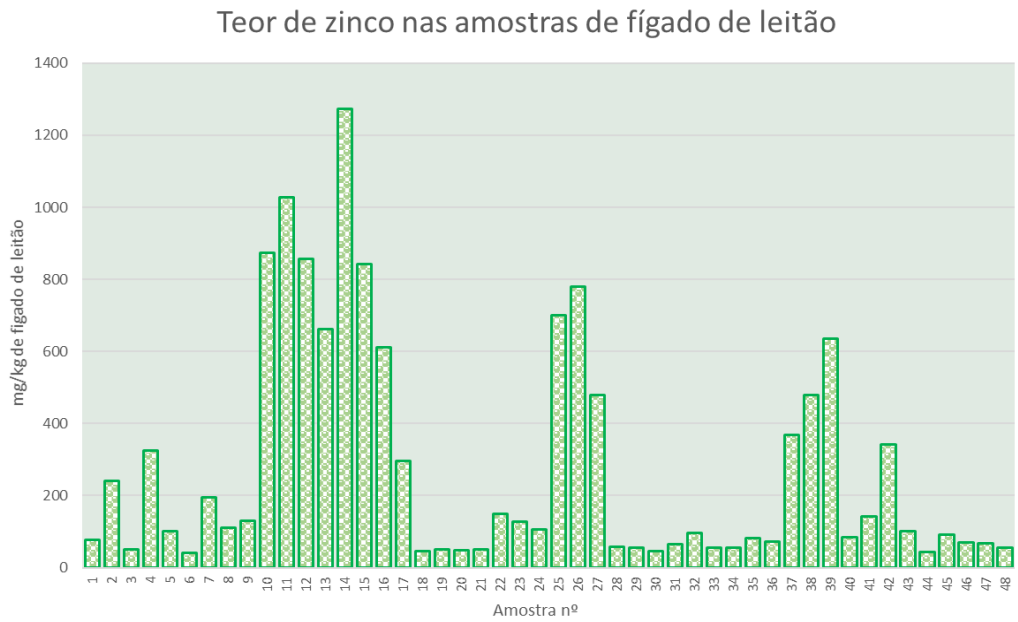


Figura 12. Gráfico correspondente aos teores de zinco nas amostras de fígado.

O valor médio das 48 amostras, para o zinco foi de 282 mg/kg. Recalculada a média, retirando respetivamente os valores máximo e mínimo (de forma avaliar se eram suficientemente afastados para enviesar o valor médio) obteve-se, respetivamente 256 e 282 mg/kg, que não é um desvio significativo (cerca de 9% e 0%).[57] (Ver **Ponto 5.5**). Determinou-se também a moda dos valores que foi de 50 mg/kg de fígado.

5.2. Cobre

A figura 13 apresenta os teores de cobre obtidos para as 48 amostras de fígado de leitão usadas neste estudo. Verifica-se que 37 amostras têm teor inferior a 20 mg/kg (que corresponde a 77%). Das restantes 11 amostras apenas 5 ultrapassam as 40 mg/kg sendo o valor máximo observado de 74 mg de cobre por kg de fígado de leitão, corresponde à amostra número cinco. (**Anexo 1**)

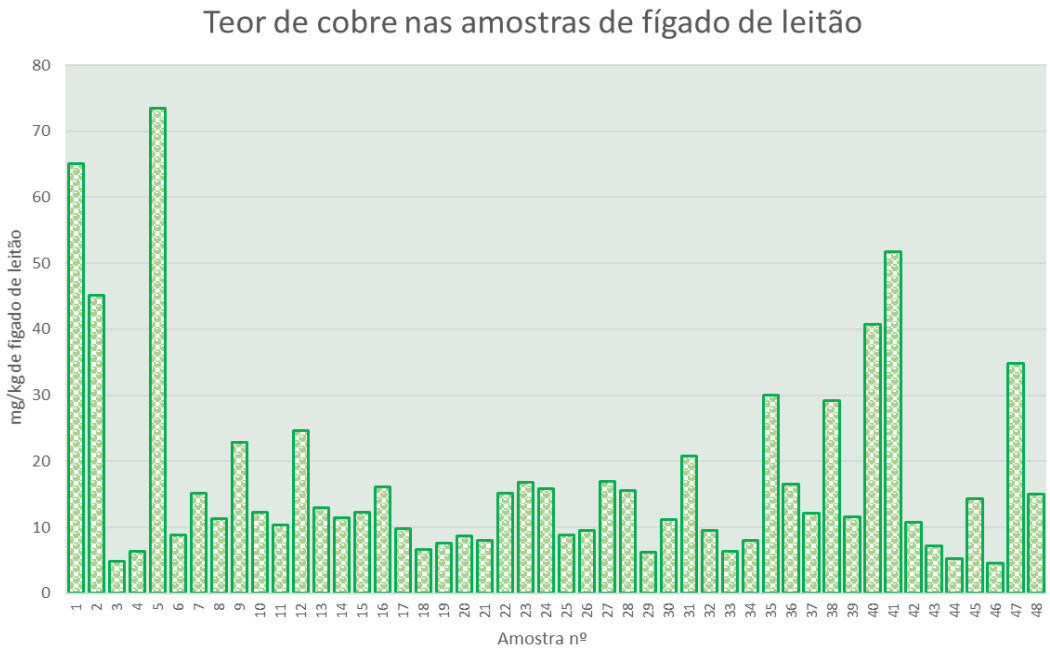


Figura 13. Gráfico correspondente aos teores de Cobre nas amostras de fígado.

O valor médio das 48 amostras, para o cobre foi de 17 mg/kg. Recalculada a média, retirando respetivamente os valores máximo e mínimo (de forma avaliar de eram suficientemente afastados para enviesar o valor médio) obteve-se, respetivamente 16 e 18 mg/kg, que não é um desvio significativo (cerca de 6%). Determinou-se também a moda dos valores que foi de 12 mg/kg de fígado.

5.3. Cádmio

A análise para o teor de cádmio foi realizada pelo mesmo método tendo a gama de trabalho o padrão mínimo de 0,01 mg/l (correspondente ao limite de quantificação na curva). Todas as amostras analisadas para a determinação do teor de cádmio, obtiveram como resultado <0,02 mg/kg (LD).

5.4. Selénio

A análise para o teor de selénio foi realizada pelo mesmo método tendo a gama de trabalho o padrão mínimo de 0,5 mg/l (correspondente ao limite de quantificação na curva).

Para o selénio apenas foi possível proceder à análise de 11 amostras devido a instabilidade instrumental que não foi possível resolver em tempo útil. Dessas 11 amostras analisadas todas obtiveram com resultado <0,8 mg/kg (LD).

5.5. Avaliação da precisão dos resultados de teores de cobre e zinco

Neste estudo os teores de cada elemento, reportados para cada amostra, são o valor médio de duas determinações independentes.

Quando assim se trabalha é prática comum no âmbito do controlo de qualidade do método comparar a diferença obtida nos duplicados com um valor/critério de aceitação. Esse valor/critério é o limite de repetibilidade. A diferença entre os resultados de dois ensaios, realizados pelo mesmo operador, em paralelo, com o mesmo equipamento não deve, em 95% dos casos, ultrapassar o limite de repetibilidade estabelecido[58]. Com este critério visa-se garantir que o método produz resultados precisos.

Nos métodos realizados o critério de limite máximo de repetibilidade resulta da aplicação da equação de Horwitz modificada. ($\delta H=0.02c^{0.8495}$).[57]

As Figuras 14 e 15 comparam a diferença experimental entre os valores dos dois duplicados e o limite de repetibilidade, ambos em valor relativo, para o valor médio encontrado na amostra.

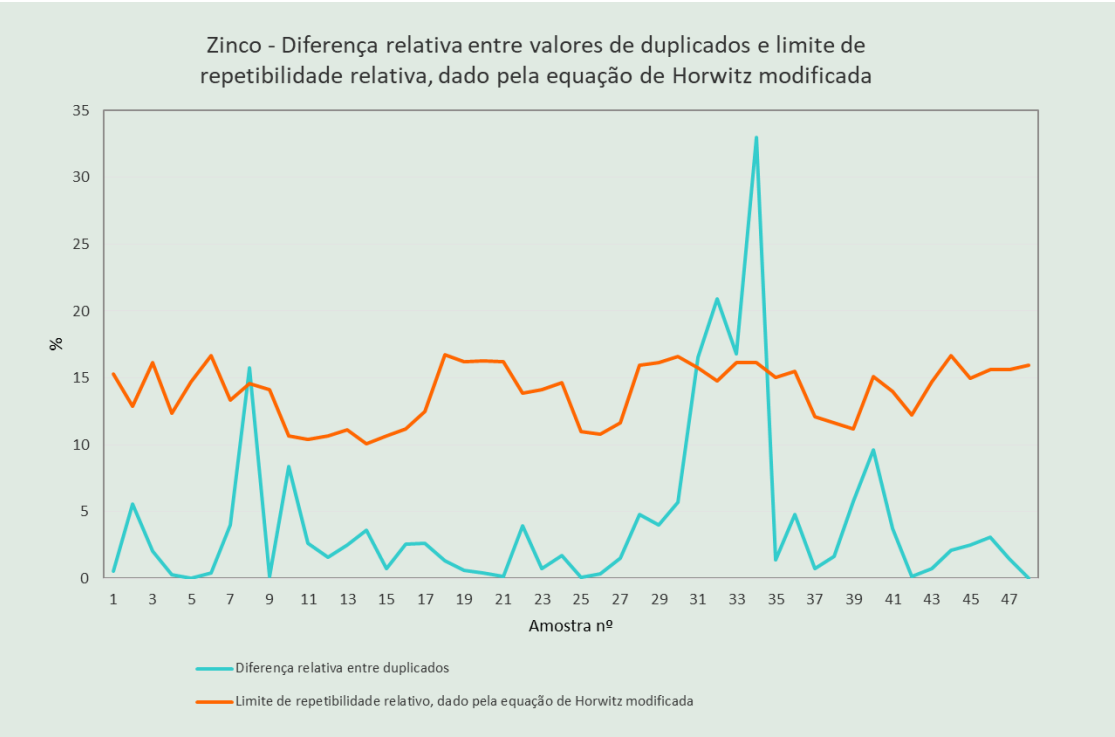


Figura 14. Diferença Relativa entre valores de duplicados e limite de repetibilidade relativa para o zinco.

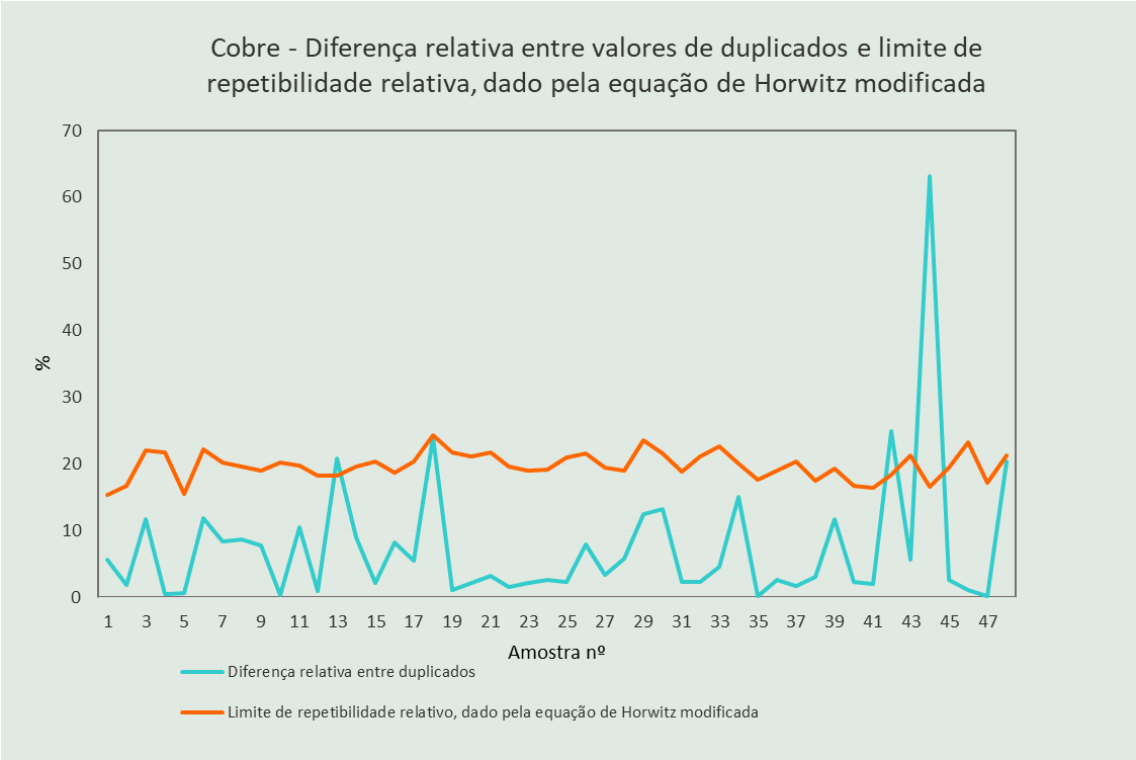


Figura 15. Diferença Relativa entre valores de duplicados e limite de repetibilidade relativa para o cobre.

Pela observação das Figuras 14 e 15 Verifica-se que, para o cobre, apenas 3 amostras não cumpriram o critério de repetibilidade e que para o zinco esse número foi de 5, sendo que 3 delas (amostras 8,31 e 33) o valor foi ultrapassado muito ligeiramente.

Assim, para a grande maioria das amostras analisadas, 90% para o zinco e 93% para o cobre foi cumprido o critério de repetibilidade entre duplicados.

Ressalva-se, contudo, que para as amostras em que tal ocorreu, os valores encontrados de zinco ou cobre não são dos mais elevados o que significa que a sequente avaliação de risco apresentada não está afetada por esta ocorrência.

Os resultados dos duplicados de cada amostra podem ser consultados no **Anexo I**.

6. Avaliação de risco

Na **Figura 16.** encontram-se as disponibilidades alimentares de carne (incluindo as miudezas/vísceras) nos anos 2012 a 2016 para Portugal, segundo os dados da Balança Alimentar Portuguesa.

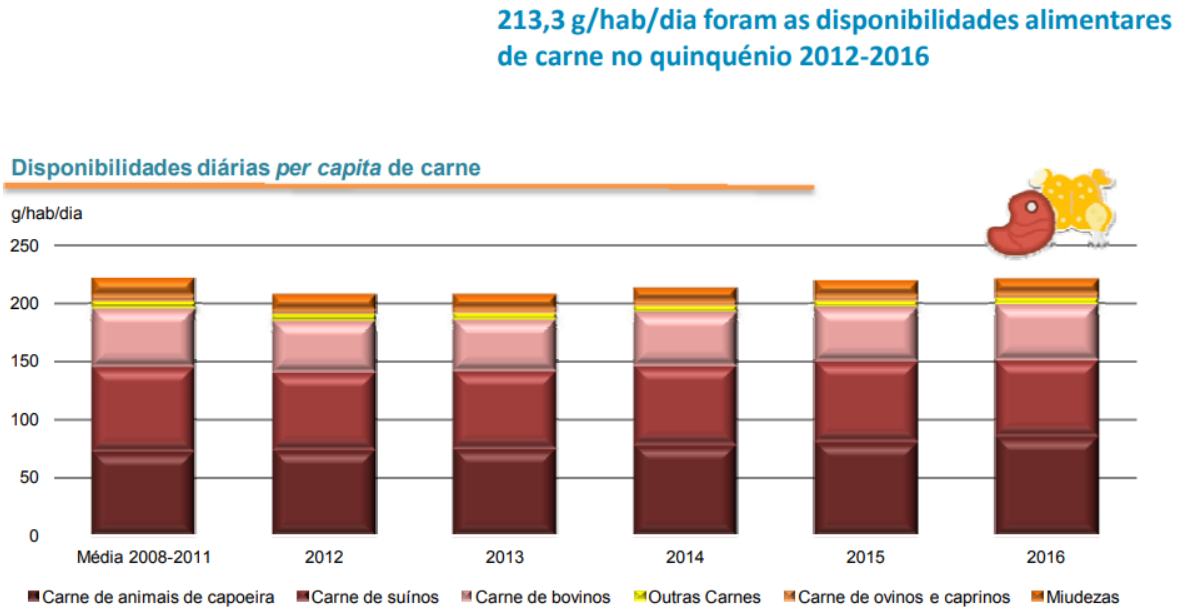


Figura 16. Disponibilidades Diárias *per capita* de carne em Portugal.[59]

Na região da Bairrada, consomem-se fígados de leitão sobre as seguintes formas:

a. cabidela de leitão (que utiliza o coração, fígado e pulmões) – são utilizados cerca de 100 g de fígado de leitão por porção;
b. iscas de fígado de leitão – são utilizados cerca de 300 g de fígado de leitão por porção;
c. sarrabulho de leitão – são utilizados cerca de 300 g de fígado de leitão por porção.

Em Portugal, as disponibilidades alimentares (consumos) de miudezas (vísceras) no quinquénio de 2012-2016 foram cerca de 7-10 g/hab/dia. Nesta categoria podemos incluir o fígado de leitão.[59]

Assim, e uma vez formulado o problema (ver abaixo), a avaliação do risco segue três etapas principais:

- avaliação da exposição, em que o nível e duração da exposição são fatores definidos;
- caracterização das consequências, em que se descreve o efeito que a exposição dos fatores terá no bem-estar para o animal, o Homem (consumidor e utilizador) e o ambiente;
- caracterização do risco, que descreve a probabilidade de ocorrência e magnitude dos efeitos negativos sobre o bem-estar para o animal, o Homem (consumidor e utilizador) e o ambiente, incluindo quaisquer incertezas e premissas relacionadas à avaliação de risco.[55]

FORMULAÇÃO DO PROBLEMA: **Consequências da ingestão de zinco e cobre presente no fígado de leitão.**

Tendo em conta os resultados obtidos, a avaliação de risco foi realizada apenas para o zinco e para o cobre.

6.1. Segurança para o consumidor - Zinco

O Comité Científico de Alimentos (SCF) estabeleceu uma ingestão máxima tolerável (UL) de zinco de **25 mg/dia para adultos** e de **13 mg/dia** para crianças de 7 a 10 anos. A UL foi baseada na absorção de cobre deprimida e num perfil lipídico alterado em seres humanos. **Um fator de incerteza de 2** foi aplicado devido ao pequeno número de indivíduos incluídos em estudos de relativamente curto prazo, mas reconhecendo as condições experimentais metabólicas rigidamente controladas que foram utilizadas.[60]

No geral, o conteúdo de zinco do fígado, rim e músculos permanece baixo quando o zinco é ingerido em valores dentro dos que são exigidos diariamente; no entanto, com ingestão adicional de zinco dentro de níveis recomendados, o teor de zinco no fígado e nos rins é aumentado enquanto o zinco muscular permanece praticamente inalterado.[60]

Em todos os grupos de consumidores, os tecidos e os produtos de origem animal contribuíram para cerca de 40-50% da ingestão total de zinco.[60]

Neste estudo, vamos considerar apenas os valores provenientes do fígado analisado, sendo que ao valor obtido, acrescerá a contribuição de outras fontes na totalidade de zinco ingerida.

6.1.1. Cenário para uma ingestão de 100 g de fígado/dia (valor médio na Europa)

Supondo que um adulto e uma criança comem 100 g de fígado por dia[10], e que esse fígado possui **1272 mg/kg** (worst case scenario, no nosso caso), esses mesmos adulto e criança estarão a ingerir cerca de **127 mg** de zinco por dia. Sabendo que a ingestão diária de zinco através de fígado e outras "vísceras" corresponde a cerca de 50% do consumo total de zinco diário, a este valor ainda se poderá acrescentar o valor correspondente às outras fontes de zinco.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável de zinco por dia é de 25 mg para adultos e 13 mg para as crianças. [60] Nesse sentido, conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais alto de zinco, estará a consumir **5 vezes** mais zinco do que o tolerável diariamente, apenas no consumo deste fígado e se uma criança consumir exatamente o mesmo fígado poderá estar a consumir cerca de **10 vezes** mais zinco do que o tolerável.

Para um valor de 41 mg/kg (best case scenario, nas amostras analisadas), obtém-se um valor de **4 mg** de zinco ingeridas por dia nas condições acima descritas. Este valor não ultrapassa o limite máximo tolerável para o adulto e para a criança, deixando também margem para a ingestão de zinco proveniente de outras fontes, pelo que, o fígado consumido será seguro.

6.1.2. Cenário português para uma ingestão de 10 g de fígado/dia

Supondo que um adulto e uma criança comem 10 g de fígado por dia[59], e que esse fígado possui **1272 mg/kg** (worst case scenario, no nosso caso), esses mesmos adulto e criança estarão a ingerir cerca de **13 mg** de zinco por dia. Sabendo que a ingestão diária de zinco através de fígado e outras "vísceras", para os adultos, corresponde a cerca de 50% do consumo total de zinco diário, a este valor ainda se poderá acrescentar o valor correspondente às outras fontes de zinco.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável de zinco por dia é de 25 mg para adultos e 13 mg para as crianças.[60] Nesse sentido, conclui-se que se um adulto consumir 10 g dos fígados analisados com o teor mais elevado de zinco, não será alarmante pois é um valor

abaixo do tolerado e, ainda, com margem de exposição para outras fontes. No caso das crianças, este valor é igual à ingestão máxima tolerável e poderá ser ultrapassado uma vez ingerido zinco através de outras fontes que não apenas o fígado de leitão em questão.

Para um valor de 41 mg/kg (best case scenario, nas amostras analisadas), obtém-se um valor de **0,4 mg** de zinco ingeridas por dia nas condições acima descritas. Este fígado está longe de ter algum efeito prejudicial na saúde do consumidor.

6.1.3. Cenário agudo para uma ingestão de 300 g de fígado

Na zona da Bairrada ingere-se fígado de leitão com frequência nos pratos típicos (acima mencionados).

Supondo que um adulto e uma criança comem 300 g de fígado num dia (valor correspondente à quantidade por excesso de fígado de leitão utilizado em pratos típicos da zona da Bairrada), e que esse fígado possui **1272 mg/kg** (worst case scenario, no nosso caso), essas mesmas pessoas estarão a ingerir cerca de **382 mg** de zinco. Sabendo que a ingestão diária de zinco através de fígado e outras "vísceras" corresponde a cerca de 50% do consumo total de zinco diário a este valor ainda se poderá acrescentar o valor correspondente às outras fontes de zinco.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável de zinco por dia é de 25 mg para adultos e 13 mg para crianças.[60] Neste sentido, conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais elevado de zinco, estará a consumir um teor de zinco de cerca de **15 vezes** superior ao tolerável. Se a criança ingerir as 300 g desse fígado, estará a consumir cerca de **29 vezes** superior ao tolerável diariamente.

Para um valor de 41 mg/kg (best case scenario, para as amostras analisadas), obtém-se um valor de **13 mg** de zinco ingeridas por dia nas condições acima descritas. Este fígado é seguro para os adultos, no entanto, coincide com a ingestão máxima tolerável por dia para as crianças, e a este valor ainda se acrescenta o valor relativo a outras fontes. Uma vez que este é um cenário agudo, não será de alarmar pois não representa uma ingestão frequente.

Para um cenário agudo: a exposição oral a uma dose elevada de compostos de zinco geralmente resulta em desconforto gastrointestinal com sintomas clínicos de náuseas, vómitos, cólicas abdominais e diarreia.[61]

6.1.4. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 43 g de fígado/dia

A zona da Bairrada é bastante marcada pela ingestão de pratos contendo leitão, incluindo o fígado. Nesse sentido, podemos assumir que um adulto poderá consumir um destes pratos uma vez por semana. Ao consumir cerca de 300 g de fígado por semana (valor correspondente à quantidade por excesso de fígado de leitão utilizado em pratos típicos da zona da Bairrada), extrapolando, assumimos que consome cerca de 43 g/dia. Ora, supondo que um adulto e uma criança comem 43 g de fígado/dia, e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **1272 mg/kg**, essas mesmas pessoas estarão a ingerir cerca de **55 mg** de zinco. Sabendo que a ingestão diária de zinco através de fígado e outras "vísceras" corresponde a cerca de 50% do consumo total de zinco diário a este valor ainda se poderá acrescentar o valor correspondente às outras fontes de zinco.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável de zinco por dia é de 25 mg para adultos 13 mg para crianças.[60] Conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais alto de zinco, estará a consumir um teor de zinco de cerca de **2 vezes** superior ao tolerável. Se a criança ingerir 43 g/dia de fígado, estará a consumir cerca de **4 vezes** superior ao tolerável diariamente.

Para um valor de 41 mg/kg (best case scenario para as amostras analisadas), obtém-se um valor de **1,8 mg** de zinco ingeridas por dia nas condições acima descritas. Este cenário é seguro, tanto para o adulto como para a criança, deixando margem para a adição de qualquer outra fonte de zinco.

6.1.5. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 22 g de fígado/dia

Supondo que a ingestão dos pratos típicos da Bairrada ocorre de duas em duas semanas (2 vezes por mês) e que, portanto, um adulto e uma criança comem 22 g de fígado/dia, e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **1272 mg/kg**, essas mesmas pessoas estarão a ingerir cerca de **28 mg** de zinco. Sabendo que a ingestão diária de zinco através de fígado e outras "vísceras" corresponde a cerca de 50% do consumo total de zinco diário, a este valor ainda se poderá acrescentar o valor correspondente às outras fontes de zinco.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável de zinco por dia é de 25 mg para adultos e 13 mg para crianças.[60] Neste sentido, conclui-se que se um adulto consumir um

dos fígados analisados com o valor mais alto de zinco, estará a consumir um teor de zinco ligeiramente acima do tolerável. Se a criança ingerir 22 g/dia de fígado, estará a consumir cerca de **2 vezes** superior ao tolerável diariamente.

Para um valor de 41 mg/kg (best case scenario, nas amostras analisadas), obtém-se um valor de **1 mg** de zinco ingeridas por dia nas condições acima descritas. Uma vez mais, este cenário é seguro, tanto para o adulto como para a criança, deixando margem para a adição de qualquer outra fonte de zinco.

Todos estes cenários de avaliação de risco, têm como objetivo mostrar as várias situações reais em que poderá haver uma sobre ingestão de zinco. Em geral, o português não ultrapassa os limites diários de ingestão, pelo que parece não haver razão de preocupação. No entanto, quando a atenção é focada na Bairrada, com forte incidência e consumo de alimentos que tem por base o leitão e as suas "vísceras", a realidade já pode ser outra. Os diferentes cenários mostram, consoante a ingestão de um típico habitante da Bairrada, os diferentes riscos, sendo que em todos esses cenários, a ingestão máxima tolerável é ultrapassada.

6.2. Segurança para o consumidor - Cobre

O Comité Científico de Alimentos (SCF) estabeleceu uma ingestão máxima tolerável (UL) para cobre de **5 mg/dia para adultos** e de **2 mg/dia** para crianças de 4 a 6 anos, **3 mg/dia** para crianças de 7 a 10 anos e **4 mg/dia** para crianças de 11 a 17 anos.[62]

6.2.1. Cenário para uma ingestão de 100 g de fígado/dia (valor médio na Europa)

Supondo que um adulto e uma criança comem 100 g de fígado por dia[10], e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **74 mg/kg** de cobre, esses mesmos adulto e criança estarão a ingerir **7 mg** de cobre, valor superior à ingestão máxima tolerável. Esta quantidade ainda será adicionada às restantes fontes de cobre provenientes de outros alimentos.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável por dia é de 5 mg para adultos e inferior a 5 mg para as crianças.[62] Nesse sentido, conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais alto de cobre, poderá estar a consumir mais cobre do que o tolerável diariamente e se uma criança consumir exatamente o mesmo fígado poderá estar a consumir cerca de **2 vezes** mais cobre do que o tolerável, dependendo da idade. (ver acima)

6.2.2. Cenário português para uma ingestão de 10 g de fígado/dia

Supondo que um adulto e uma criança comem 10 g de fígado por dia[59], e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **74 mg/kg** de cobre, esses mesmos adulto e criança estarão a ingerir cerca de **1 mg** de cobre.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável por dia é de 5 mg para adultos e inferior a 5 mg para as crianças.[62] Desta forma, conclui-se que, tanto um adulto como uma criança, se consumirem um dos fígados analisados com o valor mais alto de cobre, não estarão a ultrapassar a ingestão máxima diária tolerável, no caso de ingerirem apenas 10 g de fígado de leitão diariamente, deixando margem de exposição para a ingestão por outras fontes.

6.2.3. Cenário agudo para uma ingestão de 300 g de fígado

Na zona da Bairrada ingere-se fígado de leitão com frequência nos pratos típicos (acima mencionados).

Supondo que um adulto e uma criança comem 300 g de fígado num dia (valor correspondente à quantidade por excesso de fígado de leitão utilizado em pratos típicos da zona da Bairrada), e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **74 mg/kg** de cobre, esses mesmos adulto e criança estarão a ingerir cerca de **22 mg** de cobre.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável por dia é de 5 mg para adultos e inferior a 5 mg para as crianças.[62] Assim sendo, conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais alto de cobre, poderá estar a consumir cerca de **4 vezes** mais do que a quantidade de cobre tolerável diariamente e se uma criança consumir exatamente o mesmo fígado poderá estar a consumir cerca de **10 vezes** mais cobre do que o tolerável, em apenas uma refeição.

De salientar que os sintomas da intoxicação aguda de cobre incluem salivação, dor epigástrica, náusea, vómito e diarreia. Os iões de cobre têm um efeito irritante nas membranas mucosas.[60]

6.2.4. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 43 g de fígado/dia

A zona da Bairrada é bastante marcada pela ingestão de pratos contendo leitão, incluindo o fígado. Nesse sentido, podemos assumir que um adulto poderá consumir um

destes pratos uma vez por semana. Ao consumir cerca de 300 g de fígado por semana (valor correspondente à quantidade por excesso de fígado de leitão utilizado em pratos típicos da zona da Bairrada), extrapolando, assumimos que consome cerca de 43 g/dia. Ora, supondo que um adulto e uma criança comem 43 g de fígado/dia, e que esse fígado possui (worst case scenario, no nosso caso) **74 mg/kg**, essas mesmas pessoas estarão a ingerir cerca de **3 mg** de cobre.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável por dia é de 5 mg para adultos e inferior a 5 mg para as crianças.[62] Neste sentido, conclui-se que se um adulto consumir um dos fígados analisados com o valor mais alto de cobre, poderá estar a consumir **metade** da quantidade de cobre tolerável diariamente e se uma criança até aos 10 anos consumir exatamente o mesmo fígado poderá estar a consumir **mais** cobre do que o tolerável, em apenas uma refeição.

6.2.5. Cenário de um habitante da Bairrada para uma ingestão de 22 g de fígado/dia

Supondo que a ingestão dos pratos típicos da Bairrada ocorre de duas em duas semanas (2 vezes por mês) e que, portanto, um adulto e uma criança comem 22 g de fígado/dia, e que esse fígado possui (worst case cenário, no nosso caso) **74 mg/kg**, essas mesmas pessoas estarão a ingerir cerca de **2 mg** de cobre.

Segundo a EFSA, a ingestão máxima tolerável por dia é de 5 mg para adultos e inferior a 5 mg para as crianças.[62] Desta forma, conclui-se que se, tanto um adulto como uma criança consumirem 22g de fígado de leitão por dia, não ultrapassarão a ingestão diária tolerável para o cobre, no entanto não deverão ingerir alimentos que contenham muito cobre (como é o caso dos cogumelos).

6.3. Segurança para os utilizadores/trabalhadores - Zinco

Uma vez que nas explorações pecuárias, os leitões são confinados a espaços normalmente fechados, os tratadores poderão estar sujeitos à inalação do pó proveniente da ração. Assim, atendendo a que esta ração pode conter teores relativamente elevados de zinco que, em contacto direto com a pele, incluindo a forte probabilidade de inalação, podem trazer perigo para quem manipule esses alimentos para os leitões, se não forem tomadas as devidas precauções.

O óxido de zinco é frequentemente usado como constituinte numa variedade de cremes e pomadas destinados a ser utilizados para o tratamento de irritação menor da pele, incluindo tipos específicos de erupção cutânea e para proteção contra a exposição ao sol. O Comité Científico dos Produtos Cosméticos e dos Produtos Não Alimentares destinados aos Consumidores concluiu que o óxido de zinco é (i) não irritante para a pele com base em estudos em coelhos, ratos e cobaias, (ii) não irritante para os olhos com base em um teste com coelhos e (iii) não é um sensibilizador para a pele com base em um teste de maximização com cobaias. O óxido de zinco sob aplicação é considerado um composto com alto potencial de remoção de pó, o que pode resultar na exposição dos usuários por inalação. A exposição a altas concentrações afetará o sistema respiratório humano. Na opinião do Painel FEEDAP, seria prudente tomar medidas para evitar a exposição por inalação.[60]

6.4. Segurança para os utilizadores/trabalhadores - Cobre

Uma vez que nas explorações pecuárias, os leitões são confinados a espaços normalmente fechados, os tratadores poderão estar sujeitos à inalação do pó proveniente da ração. Assim, atendendo a que esta ração pode conter teores relativamente elevados de cobre que, em contacto direto com a pele, incluindo a forte probabilidade de inalação, podem trazer perigo para quem manipule esses alimentos para os leitões, se não forem tomadas as devidas precauções.

Nos seres humanos, o cobre é um irritante respiratório. Vários sintomas sugestivos de irritação respiratória, incluindo tosse, espirros, dor torácica e nariz a escorrer, foram relatados em trabalhadores expostos à poeira de cobre. Fibrose pulmonar linear e nódulos pulmonares têm sido relatados em trabalhadores envolvidos na peneiração de cobre. Anorexia, náusea e diarreia ocasional ocorreram em trabalhadores envolvidos na moagem e peneiramento de pó de cobre.[60]

Este cenário é particularmente preocupante caso haja uma exposição repetida e sem utilização do equipamento de proteção individual (máscaras, neste caso), uma vez que poderá levar a doenças pulmonares crónicas.

6.5. Segurança para o meio ambiente - Zinco

O zinco é excretado na urina e nas fezes dos leitões. A possibilidade do zinco entrar no meio ambiente pode considerar-se elevada quando o estrume proveniente das

explorações for aplicado no solo como fertilizante. Isso pode apresentar dois principais riscos potenciais: acumulação de zinco na camada superficial do solo para concentrações que apresentam potenciais riscos tóxicos para os organismos do solo; lixiviação de zinco do solo para águas superficiais para concentrações que apresentam potenciais riscos tóxicos para os organismos residentes na coluna de água e sedimentos do fundo.[60]

6.6. Segurança para o meio ambiente - Cobre

Não foram identificados riscos para o meio ambiente consecutivos do uso de cobre em porcos e ruminantes com os níveis de suplementação autorizados.[60]

7. Conclusões

O zinco e o cobre são oligoelementos essenciais ao ser humano e ao animal para cobrir os seus requisitos fisiológicos e (no último caso) de forma da garantir o seu bem-estar. Todavia, se presentes em quantidades elevadas, podem apresentar riscos.

O selénio e o cádmio não serão objeto das conclusões tendo em conta os resultados obtidos, dado que não permitiram uma avaliação de risco (Cádmio < LQ e selénio, em boa verdade não se conseguiu determinar com este método). Talvez a utilização da AAS em Câmara de grafite permita obter resultados em fígado de leitão que possam confirmar que cádmio e selénio não apresentarão riscos para o consumidor, utilizador, ambiente e espécie-alvo (neste caso o leitão).

Através deste estudo experimental, (ao que se sabe, o primeiro deste género a ser realizado em Portugal) pretendeu apurar se a utilização dos elementos referidos como aditivos para a alimentação de leitões abatidos na zona da Bairrada, poderia resultar em algum risco para a saúde do próprio animal, para o ambiente e para o consumidor. Uma vez que não foi analisada a ração ingerida por cada um dos leitões correspondentes ao fígado analisado, não se consegue tirar elações do cumprimento ou não da legislação aplicável.

Após realizada a avaliação de risco para o consumidor, verificou-se que as ingestões máximas toleráveis diárias foram ultrapassadas em ambos os casos (zinco e cobre), levando a crer que poderão não ter sido cumpridos os limites máximos destes aditivos utilizados na alimentação dos respetivos animais.

Embora, no caso do cobre se possa ultrapassar os limites diários de ingestão, o seu risco é limitado para o consumidor uma vez que só ultrapassa estes limites numa situação de exposição aguda.

O risco para o leitão não foi possível de determinar, como já se disse.

No entanto, o risco para o utilizador não será alarmante se se tomarem as precauções necessárias com os equipamentos de proteção individual no manuseamento do mesmo, nomeadamente máscaras, uma vez que é tóxico por inalação. O risco para o ambiente no que toca a acumulação de cobre não tem estudos que o provem.

De uma forma geral, podemos concluir, com base nos resultados obtidos, que a utilização de cobre na alimentação de leitões estará longe de se tratar de um assunto preocupante.

O zinco, pelo contrário, mostrou ser um aditivo bastante preocupante.

Após a avaliação de risco para o consumidor, concluiu-se que em todos os cenários em que é usada a concentração mais elevada de zinco (worst case scenario) obtida num dos fígados de leitão, ultrapassaram-se os limites toleráveis de ingestão diária. Em casos de ingestão aguda, chegou mesmo a ser 29 vezes superior ao valor máximo tolerável.

Acresce que este oligoelemento apresenta um efeito cumulativo no organismo humano e como tal, uma ingestão em grandes doses levará a efeitos prejudiciais, principalmente no que toca à função imune. [44] Altas ingestões de zinco podem resultar também numa deficiência em cobre, que, por sua vez, levará a outras patologias severas como, por exemplo Anemia, neutropenia e redução na atividade catalítica das enzimas[49].

Ainda que não existindo uma avaliação de risco para a espécie-alvo (leitões), pelas concentrações encontradas nos fígados, é possível concluir que a administração de zinco a alguns dos animais (12 amostras em que isso acontece) teria sido em concentrações elevadas. A adição de zinco na alimentação de leitões tem como objetivo prevenir e controlar as diarreias pós-desmame e contribuir para o bem-estar animal. Mas, uma vez fornecido em doses elevadas, tem um efeito terapêutico e cumulativo, podendo resultar na ocorrência de resistências ao zinco na microbiota intestinal dos leitões e desempenhar um papel importante na co-seleção de MRSA e no aumento de bactérias multirresistentes. Este é um cenário extremamente preocupante, uma vez que a comunidade científica se debate com a importante questão das resistências cruzadas.

O zinco não se demonstra um risco para os utilizadores, uma vez que é parte integrante de produtos de aplicação na pele e todos os estudos apontam para o facto de não ser irritante. A exposição a altas concentrações poderá afetar o sistema respiratório humano, mas tomando devidas precauções, o risco será diminuído.

O principal problema do zinco no meio ambiente é o facto deste se acumular e se poder infiltrar nas camadas superficiais do solo e das águas e contaminar as espécies animais e vegetais, contribuindo assim para um ciclo de acumulação sem fim. Atendendo aos elevados teores em zinco determinados em algumas das nossas amostras, é expectável que tenha chegado ao meio ambiente também elevado conteúdo de zinco, eliminado via urina e fezes pelos leitões a quem foram administrados os elevados teores do oligoelemento em causa.

Finalmente, foi também possível estabelecer uma relação entre a quantidade de zinco e a menção na IRCA da utilização de óxido de zinco. Isto é, verificou-se que as amostras de zinco, cuja administração de óxido de zinco ao leitão, não eram mencionadas na IRCA (**ver Tabela 6**.) continham amostras com elevadas quantidades deste elemento. (7 amostras com teores superiores ao valor médio, 282 mg/kg, sem menção de administração na IRCA). O mais inquietante foi o facto de existirem 9 amostras com teores superiores ao valor médio, 282 mg/kg (onde se encontra o valor máximo, 1272 mg/kg), cuja administração de óxido de zinco vem mencionada na IRCA como "Não administrada".

Para terminar, e uma vez que este foi o primeiro estudo realizado acerca do tema, parece adequado que este assunto deve ser aprofundado nomeadamente quanto às questões pertinentes da multirresistência ao zinco na microbiota intestinal dos leitões, através da realização de outros estudos. Assim, julga-se que na realização de estudos, utilizando como matriz o intestino do leitão da zona da Bairrada, pudessem ser capazes de elucidar o problema das resistências a antimicrobianos e que com estudos ambientais nos solos fertilizados com estrume proveniente das áreas em redor das explorações agropecuárias se pudessem obter conclusões mais claras e suportadas cientificamente. Desta forma poderia complementar-se e confirmar-se o conteúdo deste estudo no que toca a avaliação dos potenciais riscos para a saúde pública.

8. Bibliografia

1. PINTO, João N. - **Direito à Alimentação e Segurança Alimentar e Nutricional nos Países da CPLP - Diagnóstico de Base** [Consultado a 6 de janeiro de 2018]. FAO, 2013. ISBN: 9789250077550. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/018/i3348p/i3348p. pdf

2. MARTINS, Maria Do Céu - **Globalização da alimentação: Unidade ou diversidade?** Instituto Politécnico de Castelo Branco (2009) pg. 1–8.

3. ARAGÃO, Alexandra - **Como garantir um nível elevado de protecção com eficácia, precaução, transparência e abertura,** Administração da segurança alimentar na união europeia**,** Coimbra (2014) pg. 139–178.

4. SAKALI, Paraskevi Christina; SKALKOS, Dimitris - **Innovative agrifood supply chain network: Leading to traditional, «back to the future» foods.** International Journal of Business Science and Applied Management (2016) ISSN: 17530296. pg. 24–33.

5. PINTO, Ana Sofia Marques - **Listeria monocytogenes em moluscos bivalves vivos: ocorrência e avaliação do crescimento a diferentes temperaturas de refrigeração**. Universidade de Lisboa (2011) pg. 54.

6. BURITY, Valéria *et al.* - **Direito Humano à Alimentação Adequada no Contexto da Segurança Alimentar e Nutricional.** Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome, ABRANDH (2010) pg. 204.

7. **The state of food and agriculture**. FAO, 1996 [Consultado a 21de fevereiro de 2018]. ISBN: 9251038589. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/003/w1358e/w1358e 14.htm

8. DUBUGRAS, Maria Thereza Bonilha; PÉREZ-GUTIÉRREZ, Enrique - **Perspectiva sobre a análise de risco na segurança dos alimentos.** Opas/OMS (2008) pg. 160. Disponível em: http://bvs.panalimentos.org

9. **Microbiologia dos Alimentos IV - Apostilas da Unicamp sobre microbiologia, parte IV** [Consultado a 6 de junho de 2018]. Disponível em: http://www.ebah.com.br/ content/ABAAAeoe0AK/microbiologia-dos-alimentos-iv

10. FAO/WHO, Joint - **Assuring Food Safety and Quality: Guidelines for strenghtening national food control systems**. FAO Food and Nutrition Paper, 76

(2003) ISBN: 92-5-104918-1 pg. 1-73.

11. UNION, European - **Food and Feed Safety Alerts** [Consultado a 13 de abril de 2018]. RASFF, 2016. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/ index_en.htm

12. RASPOR, Peter; AMBROŽIČ, Mateja - **ISO 22000 Food Safety**. Handbook of Food Safety Engineering (2012) ISBN: 1444333348. pg. 786–816.

13. ASAE - **Missão, Visão e Valores** [consultado a 11 de novembro de 2017]. Disponível em: https://www.asae.gov.pt/asae20/missao-visao-e-valores.aspx

14. EFSA - **About EFSA** [consultado a 11 de novembro de 2017]. Dísponivel em: https://www.efsa.europa.eu/en/aboutefsa

15. GALOBART, Jaume et *al.* - Committee Feedap; **Risk assessment on Feed additives of the FEEDAP Committee**. The EFSA Journal (2017) pg. 1–53.

16. SEABRA, Maria João - **Carne e Produtos cárneos**, Riscos e alimentos. ASAE (2015) pg. 19–26.

17. EFSA - **Feed** [consultado a 11 de novembro de 2017] . Disponível em: https://www .efsa.europa.eu/en/topics/topic/feed

18. EUROPEU, Parlamento - **Regulamento Nº 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002**. Jornal Oficial das Comunidades Europeias, L31. (2002) pgs. 1–24.

19. EUROPEU, Parlamento - **Regulamento (CE) N.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004**. Jornal Oficial da União Europeia, L139/206. (2004) pg. 115.

20. EUROPEU, Parlamento - **Regulamento (CE) n.º 1831/2003 relativo aos aditivos destinados à alimentação animal**. Jornal Oficial da União Europeia, L268. (2003) pg. 29–43.

21. EUROPEIA, Comissão - **Regulamento (UE) N°1129/2011.** Jornal Oficial da União Europeia, L295 (2011) pg. 25.

22. QUALI - **Aditivos alimentares** [consultado em 18 de janeiro de 2018] Disponível em: https://www.quali.pt/aditivos-alimentares/495-aditivos-alimentares

23. FEEDINFO NEWS SERVICE - I**NTERVIEW: A Step Beyond Antibiotics Reduction, the Demedication Concept Seeks Revolution in Pig Production -**

Lallemand Animal Nutrition (2018). [consultado a 13 de maio de 2018] Disponível em: http://www.feedinfo.com

24. ALMEIDA, Anabela - **Avaliação de Risco : Aditivos para alimentação animal « Do prado ao prato ».** Aditivos na alimentação animal. Escola Universitária Vasco da Gama (2017) pgs. 5-9 Comunicação Pessoal, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 04/02/2017

25. ALMEIDA, Anabela - **Aditivos para alimentação animal « Do prado ao prato ».** Aditivos para alimentação animal. Escola Universitária Vasco da Gama, 2016. pgs. 13-15 Comunicação Pessoal, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 04/02/2017

26. HOLST, Christoph VON *et al.* - **The work of the european union reference laboratory for food additives (EURL) and its support for the authorisation process of feed additives in the European Union: A review**. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. (2015) ISSN 19440057. 33:1. pgs. 66–77.

27. WHO - **Food additives**. WHO (2018) [consultado em 17 de janeiro de 2018]. Disponível em: http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-additives

28. EUROPEU, Parlamento - **Regulamento (CE) n.º 1129/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares** Jornal Oficial da União Europeia (2011) pg. 1–5.

29. EUROPEIA, Comissão. - **REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) N.o 1060/2013 DA COMISSÃO** [Consultado a 19 de outubro de 2017]. Disponível em: http://eur-lex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R1060&from=en >

30. EUROPEU, Parlamento - **DIRECTIVA 2009/8/CE DA COMISSÃO** [Consultado a 19 de outubro de 2017]. Disponível em: http://eur-lex.europa.eu/legal content/ PT/TXT/ PDF/?uri=CELEX:32009L0008&from=PT>

31. LOPES, Cristiana Isabel - **Relatório de Estágio do Mestrado em Análises Clínicas.** Coimbra (2010) pgs. 10-11. Disponível em: https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/35435

32. P.SCHIBERLE, H. D.Belitz; W.Grosh. - Capítulo 8, **Food Additives**. Food Chemistry. 3ª ed. Springer. Garching, Alemanha(2004) ISBN:9783540699330. pgs.498-520

33. HORTA, Luís; PACHECO, Raul - **Funcionamento do corpo humano, nutrição e**

primeiros socorros. Manual do curso de Treinadores de Desporto (2016) pgs. 102, 116.

34. ROCHA, Bernardino João Rebelo - **Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas**, Coimbra, 2016 [Consultado em 1 de março de 2018]. Disponível em: https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/37042/1/Bernardino Rocha.pdf>.

35. P.SCHIBERLE, H. D.Belitz; W.Grosh. - Capítulo 21, **Coffee and Coffee Substitutes.** Food Chemistry. 3ª ed. Springer. Garching, Alemanha (2004) ISBN:9783540699330. pgs. 939–969.

36. FONTES, Rui; ALÇADA, Manuel Nuno - **A Bioquímica e a Química Orgânica**. (2010) pgs. 1–23. Disponível em:http://bioquimica.med.up.pt/ensino/fcnaup/quimicaorganica /1011/pdf/Bioquimica_e_Quimica_Organica.pdf

37. PARINET, Julien *et al.* - **Classification of trace elements in tissues from organic and conventional French pig production.** Meat Science (2018) pgs.28–35.

38. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - **Zinc, Appendix a**. Atsdr Minimal Risk Levels and Worksheets**.** (2005) pgs. 99–499.

39. DEPARTMENT OF HEALTH - **Dietary refereance values for food energy and nutrients for the united kingdom.** (2014) Nutrient Intake. [consultado a 28 de janeiro de 2018] Disponível em: https://www.gov.uk>.

40. COMISSION, European - **European Union Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003**, Jornal Oficial da União Europeia (2003)

41. IBAÑEZ, Elena; CIFUENTES, Alejandro - **New Analytical Techniques in Food Science,** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 41:6, pgs. 413-450 (2001) Disponível online desde 3 de junho de 2010 em: http://dx.doi.org/10.1080/20014091091878

42. BRESSON, Jean-Louis *et al.* - **Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on Dietary Reference Values for zinc**. EFSA Journal (2014) pgs. 16-22 Disponível em: http://doi.wiley.com/10.2903/ j.efsa. 2014.3844

43. MARCOVECCHIO, Jorge Eduardo *et al.* - **Fish and seafood**. Handbook of Mineral Elements in Food, editado por Miguel de la Guardia and Salvador Garrigues, Valencia, Espanha (2015) ISBN 9781118654316.

44. FERNÁNDEZ; MENÉNDEZ, Sonia *et al.* - **Total zinc quantification by inductively coupled plasma-mass spectrometry and its speciation by size exclusion**

chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry in human milk and commercial formulas: Importance in infant nutrition. Journal of Chromatography A (2016). pgs. 246–254.

45. EUROPEIA, União - **Lista das denominações, formas farmacêuticas, dosagens do medicamento veterinário, espécies animais, via de administração, requerente nos Estados Membros**, European Union Risk Assessment Report on zinc, ANEXO I (2010) pgs.9–10. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/Referrals_document/Gutal_33/WC500197081.pdf

46. FEEDINFO NEWS SERVICE - **INTERVIEW: Zinpro Experts Discuss Trace Mineral Solutions to Reduce Chronic Inflammation in Animals** (2018) [consultado a 8 de maio de 2018] Disponível em: http://www.feedinfo.com

47. CALIER, S.A - **Resumo das Características do Medicamento**, Óxido de Zinco (DGAV) (2017) pgs 2-3.

48. PEDRERO, Zoyne; MADRID, Yolanda - **Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review.** Analytica Chimica Acta (2009) pgs. 135–152.

49. WADA, Osamu - **What are Trace Elements ? - Their deficiency and excess states.** Japan Medical Association Journal (2004) 47:5 pg. 351.

50. ALEXANDER, Jan *et al.* - **Cadmium in food, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain.** The EFSA Journal. (2009) pgs. 1–139.

51. ASAGBA, Samuel Ogheneovo - **Role of diet in absorption and toxicity of oral cadmium- A review of literature.** African Journal of Biotechnology (2009) pgs. 7407–7415.

52. COSTA, Sandra Isabel - **Espetrofotometeria de Absorção Atómica**, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa (2013). Disponível em: http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/1920/1/Espectrofotometria%20de%20Absor%C3%A7%C3%A3o%20At%C3%B3mica%20com%20chama%20e%20camara%20de%20grafite.pdf

53. DORNE, J. L. C. M. *et al.* - **Combining analytical techniques, exposure assessment and biological effects for risk assessment of chemicals in food.** TrAC Trends in Analytical Chemistry 28:6 (2009) pgs. 695–707.

54. RAMOS, Fernando - **Avaliação de Risco em Segurança Alimentar I.** Mestrado em Segurança Alimentar. Coimbra (2017) pgs. 6–9. Comunicação Pessoal, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 28/01/2017

55. CALISTRI Paolo *et al*, **Guidance on Risk Assessment for Animal Welfare European Food Safety Authority of Panel on Animal Health and Welfare**. EFSA Journal (2012) pgs. 8-13 Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/ pub/2513

56. Direcção De Serviços De Higiene Pública Veterinária - **IRCA – Informação Relativa À Cadeia Alimentar Suínos** (2010) [consultado a 8 de março de 2018] Disponível em: http://www.suinicultura.com/~suinicul/images/stories/circular irca suinos_2010.pdf

57. THOMPSON, Michael - **Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing.** Analyst (2000) pgs. 385–386.

58. ISO - **Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method,** Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results**.** (1994)

59. INE - **Statistics Portugal - Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016.** ISBN 9789892503899 [consultado em 22 de maio de 2018] Disponível em: www.ine.pt.

60. MORTON, David B. - **A risk assessment approach to severity classification in animal research.** Alternatives to laboratory animals : ATLA, (2012) pg. 20.

61. FIEVEZ, Veerle; SMET, Stefaan D. E. - **TECHNICAL REPORT submitted to EFSA Selected trace and ultratrace elements : Biological role , content in feed and requirements in animal nutrition** – Elements for risk assessment 1 Prepared by Marleen VAN PAEMEL , Noël DIERICK. EFSA (2016) pg. 14-15. [consultado a 5 de dezembro de 2017] Disponível em: https://www.efsa.europa.eu/en/ supporting/pub/en-68

62. Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM) - **Assessment of copper intake in relation to tolerable upper intake levels.** Opinion of the Panel on Nutrition, Dietetic Products, Novel Food and Allergy, (2017) ISBN: 978-82-8259-276-5. pgs. 16-25.

63. Procedimento Químico Auxíliar - **Procedimento Interno do Laboratório da ASAE**

Anexo I

Cobre e Zinco mg/Kg (em tabela descritiva)

Amostra	Cobre (mg/kg)			Zinco (mg/kg)		
	Alíquota 1	Alíquota 2	Média	Alíquota 1	Alíquota 2	Média
1	63,19	66,87	**65**	76,93	77,33	**77**
2	45,59	44,75	**45**	247,68	234,27	**241**
3	4,51	5,07	**5**	51,86	50,83	**51**
4	7,23	7,26	**7**	324,77	323,84	**324**
5	73,75	73,28	**74**	101,63	101,65	**102**
6	9,34	8,30	**9**	41,54	41,36	**41**
7	15,81	14,53	**15**	198,95	191,18	**195**
8	10,88	11,87	**11**	101,83	119,26	**111**
9	23,81	22,04	**23**	130,29	130,50	**130**
10	12,21	12,24	**12**	837,02	910,12	**874**
11	9,83	10,92	**10**	1014,30	1041,25	**1028**
12	24,76	24,55	**25**	863,90	850,20	**857**
13	11,65	14,35	**13**	654,14	670,86	**663**
14	10,97	12,00	**11**	1249,30	1294,8	**1272**
15	12,45	12,18	**12**	839,70	845,70	**842**
16	15,52	16,85	**16**	604,50	620,00	**612**
17	9,53	10,06	**10**	292,70	300,40	**297**
18	7,39	5,81	**7**	44,37	44,96	**45**
19	7,58	7,50	**8**	50,58	50,28	**50**
20	8,55	8,73	**9**	49,11	49,32	**49**
21	8,15	7,89	**8**	50,50	50,42	**50**
22	15,25	15,02	**15**	152,49	146,61	**150**
23	16,63	16,99	**17**	128,89	127,92	**128**
24	15,64	16,04	**16**	104,60	106,40	**106**
25	8.78	8,98	**9**	701,19	701,60	**701**
26	9,88	9,13	**10**	777,80	780,27	**779**
27	17,24	16,66	**17**	476,03	483,20	**480**
28	15,09	15,99	**16**	60,32	57,52	**59**
29	6,54	5,77	**6**	55,86	53,67	**55**
30	11,88	10,40	**11**	47,97	45,30	**47**
31	20,99	20,51	**21**	69,25	58,69	**64**
32	9,68	9,46	**10**	86,08	106,21	**96**
33	6,55	6,26	**6**	60,41	51,05	**56**
34	7,37	8,57	**8**	45,79	63,88	**55**
35	30,02	30,05	**30**	82,85	84,00	**83**
36	16,31	16,74	**17**	72,74	69,33	**71**
37	12,24	12,03	**12**	366,69	369,34	**368**
38	28,69	29,60	**29**	481,85	474,14	**478**
39	10,85	12,20	**12**	616,54	653,30	**635**
40	40,29	41,20	**41**	88,25	80,13	**84**
41	52,31	51,31	**52**	138,97	144,23	**142**
42	9,48	12,17	**11**	341,6	342,03	**342**
43	6,98	7,39	**7**	100,3	99,54	**100**
44	3,61	6,94	**5**	43,56	42,64	**43**
45	14,21	14,58	**14**	90,48	92,75	**92**
46	4,56	4,61	**5**	69,92	67,78	**69**
47	34,75	34,79	**35**	65,74	66,71	**66**
48	16,53	13,48	**15**	56,43	56,44	**56**

Anexo II

Dados da Curva de Calibração
Data: **19-12-2017**

ANALITO:
Zn

LD= 0,01424457

LQ= 0,047481901

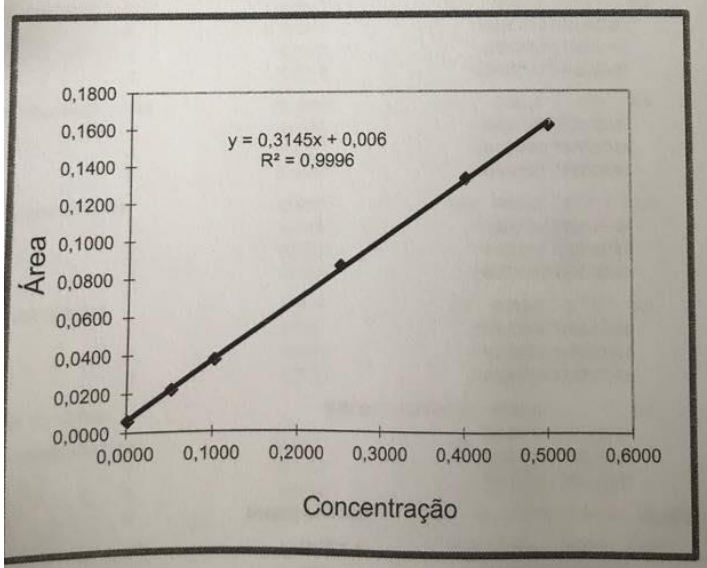
Dados da Curva de Calibração		
Xm 0,2	ym 0,07	
X_Pd Concentração	Y_Pd - área	
mg/L	**ABS**	Erro %
Pd 1 0,0000	0,0054	-10,6
Pd 2 0,0500	0,0214	-1,7
Pd 3 0,1000	0,0372	-0,8
Pd 4 0,2500	0,0866	2,3
Pd 5 0,4000	0,1330	0,9
Pd 6 0,5000	0,1615	-1,10
Pd 7		
Pd 8		
Pd 9		
Pd 10		

INCERTEZA DE INTERPOLAÇÃO

Dados da amostra nº:	**1500000**	Nº replicados 1

y amostra - área	X int. amostra - Concentração	Incert X concentração
	-	-
	-	-

Obs:



Recta: Y = b.X + a	
Declive=	0,314516393
Ordenada=	0,006038
Coef. Correl. (R)=	0,99978
n =	6
t Stud =	2,776445105
Erro Mod =	0,001493384