UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na
merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e
estimativa de suas ingestões diárias**

Letícia Ramos Nacano

Ribeirão Preto
2012

LETÍCIA RAMOS NACANO

**Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na
merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e
estimativa de suas ingestões diárias**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Toxicologia da Universidade de São Paulo
para obtenção de título de Mestre em
Ciências

Área de concentração: Toxicologia

Orientada: Letícia Ramos Nacano
Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa
Junior

Ribeirão Preto
2012

NACANO, L.R.	Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e estimativa de suas ingestões diárias		MESTRADO FCFRP-USP 2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Nacano, Letícia Ramos

Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e estimativa de suas ingestões diárias. Ribeirão Preto, 2012. 51p; 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Toxicologia.

Orientador: Barbosa Junior, Fernando.

1. Ingestão diária. 2. Elementos químicos tóxicos. 3. Merenda.

NACANO, Letícia Ramos

Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e estimativa de suas ingestões diárias

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação de
Toxicologia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Orientador: Fernando Barbosa Júnior

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho a meus pais, por sempre acreditarem, incentivarem e me dar todo o suporte e apoio necessário para que eu estivesse aqui hoje.

AGRADECIMENTOS

Considerando que esta dissertação é resultado de uma caminhada que não começou na USP, agradecer acaba não sendo tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje. E agradeço, particularmente, a algumas pessoas pela contribuição direta na construção deste trabalho:

Ao Prof. Dr. Fernando Barbosa pela oportunidade de trabalhar neste grupo de pesquisa, pela orientação e paciência com que ele teve nos meus momentos de ansiedade.

À Secretaria de Educação de Ribeirão Preto pela autorização de coleta de amostras concebida a este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro fornecido durante todo o mestrado.

A todos os funcionários da Cozinha Piloto, Vigílio Salata e Alaor Galvão que sempre foram muito prestativos e educados. Em especial, a nutricionista Fernanda por todo o respaldo teórico dado durante o desenvolvimento do trabalho e as funcionárias da cozinha da escola Vigílio Salata que eram de uma simpatia absurda, transformando as coletas numa agradável atividade.

Ao companheiro e amigo de todas as horas Rodolfo. Não há palavras que expressem o meu profundo agradecimento a ele, por toda a ajuda prática, teórica e psicológica que, pacientemente, me concedeu.

Aos grandes amigos Bruno, Denise e Maria Fernanda que sempre me ajudavam com dicas, conselhos, correções. Vocês me ensinaram muito, principalmente em como amar e se dedicar à pesquisa.

À técnica e agora amiga de laboratório Vanessa por todo o suporte, em todos os sentidos, durante este período.

Aos amigos de laboratório, Juliana, Vívian, Vinícius, Airton, Renan, Katia e Samuel por muitas vezes expressarem opiniões valiosíssimas sobre o desenvolvimento do trabalho e também sobre minhas apresentações, e assim, ajudar no meu crescimento, tanto profissional como pessoal.

À minha família que nunca me desamparou, me apoiando nas minhas decisões e que eu amo muito. A meu pai que é minha referência maior como pessoa e como

profissional. A minha mãe pelo amor incondicional, por todos os ensinamentos de vida e por ser a melhor mãe que poderia ter. A minha irmã pelo amor, amizade, respeito e admiração mútuos e por sempre acreditar na minha capacidade.

Ao meu namorado Fábio por todo o apoio e compreensão nesses 2 anos de mestrado, acreditar em mim e também por fazer meus dias mais felizes.

A Zalfa, que é como uma segunda mãe, e ao Youssef, que é como um irmão, por todo o suporte e carinho que sempre tiveram comigo. Sem vocês a minha vinda para Ribeirão Preto teria sido muito mais difícil.

Às queridas amigas Marô, Elô, Lá, Leticinha e Mi pelo maravilhoso convívio nesses quase 2 anos. Aqui em Ribeirão Preto, vocês foram a minha família. Sempre nos preocupando uma com as outras, dando conselhos, nos divertindo.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a Deus pela vida, pelo amor e zelo para comigo e pelo conforto espiritual nos momentos de angústia.

“Olhe cada caminho com cuidado e atenção. Tente-o quantas vezes julgar necessário. Então, faça apenas a si mesmo uma pergunta: possui esse caminho um coração? Em caso afirmativo, o caminho é bom. Caso contrário, ele não tem a menor importância.”

Carlos Castañeda

RESUMO

NACANO, L. R. **Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e estimativa de suas ingestões diárias.** 2012. 51f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A contaminação do ambiente por elementos químicos é um problema crescente em várias regiões do planeta. Muitos destes elementos químicos, que incluem o Cd, Pb e As são tóxicos aos humanos. De acordo com os órgãos de saúde como a Organização Mundial da Saúde (OMS), 90% da ingestão destes elementos tóxicos ocorre por meio do consumo de alimentos (Tavares *et al.*, 1992; Virga *et al.*, 2007). Neste sentido, a estimativa da exposição pela alimentação é fundamental para avaliação de risco de possíveis efeitos adversos. A avaliação da exposição alimentar consiste em associar os dados de consumo alimentar de uma determinada população com as concentrações observadas dos elementos químicos em sua dieta (Nasreddine, 2010). Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi, determinar a ingestão diária dos elementos químicos tóxicos (As, Pb e Cd) em crianças em idade escolar através dos alimentos fornecidos pela Prefeitura de Ribeirão Preto nas merendas escolares. A metodologia utilizada no trabalho foi de dupla dieta, onde os alimentos analisados já estão prontos para o consumo. As merendas fornecidas por duas escolas municipais (infantil e ensino fundamental) e a cozinha piloto foram coletadas durante todos os dias letivos dos meses de março, junho, agosto e novembro de 2011. Os alimentos coletados foram congelados e liofilizados para posterior análise. As análises foram feitas utilizando a espectrometria de massas com plasma acoplado (ICP-MS) com prévia solubilização ou digestão ácida das amostras, com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e ácido nítrico (HNO₃)/peróxido de hidrogênio (H₂O₂), respectivamente. A concentração média de As no arroz, feijão, legumes/verduras, carne vermelha, frango, peixe de água doce, peixe de água salgada e carne suína foi respectivamente de: 111 ng g⁻¹, 17,3 ng g⁻¹, 35,6 ng g⁻¹, 34,3 ng g⁻¹, 27,4 ng g⁻¹, 65 ng g⁻¹, 3,3 µg g⁻¹ e 33,6 ng g⁻¹. A concentração de Cd encontrada nos mesmos alimentos foi respectivamente de: 11,4 ng g⁻¹, 2,9 ng g⁻¹, 24,6 ng g⁻¹, 4,9 ng g⁻¹, 2,6 ng g⁻¹, 4,9 ng g⁻¹, 63,6 ng g⁻¹ e 5,1 ng g⁻¹. Já a concentração de Pb encontrada foi respectivamente: 1,1 ng g⁻¹, 3,4 ng g⁻¹, 23,6 ng g⁻¹, 8,1 ng g⁻¹, 5,1 ng g⁻¹, 4,4 ng g⁻¹, 6,9 ng g⁻¹ e 18,6 ng g⁻¹. Com estes valores encontrados, calculou-se a ingestão média destes elementos químicos tóxicos pelas crianças durante o almoço servido pelas escolas municipais de Ribeirão Preto. A ingestão média de As, Cd e Pb na escola de ensino infantil foi respectivamente de 5,3 µg, 0,6 µg e 0,4 µg; na escola de ensino médio foi respectivamente 6,9 µg, 0,9 µg e 0,6 µg. Estes valores estão abaixo dos valores de referência toxicológicos fornecidos pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) e Organização Mundial de Saúde (OMS).

Palavras chaves: Ingestão diária, Elementos químicos Tóxicos, Arsênio, Cádmio, Chumbo, Crianças, merenda escolar.

ABSTRACT

NACANO, L. R. **Assessment of toxic chemicals concentration in the school.** 51p. Dissertation (Master) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Chemical's contamination in the environment is a growing worldwide problem. Many of these chemical elements, including Cd, Pb and As are toxic to humans. According to the World Health Organization (WHO), 90% of the intake of these toxic elements occurs through the food consumption (Tavares et al., 1992; Virga et al., 2007). Therefore, the estimation of exposure to these chemicals in the diet is essential for risk assessment and, possibly, to determine the relationship between the adverse effects observed in humans and dietary exposure to certain substances. Dietary exposure assessment is an association between the data of food consumption of a specific population with the observed concentrations of chemical elements in their diet (Nasreddine, 2010). In this sense, the objective of this study was to determine the daily intake of toxic elements (As, Pb and Cd) in children through the food provided by the city hall of Ribeirão Preto in school lunches. The methodology used in this study was double-diet, where the foods analyzed are ready for consumption. The meals provided by two local schools and the kitchen pilot were collected during all school days in March, June, August and November of 2011. The food collected was frozen and lyophilized for further analysis. The analyzes were performed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after the solubilization with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) or acid digestion with nitric acid (HNO₃) and hydrogen peroxide (H₂O₂) of the samples. The average concentration of As in rice, beans, vegetables, beef, poultry, freshwater fish, saltwater fish and pork were respectively: 111.2 ng g⁻¹, 17.3 ng g⁻¹, 35.6 ng g⁻¹, 34.3 ng g⁻¹, 27.4 ng g⁻¹, 65.6 ng g⁻¹, 3.3 mg g⁻¹ and 33.6 ng g⁻¹. The Cd concentration found in the same foods were respectively: 11.4 ng g⁻¹, 2.9 ng g⁻¹, 24.6 ng g⁻¹, 4.9 ng g⁻¹, 2.6 ng g⁻¹, 4.9 ng g⁻¹, 63.6 ng g⁻¹ and 5.1 ng g⁻¹. The Pb concentration was found respectively, 1.1 ng g⁻¹, 3.4 ng g⁻¹, 23.6 ng g⁻¹, 8.1 ng g⁻¹, 5.1 ng g⁻¹, 4.4 ng g⁻¹, 6.9 ng g⁻¹ and 18.6 ng g⁻¹.

With these values found, we calculated the average intake of these toxic elements by children during the lunch served by public schools in Ribeirão Preto. The average intake of As, Cd and Pb in elementary school children was respectively 5.3 mg, 0.6 mg and 0.4 mg; in high school was respectively 6.9 g, 0.9 g and 0, 6 g. These intake values of As, Cd and Pb calculated are below the toxicological reference values provided by the European Food Safety Authority (EFSA) and the World Health Organization (WHO).

Keywords: daily intake, toxic chemicals, Arsenic, Cadmium, Lead, Children, school meals.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Concentrações de As, Cd e Pb nas diferentes classes de alimentos coletados conforme a sazonalidade. *Anova de uma via seguida de Tukey. *estatisticamente diferente p ($< 0,05$)*.....34
- Figura 2 - Concentração de As, Cd e Pb nas papinhas coletadas conforme a sazonalidade. *Anova de uma via seguida de Tukey. *estatisticamente diferente p ($< 0,05$)*.....38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Programa de Aquecimento utilizado no forno de microondas para a digestão ácida.....	21
Tabela 2 - Comparação entre os valores certificados nos Materiais de Referência (MR) e os valores encontrados para os elementos Pb, As, Cd utilizando solubilização básica.....	22
Tabela 3 - Comparação entre os valores certificados nos Materiais de Referência (MR) e os valores encontrados para os elementos Pb, As, Cd utilizando a digestão ácida.....	23
Tabela 4 – Tabela de consumo <i>per capita</i> dos alunos das escolas municipais de Ribeirão Preto, fornecida pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto.....	27
Tabela 5 – Concentração média dos elementos As, Cd e Pb (ng g^{-1}) nos alimentos coletados nos diferentes pontos de coleta.....	29
Tabela 6 – Média da umidade dos alimentos coletados.....	31
Tabela 7 – Concentração média $\pm$ Desvio Padrão (ng g^{-1}) dos elementos As, Cd e Pb nas diferentes classes de alimentos em cada Ponto de Coleta.....	32
Tabela 8 – Média da concentração e desvio padrão de As, Cd e Pb nas amostras de peixes.....	35
Tabela 9 – Concentração média e Desvio Padrão (ng g^{-1}) de As, Cd e Pb nas amostras de papinhas.....	36
Tabela 10 – Concentração média e desvio padrão (ng g^{-1}) de As, Cd e Pb dos alimentos e das papinhas e o valor de p obtido no Teste t.....	39

LISTA DE SIGLAS

CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
FAO/OMS	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
PNAE	Programa Nacional de alimentação escolar
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
POF	Programa de Orçamento Familiar
TACO	Tabela de Composição Alimentar
NEPA	Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
PTWI	Ingestão semanal tolerável provisória
PTMI	Ingestão mensal tolerável provisória
QI	Quociente de Inteligência
EFSA	Autoridade Europeia de Segurança Alimentar
NRC	National Research Council Canada
NIST	National Institute of Standards and Technology
CEMEI	Centro Municipal de Educação Infantil
CEI	Centro Educacional Infantil
PTFE	Politetrafluoretileno
ICP-MS	Espectrômetro de Massas com plasma indutivamente acoplado
IDA	Ingestão diária aceitável
IDT	Ingestão diária tolerável
JECFA	Comitê Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares
VS	Vigílio Salata
CP	Cozinha Piloto
AG	Alaor Galvão
TMAH	Hidróxido de tetrametilamônio

LISTA DE SÍMBOLOS

HNO_3	Ácido nítrico
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
min	Minutos
W	Watts
°C	Celsius

Sumário

Resumo	i
Abstract.....	ii
Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	iv
Lista de Siglas	v
Lista de Símbolos.....	vi
1. Introdução.....	1
1.1 Exposição de elementos químicos em alimentos	1
1.2 Exposição humana a elementos químicos via alimentação	3
1.2.1 Exposição de elementos tóxicos em crianças	5
1.3 Merenda escolar no município de Ribeirão Preto.....	5
1.4 A ingestão diária de elementos químicos tóxicos.....	7
1.4.1 Metodologias utilizadas em estudos de ingestão diária	7
1.4.2 Estudos realizados no Brasil	8
1.5 Efeitos Tóxicos dos elementos químicos.....	10
1.5.1 Cádmio.....	11
1.5.2 Chumbo.....	12
1.5.3 Arsênio	13
2. Objetivos	15
3. Material e Métodos	16
3.1 Equipamentos	16
3.2 Reagentes e Soluções	16
3.2.1 Materiais de Referência.....	17
3.3 Metodologia.....	17
3.3.1 Dupla Dieta.....	17
3.3.2 Coleta das amostras de alimentos	18
3.3.3 Determinação de Pb, Cd e As nos alimentos	19
3.3.4 Preparo das amostras	20
3.3.5 Análise do Material de Referência.....	21
3.3.6 Análise estatística	24
3.3.7 Cálculo da ingestão de elementos químicos tóxicos	24

4. Resultados e Discussão	28
4.1 Estudo da influência dos pontos de coleta na concentração de As, Cd e Pb nos alimentos.....	31
4.2 Estudo da influência da sazonalidade na concentração de As, Cd e Pb nos alimentos.....	34
4.3 Estudo da concentração de As, Cd e Pb nas papinhas	36
4.4 Cálculo da ingestão diária	39
5. Conclusão	42
6. Referências bibliográficas.....	43
Anexos	49

1. Introdução

A questão nutricional ocupa hoje um lugar de destaque no contexto mundial, uma vez que a alimentação e a nutrição constituem requisitos básicos para a promoção e a proteção da saúde, possibilitando o crescimento e o desenvolvimento humano com maior qualidade de vida e cidadania (Zancul, 2004; Brasil, 1999).

Os riscos nutricionais, de diferentes categorias e magnitudes, permeiam toda vida humana, provocando diversos malefícios no processo saúde/doença.

Há algumas décadas, a constatação dessas evidências vem se tornando consenso comum, e a segurança alimentar e nutricional passou a ser considerado requisito básico para a afirmação plena do potencial de desenvolvimento físico, mental e social de todo ser humano (Valente, 1997).

O conceito de segurança alimentar que, anteriormente, era limitado ao abastecimento, na quantidade apropriada, foi ampliado, e hoje incorpora também o acesso universal aos alimentos, o aspecto nutricional e, conseqüentemente, as questões relativas à composição, à qualidade e ao aproveitamento biológico (Brasil, 1999).

Logo, o interesse na determinação de vários elementos químicos em alimentos e dietas tem aumentado consideravelmente. O interesse principal desta área se concentra na adequação de nutrientes essenciais presentes nas dietas consumidas diariamente pela população. Porém, toxicologistas vem chamando a atenção para outra área, a presença de elementos químicos considerados tóxicos nos alimentos como, por exemplo, o Mercúrio (Hg), Cádmio (Cd), Arsênio (As), Chumbo (Pb) etc (Farias, 2006).

1.1 Elementos químicos nos alimentos

A contaminação do ar, água e solo com elementos tóxicos como Cd, Pb e As tem repercutido diretamente na contaminação de produtos alimentares. A ocorrência destes elementos no ecossistema aumentou inicialmente devido ao rápido crescimento industrial, maior utilização de produtos químicos na agricultura e as atividades urbanas em geral (Zukowska, J. e Biziuk M., 2008). As principais fontes antropogênicas destes elementos químicos no ambiente são fertilizantes, praguicidas, água de irrigação contaminada e queima de biomassa na zona rural,

combustão de carvão e óleo, emissões veiculares, incineração de resíduos urbanos e industriais e, principalmente, mineração, fundição e refinamento, tanto nas regiões urbanas como na zona rural (Tavares *et al.*, 1992).

Uma nova fonte de poluição tem também contribuído para a poluição ambiental por elementos tóxicos, a reciclagem de lixo eletrônico, impulsionada por lucros, vem utilizando processos primitivos como a lixiviação de ácido forte e a queima a céu aberto de componentes desmontados, para extraírem metais preciosos, levando à liberação de grandes quantidades de elementos tóxicos e poluentes orgânicos no ambiente circundante. O ar, águas superficiais, águas subterrâneas, solo e sedimento do rio dos locais de processamento de lixo eletrônico têm sido severamente contaminados por elementos tóxicos, tais como Cd, Cobre (Cu) e Pb (Luo et al., 2011).

Existe uma crescente demanda na produção de metais nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Tal fato sugere um aumento de suas dispersões e o contato deles com as diversas partes do mundo. Os elementos químicos podem ser dispersos durante a extração de seus minérios, enquanto constituem o produto utilizável, e até mesmo depois que o produto é descartado, reciclado ou destruído. Em outras palavras, o homem está transformando parte dos elementos imobilizados em disponíveis no ambiente. Essa situação se agrava nos países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, pois são nestes países que se instalam as fábricas mais poluidoras, dentro da lógica da divisão internacional de trabalho. Para agravar ainda mais o problema nestes países, os cuidados de controle de poluição industrial quase sempre não são adotados, equipamentos de abatimento de emissões nem sempre são instalados ou operados corretamente e a fiscalização é precária, fazendo com que aumente a poluição ambiental e consequentemente a presença dos elementos tóxicos nos alimentos (Tavares *et al.*, 1992).

No estado de São Paulo, são várias as regiões conhecidas por elevada contaminação ambiental. No município de Cubatão, por exemplo, estão localizadas importantes indústrias metalúrgicas, petroquímicas, de fertilizantes, e outras igualmente poluidoras que se instalaram na região, a partir da década de 50. O material poluente lançado na região pelas indústrias, sem um programa adequado de controle de emissão, levou a um processo de degradação ambiental intenso, causando destruição nas encostas da Serra do Mar, com danos visíveis à fauna e à

vegetação fanerogâmica. Estudos realizados pela CETESB em amostras de água, sedimentos e organismos aquáticos provenientes da bacia do rio Cubatão, constataram a presença de alguns elementos químicos tóxicos e compostos orgânicos em concentrações muitas vezes superiores aos limites recomendados pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO/OMS) (Virga *et al.*, 2007).

Os elementos químicos liberados por esses processos de poluição ambiental acabam se depositando no solo e podem ser mantidos neste por adsorção das partículas minerais pela superfície do mesmo, por complexação com substâncias húmicas, e pelas reações de precipitação. Estes processos são complexos, dependendo de muitos fatores incluindo a composição do solo, pH, o estado redox, e da natureza do contaminante. Portanto, a biodisponibilidade dos elementos químicos e toxicidade podem variar substancialmente de solo para solo. (Shute *et al.*, 2006)

Essa variação na biodisponibilidade também pode se dar por mudanças sazonais ou localização geográfica, além da perda ou adição de contaminantes durante o processamento e preparação dos alimentos e a poluição da região em que se encontram as plantações. Estas informações também são importantes para obtenção de dados preciosos sobre a ingestão alimentar (Voutsas *et al.*, 1998).

1.2 Exposição humana a elementos químicos tóxicos via alimentação

Embora alguns indivíduos estejam expostos a elementos tóxicos principalmente no ambiente de trabalho, para a população em geral a principal fonte de exposição a estes elementos ocorre por meio da alimentação (Gonzalez Munõz *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2011). Os elementos químicos tóxicos mais comumente encontrados são o As, Cd, cromo (Cr), Hg e Pb (Peralta *et al.*, 2009).

A ingestão destes elementos tóxicos pode ocorrer diretamente, quando os mesmos se encontram depositados na superfície dos alimentos, provinda de uma contaminação externa, ou indiretamente, quando os elementos tóxicos estão presentes na constituição dos alimentos. Na contaminação indireta, as plantas absorvem os elementos tóxicos do solo, evento esse que depende da constituição do solo, de fatores climáticos, do genótipo da planta e do manejo agrônômico. Os elementos químicos tóxicos liberados na queima descontrolada de matéria orgânica

ou lixo eletrônico podem, por exemplo, penetrar em solos cultiváveis por meio da água de irrigação contaminada e deposição direta por via aérea. Assim, as plantas podem absorver esses elementos a partir do solo por suas raízes e, acumulá-los dentro de seus tecidos, havendo grandes variações entre as diferentes espécies de plantas em termos da capacidade de acumulação do metal. Além disso, a captação foliar direta dos elementos químicos tóxicos da atmosfera também pode ocorrer durante o seu crescimento (Zhuang et al., 2009; Luo et al., 2011).

Outra fonte indireta de contaminação pode ocorrer pelo consumo de carne de animais contendo algum elemento químico tóxico devido à ração utilizada para alimentar estes animais estar contaminada. Estudos mostraram que misturas minerais utilizadas na alimentação de animais, no Brasil, apresentaram concentrações elevadas de Cd e Pb (Teixeira, 2005). Além disso, o contato entre os alimentos com a camada superficial de metal das embalagens ou equipamentos utilizados no processo de fabricação também são importantes fontes de contaminação (Zukowska, J. e Biziuk, M., 2008).

O aumento na produção de alimentos com uma crescente globalização dos produtos, a utilização de equipamentos e procedimentos de armazenamento em larga escala e a crescente poluição de todos os compartimentos ambientais, contribui cada vez mais para o aumento da concentração de elementos químicos tóxicos, aumentando o risco de exposição das populações em geral (Soares *et al.*, 2010; Nasreddine *et al.*, 2002).

Quando ingeridos pela população, estes elementos considerados nocivos podem afetar acentuadamente o metabolismo de outros constituintes essenciais, tais como Cu, Zinco (Zn), Selênio (Se), pois competem com estes elementos por ligantes do sistema biológico (Campos, 2002). Tal competição e combinação com ligantes podem ter efeitos adversos na distribuição e homeostase dos elementos essenciais no organismo (Farias, 2006).

Uma vez absorvidos, tais elementos reagem com ligantes difusores, com macromoléculas e com ligantes presentes em membranas o que, muitas vezes, lhes conferem as propriedades de bioacumulação, biomagnificação na cadeia alimentar, persistência no ambiente e distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos. As bioacumulações e biomagnificações se encarregam de transformar concentrações consideradas normais em concentrações tóxicas para diferentes espécies da biota e para o homem. A persistência garante os efeitos a longo prazo e mesmo depois de

interrompidas as emissões (Tavares *et al.*, 1992). A biodisponibilidade dos contaminantes para o ser humano depende da especiação e do tipo de contaminante no alimento, composição da dieta, além do estado nutricional do indivíduo (Gonzalves Munõz *et al.*, 2008).

1.2.1 Exposição de elementos tóxicos em crianças

Em geral, as crianças apresentam um maior risco de contaminação por alimentos por vários motivos: i) maior necessidade de energia, ou seja, comida e água, do que os adultos, ingerindo maior quantidade de alimento que os adultos relativos ao seu peso corpóreo; ii) a funcionalidade dos seus rins não está totalmente desenvolvida em comparação com os adultos; iii) a absorção de muitos elementos químicos no trato gastrointestinal é maior; iv) a absorção, distribuição e acumulação de substâncias químicas em órgãos-alvo e tecidos é muito variada (Patriarca *et al.*, 2000; Wittsiepe *et al.*, 2003; Pandelova *et al.* 2011).

Além do mais, existem diferenças substanciais entre a fisiologia, metabolismo e estilo de vida de crianças em comparação com os adultos, modificando os padrões de exposição e limitando a aplicabilidade dos dados obtidos a partir da população adulta. Principalmente no primeiro ano de vida das crianças, o desenvolvimento da maioria dos órgãos, nervos, sistemas respiratório, digestivo, reprodutivo e imunológico e vias metabólicas ainda estão em desenvolvimento e em alguns casos apenas atingem a plena maturidade na adolescência. Essas diferenças afetam tanto a extensão da exposição como a cinética dos xenobióticos que entram no organismo e podem causar efeitos mais grave do que os esperados em adultos (Patriarca *et al.*, 2000; Pandelova *et al.* 2011).

Consequentemente, informações sobre a exposição diária a elementos químicos tóxicos via ingestão alimentar principalmente em crianças é de extrema importância na avaliação dos potenciais riscos para a saúde humana.

1.3 Merenda escolar no Município de Ribeirão Preto

O estudo da composição alimentar e conteúdo nutricional das refeições oferecidas em grandes quantidades, como as servidas nas Forças Armadas, na merenda escolar e na alimentação do trabalhador pelo Programa de Alimentação do

Trabalhador e pelos Serviços Sociais do Comércio e da Indústria, é, também, incentivado pelo Ministério da Saúde através da Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Com esta política, o Ministério pretende promover à promoção de práticas e hábitos alimentares saudáveis (Brasil, 1999).

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), também conhecido como merenda escolar, implantado em 1955, garante, por meio da transferência de recursos financeiros, a alimentação escolar dos alunos de toda a educação básica (educação infantil, ensino fundamental, ensino médio e educação de jovens e adultos) matriculados em escolas públicas e filantrópicas. Seu objetivo é atender as necessidades nutricionais dos alunos durante sua permanência em sala de aula, contribuindo para o crescimento, o desenvolvimento, a aprendizagem e o rendimento escolar dos estudantes, bem como promover a formação de hábitos alimentares saudáveis (FNDE, 2009A).

Estudos mostram que o estado nutricional da criança pode influenciar no seu rendimento escolar e aumentar o risco de retardo no crescimento, o qual depende da quantidade de calorias, proteínas, vitaminas, principalmente a A, e minerais como o Zn e Ferro (Fe) (Farias, 2006).

O cardápio escolar fica então sob responsabilidade dos estados, do Distrito Federal e dos municípios, e deve ser elaborado por um nutricionista habilitado, com o acompanhamento do Conselho de Alimentação Escolar, além de ser programado de modo a suprir, no mínimo, 15% (quinze por cento) da necessidade diária para os alunos matriculados em creches, pré-escolas e escolas do ensino fundamental, respeitando sempre os hábitos alimentares e a vocação agrícola da região. (FNDE, 2009B).

Na cidade de Ribeirão Preto – SP, o Programa Nacional de Alimentação Escolar é realizado pela Secretaria Municipal de Educação e conta com o apoio de 2 (dois) nutricionistas. O cardápio é elaborado mensalmente e é diferente para cada faixa etária.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2009, no município de Ribeirão Preto, haviam 117.373 alunos matriculados nos ensinos Pré-escolar, Fundamental e Médio. Deste total de alunos matriculados, 11.896 alunos estavam matriculados no ensino Pré-escolar de escolas públicas municipais, 20.589 alunos estavam no ensino Fundamental de escolas públicas municipais e 284 alunos estavam no ensino Médio de escolas públicas municipais.

Logo, a porcentagem de alunos beneficiados com a merenda escolar fornecida pela Secretaria Municipal de Educação é cerca de 30% do total de crianças em idade escolar na cidade de Ribeirão Preto

A alta porcentagem apresentada pela população beneficiada com a merenda escolar reforça a importância de estudos de composição alimentar neste grupo.

1.4 A ingestão Diária de elementos químicos tóxicos

1.4.1 Metodologias utilizadas em estudos de Ingestão diária

O valor da ingestão diária pode ser obtida tanto por métodos diretos, com base na real análise dos alimentos consumidos, ou por métodos indiretos envolvendo o cálculo de tabelas padrão alimentar (Voutsas *et al.*, 1998).

A metodologia utilizada pela maioria dos trabalhos é a *Basket Market*, na qual as amostras de alimentos, representando os produtos mais comumente consumidos por uma população definida, são obtidas em supermercados de uma determinada região, preparados conforme procedimentos padrões de cozimentos e cada grupo de alimentos são analisados para se determinar as concentrações dos componentes em questão (Zukowska J. e Biziuk M., 2008). A ingestão diária da população a ser estudada é calculada baseada, geralmente, em dados governamentais sobre o consumo de determinados alimentos, como por exemplo, a Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) realizada IBGE.

A metodologia *Market Basket* é um tipo de avaliação indireta de compostos ingeridos e sua melhor característica está na capacidade de monitorar tendências de exposição a contaminantes sem sobrecarregar os participantes do estudo. Como mencionado anteriormente, esta metodologia cobre apenas um número limitado de alimentos, os que são representativos na dieta da população em estudo. Portanto, para contaminantes com uma distribuição não usual ou não tão frequente em alimentos, como o Hg, esta metodologia pode não incluí-los na lista de alimentos analisados. Além do mais, a avaliação da ingestão dos componentes pode ser tanto sub ou superestimada (Zukowska J. e Biziuk M., 2008).

Ainda na avaliação indireta, outras metodologias são usadas, dentre elas: Dados de fornecimento de alimentos e Pesquisas Domiciliares. Entretanto, estas metodologias não podem ser utilizadas para determinar as ingestões individuais. A

principal vantagem destes métodos é não necessitar dos estágios onerosos de amostragem e suas subsequentes análises.

O método “dados de fornecimento” de alimentos foi desenvolvido devido à necessidade de avaliar a quantidade de alimento e nutrientes disponíveis para o consumo humano. Esta metodologia utiliza o cálculo da quantidade anual de produtos alimentares produzidos no país, alterações em estoque e transações de importação e exportação durante um período específico. Já as pesquisas domiciliares fornecem as diferenças entre os níveis de consumo alimentares entre diferentes regiões, ocupações, ou nível de renda, uma vez que usualmente envolvem questionários e entrevistas com a população (Zukowska J. e Biziuk M., 2008). O método indireto proporciona estimativas que podem ser usadas como valores de referência, mesmo se os dados de consumo individual de alimentos não estão disponíveis. (Turrini *et al.*, 2002)

Na avaliação direta, a metodologia utilizada é chamada de Dupla Dieta, na qual uma porção igualmente ingerida pelas pessoas em estudo, de tudo que se consumiu durante um tempo determinado, variando entre 1 e 7 dias, é analisada. Assim, este método é considerado o que fornece dados mais precisos com relação à quantidade de contaminantes ingerida além de refletir os hábitos alimentares de preparação das refeições da população pesquisada. A Dupla Dieta se torna especialmente importante, pois, como se sabe, os elementos são sensíveis aos efeitos dos processos de preparo como, por exemplo, descascar, lavar, cozinhar, fritar ou qualquer outra atividade culinária. Este detalhe na metodologia se torna muito importante uma vez que o preparo pode alterar a concentração de certos elementos químicos, como por exemplo, alguns contaminantes presentes nos alimentos crus que podem ser dissolvidos, volatizados ou degradados, e a concentração de alguns elementos químicos podem aumentar pelo contato com utensílios de cozinha (Avegliano *et al.*, 2008; Zukowska J. e Biziuk M, 2008; Sun *et al.*, 2011).

1.4.2 Estudos realizados no Brasil

A segurança alimentar é uma preocupação pública mundial. Durante as últimas décadas, a crescente demanda de segurança alimentar tem estimulado a

investigação sobre o risco associado ao consumo de alimentos contaminados por diversas substâncias, dentre elas os elementos tóxicos (Radwan *et al.*, 2006).

Ingestão dietética de contaminantes dos alimentos depende dos hábitos alimentares dos grupos de populações analisados (tipo e quantidades de contaminantes nos alimentos consumidos diariamente), e das concentrações dos contaminantes nos alimentos (Voutsas *et al.*, 1998). A principal característica do consumo alimentar de indivíduos ou populações saudáveis é a variabilidade da dieta, ou seja, a variação do consumo de alimentos existente entre os indivíduos (variabilidade interindividual) e num mesmo indivíduo, em relação ao dia-a-dia (variabilidade intraindividual) (Barbosa *et al.*, 2007).

Conhecendo-se o potencial de toxicidade, a persistência na natureza e comportamentos cumulativos dos elementos químicos, faz-se necessário testar e analisar os alimentos para garantir que as concentrações desses contaminantes irão cumprir com as exigências nacionais e internacionais. Assim, informações sobre o consumo de elementos químicos tóxicos através da cadeia alimentar é importante na avaliação do risco para a saúde humana. (Raghunath *et al.*, 2006). Pesquisas regulares e programas de monitoramento de elementos químicos tóxicos nos gêneros alimentícios têm sido realizados há décadas em países mais desenvolvidos. (Radwan *et al.*, 2006). No Brasil, entretanto, esses programas ainda são praticamente inexistentes.

O projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos), coordenado pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA) da UNICAMP foi uma iniciativa para proporcionar dados de um grande número de nutrientes em alimentos nacionais e regionais, criando assim um banco de dados. No entanto, este estudo não estimou a ingestão diária da população brasileira em geral. No projeto TACO foram analisados 70 tipos de alimentos, divididos em grupos: Cereais e derivados, Verduras e hortaliças, Frutas e derivados, Pescados e frutos do mar, Carnes e derivados, Leguminosas e derivados, e Miscelâneas. Foram analisados 495 amostras em 9 cidades das 5 regiões geopolíticas do país (Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste).

Além disso, foi avaliada a composição centesimal dos alimentos que incluíam a determinação do teor de umidade, proteínas, lipídeos total, carboidratos totais, fibra alimentar total, cinzas e ácido graxos. Os elementos químicos analisados foram: cálcio (Ca), Fe, magnésio (Mg), manganês (Mn), fósforo (P), sódio (Na),

potássio (K), Cu e Zn. Entretanto, não foi realizada a análise de elementos químicos tóxicos.

Um estudo mais focado na determinação de elementos químicos tóxicos na alimentação da população do Estado de São Paulo foi realizada por Avegliano et al (2011). Neste trabalho estimou-se a ingestão diária de elementos essenciais como Na, P, Ca, Fe, Zn e Cr em 71 tipos de alimentos separados em 30 grupos, incluindo bebidas alcoólicas, pães, frutas, legumes, diferentes tipos de carnes entre outros. Entretanto, novamente os elementos tóxicos não foram avaliados.

Outro estudo foi realizado no Rio de Janeiro por Santos et al (2004), que avaliou a concentração de alguns elementos químicos na alimentação da população local. Este estudo analisou diferentes grupos de alimentos, incluindo carne, leite, feijão, frutas, café. Foram determinados elementos traço essenciais como Cu, Mn, níquel (Ni), Cr e Zn e elementos tóxicos como Al, Cd, Pb e urânio (U). A ingestão diária estimada de Al, Cd e Pb pela população foi de 0,0018 mg, 0,028 mg e 3,5 mg respectivamente.

Um estudo de Dupla Dieta com crianças em idade escolar e idosos foi realizado por Maihara *et al.* (1998). Neste estudo uma porção exata de tudo que foi consumido pelos participantes durante 3 dias, incluindo bebidas exceto água, foi coletado e analisado. Participaram do estudo 19 crianças e 23 idosos. Os elementos químicos avaliados foram: As, Cd, Antimônio (Sb), Tório (Th) e Tungstênio (W), todos considerados elementos tóxicos. Para todos os elementos a média de ingestão diária foi considerada abaixo dos níveis máximos recomendados pela OMS, não representando nenhum perigo a saúde da população estudada.

Os estudos acima apresentados, tanto no Brasil como em vários outros países, corroboram com a importância da determinação da ingestão diária de elementos não somente essenciais, como também dos tóxicos na população. Uma vez que estudos de ingestão diária por Dupla Dieta são praticamente inexistentes no Brasil, estudos com esta finalidade são de suma importância no nosso país.

1.5 Efeitos Tóxicos dos elementos químicos

Existem vários fatores que podem influenciar nos efeitos tóxicos de elementos químicos no homem, entre eles estão: as suas propriedades físicas e químicas, interação entre os elementos, formação de compostos ou complexos entre os metais

e outros metalóides, intercâmbio de metais com as proteínas, estado nutricional, uso de drogas como álcool e tabaco, concentração dos elementos e outras variáveis de exposição como tempo, via, modelo de exposição, entre outros. Entretanto, geralmente os efeitos de contaminação por elementos químicos tóxicos são em função da concentração na qual o órgão alvo é atingido. Na maioria das vezes os órgãos mais atingidos são os tecidos moles, como os rins, fígado e sistema nervoso central (Zukowska J. e Biziuk M, 2008). Dentre os elementos tóxicos, os mais conhecidos e estudados são Cd, Pb, Hg e As, e abaixo segue os principais pontos de interesse de cada um.

1.5.1 Cádmio

O Cd é um metal altamente tóxico que ocorre normalmente em baixas concentrações no ar, água e alimentos. Pessoas expostas a altas concentrações de Cd, por exposição industrial ou através dos alimentos e água contaminados, geralmente desenvolvem problemas nos túbulos renais. Para as pessoas não expostas ocupacionalmente, a ingestão de alimentos e fumaça de cigarro são as contribuições mais importantes para exposição a este elemento. (Sharma *et al.*, 1983)

Aproximadamente, 30% da exposição a Cd pela dieta é atribuída à ingestão de produtos animais, enquanto os produtos vegetais fornecem o valor restante. Mariscos e os rins de animais podem acumular grandes quantidades de cádmio. (Munõz *et al.*, 2005)

Quando uma pessoa apresenta de deficiência de Fe, a absorção de Cd aumenta. Uma vez absorvido no sangue, o Cd é transportado e armazenado principalmente no fígado e rins. O metal tem uma meia-vida biológica longa, resultando em acúmulo considerável durante um período de vida, particularmente no córtex renal (Sharma *et al.*, 1983).

Recentemente, a FAO/OMS alterou o valor de ingestão tolerável para o Cd. Por ser um composto que se acumula no organismo e tem um tempo de meia vida longo (cerca de um mês), o valor de ingestão deste elemento passou a ser calculado não mais como semanal, mas sim como mensal. Antigamente, para avaliar os riscos à saúde desta exposição diária ao Cd, a quantidade ingerida era comparada ao valor de consumo provisório semanal tolerável (PTWI) era de 7 µg de Cd /kg de peso

corpóreo, agora este compara-se a exposição ao valor de ingestão mensal tolerável provisório (PTMI). Este valor do PTMI leva em consideração o fato de que bebês e crianças tendem a bioacumular o Cd em taxas mais rápidas do que os grupos com maior faixa etária (Nasriddine *et al.*, 2002 e Munõz *et al.*, 2005).

1.5.2 Chumbo

O Pb é um dos mais importantes contaminantes ambientais em relação a efeitos tóxicos para a saúde humana. Estes efeitos ocorrem principalmente em crianças, uma vez que pesquisas mostraram que pequenas concentrações de Pb poderiam provocar deficiência irreversível de capacidade intelectual além de comprometimento no desenvolvimento neurocomportamental e problemas de crescimento físico (Wang *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010).

O Pb em alimentos provém principalmente da deposição atmosférica e da aderência de partículas contendo chumbo nas plantas (principalmente poeira contendo partículas de chumbo originárias do petróleo). Estima-se que cerca de metade da ingestão de chumbo ocorre por meio dos alimentos, com cerca de metade proveniente de plantas (Nasriddine 2002).

Nos seres humanos, o sistema nervoso central é o principal órgão alvo para a toxicidade do chumbo. Nos adultos, a neurotoxicidade associada ao chumbo parece afetar o processamento da informação central, especialmente para organização espaço-visual e memória verbal de curto prazo, causar sintomas psiquiátricos e prejudicar a destreza manual. Há consideráveis evidências de que o cérebro em desenvolvimento é mais vulnerável à neurotoxicidade do chumbo do que o cérebro maduro (EFSA, 2010).

Em crianças, um elevado nível de chumbo no sangue está inversamente associado a uma redução na pontuação do quociente de inteligência (QI) e redução das funções cognitivas, pelo menos até os sete anos de idade. A relação dose-efeito entre os níveis de chumbo no sangue e o QI indica uma curva não-linear que reflete um impacto relativo maior em baixas concentrações de chumbo (EFSA, 2010).

Uma série de estudos em adultos identificaram uma associação entre a concentração de chumbo no sangue, pressão arterial sistólica elevada e doença renal crônica, em relativamente baixos níveis de Pb no sangue (EFSA, 2010).

Por apresentar relações com distúrbios diferentes, a Autoridade Europeia em Segurança Alimentar (EFSA) estabeleceu diferentes valores toxicológicos de ingestão de alimentos para cada alteração relacionada ao Pb. Para o desenvolvimento neurotóxico o valor toxicológico é de 0,5 µg/kg de peso corpóreo; para efeitos na pressão arterial sistólica este valor é 1,5 µg/kg de peso corpóreo e para efeitos na prevalência de doença renal crônica o valor é 0,63 µg/kg de peso corpóreo.

1.5.3 Arsênio

O As existe na natureza numa variedade de formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas, como resultado de sua participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais. Compostos contendo arsênio podem ser encontrados inclusive em fármacos usados no tratamento de leucemia, além de serem também utilizados como herbicidas na agricultura. O As é facilmente absorvido, tanto oralmente quanto por inalação, sendo a extensão da absorção e a toxicidade dependente da forma química e solubilidade do composto (Barra *et al.*, 2000).

Uma exposição crônica a compostos inorgânicos de As, através da alimentação, pode conduzir a várias doenças tais como: conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros (Barra *et al.*, 2000).

Os principais efeitos adversos relatados de arsênio inorgânico em humanos, que parecem estar associado com a ingestão a longo prazo, são lesões de pele, câncer, desenvolvimento afetado, neurotoxicidade, doenças cardiovasculares, metabolismo anormal de glicose e diabetes. A neurotoxicidade é principalmente relatada com exposição aguda a partir de envenenamento ou suicídio, ou em altas concentrações na água potável. Evidências de doença cardiovascular (doença vascular periférica, doença arterial coronariana, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral) e diabetes em áreas com níveis relativamente baixos de exposição ao arsênio inorgânico são inconclusivas. Porém, há crescentes evidências dos impactos negativos do arsênio sobre o desenvolvimento fetal e infantil, e o peso de nascimento particularmente reduzido (EFSA, 2009).

Como ainda há necessidade de evidências adicionais sobre as relações dose-resposta e tempos de exposição críticos do As com estes efeitos adversos, a EFSA utilizou como ponto de referência para estabelecer um valor toxicológico para o As os dados de câncer de bexiga urinária, pulmão e pele que casualmente estão associados a exposição oral de As inorgânico. A EFSA estabeleceu então uma faixa de valor de referência toxicológico para a ingestão de As de 0,3 a 8 µg/ kg de peso corpóreo (EFSA, 2009).

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo principal determinar as concentrações de elementos químicos tóxicos (Pb, Cd, As) nas refeições oferecidas no almoço pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto para as crianças da rede pública escolar.

A partir dos dados obtidos nas análises e testes estatísticos, este trabalho teve também como objetivos:

- a) Avaliar possíveis diferenças na composição de elementos tóxicos nos alimentos, nas diferentes escolas;
- b) Avaliar se há diferenças na concentração de As, Pb e Cd nos alimentos em diferentes épocas do ano;
- c) Estimar a ingestão de Pb, Cd, As pelas crianças pelo consumo alimentar e suas possíveis implicações toxicológicas;

3. Material e métodos

3.1 Equipamentos

Para a liofilização dos alimentos foi utilizado o liofilizador modelo L101 (Liotop, São Carlos, SP). Um forno de microondas equipado com frascos de PTFE, modelo Ethos D (Milestone, Monroe, CT) foi utilizado para a digestão de algumas classes de amostras alimentícias. Ainda na etapa de preparo de amostras, foi utilizado também um moinho analítico A11 Basic (IKA, Wilmington, Carolina do Norte, EUA) para moer as amostras e assim poder pesá-las. Para a determinação elementar de Pb, Cd e As foi usado um Espectrômetro de Massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) Elan DRC II PerkinElmer®, Norwalk, CT (EUA). Nas determinações elementares de Cd e Pb foram monitorados os isótopos mais abundantes de cada elemento, e para a determinação de As, o isótopo 75. As amostras foram analisadas em triplicadas.

3.2 Reagentes e Soluções

Água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 M Ω .cm) obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore®) foi utilizada em todo o trabalho.

Todas as soluções e amostras foram armazenadas em frascos de polietileno após prévio tratamento para eliminação de contaminantes. Frascos de plástico e materiais de vidro foram mergulhados em solução contendo 10% v/v HNO₃ por 24 h, lavados 5 vezes com água Milli-Q e secos em capela de fluxo laminar classe 100. Todas as operações para preparo das soluções foram realizadas em sala limpa classe 1000.

Soluções estoques padrão multi-elementar (PerkinElmer Pure, EUA) contendo 10 mg/L de cada elemento, foram utilizadas para a construção das curvas analíticas. Solução estoque padrão de Ródio (Rh), contendo 1000 mg/L, foi utilizada para a adição de padrão interno nas soluções. O ácido nítrico (HNO₃) utilizado (Synth, Brasil) não apresenta grau de pureza elevado, portanto podendo apresentar concentrações significativas dos elementos a serem analisados e por esta razão, o mesmo foi destilado em sistema *sub-boiling* (Kürner Analysentechnik) para retirar essas possíveis impurezas de modo a evitar qualquer contaminação provinda do

ácido utilizado durante as digestões. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi obtido da marca comercial Fluka, contendo 30% (v/v) e com alto grau analítico (TraceSelectUltra for trace Analysis); e o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) da marca Sigma-Aldrich, contendo 25% (v/v) em água.

3.2.1 Materiais de Referência

Os Materiais de Referência foram analisados previa e posteriormente às análises das amostras em estudo, para controle dos resultados obtidos e para verificar a exatidão dos resultados para avaliar exatidão das medidas dos métodos de análise utilizados, uma vez que estes materiais possuem a concentração dos elementos em questão já determinadas.

Foram escolhidos os Materiais de Referência com matrizes similares aos alimentos coletados para que a confiabilidade e veracidade dos dados coletados fossem maiores. Os Materiais de Referência Certificada foram: NIST Rice Flour 1568a; NIST Apple Leaves 1515; NIST Tomato Leaves 1573; NIST Whole Egg Powder 8415; NIST Citrus Leaves 1572 e o NRC DORM 3.

Os Materiais de Referência Certificada são provenientes da *National Institute of Standards and Technology* (NIST) e do National Research Council Canada (NRC) e contêm os elementos de interesse Pb, Cd, e As .

3.3 Metodologia

3.3.1 Dupla dieta

A metodologia escolhida para realizar trabalho foi a Dupla Dieta, porém a mesma foi modificada para aumentarmos o período de estudo e a população estudada. Como já mostrado anteriormente, esta metodologia analisa todos os alimentos consumidos diariamente por um pequeno grupo estudado por um pequeno intervalo de tempo.

No estudo realizado, os alimentos analisados já estão prontos para o consumo, ou seja, passaram por algum processo culinário, uma vez que é analisada a merenda oferecida aos alunos das escolas públicas de Ribeirão Preto durante o período de almoço. Porém, diferentemente da maioria dos estudos de Dupla dieta, a

quantidade ingerida pelos alunos, para o cálculo da ingestão diária, não será avaliada individualmente, mas sim por uma estimativa de consumo realizada pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto. Neste sentido, a população avaliada no trabalho se torna muito maior do que um estudo padrão de Dupla Dieta.

Outro ponto que difere da metodologia de Dupla Dieta é o do tempo estudado. Geralmente esses estudos o período de coleta é de 7 dias. No presente estudo o período de coleta foi muito maior, sendo feita diariamente em 4 diferentes meses (março, junho, agosto e novembro de 2011).

3.3.2 Coleta das amostras de alimentos

As amostras de alimentos foram obtidas durante todos os dias letivos dos meses de março, junho, agosto e novembro de 2011 pelas funcionárias das escolas. Uma pequena porção de cada alimento preparado no dia era colocada em sacos plásticos para amostra de alimentos (12x15 cm), rotuladas com o nome da escola, o dia e a identificação do alimento. Estas porções eram armazenadas em freezers - 20°C nas escolas até a sua coleta, que ocorriam duas vezes na semana.

O cronograma de coleta utilizado foi escolhido a fim de se obter amostras de estações diferentes, avaliando a sazonalidade dos alimentos oferecidos.

As escolas participantes foram: CEMEI Vigílio Salata, escola de ensino fundamental e médio com alunos com idade que variam entre 6 e 14 anos; Centro Educacional Infantil (CEI) Alaor César Galvão, creche com crianças de 1 a 6 anos; e a Cozinha Piloto que fornece refeição as escolas e creches que por diversas razões não cozinham os alimentos nas suas dependências. A escolha das escolas, além da cozinha piloto, foi necessária para que se avalie também se o modo de preparo dos alimentos influencia na composição dos elementos químicos. As escolas foram escolhidas aleatoriamente.

Os alimentos fornecidos pelas escolas seguem um cardápio mensal criado pelas nutricionistas da Secretaria Municipal da Educação da cidade Ribeirão Preto, porém as escolas possuem autonomia para alterações conforme o estoque de alimentos da escola. O Anexo 1 mostra um exemplo de cardápio fornecido pela Secretaria Municipal de Educação para uma escola de ensino Fundamental e o Anexo 2 mostra um cardápio de uma escola de ensino Pré-escolar.

A Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto realiza licitações para a compra dos alimentos fornecidos nas merendas escolares municipais e os distribui para todas as escolas, ou seja, os fornecedores de alimentos são iguais para todas as escolas.

3.3.3 Determinação das concentrações de Pb, Cd e As nos alimentos

Para a análise das amostras foram escolhidas duas metodologias já validadas e publicadas por nosso grupo de pesquisa como a solubilização básica a temperatura ambiente (Batista, 2009), e a digestão ácida assistida por microondas (Nardi, 2009).

A escolha primária da solubilização básica a temperatura ambiente como método de análise se deve ao fato que por este método um maior número de amostras poderá ser analisado concomitantemente, em um menor tempo. Na digestão ácida assistida por microondas o número de amostras analisadas é restrito a quantidade de frascos de politetrafluoretileno (PTFE) que podem ser utilizados durante uma digestão, o que torna a análise lenta pela necessidade de constante limpeza dos frascos após cada digestão. Apesar de mais apropriado para análise em rotina, o método de solubilização em meio básico é restrito para alguns tipos de alimentos. Já o método de digestão em meio ácido, apesar de mais lento, pode ser aplicado a praticamente todo tipo de alimento. Neste sentido, e como a variedade de alimentos analisados foi bastante ampla, as análises foram realizadas da seguinte forma: (i)-os alimentos nos quais os valores certificados dos elementos nos materiais de referência certificados não foram atingidos adequadamente utilizando o método de solubilização básica, foram analisados por digestão ácida, (ii)- os alimentos para quais não há relação nenhuma com as matrizes dos materiais de referência analisados também foram processados, por digestão ácida, segundo proposto por Nardi *et al* (2009) e, (iii)- demais alimentos foram analisados por solubilização em meio básico.

É importante salientar que não estão disponíveis materiais de referência certificados contendo os analitos em estudo para todas as classes de alimentos, e por isso alimentos que apresentam matrizes consideradas semelhantes serão processados pelos mesmos métodos, como, por exemplo, o feijão e o arroz. Apesar de pertencerem a classes diferentes de alimentos (feijão - leguminosas e arroz –

cereais), eles apresentam uma concentração de hidrato de carbono (amido) relativamente próximas, cerca de 80% para o arroz e 65% para o feijão, e por isso ambos foram analisados pela solubilização básica a temperatura ambiente, mesmo havendo Material de Referência Certificado somente para arroz (NIST Rice Flour 1568a). (Embrapa, 2007; Walter, M. *et al.* 2008)

3.3.4 Preparo da amostra

No laboratório as amostras eram descongeladas e colocadas em tubos falcon® de 50 mL, pesadas e em seguida eram colocadas no freezer -80°C por no mínimo 6 horas. Após este procedimento, os tubos falcon® eram colocados no liofilizador e deixados lá por no mínimo 24 horas. Após este período as amostras eram pesadas e voltadas ao liofilizador, após quatro horas eram novamente pesadas, e assim sucessivamente até peso constante.

Depois de liofilizadas as amostras foram trituradas utilizando o moinho analítico A11 Basic (IKA, Wilmington, Carolina do Norte, EUA) e em seguida guardadas até a análise. Independente do método que a amostra tenha sido analisada, todas as amostras foram analisadas em triplicada.

Pelo método de solubilização básica, foram pesados cerca de 75 mg de amostras de arroz e/ou feijão nos tubos falcon® de 15 mL, adicionado 1 mL de uma solução de TMAH 50% (v/v) e deixado durante 24 horas em repouso. Para a análise no ICP-MS, completou-se o volume para 10 mL, obtendo-se uma concentração final de TMAH de 1,25% v/v.

Utilizando a metodologia de digestão ácida assistida por microondas, as amostras foram digeridas em recipientes fechados com um sistema de decomposição de forno de microondas (Milestone ETHOS 1600) de acordo com o programa de aquecimento obtido de NARDI e colaboradores (2009). Foram pesadas cerca de 100 mg de amostra e, em seguida adicionado ao recipiente de plástico do forno de microondas 5 mL de água Mili-Q, 2 mL de HNO₃ 14 mol/L e 1 mL de H₂O₂. As amostras foram então submetidas a um programa de aquecimento apresentado na Tabela 1:

Tabela 1 – Programa de Aquecimento utilizado no forno de microondas para a digestão ácida

Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
10	450	140
10	750	190

Após a digestão foram adicionados 2 mL de água Mili-Q as amostras digeridas. Para a análise no ICP-MS, realizou-se uma diluição 1:4 nas amostras para que a concentração de HNO_3 fosse de 5%.

Para ambos os métodos adicionou-se Rh, como padrão interno, às amostras, brancos da curva e reagente e às soluções da curva analítica, de modo que a concentração final fosse de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. As curvas analíticas utilizadas para Pb, Cd e As foram 1, 5, 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$ para cada um dos elementos.

3.3.5 Análise dos Materiais de Referência Certificada

Afim de se verificar quais matrizes alimentícias seria possível analisar utilizando a solubilização básica, foram testados os Materiais de Referência Certificada NIST Rice Flour 1568a; NIST Apple Leaves 1515; NIST Tomato Leaves 1573, NIST Whole Egg Powder 8415. Na digestão ácida os Materiais de Referência Certificada testados foram o NRC Dorm 3; NIST Citrus Leaves 1572; NIST Rice Flour 1568a e NIST Whole Egg Powder 8415.

Somente o Material de Referência Certificada NIST Rice Flour 1568a se mostrou possível de ser analisado utilizando a solubilização básica, pois os valores de Pb, Cd e As encontrados estavam em conformidade com os valores certificados.

O NIST Rice Flour 1568a apresenta valor certificado para As de $290 \pm 30 \mu\text{g/g}$, para Cd de $22 \pm 2 \mu\text{g/g}$ e valor de referência para Pb de $<10 \mu\text{g/g}$ e os valores encontrados na solubilização básica foram respectivamente $286 \mu\text{g/g}$, $24 \mu\text{g/g}$ e $8 \mu\text{g/g}$. A tabela 2 mostra os valores certificados e os valores encontrados utilizando a solubilização básica para os diferentes tipos de Materiais de Referência Certificada.

Desta maneira somente as matrizes arroz e feijão foram analisados utilizando a solubilização básica. Todos os outros tipos de alimentos foram analisados

Tabela 2 - Comparação entre os valores certificados nos Materiais de Referência (MR) e os valores encontrados para os elementos Pb, As, Cd utilizando a solubilização básica.

	<i>Pb (ng g⁻¹)</i>	<i>As (ng g⁻¹)</i>	<i>Cd (ng g⁻¹)</i>
Valor certificado do MR		NIST Apple Leaves	
Solubilização básica	470 ± 24	38 ± 7	13 ± 2
	348 ± 2	37 ± 0.2	12 ± 2
Valor certificado do MR		NIST Tomato Leaves	
Solubilização básica	-----	112 ± 4	1520 ± 40
	2781 ± 390	163 ± 12	2235 ± 21
Valor certificado do MR		NIST Rice Flour	
Solubilização básica	< 10	290 ± 30	22 ± 2
	8 ± 3	286 ± 4	24 ± 0.3
Valor certificado do MR		NIST Whole Egg	
Solubilização básica	61 ± 12	10	5
	34 ± 1	13 ± 3	4 ± 1

Tabela 3 - Comparação entre os valores certificados nos Materiais de Referência (MR) e os valores encontrados para os elementos Pb, As, Cd utilizando a digestão ácida.

	Pb	As	Cd
	NRC Dorm 3 (Fish Protein)		
Valor certificado do MR ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,39 $\pm$ 0,05	6,8 $\pm$ 0,3	0,29 $\pm$ 0,02
Digestão ácida	0,12 $\pm$ 0,02	6,4 $\pm$ 0,5	0,25 $\pm$ 0,02
	NIST Citrus Leaves		
Valor certificado do MR ($\mu\text{g g}^{-1}$)	13,3 $\pm$ 2,4	3,1 $\pm$ 0,3	0,03 $\pm$ 0,01
Digestão ácida	12,1 $\pm$ 1,7	3,1 $\pm$ 0,2	0,03 $\pm$ 0,008
	NIST Rice Flour		
Valor certificado do MR (ng g^{-1})	< 10	290 $\pm$ 30	22 $\pm$ 2
Digestão ácida	10 $\pm$ 2	289 $\pm$ 6	22 $\pm$ 2
	NIST Whole Egg		
Valor certificado do MR (ng g^{-1})	61 $\pm$ 12	10	5
Digestão ácida	27 $\pm$ 2	23 $\pm$ 4	1 $\pm$ 0,01

utilizando a digestão ácida. A tabela 3 mostra os valores certificados e os valores encontrados dos elementos As, Pb e Cd utilizando a digestão ácida.

Os legumes, frutas, e saladas em geral foram analisados por digestão ácida uma vez que não se encontrou materiais de referência com matriz semelhante a estas classes de alimentos. As saladas em geral também foram analisadas por digestão ácida já que a análise dos materiais de referencia NIST Apple leaves e NIST Tomato leaves apresentaram resultados conflitantes com relação à eficiência do uso de TMAH neste tipo de matriz.

3.3.6 Análise estatística

Os resultados da análise dos elementos analisados nas amostras de alimentos foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. Para comparação de mais de duas médias, foi usado ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey e para a comparação entre duas médias, foi usado o teste t. A diferença estatística considerada foi para P menor que 0,05. Para tal, foi utilizado o programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences® 13.0 for Windows (SPSS).

3.3.7 Cálculo da Ingestão dos elementos químicos tóxicos

A estimativa de ingestão dietética combina dados sobre as concentrações da substância nos alimentos particulares com dados sobre as quantidades dos alimentos consumidos pela população em questão. Segundo Nasrredine *et al.* (2002), a ingestão por dia é expressa pela seguinte equação:

$$\text{Ingestão (mg / dia)} = \text{ocorrência (mg / kg)} \times \text{consumo (kg / dia)}$$

A “ocorrência” é a concentração do elemento químico encontrado nos alimentos, e o “consumo” a quantidade de alimento consumido. Logo, a ingestão é a soma das “ingestões” de todos os alimentos consumidos no almoço.

Para o cálculo de ingestão média diária neste trabalho, considerou-se que o almoço foi servido 20 dias letivos no mês e que em todos os dias foi ingerido a mesma quantidade de arroz, feijão e legumes. Uma vez que a carne vermelha

esteve presente mais vezes no cardápio que outros tipos de carne, foi necessário calcular a contribuição de cada tipo de carne na ingestão de As, Cd e Pb. Neste sentido, foi calculada a porcentagem de distribuição de cada uma durante o período de coleta e esta porcentagem representou a quantidade de dias letivos servidos para cada tipo de carne.

As estimativas do consumo são geralmente expressas por unidade de massa corpórea (mg / kg de massa corpórea / dia) para que significativas comparações possam ser estabelecidas com a ingestão diária aceitável (IDA) ou a ingestão diária tolerável (IDT), que são expressas, nestas unidades (Nasreddine *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2004).

Sempre que possível, os dados de acompanhamento de estudos de ingestão dietética devem ser comparados com a ingestão diária aceitável ou tolerável (IDA/IDT) recomendado pela FAO/ OMS Comitê Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA). A IDA refere-se a substâncias que podem ser ingeridas diariamente sem riscos para a saúde, enquanto a IDT é usada para enfatizar a importância de se limitar a ingestão diária de contaminantes nos alimentos por um período de vida sem apreciável risco para a saúde. O regulamento para contaminantes alimentares com cumulativa propriedade é diferente das diretrizes das ADI/TDI. No caso de elementos tóxicos como o Cd que é capaz de se acumular no organismo e cuja meia vida é de aproximadamente um mês, a ingestão tolerável é expressa como PTMI. A PTMI do JECFA representa a exposição mensal permitida aos humanos aos contaminantes que podem causar efeitos adversos na saúde. Já para os elementos como o As e Pb, cuja meia vida é menor no organismo, a ingestão tolerável é expressa em PTWI, que representa a exposição máxima semanal permitida não se observa o aparecimento de efeitos adversos (Zukowska J. e Biziuk M, 2008).

Porém, a EFSA, em 2009, realizou um estudo epidemiológico que analisou a relação da ingestão de As com o risco adicional de 1% no aparecimento de câncer de bexiga, pulmão e pele. Neste estudo conclui-se que o valor de PTWI de 15 µg/ kg de peso corpóreo estabelecido pela JECFA não era mais apropriado uma vez que os dados mostraram que efeitos adversos tinham sido reportados e concentrações menores que esta. Desta maneira, a EFSA estabeleceu que na faixa de ingestão de As de 0,3 a 0,8 µg/ kg de peso corpóreo por dia há risco de desenvolvimento de câncer de pele, pulmão e bexiga. Este estudo epidemiológico foi realizado em

adultos, portanto os valores toxicológicos de As para crianças ainda são desconhecidos. E por não haver valores toxicológicos de As para crianças, foi usado neste trabalho os valores toxicológicos de referência para adultos.

Em 2010, a EFSA também realizou um estudo epidemiológico avaliando a relação entre ingestão de Pb e o desenvolvimento neurotoxicológico, os efeitos sobre a pressão arterial sistólica e os efeitos sobre a prevalência de doença renal crônica. Concluiu que a PTWI estabelecida pela JECFA de 25 µg/ kg de peso corpóreo também já não era mais apropriado, uma vez que não havia evidência para um limiar para efeitos críticos induzido pelo Pb. Para crianças que estão em fase de desenvolvimento, inclusive o neurológico, o limiar de risco de ingestão avaliado por este trabalho foi o de surgimento de efeitos neurológicos, que é 0,5 µg/ kg de peso corpóreo.

A Organização Mundial da Saúde, através da JECFA, estabeleceu em 2010 que a PTMI é de 25 µg/ kg de massa corpóreo, e em 2011 a EFSA reportou que este valor era apropriado e que nenhuma modificação era necessária.

Foi adotado neste trabalho, portanto, os valores de referência toxicológicos fornecidos pela EFSA por estarem mais atualizados e por terem sido estabelecidos por estudos epidemiológicos.

Como já dito anteriormente, o cálculo da ingestão diária dos elementos químicos neste trabalho foi realizado utilizando o valor de consumo *per capita* de cada alimento fornecido pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto. Estes valores de consumo *per capita* são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Tabela de consumo *per capita* dos alunos das escolas municipais de Ribeirão Preto, fornecida pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto.

Tabela <i>per capita</i> por dia(g)					
Alimentos	CEI	EMEI	Alimentos	CEI	EMEI
arroz cru	20	30	mandioquinha	20	30
atum p/ macarrão	30	30	pepino	20	30
ervilha	0	15	rabanete	20	30
feijão	10	15	repolho	20	30
macarrão cru	10	20	salsa	2	2
milho verde	15	20	tomate	60	60
seleta de legumes p/ arroz	20	25	vagem	20	30
seleta de legumes p/ carnes	0	20	abobora seca	20	30
abobrinha	20	30	abacaxi	60	65
acelga	20	30	banana prata	60	60
alface	20	30	maçã	60	60
almeirão	20	30	mamão	60	110
batata	20	30	melancia	60	115
batata doce	20	30	tangerina	60	84
berinjela	20	30	carne em tiras	40	50
beterraba	20	30	carne picada (cubos)	43	58
cebola	3	3	hamburguer	30	56
cenoura	20	30	ovos	1	1
chuchu	20	30	peito de frango	42	56
couve	20	30	salsicha	24	48
couve-flor	20	30	pernil	42	56
escarola	20	30	filé tilapia/cação	40	40
espinafre	20	30	almondega	25	50
mandioca	20	30	empanado de frango/peixe	25	25

4. Resultados e Discussão

Durante a primeira fase do estudo, amostras de diferentes escolas foram coletadas. A fim de contemplar as diferentes estações do ano, os períodos de coleta foram divididos nas seguintes datas: 01 a 31 de março de 2011 (verão); 01 a 30 de junho de 2011 (outono); 01 a 31 de agosto de 2011 (inverno) e 1 a 30 de novembro de 2011 (primavera).

A partir do mês de agosto de 2011, a cozinha da escola CEI Alaor Galvão entrou em reforma e o almoço era fornecido pela Cozinha Piloto, por isso não houve mais a coleta de amostra nesta escola.

No total foram coletadas 653 amostras, divididas entre arroz (121 amostras), feijão (129 amostras), diferentes tipos de carne, como bovina, peixe (de água doce e de água salgada) e suína, totalizando 150 amostras e diversas frutas, legumes e verduras como, por exemplo, alface, cenoura, agrião, batata, melancia, tangerina somando 109 amostras. Têm-se ainda as amostras de papinhas (arroz, feijão, carnes e legumes) que foram fornecidas apenas pela Cozinha Piloto (144 amostras).

Diferentemente da maioria dos trabalhos de Dupla Dieta, como por exemplo, o de Maihara (1998), que analisa a ingestão dos elementos por dia, misturando todo o alimento coletado e fazendo uma única análise desta mistura, os alimentos deste trabalho foram analisados separadamente para que, caso fosse encontrado uma concentração alta de algum dos elementos estudados, seria possível identificar a fonte desta alta concentração. A concentração média de Cd, Pb e As nas diferentes classes dos alimentos coletados estão representados na Tabela 5.

Em um estudo sobre a concentração de alguns elementos em amostras de arroz branco cru de diversas regiões do Brasil realizado por Batista *et al.* (2010), a concentração de As encontrada foi de $105.3 \pm 40.8 \text{ ng g}^{-1}$ e a concentração de Cd foi de $13 \pm 4,5 \text{ ng g}^{-1}$. Quando se compara os valores médios de As e Cd obtidos por Batista *et al.* (2010) com os obtidos por este trabalho, apesar de não serem as mesmas amostras, a concentração média de As e Cd encontrada no arroz em ambos os trabalhos são semelhantes. Aparentemente o cozimento não parece reduzir as concentrações de arsênio nas amostras como mostrado por Laparra *et al.* (2005).

Tabela 5 – Concentração média dos elementos As, Cd e Pb (ng g^{-1}) nos alimentos coletados nos diferentes pontos de coleta.

Alimentos	As	Cd	Pb
Arroz (n=121)	111 ± 34 (49,3 – 167)	$11,4 \pm 5,6$ (1,7- 30,8)	$1,1 \pm 1,7$ (0- 11,8)
Feijão (n=129)	$17,3 \pm 6,3$ (6,3 – 39,8)	$2,9 \pm 1,3$ (0,6 – 6,9)	$3,4 \pm 4,7$ (0,2 – 40,8)
Legumes/Verduras (n=109)	$35,6 \pm 21,0$ (7,3 – 162)	$24,6 \pm 28,8$ (0,7 – 191)	23 ± 97 (0 – 270)
Carne Vermelha (n=92)	$34,3 \pm 9,7$ (17,7 – 63)	$4,9 \pm 3,5$ (0,1 – 16,6)	$8,1 \pm 28,3$ (0,4 – 272)
Carne Suína (n=13)	$33,6 \pm 22,8$ (15,7 – 100)	$5,1 \pm 5,5$ (0,3 – 20,8)	$18,6 \pm 38,5$ (0,6 – 46)
Peixe (água doce) (n=14)	65 ± 24 (24,4 – 122)	$4,9 \pm 2,8$ (1,4 – 10,1)	$4,4 \pm 2,4$ (1,4 ± 10,4)
Peixe (água salgada) (n=5)	3328 ± 5050 (969 – 12362)	$63,6 \pm 22,5$ (40,6 – 96)	$6,9 \pm 2,8$ (3,2 – 9,9)
Frango (n=26)	$27,4 \pm 9,4$ (11,8 ± 48,6)	$2,6 \pm 1,1$ (0,7 – 5,8)	$5,1 \pm 9,2$ (0 – 39,7)

Em um estudo recente foram determinadas as concentrações de As total em diversas amostras de tecido animal de diversas regiões do Brasil por Batista *et al.* (2011). Estes autores encontraram em amostras de frango, peixe de água doce (Tilápia), carne vermelha e peixe de água salgada (Atum) as concentrações de 116 ng g^{-1} , 353 ng g^{-1} , 75 ng g^{-1} e $4 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Outro estudo realizado Batista *et al.* (2012) determinou a concentração de As, Cd e Pb em amostras de carnes de frango, porco e boi. As concentrações destes elementos encontradas nas amostras de carne de frango foram respectivamente: $10,5 \text{ ng g}^{-1}$, $1,1 \text{ ng g}^{-1}$, $7,3 \text{ ng g}^{-1}$. Nas amostras de carne suína as concentrações encontradas foram: $6,6 \text{ ng g}^{-1}$, $2,0 \text{ ng g}^{-1}$, $12,6 \text{ ng g}^{-1}$ para As, Cd e Pb, respectivamente. Já nas amostras de carne bovina as concentrações encontradas foram: $20,7 \text{ ng g}^{-1}$, $1,4 \text{ ng g}^{-1}$, $9,3 \text{ ng g}^{-1}$, para As, Cd e Pb, respectivamente. Em um estudo realizado por Meche *et al.* (2010) foi determinada a concentração de vários elementos químicos em peixes do rio Piracicaba, Brasil, encontrando concentrações de As, Cd e Pb de 230 ng g^{-1} , 50 ng g^{-1} e 360 ng g^{-1} , respectivamente. Em todos os estudos as amostras analisadas estavam cruas.

A concentrações de As, Cd e Pb encontradas nas amostras de peixe de água doce neste trabalho são menores do que as reportadas pelos dois trabalhos acima citados, podendo sugerir, que por permanecer por mais tempo ao fogo que o arroz,

uma parte da concentração deste elemento é perdida durante o processo de preparo do alimento. Atta *et al.* (1995) reportou que o cozimento do peixe antes do consumo é de importância limitada para a redução de alguns elementos, pois depende de diversas condições (tempo, temperatura e modo de preparo), mas é que possível diminuir a concentração de determinados elementos pelo cozimento. Em contrapartida, Devesa *et al.* (2001) reportou que a concentração de As não se altera significativamente devido ao efeito do cozimento em alimentos de origem marinha, mas que há uma interação significativa entre o cozimento e o tipo de alimento marinho, mostrando que o efeito do cozimento na concentração total de As depende do tipo de amostra marinha considerada. Há também o fato de que a região onde o peixe vive modifica a concentração dos elementos químicos, pois determinadas áreas podem estar mais contaminadas que outras e isto leva a uma diferença de concentração.

Já a concentração de As nas amostras de água salgada é semelhante à reportada por Batista *et al.* (2011), e além de ser muito superior ao encontrados nas amostras de peixe de água doce. A concentração de Cd também foi muito superior à encontrada nas amostras de peixe de água doce, sugerindo que os alimentos de origem marinha são uma maior fonte de exposição a elementos químicos tóxicos.

Comparando-se as concentrações de As, Cd e Pb obtidas nas amostras de carne bovina, suína e de frango neste trabalho com as obtidas por Batista *et al.* (2012), observa-se que as concentrações de chumbo encontradas estão bastante próximas. No entanto, as concentrações de As se diferenciam nas amostras de frango e carne suína e as concentrações de Cd se diferenciam nas amostras de carne vermelha e carne suína. Tanto para o Cd quanto para o As, a concentração encontra-se maior neste trabalho. A provável causa desta diferença pode ser explicada pela diferença na alimentação usada na criação destes animais ou por fatores relacionados à contaminação dos solos, água ou ar onde os animais viviam (Zukowska, J. e Biziuk, M., 2008).

A classe denominada Legumes/Verduras é constituída por diferentes tipos de alimentos, como por exemplo, alface, agrião, batata, cenoura, chuchu, pepino, entre outros, e por isso possui um desvio padrão bastante elevado, chegando a ser maior que a média, como é o caso do Pb. Para o As, os alimentos que apresentaram maiores concentrações deste elemento foram: alface, abobrinha, couve, espinafre e almeirão; para o Cd, os alimentos foram: beterraba, cenoura, espinafre e purê de

batata; para o Pb, os alimentos foram: cenoura, alface, mandioca, escarola, espinafre, couve e escarola.

É importante ressaltar que todas as concentrações dos elementos químicos obtidas estão em massa seca, uma vez que as amostras foram liofilizadas. Com a diferença de massa obtida antes e depois da liofilização foi possível determinar a umidade de cada alimento e utilizá-la para fazer o cálculo da Ingestão Diária. A Tabela 6 mostra a umidade obtida em cada classe de alimento.

Tabela 6 – Média da umidade dos alimentos coletados.

Alimento	% Umidade
Arroz	29,9
Feijão	44,6
Legumes/Verduras	55,4
Carne Vermelha	38,6
Frango	43,8
Carne Suína	40,8
Peixe	48,8

4.1 Estudo da influência dos pontos de coleta na concentração de As, Cd e Pb nos alimentos

A coleta das amostras foi realizada em 3 locais distintos a fim de se verificar uma possível diferença na concentração dos elementos As, Pb e Cd, devido ao modo de preparo. Os testes estatísticos aplicados mostraram que a concentração de As nas amostras de arroz e feijão não variou de uma escola para outra nos meses estudados. No entanto, nas amostras de arroz, os elementos Cd e Pb apresentaram uma variação estatisticamente significativa para os meses estudados. Para o Cd, a escola Vigílio Salata (VS) apresentou uma concentração de Cd maior que a Cozinha Piloto (CP) e a escola Alaor Galvão (AG). Para o Pb a escola AG apresentou uma diferença estatística positiva somente quando comparada com a Cozinha Piloto. A tabela 7 mostra a média $\pm$ desvio padrão de cada elemento e o valor de p de cada análise estatística.

A diferença estatística vista nestas análises pode ter ocorrido por diversos fatores, como por exemplo, a água utilizada na preparação dos alimentos, que é

Tabela 7 – Concentração média $\pm$ Desvio Padrão (ng g^{-1}) dos elementos As, Cd e Pb nas diferentes classes de alimentos em cada Ponto de Coleta.

Pontos/ Elementos	CP	VS	AG	P
Arroz				
	n = 61	n = 41	n = 25	
As	108 $\pm$ 32	113 $\pm$ 30	102 $\pm$ 23	0,37
Cd	10,4 $\pm$ 5,2	12,9 $\pm$ 6,8 ^a	8,7 $\pm$ 1,3	0,004*
Pb	1,2 $\pm$ 1,4 ^b	0,7 $\pm$ 1,1	0,2 $\pm$ 0,4	0,001*
Feijão				
	n = 53	n = 46	n = 24	
As	17,8 $\pm$ 5,3	15,7 $\pm$ 5,5	16,6 $\pm$ 5,9	0,144
Cd	3,1 $\pm$ 0,9 ^c	2,5 $\pm$ 1,0	2,3 $\pm$ 0,8	0,002*
Pb	3,23 $\pm$ 2,0 ^b	2,6 $\pm$ 2,9	1,6 $\pm$ 0,8	0,018*
Verduras/Legumes				
	n = 77	n = 21	n = 40	
As	36,8 $\pm$ 22,0	34,7 $\pm$ 20,7	49,7 $\pm$ 29,6 ^d	0,005*
Cd	24,4 $\pm$ 22,5	20,2 $\pm$ 18,9	18,0 $\pm$ 14,9	0,255
Pb	12,9 $\pm$ 19,4	7,7 $\pm$ 11,6	15,2 $\pm$ 20,2	0,329
Carne (Vermelha)				
	n = 41	n = 26	n = 20	
As	33,3 $\pm$ 9,1	35,5 $\pm$ 12,0	35,2 $\pm$ 8,3	0,652
Cd	4,9 $\pm$ 2,9	5,0 $\pm$ 4,3	4,9 $\pm$ 3,8	0,305
Pb	4,9 $\pm$ 4,4	5,4 $\pm$ 3,4	18,1 $\pm$ 58,7	0,394
Carne (Frango)				
	n = 17	n = 7	n = 7	
As	27,9 $\pm$ 8,3	25,3 $\pm$ 6,5	27,7 $\pm$ 13,1	0,815
Cd	3,0 $\pm$ 1,2	2,3 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 0,9	0,267
Pb	5,4 $\pm$ 9,7	5,4 $\pm$ 9,3	1,1 $\pm$ 2,7	0,456
Carne (Suína)				
	n = 6	n = 4	n = 2	
As	34,4 $\pm$ 11,3	23,5 $\pm$ 7,7	18,0 $\pm$ 3,2	0,109
Cd	6,0 $\pm$ 2,4	6,0 $\pm$ 9,9	2,2 $\pm$ 2,1	0,719
Pb	33,2 $\pm$ 54,5	9,9 $\pm$ 11,4	0,9 $\pm$ 0,3	0,550
Carne (Peixe de água doce)				
	n = 9	n = 3	n = 3	
As	62,2 $\pm$ 23,9	62,0 $\pm$ 14,8	79,5 $\pm$ 40,8	0,609
Cd	6,1 $\pm$ 2,9	4,4 $\pm$ 2,6	2,9 $\pm$ 1,0	0,214
Pb	3,2 $\pm$ 2,1	6,1 $\pm$ 4,1	4,8 $\pm$ 1,2	0,229
Carne (Peixe de água salgada)				
	n = 5	n = 0	n = 0	
As	3328 $\pm$ 5050	-	-	
Cd	63 $\pm$ 22	-	-	
Pb	6,9 $\pm$ 2,8	-	-	

Anova uma via seguida de Tukey. * estatisticamente diferente p ($< 0,05$). CP: Cozinha Piloto; VS: Vigílio Salata; AG: Alaor Galvão. a: VS é estatisticamente diferente de CP e AG. b: CP é estatisticamente diferente de AG. c: CP é estatisticamente diferente de VS e AG. d: AG é estatisticamente diferente de CP e VS.

diferente em cada ponto de coleta e o modo de preparo e/ou os utensílios utilizados no cozimento dos alimentos nas escolas também pode influenciar na concentração final dos elementos nos alimentos.

Outro fator para a diferença estatística pode estar nos próprios alimentos, pois a concentração dos elementos químicos variam de lote para lote. Esta variação ocorre porque as grandes marcas de alimentos não tem um produtor único que lhes fornece os alimentos para embala-los, mas sim diversos produtores de regiões diferentes.

Neste trabalho o objetivo principal não era detectar as fontes desta diferença de concentração entre os pontos de coleta, uma vez que um estudo mais apurado e detalhado teria sido necessário, mas sim mostrar uma possível diferença de concentração dos elementos nos locais estudados.

4.2 Estudo da influência da sazonalidade na concentração de As, Cd e Pb nos alimentos

Uma comparação de concentração dos elementos químicos estudados entre os diferentes meses do ano também foi realizada. Para essa comparação, os dados obtidos de todas as escolas foram agrupados por meses. A Figura 1 mostra a concentração média $\pm$ desvio padrão dos elementos químicos nos meses estudados e quais meses apresentaram variação estatística significativa ($p < 0,05$). As amostras de peixe de água salgada foram coletadas apenas no mês de março, já os de água doce foram coletados em março e em junho e os dados destes tipos de alimentos estão na Tabela 8.

Figura 1 – Concentrações de As, Cd e Pb nas diferentes classes de alimentos coletados conforme a sazonalidade. Anova de uma via seguida de Tukey. * estatisticamente diferente $p < 0,05$.

Tabela 8 – Média da concentração (ng g^{-1}) e desvio padrão de As, Cd e Pb nas amostras de peixes.

	Março	Junho	P
	Carne (Peixe de água doce)[#]		
	n= 9	n= 6	
As	64 ± 31	67 ± 13	0,053
Cd	3,5 ± 1,7	7,5 ± 2,3	0,582
Pb	3,9 ± 1,6	3,3 ± 2,4	0,175
	Carne (Peixe de água salgada)		
	n= 5	n= 0	
As	3328 ± 5050	-	
Cd	63 ± 22	-	
Pb	6,9 ± 2,8	-	

Uma maior variação da concentração dos elementos químicos tóxicos no decorrer do ano ocorreu nas amostras de arroz e feijão, onde se pode perceber uma diferença estatística para os 3 elementos estudados entre, pelo menos, dois meses.

Nas amostras de arroz, a concentração de As no mês de Março (83 ng g^{-1}) foi estatisticamente menor se comparado aos meses de junho (122 ng g^{-1}), agosto (128 ng g^{-1}) e novembro (122 ng g^{-1}). Para o elemento Pb, no mês de novembro houve um aumento estatisticamente significativo da sua concentração neste alimento. E a concentração de Cd variou bastante durante todo o ano, havendo uma diferença estatística entre os meses de março e junho e agosto; junho e agosto; e agosto e novembro.

Nas amostras de feijão, a concentração de As no mês de março ($15,1 \text{ ng g}^{-1}$) é menor do que a concentração deste elemento no mês de novembro ($19,4 \text{ ng g}^{-1}$). A concentração de Cd também é maior no mês de novembro se comparado aos outros três meses de coleta. Para o Pb a diferença de concentração é variada. Para este elemento houve uma variação entre os meses de março e junho; junho e agosto; e agosto e novembro.

Como já dito anteriormente, alguns legumes e/ou vegetais apresentaram concentrações bastante discrepantes quando comparadas a média desta classe. No mês de março os alimentos que apresentaram as maiores concentrações de As, Cd e Pb foram alface, beterraba, cenoura e mandioca. No mês de junho, os alimentos foram: abobrinha, cenoura, beterraba e mandioquinha. No mês de agosto, foram: couve, espinafre, beterraba, escarola e purê de batata. E finalmente, no mês de novembro, os alimentos foram: almeirão, cenoura, couve e escarola.

Mesmo apresentando alimentos com concentrações tão diferentes, percebe-se uma diminuição estatisticamente significativa na concentração do Cd no mês de junho ($13,2 \text{ ng g}^{-1}$), quando comparado aos meses de março ($24,1 \text{ ng g}^{-1}$) e agosto ($27,3 \text{ ng g}^{-1}$) nos vegetais e ou legumes servidos as crianças.

Nas amostras de carne vermelha, a concentração de Cd no mês de junho ($3,2 \text{ ng g}^{-1}$) foi estatisticamente diferente do mês de março ($6,5 \text{ ng g}^{-1}$). E nas amostras de carne de frango a diferença estatística ocorreu para o elemento Pb entre o mês de novembro e o restante dos meses estudados.

Nos outros tipos de carne não houve uma variação estatisticamente significativa, talvez porque o numero de amostras coletadas foi pequeno, sendo necessário, então, um estudo com um N maior para poder afirmar se há ou não uma real diferença na concentração destes elementos nestas amostras.

4.3 Estudo da concentração de As, Cd e Pb nas papinhas

A determinação da concentração de elementos químicos tóxicos em amostras de papinhas é de extrema importância, pois são os alimentos fornecidos aos bebês e as crianças de menor idade, onde a fase de desenvolvimento é mais crítica. Logo, determinou-se a concentração dos elementos químicos tóxicos nas amostras de papinhas fornecidas pela Cozinha Piloto. Na tabela 9 têm-se os valores da concentração média e desvio padrão das amostras coletadas.

Amostras de papinhas comerciais vêm sendo analisadas em outros países. Ljung *et al.* (2011) analisou diversas amostras comercializadas na Suécia e naquelas que eram feitas apenas com arroz integral a concentração de As, Cd e Pb foram respectivamente 33 ng g^{-1} , $1,7 \text{ ng g}^{-1}$ e $1,2 \text{ ng g}^{-1}$. Em outro estudo realizado por Pandelova *et al.* (2012), a concentração de Cd e Pb nas amostras a base de soja comercializadas na União Europeia foram, respectivamente: $18,3 \text{ ng g}^{-1}$ e $20,1 \text{ ng g}^{-1}$ de massa fresco.

De uma maneira geral, as concentrações dos elementos foram parecidas com as encontradas nos alimentos coletados. A concentração de As e Cd nas papinhas produzidas pela Cozinha Piloto foi muito superior a descrita por Ljung *et al.* (2011) nas papinhas comerciais.

Tabela 9 – Concentração média e Desvio Padrão (ng g^{-1}) de As, Cd e Pb nas amostras de papinhas. Valor mínimo e máximo obtido representado em parênteses.

Papa/Elemento	As	Cd	Pb
Arroz (n= 17)	134 ± 40 (87 – 202)	$18,5 \pm 13,7$ (4,9 – 54,1)	$1,7 \pm 1,9$ (0,0 – 6,3)
Feijão (n= 44)	$15,4 \pm 4,2$ (5,0 – 23,6)	$3,1 \pm 0,8$ (1,7 – 4,8)	$5,1 \pm 3,3$ (0,7 – 18,9)
Legumes (n= 38)	$27,1 \pm 5,5$ (14,8 – 39,0)	$21,6 \pm 11,9$ (0,6 – 64,4)	$7,2 \pm 8,1$ (0,5 – 34,6)
Carne vermelha (n= 24)	$37,9 \pm 25,0$ (16,4 – 148)	$1,8 \pm 0,9$ (0,9 – 4,0)	$3,5 \pm 2,5$ (0,1 – 10,9)
Frango (n= 21)	$39,0 \pm 56,5$ (16,3 – 283)	$2,3 \pm 0,9$ (0,9 – 5,4)	$2,3 \pm 4,6$ (0,0 – 18,1)

Com as amostras de papinhas fornecida pela Cozinha Piloto foi possível também realizar estudos semelhantes aos feitos para os alimentos fornecidos pelas escolas, como por exemplo, avaliar a variação da concentração dos elementos estudados durante o ano e comparar as suas concentrações com os dos alimentos fornecidos pela Cozinha Piloto. A Figura 2 mostra a variação da concentração de As, Cd e Pb durante o decorrer do ano nas papinhas e se houve variação estatística entre os meses coletados. Observa-se nesta tabela que no mês de Novembro não houve coleta de papinha.

Comparando-se as diferenças estatísticas obtidas entre as épocas do ano nas amostras de alimentos e de papinhas, elas mostram-se bastantes semelhantes para quase todas as classes de alimentos, com exceção dos legumes/vegetais, que nas amostras de alimentos há uma diferença estatística apenas para cádmio entre os meses de março e junho e março e agosto; e nas papinhas a diferença estatística ocorreu para o arsênio (março e agosto) e para o cádmio, porém entre meses diferentes (março e agosto). Como não se sabe exatamente quais são os legumes utilizados para fazer essas papinhas, uma vez que os plásticos, onde as amostras eram armazenadas, eram rotuladas apenas como “papa de Legumes” pela Cozinha Piloto e a grande divergência na concentração dos elementos estudados nos legumes, essa diferença era esperada.

Figura 2 - Concentração de As, Cd e Pb nas papinhas coletadas conforme a sazonalidade. Anova de uma via seguida de Tukey. * estatisticamente diferente $p < 0,05$

Estudou-se também se havia diferença entre a concentração dos elementos presentes nas papinhas e nos alimentos. A Tabela 10 mostra a concentração média dos elementos nos alimentos e papinhas correspondentes, com exceção da papinha de legumes, pois como já dito anteriormente não se sabe qual eram os legumes utilizados nestas papinhas para se fazer uma comparação.

Tabela 10 – Concentração média e desvio padrão (ng g^{-1}) de As, Cd e Pb dos alimentos e das papinhas e o valor de p obtido no Teste t.

Tipo/Elemento	CP	Papa	P
Arroz			
	n= 61	n= 17	
As	108 $\pm$ 32	134 $\pm$ 40	0,145
Cd	10,4 $\pm$ 4,3	16,3 $\pm$ 10,5	0,000*
Pb	1,2 $\pm$ 1,4	1,4 $\pm$ 1,6	0,235
Feijão			
	n= 53	n= 43	
As	17,8 $\pm$ 5,3	15,8 $\pm$ 3,7	0,021*
Cd	3,1 $\pm$ 0,9	3,0 $\pm$ 0,7	0,196
Pb	3,2 $\pm$ 2,0	4,7 $\pm$ 2,5	0,064
Carne (Vermelha)			
	n= 40	n= 23	
As	32,2 $\pm$ 8,0	33,2 $\pm$ 8,9	0,377
Cd	4,7 $\pm$ 2,6	1,7 $\pm$ 0,8	0,000*
Pb	3,9 $\pm$ 2,1	3,2 $\pm$ 1,9	0,479
Carne (Frango)			
	n= 16	n= 20	
As	27,9 $\pm$ 7,5	26,7 $\pm$ 8,2	0,750
Cd	2,7 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 0,6	0,073
Pb	3,6 $\pm$ 4,2	1,0 $\pm$ 0,9	0,010*

Teste t independente. * estatisticamente diferente p (<0,05).

De maneira geral, a concentração dos elementos químicos tóxicos estudados está estatisticamente menor nas papinhas do que nos alimentos servidos, como pode ser observado nas classes de alimentos feijão, carne vermelha e frango. Somente no arroz a concentração de cádmio foi maior nas papinhas.

4.4 Cálculo da Ingestão Diária

Com as concentrações médias obtidas nas análises dos alimentos coletados e os dados de consumo fornecidos pela Secretaria Municipal de Educação foi

possível calcular a concentração de As, Cd e Pb ingerida pelas crianças durante o almoço.

É importante ressaltar que as concentrações utilizadas para esse cálculo não estão em peso seco, como as expressas nas tabelas. A porcentagem de umidade dos alimentos foi considerada para os cálculos, pois os dados de consumo fornecidos estão em massa úmida, exceto para o arroz e feijão. Por terem sido fornecidos dados de consumo o arroz e feijão cru, e a umidade nestes alimentos crus não ser muito elevada, considerou-se a concentração encontrada na massa seca. Desta maneira a concentração de As considerada para Legumes/Vegetais, carne Vermelha, Carne Suína, Peixe de água doce, Peixe de água salgada e Frango foi respectivamente de: 15,9 ng g⁻¹, 21,1 ng g⁻¹, 19,9 ng g⁻¹, 33,6 ng g⁻¹, 1703 ng g⁻¹ e 15,4 ng g⁻¹. A nova concentração de Cd para as mesmas classes de alimentos é respectivamente: 11,0 ng g⁻¹, 3,0 ng g⁻¹, 3,0 ng g⁻¹, 2,5 ng g⁻¹, 32,5 ng g⁻¹, 1,5 ng g⁻¹. E a nova concentração de Pb é respectivamente: 10,5 ng g⁻¹, 5,0 ng g⁻¹, 11,0 ng g⁻¹, 2,5 ng g⁻¹, 3,5 ng g⁻¹, 2,9 ng g⁻¹.

A ingestão diária média de As, Cd e Pb pelas crianças, que estudam em um CEI, durante o almoço servido pela Secretaria Municipal de Ribeirão Preto é respectivamente de 5,3 µg, 0,6 µg e 0,4 µg. Para os estudantes de um CEMEI a ingestão diária destes elementos é respectivamente de 6,9 µg, 0,9 µg e 0,6 µg.

Em um estudo de dupla dieta feito por Maihara *et al.* (1998) investigou-se a ingestão média diária de As e Cd por crianças em idade escolar na cidade de São Paulo- SP coletando-se uma porção igual de refeição, água e lanches ingerida pelos participantes durante 3 dias. O valor de ingestão média diária encontrada de As e Cd foi, respectivamente, de 12,4 µg e 4,1 µg. Neste trabalho, a concentração encontrada foi menor, porém foi analisado apenas o almoço servido às crianças e não os alimentos e bebidas ingeridos fora do período escolar, como por exemplo, os ingeridos em seus respectivos domicílios.

Já o estudo feito por Santos *et al.* (2004) a ingestão diária média foi realizada utilizando a metodologia de Cesta de Mercado (*Market Basket*), comprando-se os alimentos em supermercados do Rio de Janeiro – RJ e analisando as cinzas dos alimentos. Foi utilizada para o cálculo da ingestão diária a Pesquisa de Orçamento Familiar (IBGE) de 1995-1996. Os valores de ingestão média diária calculados por este estudo para Cd e Pb foi respectivamente 1,8 µg e 28 µg. A ingestão de Cd e Pb durante o almoço ingerido pelas crianças calculada neste trabalho foi inferior a

reportada por Santos *et al.* (2004), talvez porque neste trabalho analisou-se apenas o almoço ou porque, apesar de estarmos na mesma região Sudeste, os alimentos consumidos no Rio de Janeiro apresentem concentrações diferentes aos consumidos na região de Ribeirão Preto- SP. Percebe-se, porém, que a ingestão de Pb reportada por Santos *et al.* (2004) está muito superior a encontrada neste trabalho e a razão parece ser a alta concentração deste elemento encontrada no leite por Santos, por representar 72% da ingestão de Pb para a população por eles estudada.

Segundo a EFSA a faixa de valores de referência toxicológicos do As é 0,3 a 0,8 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo/ dia, portanto para uma criança matriculada no ensino infantil (de 1 a 6 anos) e com peso médio de 20 kg esta faixa de valores é de 6 a 160 μg . Para as crianças matriculadas no ensino fundamental (de 7 a 14 anos) e com peso médio de 50 kg a faixa de valores de referência toxicológicos é de 15 a 400 μg . Assim, a quantidade de As ingerida pelas crianças, de ambas as faixas etárias estudadas, no almoço servido é menor que os valores toxicológicos estabelecidos pela EFSA.

Para o Pb, a EFSA preconiza que ingestões diárias acima de 0,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo podem causar danos neurológicos em crianças. Portanto, para os alunos de ensino infantil o valor de referência toxicológico é de 10 μg e para os alunos no ensino fundamental é de 25 μg . Logo, os valores de ingestão calculados por este trabalho para ambas as faixas etárias estudadas estão bem abaixo dos valores de referência.

O PTMI do Cd é 25 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo. Portanto o valor de ingestão diária tolerável para uma criança no ensino infantil é de 16,7 μg e para uma criança no ensino fundamental é 41,7 μg . Em ambas as idades estudadas a ingestão diária está abaixo da estabelecida pela OMS.

É importante lembrar, porém, que não foram analisados os alimentos ingeridos por estas crianças no período fora da escola e por isso é possível que no decorrer do dia a quantidade dos elementos químicos tóxicos estudados ingeridos alcance os valores de referência toxicológicos.

5. Conclusão

A avaliação da exposição a elementos químicos tóxicos como o Cd, Pb e As por meio da ingestão de alimentos, principalmente em crianças é de extrema relevância. A relevância do presente estudo pode ser considerada ainda mais significativa por analisar o alimento consumido por uma fração significativa de crianças na cidade de Ribeirão Preto, cerca de 30% dos alunos matriculados nas escolas, segundo o IBGE e também por analisar o alimento já pronto para o consumo.

Considerando os valores encontrados para ingestão diária de Cd, As e Pb nos escolares do ensino infantil e fundamental do Município de Ribeirão Preto, não foram observados valores considerados de risco toxicológico. No entanto, vale ressaltar que nosso estudo apenas avaliou o almoço servido às crianças, portanto é possível que algumas delas tenham exposição adicional a estes elementos tóxicos pela ingestão de alimentos fora da escola.

Dos alimentos coletados nas escolas, apenas o arroz e o feijão mostraram alguma diferença estatística nas concentrações de Cd e Pb e os legumes/verduras nas de As. Além disso, dentre todos os alimentos analisados, somente a carne suína não apresentou diferenças de concentração pela sazonalidade, o que acarreta em uma necessidade de avaliação frequente da merenda escolar.

Finalmente, cabe destacar que este estudo é pioneiro na área e se aplicado em rotina dentro do Programa Nacional de Alimentação Escolar poderá contribuir para a segurança alimentar em crianças em idade escolar no país.

6. Referências Bibliográficas

AVEGLIANO, R. P.; MAIHARA, V. A.; SILVA, F. F. Metodologia de Estudo de Dieta Total no Estado de São Paulo para estimativa de ingestão dietética de elementos tóxicos e essenciais: a elaboração da Cesta de Mercado (*Market Basket*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 90-97, 2008.

AVEGLIANO, R. P.; MAIHARA, V. A.; SILVA, F. F. A Brazilian Total Diet Study: Evaluation of essential elements. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.24, p. 1009-1016, 2011.

ATTA, M. B.; EL-SEBAIE, L. A.; NOAMAN, M. A.; KASSAB, H. E. The effect of cooking on the content of heavy metals in fish (*Tilapia nilotica*). **Food Chemistry** v. 58, p. 1- 4, 1997.

BATISTA, B. L.; DE OLIVEIRA SOUZA, V. C.; DA SILVA, F. G.; BARBOSA Jr, F. Survey of 13 trace elements of toxic and nutritional significance in Rice from Brazil and exposure assessment. **Food Additives and Contaminants: Part B** v.3, p. 253 - 262, 2010.

BATISTA, B. L.; GROTO, D.; CARNEIRO, M. F. H.; BARBOSA Jr, F. Evaluation of the concentration of non-essential and essential elements in chicken, pork and beef samples produced in Brazil. **Journal of Toxicological and Environmental Health**, 2012. No prelo.

BATISTA B. L.; NACANO, L. R.; DE SOUZA, S. S.; BARBOSA Jr, F. Rapid sample preparation procedure for As speciation in food samples by LC-ICP-MS. **Food Additives and Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment** v.29, p. 780-788, 2011.

BARBOSA, K. B. F.; ROSADO, L. E. F. P. L.; FRANCESCHINI, S. C. C.; PRIORE, S. E. Instrumentos de inquérito dietético utilizados na avaliação do consumo alimentar em adolescentes: comparação entre métodos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.57, p. 43 -50, 2007.

BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; GUARDIA, M. Especificação de Arsênio – Uma revisão. **Química Nova**, v.23, p. 58-70, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de políticas de saúde. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília, 1999.

DABEKA, R. W; McKENZIE A. D. Survey of lead, cadmium, fluoride, nickel, and cobalt in food composites and estimation of dietary intakes of these elements by Canadians in 1986-1988. **Journal of AOAC International**, v.78, p. 897-909, 1995.

DECLOITRE, F. Contribution of food groups to the exposure to lead, cadmium and mercury. **Cahiers de au Nutrition et de Dietetique**, v.33, p. 167-175, 1998.

DEVESA, V.; MACHO, M. L.; JALO, M. URIETA, I.; MUÑOZ, O. SÚNER, A. LÓPEZ, F.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R. Arsenic in Cooked Seafood Products: Study on the Effect of Cooking on Total and Inorganic Arsenic Contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4132 – 4140, 2001.

EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Arsenic in Food. **EFSA Journal**, v.7, n.10, p. 1351-1550, 2009.

EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Lead in Food. **EFSA Journal**, v. 8, n.4, p. 1570 - 1717, 2010.

EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on tolerable weekly intake for cadmium. **EFSA Journal**, v. 9, n.2, p. 1975 - 1994, 2011.

EKINO, S.; SUSAN, M.; NINOMIYA, T. IMAMURA, K.; KITAMURA, T. Minamata disease revisited: An update on the acute and chronic manifestations of methylmercury poisoning. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, p. 131-144, 2007.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agência de informação Embrapa: Feijão**. 2007. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_2_28102004161635.html>. Acesso em 01 jul. 2012.

FARIAS, L. A. **Avaliação do conteúdo de mercúrio, metilmercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da região amazônica**. São Paulo: 2006.

FNDE. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Ministério de Educação. 2009A. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/index.php/ae-apresentacao>>. Acesso em: 01 jul. 2012.

FNDE. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Ministério de Educação. 2009B. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/index.php/ae-funcionamento>>. Acesso em: 01 jul. 2012.

GONZALÉZ-MUÑOZ, M.J.; PEÑA, A.; MESEGUER, I. Monitoring heavy metal contents in food and hair in a sample of young Spanish subjects. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 3048–3052, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 20 jun. 2012.

LAPARRA, J. M.; VEALEZ, D.; BARBERA, R.; FARREA, R.; MONTORO, R. Bioavailability of Inorganic Arsenic in Cooked Rice: Practical Aspects for Human Health Risk Assessments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 8829-8833, 2005.

LIU, P.; WANG, C.; SONG, X.; WU, Y. Dietary intake of lead and cadmium by children and adults – Result calculated from dietary recall and available lead/cadmium level in food in comparison to result from food duplicate diet method. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.213, p. 450–457, 2010.

LUO, C.; LIU, C.; WANG, Y.; LIU, X.; LI, F.; ZANG, G.; LI, X. Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China. **Journal of Hazardous Materials**, v.186, p. 481–490, 2011.

MacINTOSH, D. L.; SPENGLER, J. D.; OZKAYNAK, H.; TSAI, L.; RYAN, B. Dietary exposures to selected metals and pesticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, p. 202-209, 1996.

MAIHARA, V. A.; VASCONCELLOS, M. B. A.; CORDEIRO, M. B.; COZZOLINO, M. F. Estimate of toxic element intake in diets of pre-school children and elderly collected by duplicate portion sampling. **Food Additives and Contaminants**, v.15, p. 782-788, 1998.

MECHE, A.; MARTINS, M. C.; LOFRANO, B. E. S. N.; HARDAWAY, C. J. ; MERCHANT, M.; VERDADE, L. Determination of heavy metals by inductively

coupled plasma-optical emission spectrometry in fish from the Piracicaba River in Southern Brazil. **Microchemical Journal**, v.94, p. 171–174, 2010.

MUÑOZ, O.; BASTIAS, J. M.; ARAYA, M.; MORALES, A.; ORELLANA, C.; REBOLLEDO, VELEZ, D. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet Study. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p. 1647–1655, 2005.

NARDI, E. P.; EVANGELISTA, F. S.; TORMEN, L.; SAINTPIERRE, T. D., CURTIUS, A. J.; SOUZA, S. S.; BARBOSA, F. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v.112, p. 727–732, 2009.

NASRREDINE, L.; PARENT-MASSIN, D. Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? **Toxicology Letters**, v. 127, p. 29–41, 2002.

NASRREDINE, L.; NASAHLIAN, O.; NAJA, F.; ITANI, L.; PARENT-MASSIN, D.; NABHANI-ZEIDAN, M.; HWALLA, N. Dietary exposure to essential and toxic trace elements from a Total diet study in an adult Lebanese urban population. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, p. 1262–1269, 2010.

PANDELOVA, M; LOPEZ, W. L.; MICHALKE, B.; SCHRAMM, K. W. Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, and Zn contents in baby foods from the EU market: Comparison of assessed infant intakes with the present safety limits for minerals and trace elements. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2012. doi:10.1016/j.jfca.2012.04.011

PATRIARCA, M.; MENDITTO, A.; ROSSI, B.; LYON, T.D.B.; FELL, G.S. Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children. **Microchemical Journal**, v.67, p. 351-361, 2000.

PERALTA-VIDEA, J. R.; LOPEZ, M. L.; NARAYAN, M.; SAUPE, G.; GARDEA-TORRESDEY, J. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.41, p. 1665–1677, 2009.

RADWAN, M. A.; SALAMA, A. K. Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p. 1273–1278, 2006.

RAGHUNATH, R.; TRIPATHI, R. M.; SUSEELA, B.; BHALKE, S.; SHUKLA, V. K; PURANIK, V. D. Dietary intake of metals by Mumbai adult population. **Science of the Total Environment**, v. 356, p. 62– 68, 2006.

SANTOS, E.E.; LAURIA, D.C.; PORTO DA SILVEIRA, C.L. Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city. **Science of the Total Environment**, v. 327, p. 69–79, 2004.

SHARMA, R. P.; KJELLSTRÖM, T.; McKENZIE, J. M. Cadmium in blood and urine among smokers and non-smokers with high cadmium intake via food. **Toxicology**, v. 29, p. 163-171, 1983.

SHUTE, T.; MACFIE, S. M. Cadmium and zinc accumulation in soybean: A threat to food safety? **Science of the Total Environment**, v. 371, p. 63–73, 2006.

SOARES, M. E.; VIERIA, E.; BASTOS, M. L. Chromium Speciation Analysis in Bread Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1366- 1370, 2010.

SUN, J.; WANG, C.; SONG, X.; WU, Y.; YUAN, B.; LIU, P. Dietary intake of mercury by children and adults in Jinhu area of China. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, p. 246– 250, 2011.

TAVARES, T. M.; CARVALHO, F, M. Avaliação da Exposição de Populações Humanas A Metais Pesados No Ambiente: Exemplos do Recôncavo Baiano. **Química Nova**, v. 15, p. 147-154, 1992.

TEIXEIRA, A. O.; LOPES, D. C.; RIBEIRO, M. C. T.; LOPES, J. B.; FERREIRA, V. P. A.; VITTI, D. M. S. S.; MOREIRA, J. A; PENA, S. M. Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em tecidos de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 502-509, 2005.

TURRINI, A.; LOMBARDI-BOCCIA, G. The formulation of the market basket of the Italian total diet 1994–96. **Nutrition Research** 22: 1151–1162, 2002.

VANNOORT, R. W.; HANNAH, M. L.; PICKSTON, L. **1990, 1991 New Zeland Total Diet Study**. Part 2: Contaminants Elements. Institute of Environmental Science & Research, 1995.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 779-785, 2007.

VOUTSA, D.; SAMARA, C. Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. **The Science of the Total Environment**, v. 218, p. 203 – 216, 1998.

WALTER, M. MARCHEZAN, E. AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, p. 1184-1192, 2008.

WANG, C. N.; SONG, X. Y.; GAO, Q.; WANG, F.; LIU, P.; WU, Y. N. Dietary exposure to lead by children and adults in the Jinhu area of China. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, p. 821-828, 2009.

WITTSIEPE, J.; SCHREY, P.; WILHELM, M.; BEGEROW, J.; DUNEMANN, L. Dietary intake of platinum and gold by children from Germany using duplicate portion sampling. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.17, p. 117-122, 2003.

YSART, G.; MILLER, P.; CROASDALE, M.; CREWS, H.; ROBB, P.; BAXTER, M.; L'ARGY, C.; HARRISON, N. 1997 UK Total Diet Study – dietary exposure to aluminium, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. **Food Additives and Contaminants**, v.17, p. 775-786, 2000.

ZANCUL, M. S. **Consumo alimentar de alunos nas escolas de ensino fundamental em Ribeirão Preto (SP)**. Ribeirão Preto: 2004.

ZHUANG, P.; McBRIDE, M. B.; XIA, H.; LI, N.; LI, Z. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. **Science of the Total Environment**, v. 7, p. 1551 – 1561, 2009.

ZUKOWSKA, J.; BIZIUK, M. Methodological Evaluation of Method for Dietary Heavy Metal Intake. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 21 – 29, 2008.

ANEXOS

Prefeitura Municipal de Ribeirão Preto
Estado de São Paulo

Divisão de Alimentação Escolar
CEMEI JOÃO GILBERTO SAMPAIO

CARDÁPIO V

JUNHO/2012

Dia	Desjejum (6:45hs)	Colação (9:30)	Almoço (a partir de 11 hs)	Lanche Especial (15:30 e a partir das 17 hs)
	1ª semana		1ª semana	1ª semana
01	Pão hot dog c/marg beb. choc	Banana nanica	A/F moqueca capixaba (peixe tilápia), pirão (farinha de mandioca +caldo de peixe), salada de pepino	Pão c/patê de atum, suco limonada, banana nanica
	2ª semana	2ª semana	2ª semana	2ª semana
04	Bolacha doce beb. choc	Maçã	A/F salsicha de peru s/corante ao molho, salada de seleta de legumes	Pão c/salsicha de peru s/corante, suco de maracujá, maçã gala
05	Pão hot dog c/marg beb. choc	Melancia	A/F carne em tiras, berinjela ao forno, salada de chuchu	Pão hot dog c/ carne em tiras, suco de laranja Bag, mel
06	REUNIÃO	REUNIÃO	REUNIÃO	REUNIÃO
07	FERIADO	FERIADO	FERIADO	FERIADO
08	FACULTATIVO	FACULT.	FACULTATIVO	FACULTATIVO
	3ª semana		3ª semana	3ª semana
11	Bolacha salg. Integ beb. choc	Mel	A/F ovos cozidos, salada de seleta de legumes	Pão c/ovos mexidos, suco de manga (soja), mel
12	Mistura bolo beb. capuccino	Maçã	A/F pernil acebolado, cenoura refogada, salada de tomate	Pão c/pernil, suco de maracujá, maçã gala
13	Pão hot dog c/marg beb. choc	Suco de laranja Bag	A/F carne picada, salada de brócolis	Pão c/carne em tiras, limonada, banana nanica
14	Pão hot dog c/marg beb. choc	Banana nanica	A/F frango (sassami) dourado, almeirão refogado	Pão c/ frango, suco de laranja Bag, mel
15	Pão hot dog c/marg beb. choc	Tangerina poncan	A/F carne em tiras ao molho, batata doce cozida	Pão hot dog c/ carne em tiras, suco de goiaba (soja), tangerina poncan
	4ª semana		4ª semana	4ª semana
18	FACULTATIVO	FERIADO	FACULTATIVO	FACULTATIVO
19	FERIADO	FACULT.	FERIADO	FERIADO
20	Bolacha doce integ beb. choc	Curau	A/F almôndegas ao molho, salada de seleta de legumes	Pão c/almôndegas, limonada, curau
21	Pão hot dog c/marg beb. choc	Maçã	A/F frango (sobrecoxa) ao molho c/milho, salada de tomate	Pão c/pernil em tiras, suco de maracujá, maçã
22	Pão hot dog c/marg beb. capuccino	Banana prata	A/F carne picada c/batata (metade) e cenoura (metade)	Pão c/ carne em tiras, suco de manga (soja), banana prata
	5ª semana		5ª semana	5ª semana
25	Bolacha coco beb. choc	Melancia	A/F ovos mexidos c/cenoura	Pão c/ ovos, limonada, melancia
26	Pão hot dog c/marg beb. choc	Pera willians	A/F frango (peito s/peles/osso) ao molho de ervilhas, salada de berinjela	Pão c/frango, suco de laranja Bag, pera
27	Pão hot dog c/marg beb. choc	Suco de laranja Bag	A/F peixe (tilápia), brócoles alho e óleo, salada de tomate	Pão c/carne em tiras, suco de maracujá, mel
28	Pão hot dog c/marg beb. choc	Mamão	A/F carne picada c/mandioca	Pão c/carne em tiras, limonada, mamão
29	Pão hot dog c/marg beb. choc	Maçã	A/F pernil em cubos, quibebe de abóbora	Pão hot dog c/ pernil, suco de goiaba (soja), maçã

Para as crianças diabéticas, os cardápios deverão ser alterados: bebida láctea para leite integral; pão doce/bolos para bolacha salgada; doces por frutas

ANEXO A– Cardápio sugerido pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto do mês de junho de 2012 de uma Escola de Ensino Fundamental (CEMEI). Fonte: <http://www.ribeiraopreto.sp.gov.br/seducacao/aescolar/v-jgilberto.pdf>

Prefeitura Municipal de Ribeirão Preto
Estado de São Paulo

Divisão de Alimentação Escolar
CEI A PARTIR DE 13 MESES

CARDÁPIO XII

JUNHO/2012

Dia	Desjejum 7:30/8:30	Suco 9:30/10:30	Almoço 11:30 hs/12:30	Sobremesa	Lanche da tarde 14:30/15:30
	1ª semana		1ª semana		1ª semana
01	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F moqueca capixaba (peixe tilápia), pirão (farinha de mandioca + caldo de peixe), salada de pepino	Banana nanica	Cereal (esferas), leite c/chocolate, banana nanica
	2ª semana		2ª semana	2ª semana	2ª semana
04	Bolacha doce Leite Choc	Limão	A/F Macarrão ao molho de salsicha de peru s/corante, salada de couve-flor	Banana Maça	Mistura bolo, Leite c/ banana maçã
05	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F carne em tiras, berinjela ao forno, salada de chuchu	Melancia	Pão hot dog c/margarina, Leite c/ Choc, melancia
06	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F frango (peito s/peles/osso) c/milho, salada de batata	Maça	Pão c/ requeijão, Leite c/ maçã
07	FERIADO	FERIADO	FERIADO	FERIADO	FERIADO
08	FACULTATIVO	FACULT.	FACULTATIVO	FACULT.	FACULTATIVO
	3ª semana		3ª semana		3ª semana
11	Bolacha salg integr. Leite Choc	Limão	A/F ovos cozidos, purê de mandioquinha, salada de abobrinha brasileira	Melancia	Pão c/gelêia, Leite c/ Choc, maçã
12	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Maracujá	A/F pernil acebolado, cenoura refogada, salada de pepino	Maça	Cereal (flocos) Leite c/ Choc, melancia
13	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F carne picada c/brócolis, salada de tomate	Mamão	Mistura bolo, Leite c/ mamão
14	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Limão	A/F frango (sossami) dourado, almeirão refogado, salada de couve-flor	Banana nanica	Bolo de cenoura, Leite c/ banana nanica
15	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F carne em tiras ao molho, batata doce cozida, salada de tomate	Tangerina poncan	Pão hot dog c/ requeijão, Leite c/ Choc, tangerina poncan
	4ª semana		4ª semana		4ª semana
18	FACULTATIVO	FERIADO	FACULTATIVO	FERIADO	FERIADO
19	FERIADO	FACULT.	FERIADO	FACULT.	FACULTATIVO
20	Bolacha doce integ Leite Choc	Limão	A/F Polenta almôndegas ao molho, chuchu refogado	Maça	Bolacha salgada, limonada, Curau
21	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F frango (sobrecoca) ao molho c/milho, salada de tomate	Pêra willians	Bolo de fubá, Leite c/ Choc, pêra
22	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	Sopa de feijão c/ macarrão e legumes (metade da carne picada, metade da batata, metade da cenoura)	Banana prata	Pão de queijo, leite c/maça e banana
	5ª semana		5ª semana		5ª semana
25	Bolacha coco Leite Choc	Limão	A/F ovos mexidos c/cenoura, salada de chuchu	Melancia	Pão c/margarina, Leite c/ Choc, melancia
26	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Maracujá	A/F frango (peito s/peles/osso) ao molho de ervilhas, salada de berinjela	Pera willians	Bolo fofo, Leite c/ choc., pêra
27	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F peixe (tilápia), brócoles alho e óleo, salada de tomate	Banana maçã	Cereal (esferas), leite c/ Choc, banana maçã
28	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Limão	A/F carne picada c/mandioca, salada de couve	Mamão	Mistura bolo, leite c/mamão
29	Pão hot dog c/marg. Leite Choc	Laranja B	A/F pernil em cubos, creme de espinafre, salada de abóbora	Maça	Pão hot dog c/requeijão, leite c/Choc, maçã

Para as crianças diabéticas, os cardápios deverão ser alterados: pão doce/bolos para bolacha salgada; doces por frutas

ANEXO B– Cardápio sugerido pela Secretaria Municipal de Educação de Ribeirão Preto do mês de junho de 2012 de uma Escola de Ensino Pré-escolar (CEI). Fonte: <http://www.ribeiraopreto.sp.gov.br/seducacao/aescolar/xii-cei-13.pdf>