

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

**ANÁLISES DE FONTES DE FÓSFORO
NA NUTRIÇÃO ANIMAL: TÉCNICAS NUCLEARES
E CORRELATAS EM ESTUDOS COM COELHOS**

ARTUR CANELLA AVELAR

MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE
2008

ARTUR CANELLA AVELAR

**ANÁLISES DE FONTES DE FÓSFORO NA NUTRIÇÃO ANIMAL:
TÉCNICAS NUCLEARES E CORRELATAS EM ESTUDOS COM COELHOS**

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG,
como requisito parcial para obtenção do grau
de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof. Dr. Walter Motta Ferreira

Belo Horizonte

2008

A948a

Avelar, Artur Canella, 1970-

Análises de fontes de fósforo na nutrição animal: técnicas nucleares e correlatas em estudo com coelhos/Artur Canella Avelar. – 2008. 68p.:il.

Orientador: Walter Motta Ferreira

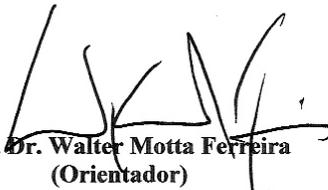
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária

Inclui bibliografia.

1. Coelho – Alimentação e rações - Teses. 2. Coelho – Crescimento – Teses. 3. Fósforo na nutrição animal – Teses. 4. Fosfato – Teses. 5. Nutrição animal – Teses. I. Ferreira, Walter Motta. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.932 208 5

Tese defendida e aprovada em 14 de Março de 2008, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Dr. Walter Motta Ferreira
(Orientador)



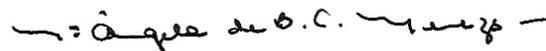
Prof. Dr. Edmundo Benedetti



Profa. Dra. Gersa Silva Salles Corrêa



Prof. Dr. José Newton Coelho Menezes



Profa. Dra. Maria Ângela de Barros Correia Menezes

Dedicatória

Para minha família, em especial para minha mãe e Ricardinho.

“Os resíduos são essencialmente subprodutos do estilo de vida de uma sociedade.”

- Casimiro Pio

Agradecimentos

A Deus, por me acompanhar sempre.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

À AIEA e CAPES, por auxílios a projetos relacionados.

Ao CDTN/CNEN, que nos apoiou nas análises e logística.

Ao ICTP, pelos treinamentos.

Ao Professor Dr. Walter Motta Ferreira, por acreditar neste projeto desde o primeiro dia, e por sua inestimável amizade.

Aos meus co-orientadores: Dr. Décio Souza Graça e Dr. Júlio César Cambraia Veado, grandes incentivadores e amigos.

À Dra. Maria Ângela Menezes, pela ajuda nos mais diversos momentos.

Ao Geólogo Walter de Brito, pelas sugestões.

Ao Pesquisador da EMBRAPA, Dr. Alfredo Ribeiro de Freitas, e à Dra. Gerusa da Silva Salles Correia, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos Professores e Funcionários da Escola de Veterinária da UFMG, pela ajuda nas mais diversas formas, em especial à secretaria Nilda e ao Toninho (Laboratório de Nutrição Animal), pela constante solidariedade.

Aos Funcionários do CDTN/CNEN, em especial à Marília Borges do Nascimento, Marcio Tadeu Pereira, Zildete Rocha, Nívia de Almeida Lima, Luiz Carlos da Silva, Ângela Amaral, Marilene Pedron, Lenira, Virginia, Roseli, Machado, Zezinho, Dovenir, Wagner, Amir, Luis Otávio, José Augusto (portaria do reator), Zacharias, Niltinho, Raquel Mingote, Eliane, Lucia Auler, Geraldinho, Tiãozinho, Oliene, Antero, Alexandre, e tantos outros que me apoiaram e me ajudaram nesta busca.

Aos amigos Valmir Carlos Balbinot, Dan Oswald e Ron Coury.

Ao colega Leonardo Alves da Costa, pela ajuda e sugestões.

A todos colegas da Pós-graduação da Escola de Veterinária da UFMG e do CDTN/CNEN, pela agradável convivência e apoio.

Aos membros da banca examinadora, pelo apoio, sugestões e críticas.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto, o meu muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
ACRÔNIMOS E ABREVIACÕES.....	14
JUSTIFICATIVA.....	16
OBJETIVOS.....	17
CAPÍTULO 1.....	18
1.1. Contextualização.....	18
1.2. Revisão de Literatura.....	21
1.2.1. Elementos Químicos na Nutrição Animal.....	21
1.2.2. Características da carne de coelho.....	25
1.2.3. Técnicas analíticas empregadas no experimento.....	26
1.2.3.1. Análise por Ativação Neutrônica.....	26
1.2.3.2. Potenciometria.....	33
1.2.3.3. Espectrometria de Absorção Atômica.....	33
1.2.3.4. Difractometria de raios-X.....	34
1.2.3.5. Gravimetria.....	34
1.2.3.6. Espectrometria gama.....	34
CAPÍTULO 2.....	35
COMPOSIÇÃO MINERAL DOS FOSFATOS, CALCÁRIO E FARINHA DE OSSOS USADOS NA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA.....	35
2.1. Introdução.....	35
2.2. Objetivo.....	35
2.3. Materiais e Métodos.....	35
2.4. Resultados e Discussão.....	36
2.5. Conclusões.....	38
CAPÍTULO 3.....	39
ELEMENTOS TÓXICOS PRESENTES NOS FOSFATOS, CALCÁRIO E FARINHA DE OSSOS USADOS NA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA.....	39
3.1. Introdução.....	39
3.2. Objetivo.....	39
3.3. Materiais e Métodos.....	39
3.4. Resultados e Discussão.....	39
3.5. Conclusões.....	44
CAPÍTULO 4.....	45
RADIOATIVIDADE NATURAL: RISCO OCUPACIONAL NA INDÚSTRIA DO FOSFATO E NA AGRICULTURA.....	45
4.1. Introdução.....	45
4.2. Objetivo.....	47
4.3. Materiais e Métodos.....	47
4.4. Resultados e Discussão.....	48
4.5. Conclusões.....	50
CAPÍTULO 5.....	51
COMPOSIÇÃO MINERAL DAS DIETAS E DOS TECIDOS MUSCULARES DOS COELHOS DO EXPERIMENTO.....	51
5.1. Introdução.....	51
5.2. Exigências minerais para coelhos em desenvolvimento.....	51
5.3. Objetivos.....	52

5.4. Formulação das rações usadas no experimento.....	52
5.5. Materiais e Métodos.....	52
5.6. Discussão dos resultados.....	55
5.7. Conclusões.....	55
CAPÍTULO 6.....	56
IMPACTO DO FLÚOR SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO DE COELHOS NOVA ZELÂNDIA RECEBENDO CALCÁRIO, SETE FOSFATOS E FARINHA DE OSSOS COMO FONTES DE FÓSFORO E CÁLCIO.....	56
6.1. Introdução.....	56
6.2. Objetivo.....	56
6.3. Materiais e Métodos.....	56
6.4. Resultados e Discussão.....	58
6.5. Conclusões.....	60
CONCLUSÕES GERAIS.....	61
TRABALHOS FUTUROS SUGERIDOS PELOS RESULTADOS DESTE PROJETO.....	62
REFERÊNCIAS.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais produtores de fosfato no Brasil, produção 2005	18
Tabela 2. Elementos essenciais na nutrição humana e animal	22
Tabela 3. Características nutricionais das carnes de coelho e bovina	25
Tabela 4. Composição mineral do músculo <i>longissimus dorsi</i> de coelho e <i>Filet Mignon</i> bovino	25
Tabela 5. Características nucleares dos elementos determinados neste projeto	29
Tabela 6. Características minerais dos produtos usados no experimento	36
Tabela 7. Concentrações de P, Ca, e SiO ₂ e solubilidade dos produtos em ácido cítrico a 2% e a 10% dos produtos analisados (dados em %), n=3, matéria natural	36
Tabela 8. Concentrações de Na, Zn, Fe, Co nos produtos analisados (em µg.g ⁻¹) e S	37
Tabela 9. Características minerais dos produtos usados no experimento	40
Tabela 10. Concentrações de P, Ca, F, Al, SiO ₂ nos produtos analisados (dados em %), n=3	40
Tabela 11. Concentrações de U, Th, Ce, Cs e As nos produtos analisados (dados em µg.g ⁻¹)	41
Tabela 12. Concentrações de Ba, V, Sr, Co e Zn nos produtos analisados (dados em µg.g ⁻¹)	41
Tabela 13. Atividades do ²²⁶ Ra, ²²⁸ Ra, ⁴⁰ K e atividade relativa do Ra nos fosfatos	48
Tabela 14. Valores recomendados para os macro e microelementos na nutrição de coelhos em crescimento (dados em %, exceto Zn, Mg e Mn, dados em (µg.g ⁻¹))	51
Tabela 15. Formulação da dieta de referência	52
Tabela 16. Composição Química da dieta	52
Tabela 17. Análise multielementar das rações experimentais (µg.g ⁻¹), 3 repetições	53
Tabela 18. Composição elementar do músculo <i>longissimus dorsi</i> , média de cada tratamento (µg.g ⁻¹), n=12	54

Tabela 19. Composição Mineral das dietas formuladas com os fosfatos de interesse 58
(dados em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, exceção das razões Ca:P e P:F dadas em $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Tabela 20. Variáveis Zootécnicas de interesse – Concentração de F na dieta, ganho de peso total, peso vivo total, consumo total, conversão e peso do fígado de coelhos do experimento (gramas), concentração de F na dieta: e conversão: ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Roda dos elementos: antagonismos entre elementos químicos na nutrição animal	24
Figura 2	Espectro de nêutrons típico apresentando as regiões de energia	26
Figura 3	Foto do reator nuclear TRIGA IPR-R1	27
Figura 4	Princípio da Análise por Ativação Neutrônica	30
Figura 5	Ra_{eq} ($Bq.kg^{-1}$) dos produtos estudados e o Ra_{eq} limite da construção civil	48
Figura 6	Atividade do ^{226}Ra ($Bq.kg^{-1}$) nos produtos estudados e limites da EPA e IAEA	49
Figura 7	Curvas de crescimento dos grupos do experimento, coelhos dos 30 aos 72 dias	59

RESUMO

O primeiro objetivo deste estudo foi o de avaliar as características inorgânicas e radioativas de oito diferentes fontes de fósforo usadas na agricultura: farinha de ossos calcinada (FAR), fosfato bicálcico (BIC), fosfato super triplo (FST), fosfato super simples (FSS), fosfato mono-amônico (FMA), fosfosulfato de amônio (FSA), polifosfato de cálcio e amônio (POLI) e um sal mineral bovino (SMB). Alguns elementos tóxicos (As, Ba, F, Th and U) foram identificados em diversos produtos, em níveis significativos. Determinou-se a radiação natural devida aos radionuclídeos ^{226}Ra , ^{228}Ra and ^{40}K presentes nos produtos. Os resultados foram analisados na luz dos padrões adotados no Brasil e em outros países. Alguns produtos apresentam alta radioatividade, especialmente o fosfato super simples. Para o segundo objetivo, foi realizado um experimento com coelhos Nova Zelândia Branco para avaliar as respostas zootécnicas do uso destes produtos na alimentação de coelhos em crescimento. Foram utilizados 96 coelhos da raça Nova Zelândia Branco, equilibradamente divididos por peso e sexo, em um delineamento de blocos ao acaso, 12 repetições por grupo - fonte de fósforo. Os tratamentos consistiram em 98% de uma dieta referência e mais 2% de cada uma das fontes de P. Os animais foram alimentados dos 30 aos 72 dias de vida com as dietas formuladas. Os coelhos alimentados com as dietas contendo com fosfatos de maior concentração de flúor (400 ppm na dieta) apresentaram pior desempenho em comparação àqueles que receberam dietas suplementadas com as demais fontes, de menor concentração de flúor. Além disto, os animais destes grupos apresentaram menor peso de fígado e maior concentração de flúor no músculo *longissimus dorsi*. Os animais que receberam dietas formuladas com fosfatos de alto teor de flúor (fosfosulfato de amônio e sal mineral bovino) apresentaram os piores resultados de ganho de peso - BIC: 1449,5g; FAR: 1446,6g; FST: 1409,6g; POLI: 1370,0g; FMA: 1366,7g; FSS: 1320,5g; SMB: 1016,9g; FSA: 1009,1g - de consumo e conversão, e apresentaram os fígados de menor peso entre todos os animais do experimento - FSS: 75,2g; BIC: 70,1g; POLI: 69,9 g; FAR: 69,9g; FMA: 64,1g; FST: 60,3g; FSA: 47,0g; SMB: 46,9g - confirmando a grande toxicidade que o flúor representa para este órgão. O perfil mineral dos tecidos *longissimus dorsi* apresentou diferença significativa entre tratamentos.

Palavras-chave: ativação neutrônica, calcário, coelho, contaminantes, desempenho, difração de raio-X, farinha de ossos, fígado, flúor, fosfato, potenciometria, radioatividade natural, sal mineral bovino.

ABSTRACT

The first goal of this study was to assess inorganic and radiological aspects of eight different phosphorus sources: calcinated bone meal (FAR), dicalcium phosphate (BIC), super triple phosphate (FST), super simple phosphate (FSS), monoammonium phosphate (FMA), sulphur amonium phoshphate (FSA), ammoniated calcium polyphosphate (POLI) and a bovine mineral supplement (SMB). Some toxic elements (As, Ba, F, Th and U) were identified in many products in significant levels. Natural radiation from the following radionuclides ^{226}Ra , ^{228}Ra and ^{40}K present in the products were assessed. The results are examined in the light of standards for exposure adopted in some countries including from Brazil. Some products present radioactivity in high levels, specially super simple phosphate. The second aim of this project was to evaluate the zootecnic responses of using these products in feeding growing rabbits. To accomplish this goal, it was undertaken an experiment using White New Zealand rabbits. Young rabbits (48 males and 48 females) were taken in randomized blocks with 12 repetitions. Treatments were consisted on 98% of a basic diet plus 2% of each P source. Rabbits were fed from 30 to 72 days. Rabbits fed on high F content diets (400 ppm) presented a worse performance than other treatments. Further, animals from these groups presented the lowest liver weights and the highest fluorine content in rabbit *longissimus dorsi* tissue. Animals receiving fluoride high level contents (sulfide phosphate of ammonium and bovine mineral supplement) presented worst results of weight gain - BIC: 1449.5g; FAR: 1446.6g; FST: 1409.6g; POLI: 1370.0g; FMA: 1366.7g; FSS: 1320.5g; SMB: 1016.9g; FSA: 1009.1g - food consumption and conversion, and also the lighter livers amongst all animals from the experiment - FSS: 75.2g; BIC: 70.1g; POLI: 69.9 g; FAR: 69.9g; FMA: 64.1g; FST: 60.3g; FSA: 47.0g; SMB: 46.9g what confirms the high toxicity that fluoride presents to this organ. Mineral profiles of *longissimus dorsi* tissue presented significant difference among treatments.

Keywords: acting, bone meal, contaminants, fluorine, limestone, liver, mineral supplement, natural radioactivity, neutron activation, potenciometry, phosphate, rabbit, x-ray diffraction

ACRÔNIMOS E ABREVIACÕES

- ³²P fósforo 32 (radioisótopo, emissor β), traçador radioativo de funções biológicas
- AAS *atomic absorption spectrometry* Espectometria de absorção atômica, EUA
- AIEA Agência Internacional de Energia Atômica, também *IAEA*, Áustria
- Ac Actínio
- Al Alumínio
- As Arsênio
- Bi Bismuto
- C Carbono
- Ca Cálcio
- CAPES Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior
- Cd Cádmio
- CDTN Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte (ver CNEN)
- Ce Césio
- CERCLA *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*, EUA
- Cl Cloro
- CNEN Comissão Nacional de Energia Nuclear
- CNPq Conselho Nacional de Pesquisa
- Cr Cromo
- Cs Césio
- Cu Cobre
- DNPM Diretoria de Desenvolvimento e Economia Mineral, Governo Federal, Brasil
- EPA *U.S. Environmental Protection Agency*, EUA
- Eu Európio
- F Flúor
- FAO *Food and Agriculture Organization*
- FAO/IAEA *Joint FAO/IAEA*
- Fe Ferro
- FIPR *Florida Institute of Phosphate Research* Instituto de pesquisa do fosfato da Florida, EUA
- H Hidrogênio
- IAEA *International Atomic Energy Agency (Austria)*
- ICP-MS *inductively coupled plasma mass spectrometry (analytical technique)*

IUPAC *International Union of Pure and Applied Chemistry*

K Potássio

keV kilo-eletron-volt, unidade de energia, Sistema Internacional

kW kilo-Watt, unidade de potência, Sistema Internacional

MAP *Mono-ammonium phosphate*, fosfato mono-amônico

mBar mili-Bar, unidade de pressão

MDPS milho desintegrado com palha e sabugo

Mg Magnésio

Mn Manganês

Mo Molibdênio

N Nitrogênio

Na Sódio

NIST National Institute of Standards and Technology

O Oxigênio

OMS Organização Mundial da Saúde, também WHO

P fósforo (elemento)

P₂O₅ pentóxido de fósforo ou fosfato

Ra Rádio (elemento)

Rn Radônio

S Enxofre

Se Selênio

Si Silício

SiO₂ Quartzo

SSP *Single superphosphate*, fosfato super-simples

Th Tório

TRIGA *Training Research Isotopes General Atomic Reactor* (reator nuclear)

TSP *Triple superphosphate*, fosfato supertriplo

U Urânio

USDA *United States Department of Agriculture* Departamento de Agricultura dos EUA

USGS *United States Geological Survey* Serviço de dados geológicos dos EUA

V Vanádio

WHO *World Health Organization* também OMS

XRD *X-ray diffraction (analytical technique)*, Difração de raios-x, também DR-X

JUSTIFICATIVA

Este projeto pertence ao grupo de pesquisa registrado junto ao CNPq “Avaliação Química e Biológica de alimentos e rações para não-ruminantes” do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

Os objetivos do grupo se revestem na contribuição de uma proposta de investigação sobre o uso racional dos recursos alimentícios dirigidos à nutrição e alimentação das espécies animais úteis ao homem e de importância para as nossas populações.

O uso racional dos recursos alimentícios disponíveis na produção animal se baseia não só na avaliação das características nutricionais dos produtos disponíveis para a nutrição animal, mas pela completa avaliação de riscos e incertezas relacionadas a estes produtos, bem como a qualquer novo produto que possa ser introduzido na cadeia alimentar.

A carência de fósforo nos solos e pastagens tropicais é bem conhecida. Desde o início do século XX, o elemento é introduzido nos solos e dietas animais via o uso de fosfatos industriais.

A preocupação com a escassez de P remonta do início do século XX (Huxley, 2000).

Produto de reservas finitas e bem concentradas (especialmente na costa Mediterrânea da África e Oriente Médio), o fosfato transformou-se numa *commodity* notável.

Nas últimas duas décadas, a produção de fosfato tem se concentrado nas mãos de poucos grupos produtores, tanto no Brasil quando no exterior.

O fosfato industrializado (especialmente o bicálcico) possui baixo teor

de flúor, porém seu preço é bastante elevado e contribui fortemente para a elevação do custo de rações e suplementos animais.

Desde os anos 80, pesquisadores vêm aventando a possibilidade do uso de fosfatos de rocha e outros fosfatos na alimentação animal com o objetivo de baratear o preço das rações. Vários estudos foram realizados, com conclusões variadas e até mesmo contraditórias.

Diante da incerteza dos resultados, o governo federal, a partir do Ministério da Agricultura, proibiu o uso da maioria dos fertilizantes fosfáticos na nutrição animal, notadamente os fosfatos de rocha, que possuem altas concentrações de flúor e de outros elementos considerados tóxicos como cádmio, arsênio, entre outros.

O poder público brasileiro incorporou o preceito do princípio da precaução, que é o de evitar a exposição da população a riscos desnecessários que poderiam advir do uso destes produtos fosfáticos na cadeia alimentar humana e animal.

Segundo a Direção Geral Saúde e Proteção dos Consumidores da Comunidade Européia, “O princípio de precaução pode ser invocado sempre que seja necessária uma intervenção urgente em face de um possível risco para a saúde humana, animal ou vegetal, ou quando necessário para a proteção do ambiente caso os dados científicos não permitam uma avaliação completa do risco”.

Assim, este projeto tem sua gênese na necessidade de reforçar a base de conhecimento científico sobre as características inorgânicas das fontes de fósforo disponíveis para a nutrição animal.

OBJETIVOS DO TRABALHO

Caracterizar as fases cristalinas e a composição mineral dos fosfatos: bicálcico, supertriplo, supersimples, mono-amônico, fosfosulfato de amônio, polifosfato de cálcio e amônio, sal mineral bovino doméstico, calcário calcítico e farinha de ossos empregados na formulação de rações animais.

Determinar os elementos tóxicos e possivelmente tóxicos presentes nos produtos minerais de interesse do experimento.

Estudar a radioatividade natural presente nos fosfatos e farinha de ossos. Estudar a composição mineral das dietas a serem empregadas no experimento.

Acompanhar o desenvolvimento dos animais, com interesse na determinação do efeito de cada uma das fontes de fósforo sobre as variáveis zootécnicas: peso final, consumo, conversão alimentar, peso final do fígado e composição inorgânica dos tecidos musculares.

Determinar a ocorrência da deposição de elementos tóxicos nos tecidos musculares dos coelhos do experimento.

CAPÍTULO 1

1.1 Contextualização:

A deficiência de fósforo é um severo constritor para a produção vegetal e animal, especialmente para bovinos em pastagens tropicais, onde solos e pastagens possuem baixos valores de fósforo ou fósforo de baixa biodisponibilidade (Tokarnia et al, 2000).

Os fosfatos minerais produzidos a partir de rochas fosfáticas são as fontes de fósforo mais usadas na nutrição solo-planta, sendo também as mais empregadas nas formulações industriais para a nutrição animal. Assim, esta *commodity* agrícola tem papel fundamental para assegurar a manutenção e expansão da produção agrícola brasileira e mundial (Bandeira et al, 2004).

As maiores reservas mundiais de fosfato estão localizadas na costa africana do Mediterrâneo, especialmente no Marrocos,

que possui reserva de 62 bilhões de toneladas de rocha fosfática - metade das reservas mundiais conhecidas (FAO, 2004).

No Brasil, os principais depósitos de rochas fosfáticas estão localizados nos estados da Bahia, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Santa Catarina, Rio Grande do Norte e São Paulo (USGS, 2002). A indústria brasileira de rocha fosfática (tabela 1) está concentrada nos estados de Minas Gerais (Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba), Goiás e São Paulo (DNPM, 2006).

Com a saída do setor estatal da exploração do fosfato, que se deu no início dos anos 1990, o mercado brasileiro do fosfato é atualmente explorado por quatro grandes grupos, que uniram diversas bandeiras em seus leques de produto.

Tabela 1: Principais Produtores de fosfatos no Brasil , produção 2005

Empresa	Estado ⁱ	Participação (%) ⁱⁱ
1 Fosfértil - Fertilizantes Fosfatados S/A	MG	31,49
2 Ultrafértil S/A	GO	29,94
3 Bunge Fertilizantes S/A	MG, SP	21,45
4 Copebrás Ltda	GO	14,52
5 Socal S/A.	SP	0,82
6 Itafós Mineração Ltda	TO	0,70
7 Companhia Baiana de Pesquisa Mineral	BA	0,69
8 Galvani Indústria Comércio	BA	0,40

Ordem decrescente do valor da produção comercializada (DNPM, 2006).

(i) Unidade da federação onde ocorreu a comercialização e/ou consumo da produção bruta e/ou beneficiada: MG, Minas Gerais, GO, Goiás; SP, São Paulo; TO, Tocantins; BA, Bahia.

(ii) Participação percentual da empresa no valor total da receita de comercialização da produção

O parque nacional de rocha fosfática produziu em 2006 cerca de 5,7 milhões de t (Mt) de concentrado de rocha, representando um aumento de 3,6% sobre a produção de 2005. A produção foi absorvida pelo mercado da seguinte forma: fertilizantes (68,01%), produtos químicos finos (10,39%), sabões, detergentes e produtos de limpeza (5,35%), ração animal (3,52%), corretivo de solos (1,30%), condicionador de solos (0,34%), e o restante em atividades não informadas (11,09%) (DNPM, 2006).

Porém a produção nacional não é suficiente para atender a atual demanda, o que torna o Brasil o maior importador mundial de produtos fosfáticos (de pronto uso) dos Estados Unidos (U.S. Census Bureau, 2006).

No ano de 2006 ocorreu a importação de um total de 1,2 milhões de toneladas de rocha fosfática dos seguintes países: Marrocos (51,03%), Israel (15,17%), Togo (13,96%), Argélia (13,95%), Tunísia (4,78%), Irlanda (0,91%), Chile (0,09%), Espanha (0,07%) (DNPM, 2006).

O valor da *commodity* tem aumentado significativamente nos últimos anos. O futuro não é animador, pois se formam grandes barreiras ambientais para a produção e uso do fosfato: populações de países desenvolvidos estão cada vez mais insatisfeitas com o passivo ambiental que a indústria do fosfato deixa em seu entorno. Para cada tonelada de ácido fosfórico produzido pela rota do ácido sulfúrico, são geradas até cinco toneladas de fosfogesso, até agora considerado rejeito de baixíssimo potencial de utilização na indústria (Bandeira et al, 2002).

Em outubro de 2007, o preço dos fosfatos alcançou o recorde dos últimos dez anos, devido à alta do preço dos produtos agrícolas como soja, milho e trigo, impulsionando a demanda por fertilizantes tanto na Europa como nos Estados Unidos (Blas, 2007).

O preço médio dos fertilizantes fosfatados aumentou 67% no período 2006-2007, chegando ao valor recorde de US\$ 470/tonelada em outubro de 2007 (Blas, 2007).

Na Europa, o aumento no consumo de fosfato deverá ser maior, visto que a Comunidade Européia eliminou a exigência de reserva de 10% dos solos aráveis na safra 2007. Nos Estados Unidos, o objetivo dos produtores é plantar 221 milhões de acres de trigo, milho e soja na safra 2008-2009, o que representa um aumento de 1,5% de área cultivada em relação ao ano anterior, a maior alta deste século, como afirma o USDA (Blas, 2007).

Com a elevação do preço das fontes tradicionais de fósforo, se discute cada vez mais o uso de produtos alternativos na formulação de dietas para animais; porém a eficiência e a segurança destes produtos não são completamente conhecidas (Morés et al, 1999).

Um aspecto a ser observado na busca de fontes de fósforo é o dos contaminantes que estão presentes como elementos não-essenciais e possivelmente tóxicos que compõem as fontes de fósforo.

Praticamente toda rocha fosfática possui elementos tóxicos em sua constituição, como arsênio, cádmio, flúor e urânio (FAO, 2004). Este último elemento chama a atenção, pois se trata de um metal tóxico e que apresenta ainda o perigo da radiação ionizante de seus radionuclídeos. Em algumas jazidas de fosfato, o urânio é considerado um co-produto de exploração comercial de fósforo (Lung et al, 2004).

A busca por uma fonte de P viável sob os aspectos nutricionais, toxicológicos e econômicos, tem colocado fosfatos não-tradicionais no foco de pesquisas. Produtos que até então eram utilizados apenas como fertilizantes agrícolas (Morés et al, 1999) são estudados como fonte de P na nutrição animal. É o caso do Superfosfato Triplo, produto da reação do fosfato de cálcio com o ácido sulfúrico concentrado, concentração de 41% de P_2O_5 (MAPA, 2004).

O Ministério da Agricultura (MAPA, 2004) faz uma série de restrições para que os fosfatos usados como fertilizantes sejam usados como fontes alternativas de P para a dieta animal. A Instrução Normativa No.001, de 02 de Maio de 2000, obriga que os produtos com Superfosfato Triplo ou Fosfato de Rocha em suas composições, apresentem nas embalagens as seguintes informações:

- I- “Este produto não é recomendado como fonte inorgânica exclusiva de fósforo para alimentação animal”;
- II- “Este produto não é recomendado como fonte inorgânica de fósforo para aves, suínos, bovinos de leite, e para formulações de suplementos proteinados”;
- III- “Este produto não pode exceder o limite máximo de trinta por cento do fósforo inorgânico das misturas minerais para bovinos”;
- IV- “Observar o limite máximo de 40 ppm de F na matéria seca da dieta dos bovinos em geral”.

Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, consideram que supertriplo ainda não foi registrado no departamento competente do MAPA para uso em alimentação animal. Entretanto, o produto apresenta características de composição e palatabilidade que o fazem superior ao fosfato bicálcico, além de mais barato. Seu grande inconveniente é o nível de flúor, que está em torno de 0,5% (Nicodemo e Moraes, 2000).

Entretanto, o regulamento do MAPA estabelece que o nível máximo de flúor na mistura mineral é de 0,2% e, desde que se obedeça a esse limite, não há por que o supertriplo não possa ser usado como fonte de fósforo para bovinos, sem qualquer risco para a saúde ou desempenho animal” (MAPA, 2000).

No Artigo 1º da Instrução Normativa 01 de 2000 do MAPA, é definido que teor máximo permitido de flúor no Superfosfato Triplo é de 0,7 % (sete partes

por mil), e para o Fosfato de Rocha é de 1,5 % (quinze partes por mil).

A preocupação com os teores de F nas fontes alternativas de P é justificada. Segundo Morés et al (1999), suínos recebendo fosfato de rocha apresentaram alterações nos dentes e ossos, sinais característicos de intoxicação por F. Além disto, o excesso de F na alimentação é fator de inibição da respiração de certos tecidos animais, acarretando perda de peso para o animal (ATSDR, 2003).

Os suplementos de pronto uso devem atender o limite máximo de dois mil miligramas de flúor por quilograma de produto – Instrução Normativa 12, de 30 de Novembro de 2004 (MAPA, 2004).

Outros países possuem legislação mais restritiva em relação ao flúor presente nos produtos para a nutrição animal. Na Dinamarca, por exemplo, o valor máximo permitido de F na dieta para suínos já era fixado em 100 ppm na década de 1990 (Wheelock, 1994).

A comunidade européia fixa valores de flúor nas matérias-primas para a alimentação animal em 150 ppm, com exceção de:

- ✓ alimentos de origem animal (com exceção de crustáceos marinhos como o krill marinho): 500 ppm.
 - ✓ fosfatos e crustáceos marinhos incluindo o krill marinho: 2000 ppm.
 - ✓ carbonato de cálcio: 350 ppm.
 - ✓ óxido de magnésio: 600 ppm.
 - ✓ algas marinhas calcárias: 1000 ppm
 - ✓ alimentos completos 150 ppm,
- com exceção de alimentos completos para ovinos e caprinos em lactação 30 ppm - e 50 ppm para demais fases (União Européia, 2003).

1.2. Revisão de Literatura

1.2.1.1. Introdução

Por muito tempo, a nutrição se focou quase que exclusivamente nas necessidades de proteína e energia, no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos.

Na última década, com o expressivo avanço espetacular das tecnologias analíticas, especialmente da Espectrometria de Massa de alta resolução e da Ativação Neutrônica (De Goeij, 2000), observa-se o avanço dos estudos dos elementos na nutrição animal e humana (Fávaro et al, 2000; Combes, 2004; Hermida et al., 2006). Destacam-se trabalhos sobre a composição dos alimentos, a essencialidade de alguns elementos, a toxicidade de outros, metabolismo dos macroelementos como Ca e P, deficiências de diversos elementos (Ahola et al, 2004; Hermida et al, 2006; Ahamed et al, 2007).

Impulsionando tais pesquisas, estão a necessidade de se produzir proteínas de alta qualidade para uma população crescente, e o aumento da consciência da sociedade para a ingestão de alimentos saudáveis e produzidos de maneira sustentável.

As modificações nas técnicas de produção, com o uso de alimentos geneticamente modificados, alteração do meio-ambiente por atividades antropogênicas se somam às necessidades de se conhecer a composição dos alimentos no intuito de se oferecer alimentos saudáveis à população (Dissanayake & Chandrajith, 2007).

1.2.1. Elementos na nutrição animal

1.2.1.2. Classificação dos elementos:

Uma classificação reconhecida (Iyengar *et al*, 1978) divide os elementos entre essenciais e não essenciais. Para caracterizar os elementos essenciais presentes no organismo animal é necessário que:

1. o organismo não se desenvolva, nem mesmo complete seu ciclo de vida, se o elemento não lhe é fornecido em quantidade suficiente.
2. o elemento não possa ser substituído por nenhum outro elemento.
3. o elemento tenha influência direta sobre o organismo, e aos metabolismos relacionados a este.

Podem ser considerados essenciais todos elementos contidos na tabela 2.

Os elementos considerados não essenciais são divididos em duas categorias: a primeira categoria, que engloba os elementos que ocorrem naturalmente em altas concentrações sobre superfície terrestre, como: Al, Ba, La, Nb, Ti, e Zr. Na segunda categoria dos elementos não essenciais estão aqueles cujos ciclos naturais foram e/ou são suscetíveis às atividades humanas, modificando suas concentrações, como exemplos: Ag, As, Au, Be, Cd, Hg, Pb, Sb e U (Iyengar et al, 1978).

Para a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996), os elementos traços são divididos em três grupos, segundo sua significância nutricional:

Grupo I- elementos essenciais: Zn, Se, Cu, Mo, Cr, Fe e Co.

Grupo II- elementos provavelmente essenciais: Mn, Si, Ni, B e V.

Grupo III- elementos potencialmente tóxicos, mas que podem apresentar funções essenciais, quando em baixos teores: F, Pb, Cd, Hg, As, Al, Li e Sn.

Tabela 2. Elementos essenciais na nutrição humana e animal

Elementos Essenciais	Funções conhecidas	Papel fisiológico principal
<i>Cálcio</i>	Diversas.	Composição de ossos e dentes, ativação PTH, calcitonina, vitamina D.
<i>Cloro</i>	Manutenção da pressão osmótica e equilíbrio ácido- básico. Ativação da amilase intestinal.	Transmissão de impulsos nervosos; transporte ativo dos aminoácidos e da glicose em nível celular; principal ânion do suco gástrico,
<i>Enxofre</i>	Síntese vitaminas do complexo B.	Metabolismo e síntese protéica; metabolismo das gorduras e dos carboidratos.
<i>Fósforo</i>	Diversas.	Produção e transporte de energia via fosforilações oxidativas. Transporte de oxigênio. Sistema imunológico.
<i>Magnésio</i>	Participa de mais de 300 reações metabólicas essenciais nas quais se liga ao substrato/enzimas.	Envolvido no metabolismo de praticamente toda energia corpórea. Balanço ácido-base. Estrutural – componente de ossos.
<i>Potássio</i>	Balanço osmótico e hídrico corporal.	Metabolismo protéico e de lipídeos. Ativação de aminoácidos. Transferência de energia via ATP/cAMP.
Traços essenciais:		
<i>Cromo</i>	Metabolismo da glicose	Participação no metabolismo protéico e dos carboidratos; integridade da atividade muscular e nervosa.
<i>Cobre</i>	Componente de enzimas e proteínas.	Potencializa a ação da insulina e a tolerância à glicose.
<i>Iodo</i>	Produção e regulação do uso de hormônios. Regulação do uso de energia.	Formação de tecido conjuntivo. Sistema nervoso central. Proteção contra os radicais livres.
<i>Manganês</i>	Ativador de enzimas; composição de algumas metalo-enzimas.	Desenvolvimento fetal normal. Sistema nervoso. Crescimento normal do indivíduo.

Zinco	Mais abundante dos traços. Envolvido em funções catalíticas, estruturais e regulatórias.	Metabolismo dos aminoácidos sulfurados; componente da glutationa-peroxidase, iodo-tironina-deiodinase. Proteção contra os radicais livres. Crescimento. Sistema imunológico. Maturidade sexual e reprodutiva.
-------	--	---

Adaptado de: NRC (1980), Underwood (1977)

1.2.1.3. Metabolismo de cálcio e fósforo:

O Instituto de Medicina (1997) relata que o íon cálcio é de fundamental importância para todos os sistemas biológicos e a sua concentração deve se situar entre limites estreitos de tolerância fisiológica entre os diversos compartimentos. O íon fosfato também é de importância crítica em todos os sistemas biológicos.

O fósforo é disponibilizado ao animal na forma inorgânica de mono, di ou trifosfato. Pela ação do suco gástrico, o P atinge o intestino delgado, onde é absorvido. A absorção é realizada por um sistema de contra-transporte ativo utilizando o sódio, ou por sistema passivo de difusão. A absorção é da ordem de 60 a 70%. A eficiência da absorção intestinal aumenta ainda durante períodos de maior intensidade na mineralização óssea, como crescimento e prenhez e na lactação (Underwood, 1977).

O fosfato só é absorvido quando em sua forma iônica, permanecendo nesta forma até um pH de 6,5. A presença de cálcio no intestino dificulta a absorção de fosfato (Institute of Medicine, 1997).

O cálcio proveniente da dieta está associado com outros compostos. Quando o Ca chega ao estômago, devido ao baixo pH local, a ligação do cálcio na molécula de transporte se rompe, liberando o Ca^{++} dissociado, ou seja, sua forma iônica que será absorvida no intestino (Institute of Medicine, 1997).

A manutenção da homeostasia do cálcio e do fosfato depende principalmente do trato intestinal, do esqueleto (reservatório de Ca e P) e dos rins (NRC, 2000).

Além disto uma contribuição essencial é dada pela pele (absorção de radiação ultra violeta do sol) e fígado.

Os principais hormônios controladores da calcemia são o paratormônio, a calcitonina e a vitamina D, embora outros como os corticóides da adrenal, estrógenos, tiroxina, somatotropina, glucagon, possam também contribuir na homeostase do cálcio.

A ação do paratormônio é mobilizar o cálcio das reservas do esqueleto e jogá-lo no fluído extracelular, aumentando a concentração do cálcio plasmático. Ele também aumenta a reabsorção do cálcio no rim e aumenta a excreção urinária de fósforo.

O estímulo para a liberação do paratormônio é a variação na calcemia. A calcitonina é produzida com o aumento da concentração do cálcio iônico no sangue. A ação da calcitonina é antagônica à do paratormônio com relação à reabsorção óssea.

O terceiro importante hormônio envolvido na regulação do metabolismo do cálcio e remodelação do esqueleto é o colecalciferol (vitamina D_3), que pode ser absorvido pelo intestino ou sintetizado na epiderme por meio de reação catalisada pela radiação ultravioleta do sol.

Antinutricionais como fitatos e oxalatos se ligam aos cátions diminuindo a sua absorção. As gramíneas de pastagens tropicais e subtropicais podem apresentar alto nível de oxalato diminuindo a absorção

de cálcio e até podendo causar o hiperparatireoidismo secundário nutricional (Institute of Medicine, 1997).

1.2.1.4. Sinergia e Antagonismo mineral

Os elementos químicos guardam relações de sinergia e antagonismo entre dois ou mais elementos (figura 1), que modificam a expectativa da concentração de um dado mineral no tecido em função da concentração deste na dieta. Ocorre ainda “efeito matriz” da somatória das concentrações dos demais elementos e suas interações com um dado elemento (WHO, 1996; NRC 1980; Ahola et al, 2004).

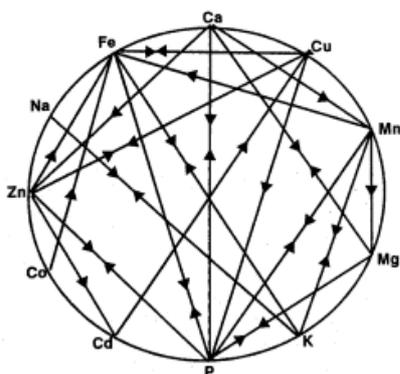


Figura 1. Roda dos Elementos: Antagonismos entre elementos químicos na nutrição animal. Fonte: Albion, 2008

Algumas interações entre minerais são bem conhecidas na nutrição humana e animal.

Destaca-se a relação Zn:Cu, altas concentrações de Zn diminuem a absorção de Cu em aves (NRC, 1980).

O antagonismo Zn:Cu é explorado terapeuticamente em humanos. A síndrome de Wilson (SW) é uma doença

cromossômica causando um defeito no metabolismo no cobre.

Quando o limite de acúmulo de cobre no fígado é excedido ou quando há dano hepatocelular, há a liberação de cobre na circulação. Este cobre circulante deposita-se em tecidos extra-hepáticos, sendo que o cérebro é um dos principais locais para a sua deposição, causando dano neural com manifestações neurológicas e psiquiátricas (Sturniolo et al, 1999). Pacientes da SW recebem quelantes e sais de zinco, para potencializar a eliminação de cobre do organismo (WHO, 1996).

Outras interações notáveis são:

- altas concentrações de Al diminuem a absorção de P, podendo causar uma deficiência aparente de P, mesmo em dietas ricas no elemento. Isto deve a formação de compostos de Al e P, insolúveis na luz intestinal (NRC, 1980).
- inibição da absorção de Cu ocasionado pelo excesso de Mo e S.
- excesso de F inibe a absorção de Ca, principalmente nos ossos, onde o F substitui o Ca nas moléculas da hidroxiapatita, causando desmineralização dos tecidos.
- o excesso de Mn (2000 ppm) na dieta impede a regeneração de hemoglobina em coelhos, sugerindo o antagonismo do Fe e do Mn, que pode ocasionar inclusive anemia (NRC, 2000).

1.2.2. Características da carne de coelho:

A cunicultura é uma ciência biológica e zootécnica que estuda a exploração racional do coelho para o aproveitamento de sua carne, tecidos e outros subprodutos derivados, bem como sua utilização para práticas de experimentação animal (Motta, 2007).

O coelho é um herbívoro com alta capacidade de conversão alimentar, especialmente por possuir a estratégia nutricional da ingestão dos cecotrofos - cecotrofia (Cheeke, 1997).

Em sistemas eficientes de produção, o coelho consegue converter 20% das proteínas que ingere em proteína de origem animal (parte comestível) para consumo humano, ao passo que alguns ruminantes conseguem converter até 12% (Lebas et al, 1997).

O consumo da carne de coelho está presente em diversas culturas, fazendo parte

também da dieta mediterrânea, considerada uma das dietas mais completas e saudáveis na atualidade (Serra-Majem et al, 2004). Na França, a produção de coelhos compreende 6,5% de toda produção animal, cifra mais significativa que a produção de ovos por lá (Motta, 2007).

Sua carne possui a mesma quantidade de proteína que a carne bovina (Combes, 2004). Contudo, a carne de coelho apresenta quantidades menores de gordura total e energia, quando também comparada à carne bovina (tabela 3), tornando-a especialmente atraente em dietas com restrição de calorias.

A carne de coelho possui um perfil mineral diferente do perfil do bovino (tabela 4): a carne de coelho possui mais potássio e menos sódio que a carne bovina (Combes, 2004; Hermida, 2006).

Tabela 3: Características nutricionais das carnes de coelho e bovina, porção comestível de 100g

<i>Valores e Unidades</i>	<i>Coelho, longissimus dorsi</i>	<i>Bovino, corte filet-mignon</i>
Umidade [%]	70,8 ± 0,8 (n=35)	69,0 ± 0,3 (n=20)
Proteína bruta [%]	21,8 ± 0,2 (n=32)	22,0 ± 0,2 (n=20)
Energia bruta [kcal]	114	166
Extrato Etéreo [%]	2,32 ± 0,40 (n=30)	7,93 ± 0,39 (n=20)

Fonte: USDA, 2007

Tabela 4: Composição mineral do músculo *longissimus dorsi* de coelho (n=95) e *Psoas major* bovino em mg.(100 g)⁻¹ de tecido fresco (porção comestível)

Elemento	Espanha coelho	França coelho	EUA coelho	EUA bovino
	Hermida,2006	Combes, 2004	USDA, 2006	USDA,2006
K	401,0 ± 19,5	431,0	378,0	349,0
Mg	27,0 ± 1,2	-	29,0	24,0
Na	60,0 ± 3,5	37,0	50,0	60,0
Zn	-	0,69	-	-

1.2.3. Técnicas Analíticas empregadas neste estudo

1.2.3.1. Ativação Neutrônica

Histórico

O cientista húngaro George Hevesy publicou em 1936 o artigo intitulado “A ação dos nêutrons nas terras raras”. Nesse trabalho, o cientista descreve um método de análise chamado de ativação neutrônica que determinava os teores das terras raras em amostras de solo. Hevesy recebeu o prêmio Nobel de Química em 1943 pelo desenvolvimento da análise por ativação neutrônica, porém o seu uso intensivo só foi possível com o surgimento dos grandes reatores de pesquisa, a partir de 1942, e com o desenvolvimento dos detectores de NaI (Iodeto de Sódio), na década de 1950, e os outros avanços na tecnologia de semicondutores, que possibilitaram uma melhor instrumentação e informatização dos métodos nucleares (Ehmann & Vance, 1991).

Na década de 80 produziram-se dados nucleares que possibilitaram ainda mais o aperfeiçoamento da técnica, com a adoção do método paramétrico do k_0 (De Corte, 1986).

Definições

A Análise por Ativação Neutrônica (AAN) é um método analítico nuclear multielementar. A maioria dos elementos com $Z > 8$ são potencialmente determinados com o seu uso (Parry, 2003).

Nêutrons são produzidos pela reação de fissão do material combustível ^{235}U (figura 2), em um reator nuclear de pesquisa (figura 3). Os nêutrons produzidos na fissão não apresentam uma única energia, sendo caracterizados por energias distintas que dependem das interações com o meio. À medida que os nêutrons vão perdendo velocidade (energia cinética), eles são “freados” ou termalizados. Os nêutrons podem alcançar energias da ordem de 15 MeV, mas a maioria se encontra em uma faixa de até 2,0 MeV, são chamados nêutrons de fissão. A energia dos nêutrons se distribui formando um espectro consistindo de três regiões: nêutrons térmicos, epitérmicos e rápidos (De Soete et al, 1972). O espectro característico desta reação é mostrado abaixo:

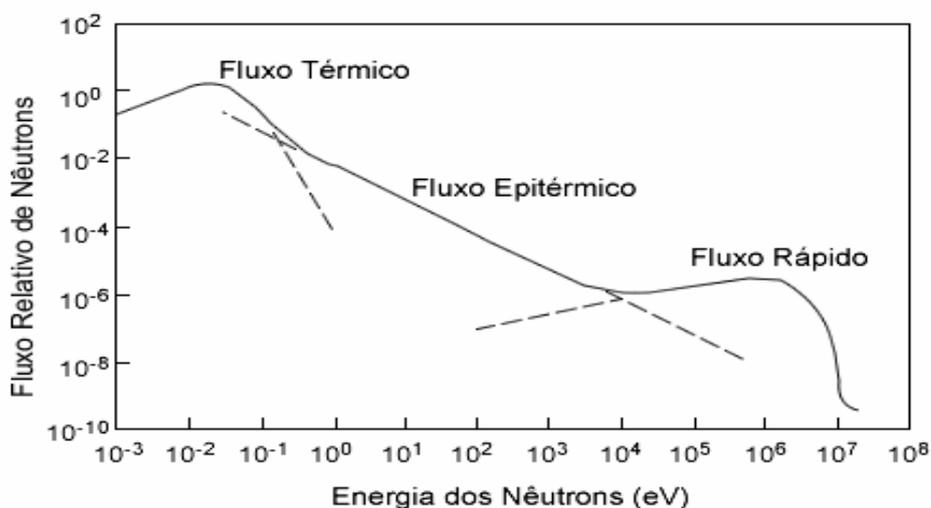


Figura 2 – Espectro de nêutrons típico apresentando as regiões de energia, De Soete et al, 1972

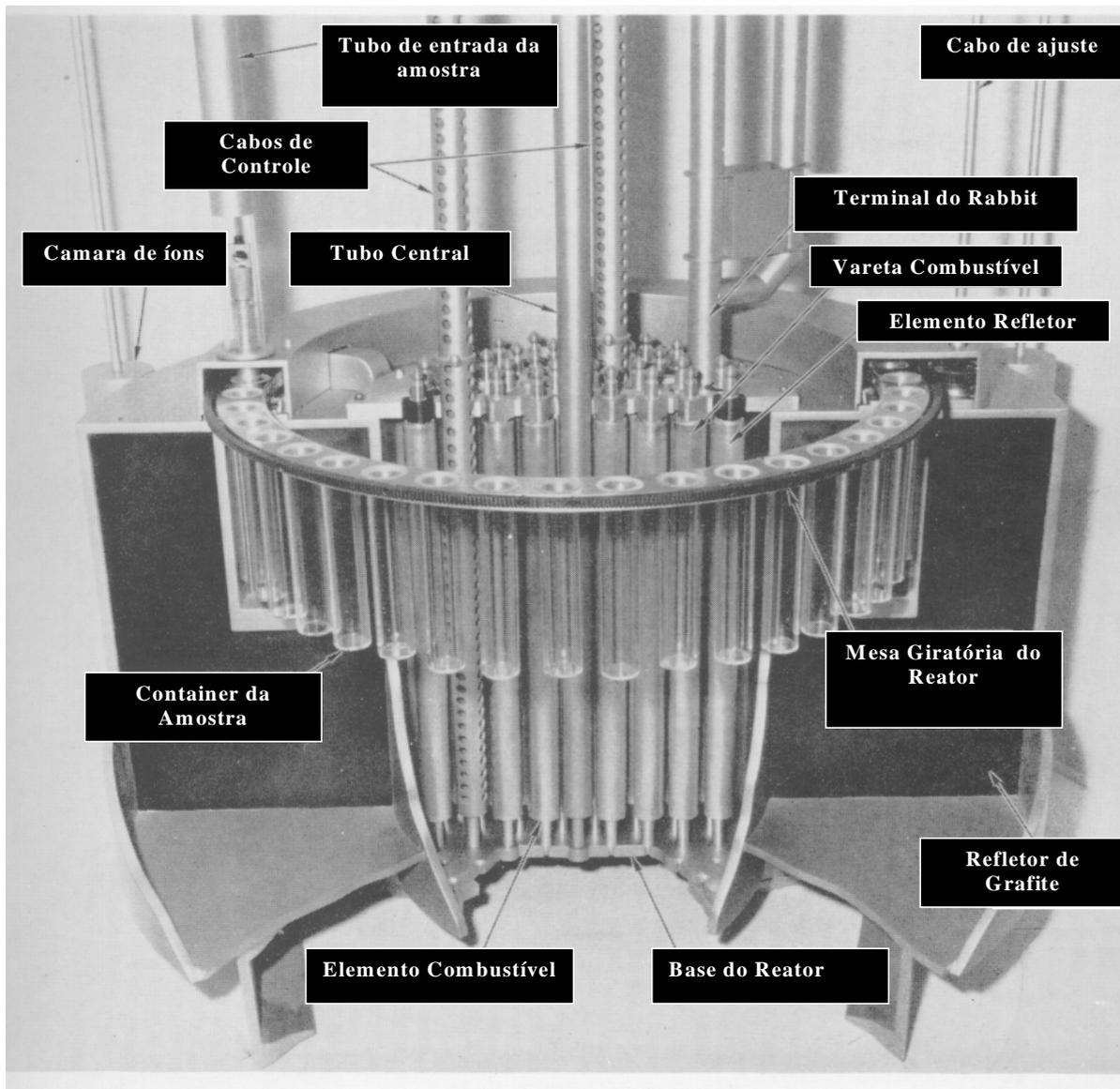


Figura 3: Reprodução gráfica de um reator nuclear tipo TRIGA I, De Soete et al, 1972

A maior parte de nêutrons liberados em um reator nuclear (figura 3) são também os de maior interesse na AAN são os chamados nêutrons térmicos e epitérmicos, pois estes apresentam maiores fluxos e secções de choque mais favoráveis para a reação (nêutron, gama) (IAEA, 1990).

O princípio da análise por ativação neutrônica é submeter uma amostra a um fluxo de nêutrons, com o intuito de produzir radioisótopos dos núcleos presentes na amostra, daí o termo ativação: tornar ativo, radioativo. Os radioisótopos originados da irradiação da amostra põem decair de várias formas, inclusive emitindo radiação gama, que é medida através da espectrometria de raios gama (IAEA, 1990). As energias específicas das emissões gama determinam quais os elementos presentes na amostra, enquanto a quantificação é feita pela medida da quantidade de emissões gama que são detectadas em um intervalo de tempo (área de contagens por segundo).

A reação (nêutron, gama)

Na interação nêutron-núcleo, o núcleo passa de um estado energético quântico para o próximo, emitindo um fóton γ com uma energia igual a diferença entre as energias dos estados energéticos final e inicial (tabela 2). A emissão é monoenergética e específica para cada radionuclídeo. Seu módulo varia de referências e padrões são obtidos com o uso do espectrômetro de raios gama, constituído por um detector HPGe, cápsula de blindagem e eletrônica associada.

Os espectros de radiação γ dos isótopos radioativos produzidos são obtidos com auxílio de um detector de Germânio ultra puro (HPGe) e uma placa de multi-canal, utilizando-se um software(s) específico(s) para gerar os espectros e áreas, bem como as concentrações (Ehmann & Vance, 1991).

No Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear/Comissão Nacional de Energia Nuclear, CDTN/CNEN, a técnica de AAN é aplicada no interior do reator nuclear de pesquisa Triga Mark I IPR-RI, fabricado pela Gulf General Atomic. Atualmente opera a uma potência de 100 kW. O núcleo forma um cilindro com 91 posições, onde estão instalados 63 elementos combustíveis-moderadores. Esse reator apresenta três dispositivos de irradiação: Mesa Giratória, Terminal pneumático e Tubo Central. O fluxo térmico médio na Mesa Giratória é de $6,69 \times 10^{11}$ nêutrons $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$, epitérmico de $3,33 \times 10^{10}$ nêutrons $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os fatores que determinam o radioisótopo resultante, bem como a sua atividade são (De Corte, 1987):

- seção de choque para neutrôns, do núcleo bombardeado;
- intensidade do fluxo de neutrôns do bombardamento;
- tempo de irradiação da amostra unidades de keV a unidades de MeV (Revel, 1999).

Os valores das constantes do Método do k0 são determinados com 2% ou menos de incerteza para 91 isótopos, em laboratórios por todo o mundo; outros 20

isótopos possuem suas constantes estabelecidas com incerteza de até 5% (De Corte, 1987).

Tabela 5: Características nucleares dos elementos determinados neste projeto

Elemento	Isótopo	Meia-vida		Gama Principal keV
Al	²⁸ Al	2,24 minutos	Curta	1778,9
Cu	⁶⁶ Cu	5,10 minutos		1039,2
Mg	²⁷ Mg	9,46 minutos		1014,4
Cl	³⁸ Cl	37,5 minutos		1642,4
K	⁴² K	2,36 horas		1524,7
Mn	⁵⁶ Mn	2,58 horas		1810,7
Na	²⁴ Na	14,9 horas		1368,6
As	⁷⁶ As	1,097 dias	Média	559,1
Br	⁸² Br	1,471 dias		776,5
U	²³⁹ Np	2,355 dias		277,6
Ca	⁴⁷ Ca	4,536 dias		1297,1
Rb	⁸⁶ Rb	18,66 dias	Longa	1076,7
Th	²³³ Pa	27 dias		312,0
Ce	¹⁴¹ Ce	32,5 dias		145,4
Fe	⁵⁹ Fe	44,50 dias		1099,2
V	⁵² V	112,5 dias		1434,1
Zn	⁶⁵ Zn	244,1 dias		1115,5
Cs	¹³⁴ Cs	2,062 anos		604,7
Co	⁶⁰ Co	5,27 anos		1173,1

Fonte: De Corte, 1986

No reator Triga I - IPR-R1 do CDTN/CNEN, as amostras de análise por ativação neutrônica com o objetivo de quantificação de elementos que formem radionuclídeos de meia-vida curta são irradiadas no reator na posição de irradiação número 40, por um período que pode variar de três a cinco minutos de irradiação. Depois de um período de decaimento que visa à adequação de leitura com a diminuição da radioatividade da amostra, faz-se a introdução da amostra no espectrômetro gama, para a leitura dos espectros. Depois que os espectros são adquiridos pelo software Genie2000[®], eles são lançados no software Hyperlab[®] para possíveis

correções. Por fim, as atividades são calculadas através do método do k0, com o uso do software KayZero-Solcoy[®] (Menezes & Jacimovic, 2006).

Já as amostras destinadas à determinação de elementos que formem radionuclídeos de meia-vida média e longa são irradiados nas posições 6, 7 ou 8, por um período de quatro a oito horas, dependendo do elemento de interesse (Menezes & Jacimovic, 2006). Estas posições de irradiação são escolhidas, uma vez que foram posições bastante estudadas no desenvolvimento do método no CDTN/CNEN, sendo suas características neutrônicas bem conhecidas e constantes.

**Princípio da Análise por Ativação
Neutrônica Instrumental**

Caso seja necessário (amostra com elevada umidade),
há o pré-tratamento da amostra (liofilização, por exemplo)



Pesagem de Amostras, Referências e Monitor



Irradiação de Amostras, Referências e Monitor



Medida das radioatividades das amostras (energia gama), referências e padrão/monitor



Identificação dos picos de energia gama e áreas dos radioisótopos



Cálculo das atividades nas amostras e do padrão/monitor



Cálculo das concentrações

Figura 4 Princípio da Análise por Ativação Neutrônica, adaptado de Revel (1999)

Aspectos Positivos do uso da Análise por Ativação Neutrônica Instrumental

Entre as principais características positivas da análise por ativação neutrônica destacam-se (De Corte, 1987) :

- técnica instrumental, não há perdas na formação de íons, como ocorre em análises por outros métodos, como ICP-MS, ou Potenciometria.
- impossibilidade de contaminação após a irradiação: uma vez irradiada a amostra, os seus componentes estão nuclearmente marcados, não havendo possibilidade de posterior contaminação por isótopos estáveis;
- excelente sensibilidade para inúmeros elementos, sendo este um dos motivos de sua grande aplicabilidade;
- seletividade: capacidade de identificação e quantificação de elementos não determinados por outros métodos de análise, como por exemplo o As;
- análise multielementar, com a possibilidade de análise de dois terços dos elementos químicos da tabela periódica.

Aspectos Negativos da Análise por Ativação Neutrônica

O uso da Análise por Ativação Neutrônica apresenta como maior imposição a necessidade de uma fonte de nêutrons como um reator nuclear de pesquisa, o que envolve regulações legais do uso de instalações e de manipulação de materiais radioativos, tornando necessário, assim, mão de obra extremamente especializada.

O método tem o inconveniente de não apresentar resultados imediatos, podendo necessitar de prazos superiores a um mês, para radioisótopos de meia-vida longa, com alta atividade. A ativação

neutrônica é muito eficiente no estudo de elementos, mas não é capaz por si só de determinar concentrações de moléculas ou espécies de um mesmo elemento.

Interferências na Análise por Ativação Neutrônica Instrumental:

Na irradiação das amostras, pode ocorrer interferências no espectro de raios gama, onde radionuclídeos com γ de valores muito próximos, têm suas atividades sobrepostas.

É o caso do ^{56}Mn , com uma energia de 846,8 keV e meia-vida de 2,58 horas, e o ^{27}Mg de 843,8 keV e 9,45 minutos de meia-vida. A solução do problema é obtida com análise dos elementos distanciada por um intervalo de tempo suficiente para a diminuição da atividade do primeiro interferente para um valor insignificante. Para a leitura da atividade do primeiro interferente é necessário que a amostra seja irradiada por um tempo menor, insuficiente para ativar o segundo elemento (Ehmann & Vance, 1991).

Preparação de amostras biológicas para a Análise por Ativação Neutrônica por liofilização:

Dos vários métodos físicos de desidratação conhecidos atualmente, a liofilização é o método especialmente indicado para substâncias sensíveis ao calor. A natureza não destrutiva do processo tem mostrado a viabilidade de seu emprego na preparação de amostras para fins de análises biológicas ou químicas (Gnamus et al, 2000).

O Documento Técnico 564 da IAEA, Practical Aspects of Operating A Neutron Activation Analysis Laboratory, preconiza o uso da liofilização na preparação das amostras de matrizes biológicas para a análise por ativação neutrônica.

Na liofilização, a água é removida do material biológico por meio da conversão direta das partículas sólidas de água em vapor de água, sem a formação intermediária de fase líquida. A base para a sublimação da água envolve: a absorção do calor pela amostra congelada afim de vaporizar a água; o uso da bomba de vácuo, para se remover o vapor de água da superfície da amostra; a transferência e o depósito do vapor de água no condensador; a remoção de calor, devido a formação de gelo, do condensador por meio de um sistema de refrigeração (FreeZone 6Liter Benchtop Instruction Manual, 1996).

Em síntese, a liofilização é o resultado do equilíbrio entre o calor absorvido pela amostra para vaporizar água, e o calor removido do condensador para converter o vapor de água em gelo (LabConco, 1996).

A eficiência do processo é diretamente proporcional à área da amostra, da temperatura do condensador, da pressão interna do frasco onde são colocadas as amostras, do ponto de orvalho do local de operação da máquina, e da concentração de água da amostra.

Para tecidos animais são indicados os seguintes valores de operação do sistema de liofilização (LabConco, 2006) :

Temperatura da amostra : < -40°C
Pressão de vácuo : < 133 x 10⁻³ mBar

Segundo o documento 564 da IAEA, o material liofilizado apresenta importantes vantagens: para uma mesma massa de material biológico in-natura , o material biológico liofilizado apresenta uma maior representatividade, visto que possui uma quantidade muito superior de células da matriz, para um mesmo volume de material.

Outra característica importante do material liofilizado é a sua granulação fina, que permite a obtenção de uma amostra com geometria homogênea e constante para todas os materiais analisados. Sob o aspecto da integridade da amostra, a retirada da água

diminui o risco de abertura do tubo durante a irradiação, que pode ocorrer devido ao aumento da pressão interna do tubo (IAEA, 1990).

Segundo a IAEA (1990) a desidratação de amostras biológicas representa uma considerável expansão das potencialidades dos métodos nucleares, principalmente pela redução de resíduos produzidos na ativação (produtos da radiólise), pela diminuição do perigo de contaminação dos materiais biológicos por elementos traços e pelo aumento do tempo de estocagem, possibilitando também uma maior segurança no transporte do material biológico.

Saiki (1999) considera que não há nenhuma perda de elementos inorgânicos no processo de liofilização. Concluiu-se que com a Análise por Ativação Neutrônica, de tecido sanguíneo e tireóide humanos, tanto *in natura*, como liofilizados, verifica-se perdas. Para os elementos Cloro e Iodo, as perdas foram de até cinco por cento. Para Br, Ca, K, Mg e Na, as perdas foram ainda menores.

A liofilização do material biológico permite uma desidratação da ordem de 70% da massa total das amostras, valor esperado de água para a maioria das células animais.

Com essa desidratação, as amostras se tornam em média três vezes mais concentradas, pois para um mesmo volume de amostra (V), a massa total de material biológico passa de (M) para (3.M), sendo d (densidade aparente da amostra biológica):

$$\begin{aligned}d_{\text{inicial}} &= M/V \\d_{\text{final}} &= 3.M/V \\d_{\text{final}} &= 3.d_{\text{inicial}}\end{aligned}$$

OUTROS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NO ESTUDO

1.2.3.2. Potenciometria de íon F⁻

Eletrodos íon-seletivos são definidos como sensores eletroquímicos que monitoram variações de atividade iônica em solução (Ehmann & Vance, 1991).

O aparelho potenciômetro de íons seletivo F⁻ foi calibrado usando-se soluções padrões de fluoreto de sódio, na faixa de 20 ppm a 20000 ppm, de acordo com a amostra a ser analisada. As amostras e os padrões foram tratados com solução tampão *TISAB III*, para complexar íons interferentes e manter o pH constante.

As análises foram realizadas à temperatura constante de 25°C, com agitação constante, mantida com agitador magnético. Todas as análises de flúor foram realizadas em triplicata.

As aplicações da potenciometria com eletrodos íon-seletivos em análises nutricionais podem abranger desde o controle de qualidade até a dieta em formulações complexas, de modo rápido, preciso e exato.

1.2.3.3. Espectrometria Absorção Atômica

A espectrometria de absorção atômica com atomização em chama ou eletrotérmica é uma técnica analítica bem estabelecida, com mais de cinco décadas de história, desde a proposta inicial de Alan Walsh (Correia et al, 2003).

A técnica baseia-se na absorção da energia radiante nas regiões do visível e do ultravioleta. Tem como princípio básico a propriedade dos átomos em absorver energia, emitindo fótons de comprimento de onda bem definidos (Lagalante, 1999).

Nesta técnica, segundo o mesmo autor, a amostra é vaporizada, sendo o vapor submetido a excitação térmica. Os elétrons sofrem um salto quântico quando excitados por uma fonte de calor, como por exemplo a chama do gás acetileno a 3000°C. Os elétrons emitem energia na forma de fóton,

devolvendo a energia recebida para o meio, voltando assim para a sua camada orbital de origem (Lagalante, 1999).

A radiação é medida através de um espectrofotômetro. Neste experimento, as análises foram realizadas em um aparelho Perkin-Elmer, Analyst 300, equipado com forno de grafite HGA-800 e amostrador AS-72.

Existem lâmpadas de cátodo oco para vários elementos. Contudo, a análise por Absorção Atômica se dá individualmente, elemento por elemento, ao contrário de técnicas como ativação neutrônica e ICP-MS (Correia et al, 2003).

Estes autores relatam que as concentrações dos elementos na amostra são determinadas utilizando-se padrões do mesmo elemento de interesse.

Estes padrões possuem concentrações bem conhecidas, que permitem a comparação e determinação do elemento na amostra.

Eles salientam que entre as técnicas analíticas, a AAS ocupa uma boa posição devido à elevada sensibilidade, seletividade, à pequena quantidade de amostra e à possibilidade de tratamento térmico da amostra durante o programa de aquecimento, tornando possível introduzir amostras na forma sólida ou de suspensões (Correia et al, 2003).

Porém, a técnica possui alguns inconvenientes como os longos programas de aquecimento do tubo de grafite (1 a 3 minutos) e a sua característica monoelementar (Lagalante, 1999).

O alto custo dos materiais de consumo, como os tubos de grafite e os reagentes de alta pureza também podem, em alguns casos, inviabilizar o uso dessa técnica (Correia et al, 2003).

1.2.3.4. Difração de Raios-X

As análises da composição mineralógica (as chamadas “fases cristalinas”) das amostras de fosfato, calcário e farinha de ossos foram realizadas

pela técnica de difratometria de raios-X, método do pó. A técnica qualitativa é a primeira avaliação dos minerais em estudos geológicos (FAO, 2004).

O equipamento utilizado foi o modelo Geigerflex da Rigaku, semi-automático, com monocromador de cristal curvo de grafite com tubo de raios-X de cobre e interface computadorizada para a obtenção de dados digitais.

A identificação das fases cristalinas foi obtida pela comparação dos difratogramas das amostras com os padrões reconhecidos pela *ICDD International Center for Diffraction Data* (JCPDS, 2000).

1.2.3.5. Gravimetria

A análise é um método quantitativo que envolve a separação e pesagem de um elemento ou um composto do elemento na forma mais pura possível. O elemento ou composto é separado de uma quantidade conhecida da amostra (Ehman & Vance, 1991).

A gravimetria envolve a transformação do elemento ou radical a ser determinado num composto puro e estável e de estequiometria definida, cuja massa é utilizada para determinar a quantidade do analito de interesse (elemento).

A amostra é calcinada a 800°C para eliminar carbono livre, tratada com ácido fluorídrico, ácido nítrico e ácido sulfúrico em uma proporção de massa de 10:1:0,5. A amostra é calcinada novamente para eliminar Si elementar e SiO₂ até obtenção de massa constante.

A amostra é novamente atacada com K₂S₂O₇ a 600°C visando a dissolução de todos os componentes. Em seguida, a massa resultante é dissolvida em HCl para obter carbeto de silício (MAPA, 2006). O peso do elemento S pode ser calculado a partir da fórmula química do composto e das massas atômicas dos elementos que constituem o composto de massa conhecida.

1.2.3.6. Espectrometria Gama (Radiação natural)

As emissões das radiações gama devido à presença natural de radionuclídeos podem ser vistas através dos espectros de emissão eletromagnéticas (Ehmann & Vance, 1991).

Para a determinação dos ²²⁶Ra e ²²⁸Ra (dois radionuclídeos emissores de raios gama), utilizou-se a espectrometria gama com detector HPGe (germânio ultra puro), mesmo equipamento que é usado para a obtenção dos espectros na Ativação Neutrônica..

Amostras representativas de 1,0g de cada produto foram acondicionadas em tubos próprios e colocadas dentro da blindagem onde um espectrômetro gama fez a contagem das atividades por um período de 4 (quatro) horas, propiciando uma ótima estatística de contagem.

O software utilizado na obtenção dos espectros e no cálculo das atividades foi o Genie2000[®] da Canberra.

Energias gamas correspondentes foram: para o ²²⁶Ra - 351 keV de sua progenia ²¹⁴Pb, e para o ²²⁸Ra - 911 keV de sua progenia ²⁰⁸Tl.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO MINERAL DOS FOSFATOS, CALCÁRIO E FARINHA DE OSSOS USADOS NA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA

2.1. Introdução

Os elementos acessórios presentes nos fosfatos podem variar significativamente de um tipo de produto a outro, ou até em mesmo dentro de um mesmo tipo de fosfato, dependendo da rocha fosfática que foi usada na indústria e/ou da rota de fabricação do mesmo (Bandeira et al, 2002; Chen et al, 2007).

Lima et al (1995) encontraram grandes variações no perfil mineral de fosfatos bicálcico comercializados no Brasil, analisando diferentes marcas comerciais.

Além das características químicas, a legislação brasileira determina que os rótulos dos suplementos minerais mencionem a solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% (alta correlação entre o teste e o valor biológico de assimilação animal), relação 1:1, para as fontes de fósforos utilizadas nas misturas de minerais, sendo de 90% o valor mínimo aceitável.

2.3. Material e Métodos

Os produtos analisados foram adquiridos no mercado de Uberlândia, Minas Gerais – um dos maiores centros do agronegócio brasileiro, e o maior de Minas Gerais. Foram retiradas amostras de 1000 gramas de cada pacote comercial. Amostras de 100 gramas foram colhidas. Após secagem, foram moídas em moinho elétrico com o intuito de se obter uma granulometria de 0,063 mm (#250 na escala Tyler mesh) em mais de 90% dos grãos.

O fosfato foi misturado, homogeneizado e encaminhado para cada uma

Duarte et al (2003) recomendam que seja adotado o ácido cítrico na concentração de 10% como o extrator, pois este solubiliza acima de 80% do fósforo das fontes notadamente de média a alta biodisponibilidade e menos de 50% da fonte cujo fósforo é reconhecidamente de baixo valor biológico.

2.2. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo caracterizar o calcário calcítico, farinha de ossos (bovinos) calcinada e os fosfatos bicálcico, monoamônico, supersimples, supertriplo, fosfosulfato amônio, polifosfato de amônio e cálcio e um sal mineral bovino sob os aspectos da solubilidade em ácido cítrico (2% e 10%) e da concentração de vários macro e micro-elementos essenciais à saúde animal presentes nestes produtos.

das análises consideradas a seguir: difratometria de raios-x pelo método do pó - fases cristalinas (FAO, 2004); gravimetria - S e SiO₂, fósforo por colorimetria com fosfomolibdato (Cunnif, 1995, AOAC, 1990); Na, Zn, Fe e Co pela técnica nuclear de análise por ativação neutrônica no reator nuclear IPR-R1 do CDTN/CNEN (Canella *et al*, 2002) e Espectrofotometria de absorção atômica – CaO (Catarino et al, 2004). Os ensaios de solubilidade seguiram a literatura (Duarte *et al*, 2003). Todas as análises foram realizadas no CDTN/CNEN.

2.4. Resultados e Discussão:

Tabela 6: Características minerais dos produtos comercializados no mercado brasileiro

Produto	Fase Cristalina		
	Predominante ($c > 30\%$)	Maior ($30\% > c > 10\%$)	Menor ($10\% > c > 3\%$)
F. Bicálcico	Monetita (CaHPO_4)		Anidrita (CaSO_4) Apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{Cl}, \text{F}, \text{OH})$) Gipso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
F. Monoamônico	Bifosfammita ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)		(NH_4) ₂ H ₂ P ₂ O ₅
F. Supersimples	Anidrita (CaSO_4)	Bifosfammita ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	Bassanita ($2\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
F. Supertriplo	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		Brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Anidrita (CaSO_4)
F. Sulfato amônio	Bifosfammita ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	Mascagnita ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	$\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$
Polifosfato de amônio e cálcio	<i>Flatt's salt</i> ($\text{NH}_4\text{Ca}_2\text{H}_7(\text{PO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Bifosfammita ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	Apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{Cl}, \text{F}, \text{OH})$)
Sal mineral bovino	Apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{Cl}, \text{F}, \text{OH})$)		Quartzo (SiO_2) Calcita (CaSO_4) Dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$)
<i>Farinha de ossos</i>	Apatita		Quartzo (SiO_2)
<i>Calcário</i>	CaCO_3 (Calcita)		

Tabela 7: Concentrações de P, Ca, e SiO_2 e solubilidade dos produtos em ácido cítrico a 2% e a 10% dos produtos analisados (dados em %), n=3, matéria natural

Produto	P	Ca	SiO_2	Solub. Ácido Cítrico 2 %	Solub. Ácido Cítrico 10 %
F. Bicálcico	$19,4 \pm 0,2$	$28,0 \pm 0,3$	$0,21 \pm 0,05$	91 ± 2	92 ± 3
F. Monoamônico	$22,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$0,26 \pm 0,05$	100 ± 1	100 ± 1
F. Supersimples	$7,8 \pm 0,1$	$18,7 \pm 0,3$	$1,01 \pm 0,10$	40 ± 4	37 ± 4
F. Supertriplo	$19,5 \pm 0,2$	$15,0 \pm 0,2$	$1,15 \pm 0,10$	97 ± 1	99 ± 2
F. Sulfato amônio	$10,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$0,40 \pm 0,05$	88 ± 4	80 ± 4
Polifosfato	$19,6 \pm 0,2$	$15,4 \pm 0,1$	$2,07 \pm 0,10$	87 ± 3	92 ± 3
Sal mineral bovino	$12,0 \pm 0,1$	$33,1 \pm 0,5$	$12,30 \pm 1,50$	10 ± 4	14 ± 3
<i>Farinha de ossos</i>	$14,4 \pm 0,3$	$36,7 \pm 0,4$	$9,92 \pm 1,00$	23 ± 4	32 ± 3
<i>Calcário Calcítico</i>	$0,1 \pm 0,1$	$37,2 \pm 0,5$	$1,45 \pm 0,05$	n.a.	n.a.

Tabela 8: Concentrações de Na, Zn, Fe, Co nos produtos analisados (dados em $\mu\text{g.g}^{-1}$) e S em (%)

Produto	Na	Zn	Fe	Co	S
F. Bicálcico	467 ± 20	44,5 ± 5,0	6620 ± 312	12,1 ± 1,1	0,20 ± 0,04
F. Monoamônico	1230 ± 50	65,1 ± 6,5	13600 ± 691	24,8 ± 2,8	1,00 ± 0,18
F. Supersimples	1840 ± 62	60,7 ± 6,0	< 1000	35,9 ± 2,9	13,1 ± 1,4
F. Supertriplo	1883 ± 65	25,0 ± 2,5	19230 ± 895	28,7 ± 2,1	1,15 ± 0,20
F. Sulfato amônio	3380 ± 80	12,0 ± 1,0	12500 ± 608	4,1 ± 0,5	10,0 ± 1,4
Polifosfato	2430 ± 97	47,0 ± 4,5	20400 ± 916	24,7 ± 2,5	1,80 ± 0,40
Sal mineral bovino	1100 ± 48	44,9 ± 0,5	12500 ± 639	14,6 ± 1,5	0,20 ± 0,04
<i>Farinha de ossos</i>	8650 ± 198	239,0 ± 8,5	12450 ± 523	0,7 ± 0,2	0,30 ± 0,04
<i>Calcário</i>	256 ± 17	6,1 ± 0,5	2713 ± 185	0,4 ± 0,1	0,30 ± 0,04

Todos resultados são dados em peso seco.

Os resultados qualitativos (tabela 6) obtidos pela análise de difratometria por raios-X pelo método do pó anteciparam os resultados quantitativos obtidos com o emprego de outras técnicas analíticas (tabelas 7, 8).

Os dados de solubilidade usando o extrator ácido cítrico tanto a 2% quanto a 10% são apresentados na tabela 7. Nota-se que alguns produtos não estão de acordo com a legislação. O fosfato super simples, o sal mineral bovino e a farinha de ossos são pouco solúveis.

Os fosfatos monoamônico e o fosfato sulfato de amônio apresentaram como estrutura cristalina (tabela 6) predominante a bifosfammita ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$); possuem baixa concentração de Ca, uma vez que este elemento não está presente no cristal majoritário destes fosfatos.

A concentração de fósforo presente no fosfato supersimples é a mais baixa entre todos os produtos analisados. Isto se deve ao fato que o supersimples tem a anidrita (CaSO_4) como estrutura cristalina majoritária, molécula onde não há a presença de fósforo; é

notável a grande presença de enxofre (tabela 8) neste fosfato, S proveniente da anidrita.

Outro fosfato que apresenta alta concentração de enxofre é o fosfato sulfato de amônio, que apresenta a mascagnita ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) como fase cristalina maior (entre 10% e 30% do total).

O sal mineral bovino foi o produto com a maior concentração de Si. A análise qualitativa por difratometria de raios-x mostrou uma grande presença de quartzo (SiO_2) como fase cristalina menor (entre 3% e 10% do total de cristais).

Valor elevado de Si foi encontrado na farinha de ossos, que também apresenta o quartzo (SiO_2) como fase cristalina menor. O Si possui a participação na formação dos ossos, porém o excesso de Si pode causar a formação de cálculo renal (NRC, 1980). Assim os valores obtidos para o SiO_2 na farinha de ossos e no sal mineral bovino devem ser vistos como um alerta na formulações de ruminantes, pois o elemento é incorporado na vitamina B_{12} pela flora bacteriana gastrointestinal (NRC, 1980).

Os elevados valores de Na e Zn (tabela 8) encontrados na farinha de ossos são compatíveis com os valores da literatura em estudos com ossos humanos: 5600 ppm a 10100 ppm (Na) e 187 ppm (Zn) (Iyengar *et al*, 1978).

Os fosfatos analisados não podem ser considerados fontes de Zn, como são as forragens, uma vez que o nível de introdução dos fosfatos na dieta (1%-2%) é baixo se comparado ao volume de vegetais (30%-40%), uma vez que fosfatos e forragens possuem praticamente a mesma

concentração (60 ppm) de Zn (NRC, 1980). A farinha de ossos tem uma concentração 4 vezes maior de Zn que os produtos de origem mineral.

O Co presente nos fosfatos é de grande interesse especialmente nas A grande diferença encontrada nas concentrações dos elementos estudados deve ser levada em consideração na formulação de suplementos minerais, uma vez que o efeito da interação dos diversos macro e micronutrientes presentes na dieta animal ainda não é bem conhecido (Ahola *et al*, 2004).

2.5. Conclusões:

Os produtos testados possuem estruturas cristalinas diversas entre si. Tanto Ca como P estão presentes nos fosfatos em moléculas ou complexos bem distintos.

O fosfato super simples, o sal mineral bovino e a farinha de ossos apresentaram solubilidade inferior ao limite mínimo admitido pela legislação.

Pode-se concluir que com exceção do calcário, do fosfatos monoamônico e do fosfosulfato de amônio, todos os fosfatos e a farinha de ossos testados são fontes binárias de fósforo e cálcio.

Adicionalmente, os fosfatos supersimples e o fosfato sulfato de amônio

são fontes de enxofre; a farinha de ossos e o fosfato sulfato de amônio são fontes de sódio; o polifosfato e o fosfato supertriplo são as maiores fontes de Fe dentre os produtos testados.

Atenção especial deve ser dada às misturas “artesaniais” - manipuladas em pequenas fábricas - como o sal mineral bovino analisado, que provavelmente foi formulado com um fosfato de rocha (apatita com alto teor de quartzo e baixa solubilidade) inadequado para misturas de uso animal.

CAPÍTULO 3

ELEMENTOS TÓXICOS PRESENTES EM FOSFATOS, CALCÁRIO E FARINHA DE OSSOS USADOS NA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA

3.1. Introdução

Em 1979, pesquisadores alemães apresentaram evidências do aumento da concentração de urânio em rios de zonas agrícolas onde havia um elevado consumo de fertilizantes fosfatados; ficou demonstrado que o urânio presente nos fosfatos é carregado para o rio desde as camadas superiores do solo (Mangini et al, 1979). Animais criados em regiões de solos fertilizados ou recebendo suplementação de fósforo por meio de fosfato, também estão expostos ao urânio (ASTDR, 1999).

Estudo da FAO (2004) relata a presença de diversos contaminantes em fosfatados usados na agricultura, incluindo cádmio, arsênio e urânio.

O governo norte americano possui uma agência específica para o registro de substâncias tóxicas e doenças associadas a estas substâncias - ASTDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (ASTR, 2005).

A ASTR (2005) publica a cada dois anos a lista das substâncias de maior risco à saúde humana, animal e do meio-ambiente, CERCLA *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act, Priority List of Hazardous Substances* com as 275 substâncias - entre orgânicas e inorgânicas (ASTDR, 2005). Vários dos elementos da lista são encontrados nos fosfatos (FAO, 2004).

O Brasil é um país de extensão continental e com pouca fiscalização, é fundamental para a preservação da saúde dos rebanhos e do meio-ambiente que as universidades e os centros de pesquisa avaliem as fontes minerais de fósforo e cálcio (Marçal et al, 2003).

3.2. Objetivo

O presente estudo tem como objetivo quantificar diversos elementos tóxicos ou elementos em concentrações que os tornem nocivos à saúde animal e do meio-ambiente presentes no calcário, farinha de ossos bovinos calcinada e nos fosfatos usados na agropecuária brasileira

3.3. Material e Métodos

O fosfato bicálcico, fosfato super triplo, fosfato super simples, fosfato mono-amônico, fosfosulfato de amônio, polifosfato de cálcio e amônio, sal mineral bovino, no calcário e em uma farinha de ossos foram adquiridos no mercado de Uberlândia, Minas Gerais.

Foram coletadas amostras de 1000 gramas de cada pacote comercial. Amostras representativas de 100 gramas foram secadas, e moídas em moinho elétrico com o intuito de se obter uma granulometria de 0,063 mm (#250 na escala Tyler mesh) em mais de 90% dos grãos.

O fosfato foi misturado, homogeneizado e encaminhado para cada uma das análises consagradas no estudo de minerais, consideradas a seguir: potenciometria (F⁻); difratometria de raios-x pelo método do pó (fases cristalinas) (FAO, 2004); gravimetria (SiO₂), fósforo por colorimetria com fosfomolibdato (Cunnif, 1995; AOAC, 1990). As, Ce, Cs, Th e U pela técnica nuclear de análise por ativação neutrônica no reator nuclear IPR-R1 do CDTN/CNEN (Canella *et al*, 2002; Silva Filho *et al*, 1999) e Espectrofotometria de absorção atômica - Ca e Al (Catarino *et al*, 2004).

3.4. Resultados e Discussão:

Tabela 9 Características minerais dos produtos comercializados no mercado brasileiro

Produto	Fase Cristalina (cristal, c)		
	Predominante (c>30%)	Maior (30%>c>10%)	Menor (10%>c>3%)
F. Bicálcico	Monetita (CaHPO ₄)		Anidrita (CaSO ₄) Apatita (Ca ₅ (PO ₄) ₃ (Cl, F, OH)) Gipso (CaSO ₄ .2H ₂ O)
F. Monoamônico	Bifosfammita (NH ₄ H ₂ PO ₄)		(NH ₄) ₂ H ₂ P ₂ O ₅
F. Supersimples	Anidrita (CaSO ₄)	Bifosfammita (NH ₄ H ₂ PO ₄)	Bassanita (2CaSO ₄ .H ₂ O)
F. Supertriplo	Ca(H ₂ PO ₄).2H ₂ O		Brushita (CaHPO ₄ .2H ₂ O) Anidrita (CaSO ₄)
F. Sulfato amônio	Bifosfammita (NH ₄ H ₂ PO ₄)	Mascagnita ((NH ₄) ₂ SO ₄)	N ₂ H ₆ SO ₄
Polifosfato de amônio e cálcio	<i>Flatt's salt</i> (NH ₄ Ca ₂ H ₇ (PO ₄) ₄ .2H ₂ O)	Bifosfammita (NH ₄ H ₂ PO ₄)	Apatita (Ca ₅ (PO ₄) ₃ (Cl, F, OH))
Sal mineral bovino	Apatita (Ca ₅ (PO ₄) ₃ (Cl, F, OH))		Quartzo (SiO ₂) Calcita (CaSO ₄) Dolomita (CaMg(CO ₃) ₂)
<i>Farinha de ossos</i>	Apatita (Ca ₅ (PO ₄) ₃ (Cl, F, OH))		Quartzo (SiO ₂)
<i>Calcário</i>	CaCO ₃ (Calcita)		

Tabela 10 Concentrações de P, Ca, F, Al, SiO₂ nos produtos analisados (dados em %), n=3

Produto	P	Ca	F	Al	SiO ₂
F. Bicálcico	19,4 ± 0,2	28,0 ± 0,3	0,23 ± 0,02	< 0,05	0,21 ± 0,05
F. Monoamônico	22,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0,31 ± 0,03	< 0,05	0,26 ± 0,05
F. Supersimples	7,8 ± 0,1	18,7 ± 0,3	0,27 ± 0,03	0,13 ± 0,05	1,01 ± 0,10
F. Supertriplo	19,5 ± 0,2	15,0 ± 0,2	0,73 ± 0,04	0,15 ± 0,05	1,15 ± 0,10
F. Sulfato amônio	10,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,80 ± 0,05	< 0,05	0,40 ± 0,05
Polifosfato	19,6 ± 0,2	15,4 ± 0,1	0,70 ± 0,04	0,15 ± 0,05	2,07 ± 0,10
Sal mineral bovino	12,0 ± 0,1	33,1 ± 0,5	2,05 ± 0,05	1,48 ± 0,10	12,30 ± 1,50
<i>Farinha de ossos</i>	14,4 ± 0,3	36,7 ± 0,4	0,10 ± 0,02	0,30 ± 0,05	9,92 ± 1,00
<i>Calcário</i>	0,1 ± 0,1	37,2 ± 0,5	0,17 ± 0,02	0,10 ± 0,05	1,45 ± 0,05

Tabela 11. Concentrações de U, Th, Ce, Cs e As nos produtos analisados (dados em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Produto	U	Th	Ce	Cs	As
F. Bicálcico	$67,3 \pm 2,6$	$1,40 \pm 0,14$	$49,10 \pm 2,20$	$< 0,18$	$< 2,70$
F. Monoamônico	$55,0 \pm 17,7$	$5,53 \pm 0,41$	$< 2,91$	$< 0,18$	$< 2,70$
F. Supersimples	$91,0 \pm 10,1$	$160,0 \pm 5,6$	1600 ± 56	$< 0,18$	$< 2,70$
F. Supertriplo	$31,5 \pm 1,4$	$118,0 \pm 4,1$	1390 ± 49	$< 0,18$	$< 2,70$
F. Sulfato amônio	$24,9 \pm 0,9$	$5,57 \pm 0,29$	$67,30 \pm 4,55$	$< 0,18$	$8,12 \pm 0,90$
Polifosfato	$29,7 \pm 1,2$	$116,0 \pm 4,0$	1340 ± 47	$< 0,18$	$< 2,70$
Sal mineral bovino	$6,61 \pm 0,39$	$3,02 \pm 0,14$	$35,1 \pm 1,8$	$0,69 \pm 0,14$	$22,50 \pm 1,12$
<i>Farinha de ossos</i>	$< 0,52$	$4,10 \pm 0,16$	$16,1 \pm 1,28$	$< 0,18$	$< 2,70$
<i>Calcário</i>	$1,29 \pm 0,05$	$0,35 \pm 0,03$	$3,71 \pm 0,25$	$0,25 \pm 0,02$	$11,74 \pm 1,42$

Dados obtidos neste experimento com a técnica nuclear de Análise por Ativação Neutrônica

Tabela 12. Concentrações de Ba, V, Sr, Co e Zn nos produtos analisados (dados em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Produto	Ba	V	Sr	Co	Zn
F. Bicálcico	466 ± 108	$37,6 \pm 4,4$	< 195	$12,1 \pm 0,7$	$44,5 \pm 4,1$
F. Monoamônico	629 ± 158	$45,5 \pm 3,0$	735 ± 174	$24,8 \pm 1,4$	$65,1 \pm 5,9$
F. Supersimples	17200 ± 705	$90,7 \pm 3,9$	24600 ± 1410	$35,9 \pm 1,3$	< 31
F. Supertriplo	< 184	$181,0 \pm 6,8$	4200 ± 1010	$28,7 \pm 3,4$	< 31
F. Sulfato amônio	< 184	$89,8 \pm 3,5$	< 195	$4,8 \pm 0,4$	< 31
Polifosfato	632 ± 148	$116 \pm 4,4$	2520 ± 148	$24,7 \pm 0,9$	$47,0 \pm 4,7$
Sal mineral bovino	233 ± 25	$95,0 \pm 8,0$	324 ± 66	$14,6 \pm 5,7$	$44,9 \pm 5,2$
<i>Farinha de ossos</i>	212 ± 17	$< 2,7$	441 ± 30	$0,7 \pm 0,2$	$239,0 \pm 8,9$
<i>Calcário</i>	< 184	$< 2,7$	2105 ± 78	$0,4 \pm 0,1$	< 31

Dados obtidos neste experimento com a técnica nuclear de Análise por Ativação Neutrônica

Os produtos foram caracterizados qualitativamente (tabela 9) pela análise cristalográfica de difratometria por raios-X pelo método do pó.

Os fosfatos monoamônico e o fosfato sulfato de amônio apresentaram como estrutura cristalina predominante a bifosfammita (tabela 9); possuem baixa concentração de Ca, uma vez que este

elemento não está presente nesse cristal majoritário destes fosfatos.

A concentração de fósforo presente no fosfato supersimples é a mais baixa entre todos os produtos analisados. Isto se deve ao fato que o supersimples tem a anidrita (CaSO_4) como estrutura cristalina majoritária, molécula onde não há a presença de fósforo; também é notável a grande presença de enxofre neste fosfato, S

proveniente da anidrita (tabela 9). Outro fosfato que apresenta alta concentração de enxofre é o fosfato sulfato de amônio, que apresenta a mascagnita ((NH₄)₂SO₄) como fase cristalina maior (entre 10% e 30% do total). O fosfato supertriplo possui a brushita (CaHPO₄·2H₂O) como uma de duas fases cristalinas menores. A brushita é a fase cristalina majoritária dos cálculos renais extraídos de humanos (Khon et al, 2002).

Muitas das substâncias listadas na CERCLA (ASTDR, 2005) foram quantificadas neste estudo (tabelas 10, 11 e 12).

Na primeira e mais preocupante posição da lista da CERCLA está o arsênio, quantificado em dois fosfatos e no calcário analisados neste estudo. Também estão nesta lista da ASTDR e foram quantificados nos produtos analisados: cobalto (50^a), zinco (74^a), urânio (98^a), tório (101^a), bário (109^a), estrôncio (119^a), alumínio (186^a), vanádio (198^a) flúor (214^a) e cério (217^a) (ASTDR, 2005). Estes valores devem ser considerados como uma classificação do potencial toxicológico que elementos presentes na maioria dos fosfatos oferecem ao meio-ambiente, em todas suas aplicações, notadamente a de fertilizante, onde o produto é colocado diretamente em contato com os solos, plantas e corpos de água, causando sua disseminação por todo o ambiente (ASTDR, 2005; Marçal *et al*, 2003).

O excesso de Al na dieta pode resultar em deficiência de P, uma vez que o Al se liga ao P, formando complexos insolúveis que não são absorvidos na luz intestinal. O valor máximo tolerável de Al por bovinos é de 1000 ppm na dieta (NRC, 1980). O sal mineral bovino aqui analisado é totalmente inadequado ao consumo pelo gado, sob o ponto de vista do Al incorporado na dieta. Deve ser tomado o devido cuidado com a farinha de ossos analisada para que a sua entrada na formulação não seja grande, evitando-se que o limite de Al na dieta não seja ultrapassado.

O arsênio é um elemento considerado tóxico, e qualquer ingestão pelo animal deve ser evitada (NRC, 1980). O valor máximo admissível para sua ingestão do gado de corte é de 50 µg.g⁻¹ (NRC, 2000), para que não haja nenhum efeito deletério no animal ou a presença de resíduos na carne produzida. Nenhum produto analisado apresentou valor superior à metade deste limite.

O bário - apenas em suas formas solúveis - é um elemento considerado tóxico, capaz de causar fraqueza muscular e distúrbios gastrintestinais em casos de ingestão acidental (efeitos agudos). Em caso de ingestão prolongada em níveis de 2 ppm é capaz de causar elevação da pressão arterial (EPA, 2007). A técnica analítica apresenta um limite de detecção para o Ba de 184 ppm. O calcário, o fosfatos sulfato de amônio e o super-triplo apresentaram concentrações abaixo de tal limite de detecção. A preocupação com o Ba só se dá para as formas solúveis do elemento, raramente encontradas na natureza. Para fosfatos e dietas só há risco de contaminação pelas formas mais solúveis se ocorrer contaminação na indústria (NRC, 1980).

O valor máximo de cobalto encontrado nos produtos analisados foi de 36 ppm (fosfato super simples). O limite máximo tolerável de Co na dieta de aves e coelhos é de 10 ppm na dieta (NRC, 1980). Assim, todos os fosfatos apresentam concentrações seguras de Co, desde que os fosfatos sejam utilizados em concentrações compatíveis, e não como única fonte de fósforo.

O estrôncio é o 15^o elemento mais abundante da crosta terrestre. Muito comum em rochas ígneas, ele é frequentemente encontrado nos fosfatos. Não há grandes riscos na forma estável, mas isótopos radioativos são perigosos e frequentemente associados ao aparecimento de câncer.

O ⁹⁰Sr é um radionuclídeo de determinação obrigatória em alimentos na exportação para determinados mercados como o europeu e norte-americano

(FAO/WHO, 1995). Os elevados valores de Sr encontrados nos fosfatos super-simples e super-triplo são preocupantes.

O flúor é o elemento mais eletronegativo da tabela periódica. O F combina de forma reversível com o hidrogênio formando o ácido HF. Este ácido possui grande poder de difusão, o que explica a grande absorção do F no estômago e sua presença nos fluidos intra e extracelulares. Sua elevada afinidade com o Ca torna o F um elemento sempre presente nos tecidos calcificados (Institute of Medicine, 1997).

O F também está presente na cadeia alimentar: praticamente todo alimento possui F em sua composição, principalmente as bebidas, uma vez que o F está presente na natureza em formas bastante solúveis (USDA, 2004). O F pode ser encontrado nos alimentos em concentrações (mg.kg^{-1}) nas seguintes faixas: Carne de boi e frango - 0,04 a 0,51; Leite e derivados - 0,02 a 0,82, Vegetais - 0,08 a 0,70; Grãos e cereais - 0,08 a 2,00 (Institute of Medicine, 1997).

Alimentos produzidos em áreas de grande concentração de F no ambiente apresentam valores mais elevados de F em sua composição (ASTDR, 2003).

Uma grande fonte de F na cadeia alimentar são os fosfatos. Toda rocha fosfática possui F em sua estrutura. Os fosfatos dos tipos food-grade e feed-grade são tratados industrialmente para a remoção deste elemento, evitando que o flúor entre em elevadas concentrações na cadeia alimentar humana e animal (FAO, 2004). O Ministério da Agricultura estabelece na Instrução Normativa nº 12 de 30 de Novembro de 2004 (MAPA, 2004), que o limite máximo de F nos produtos de pronto uso (suplemento destinado a bovinos) deverá ser de no máximo de 0,2 %. Assim, sal mineral bovino testado neste experimento apresenta o F em concentração bem superior ao limite máximo da legislação brasileira. O fosfato supertriplo pode ser usado na nutrição animal desde que apresente F esteja abaixo de 0,7 %, entre outras características

específicas ditadas pela Instrução Normativa nº 01 de 02 de Maio de 2000. O produto testado está no limite máximo aceitável, considerando-se o erro associado à medida.

Trabalhos com bovinos demonstraram que o emprego de fosfatos com altos teores de flúor na dieta animal ocasiona menor ganho de peso, menor ingestão de alimentos e pior conversão (Lima, 2000).

O Si possui a participação na formação dos ossos; porém o excesso de Si pode causar a formação de cálculo renal (NRC, 1980). Assim os valores obtidos para o SiO_2 na farinha de ossos e no sal mineral bovino devem ser vistos como um alerta na aplicação indiscriminada destes produtos na nutrição animal. O sal mineral bovino foi o produto com a maior concentração de Si. Análise qualitativa por difratometria de raios-x mostrou uma grande presença de quartzo (SiO_2) como fase cristalina menor (entre 3% e 10% do total de cristais). Valor elevado de Si foi encontrado na farinha de ossos, que também apresenta o quartzo (SiO_2) como uma de suas fases cristalinas.

Os lantanídeos (como o Ce) e os actinídeos (como U e Th) são elementos que apresentam uma ampla faixa de redox e são capazes de formar vários complexos tóxicos, além de apresentarem diversos isótopos radioativos (Duffus, 2002).

Diversos depósitos naturais de fosfatos em todo o mundo apresentam quantidades significativas de urânio (FAO, 2004). O U pode entrar no organismo por três principais formas: inalação, ingestão e contato sobre a pele (ATSDR, 1999). Grande parte dos vegetais cultivada extensivamente é produzida em solos adubados com fertilizantes fosfatados, que sabidamente possuem U em sua constituição. Plantas subaéreas como a batata *Solanum tuberosum* e a mandioca *Manihot esculenta* captam U através de suas raízes e o armazenam em seu caule; no caule destas plantas podem ser encontradas concentrações de U mais elevadas que as do

solo em que foram cultivadas (ATSDR, 1999).

Não existe valor máximo admissível para o U em dietas animais. Para a ingestão por humanos são propostos alguns limites máximos admissíveis: 2,0 ppm de U (ASTDR, 1999) e 0,6 ppm de U (WHO, 1997), portanto discrepantes.

O vanádio exerce efeito deletério no animal, reduzindo a ação de enzimas, causando diarreia e prostração em bovino. O consumo de 20 mg de V ao dia pode levar à intoxicação do animal (NRC, 1980). Supondo um consumo diário de sal mineral de 60 a 100 gramas de fosfato, todas as fontes de fósforo estão de acordo com o NRC (1980) para consumo bovino, considerando-se apenas os teores de V.

O Zn presente nos produtos analisados não está em uma faixa considerada tóxica para os animais - a partir de 750 ppm – a partir do qual são relatados efeitos deletérios em bovinos e caprinos (NRC, 1980).

É necessário aplicar o princípio da precaução no uso dos fosfatos e outros produtos minerais. O princípio da precaução está ligado aos conceitos de afastamento de perigo e segurança das gerações futuras, como também de sustentabilidade ambiental das atividades humanas.

A maior dificuldade na implantação do princípio da precaução é a resistência devido ao fato de que normas mais severas com menores limites máximos permitidos poderiam levar a uma estagnação da economia.

Uma alternativa para uma maior retirada de contaminantes dos fosfatos é a mudança do reagente na lixiviação do fosfato, deixando-se de empregar a rota do ácido sulfúrico (a única usada no Brasil) e optando-se pelo ácido nítrico. Tal mudança resulta na retirada maior de urânio e terras raras, que podem ser explorados como co-produtos na extração do fosfato de rocha para a produção de fosfatos industrializados (Bandeira et al, 2002).

3.5. Conclusões

A maioria dos fosfatos, a farinha de ossos e o calcário estudados apresentaram elementos tóxicos ou em concentrações possivelmente tóxicas.

O fosfato bicálcico e a farinha de ossos são os produtos de menor incidência de contaminantes inorgânicos estudados.

As concentrações dos contaminantes no calcário demonstram a necessidade da formulação de uma legislação pertinente, como a dos fosfatos, uma vez que o calcário apresenta praticamente os mesmos contaminantes, em concentrações próximas (incluindo o flúor e o arsênio).

Para alguns produtos é necessária a adoção de novas tecnologias que contribuam para a purificação destes produtos (especialmente em relação ao flúor, estrôncio e urânio), para que os mesmos possam ser vistos como fontes seguras de P na nutrição de rebanhos. Uma medida pode ser a mudança da rota de produção do fosfato, substituindo o ácido sulfúrico pelo ácido nítrico, que permite uma maior retirada de urânio e terras raras dos fosfatos.

Devido aos elevados níveis de elementos tóxicos em alguns produtos, existe o risco de difusão de contaminantes no meio-ambiente, seja no solo, nos mananciais ou nas plantas.

Recomendam-se estudos detalhados sobre o potencial de difusão pelo meio-ambiente dos contaminantes presentes nestes produtos.

CAPITULO 4

RADIOATIVIDADE NATURAL: RISCO OCUPACIONAL NA INDÚSTRIA DO FOSFATO E NA AGRICULTURA

4.1. Introdução

A grande maioria dos fosfatos agrícolas possui a presença de elementos tóxicos e com isótopos radioativos naturais, que podem emitir elevadas radiações ionizantes (FAO, 2004; Lung et al, 2004).

Uma conseqüência direta do uso dos fertilizantes fosfatados na agricultura é o aumento da radioatividade medida no solo, devido à introdução de radionuclídeos presentes nos fertilizantes, principalmente ^{40}K , ^{226}Ra e ^{228}Ra (Jibiri et al, 2007).

A Agência Internacional de Energia Atômica considera a indústria do fosfato como a sétima atividade industrial que mais expõe o trabalhador à radiação ionizante, atrás apenas de atividades tipicamente ligadas à extração de minerais radioativos,

destinados à produção de combustíveis nucleares ou armamentos, e da indústria do petróleo (IAEA, 2006).

Trinta anos atrás, Booth (1977) já apontava para a necessidade de controle da radiação à qual os trabalhadores e usuários dos produtos desta indústria estão expostos.

Na indústria ou no comércio de fosfato ocorre a estocagem de grandes quantidades destes materiais, em sacos de 50 kg ou em *big bags*. Os trabalhadores deste setor da indústria nem sempre estão cientes dos riscos a que estão expostos. A exposição à radiação ionizante na indústria do fosfato possui a seguinte distribuição, quanto à dose de radiação ionizante à qual os trabalhadores são expostos:

Embalagem e transporte > Produção de granulados > Área do ácido fosfórico > Mineração (lavra)

Materiais que emitem elevadas doses de radiação ionizante são submetidos a normas severas de órgãos e agências reguladoras como a IAEA, e a CNEN no Brasil (IAEA, 2006; CNEN, 2005).

Os materiais considerados NORM *Naturally Occurring Radioactive Material* – ou material radioativo de ocorrência natural MRON em Português (sem uso na literatura) - são aqueles que apresentam quantidades significativas de radionuclídeos em sua composição, emitindo radiação ionizante, e que portanto, são fontes de risco à saúde dos trabalhadores que lidam com o produto, bem como o público, que consome ou está exposto aos NORM em seu dia-a-dia, muitas vezes sem saber (IAEA, 2006).

A UNSCEAR *United Nations Scientific Committee on the effects of Atomic Radiation* (2000) afirma que “as exposições devido às fontes naturais de radiação, com

poucas exceções, geralmente não têm o mesmo grau de controle que as exposições devido às fontes artificiais produzidas pelo homem. Mesmo onde o controle ocupacional já foi introduzido, os dados de dose individuais são bastante raros, sendo resultado de avaliações realizadas com respeito a introdução de medidas de controle”.

Algumas indústrias não-nucleares como a do cimento, possuem legislação própria, com limites bem definidos de radioatividade máxima permitida no produto final ou em seu parque industrial. Tais limites são determinados pelos estudos de agências como a UNSCEAR. Os limites de radioatividade à qual os trabalhadores e o público em geral estão submetidos têm seus limites estabelecidos pela UNSCEAR (2000), e são referências mundiais.

O cimento e as cerâmicas usadas na construção civil são um exemplo de regulação de produtos industriais: o limite de Ra_{eq} para materiais que podem ser usados na construção civil para acabamento interno de residências ou locais de trabalho é $Ra_{eq} < 370 \text{ Bq.kg}^{-1}$ (Isinkaye & Ajayi, 2006).

O Ra_{eq} é um valor calculado (Eq. 01) levando-se em consideração a atividade

$$Ra_{eq} = A(^{226}\text{Ra}) + 1,43 A(^{228}\text{Ra}) + 0,077 A(^{40}\text{K}) \text{ (Isinkaye \& Ajayi, 2006), onde}$$

$A(^{226}\text{Ra})$ é a atividade devido ao ^{226}Ra em Bq.kg^{-1}

$A(^{228}\text{Ra})$ é a atividade devido ao ^{228}Ra em Bq.kg^{-1}

$A(^{40}\text{K})$ é a atividade devido ao ^{40}K em Bq.kg^{-1}

A normas brasileiras (CNEN - NE-6.02 e CNEN - NE-3.01), da CNEN regulam a utilização da radiação ionizante no Brasil.

A norma CNEN-NE 3.01, de Diretrizes Básicas de Radioproteção define que:

Trabalhador Sujeito a Radiações (ou simplesmente trabalhador) - pessoa que, em consequência do seu trabalho possa vir a receber, por ano, doses superiores aos limites primários para indivíduos do público.

(...)

5.1.1 Nenhum trabalhador deve ser exposto à radiação sem que:

a - seja necessário;

b - tenha conhecimento dos riscos radiológicos associados ao seu trabalho; e
c - esteja adequadamente treinado para o desempenho seguro das suas funções.

A CNEN publicou a norma CNEN-NN - 4.01 em janeiro de 2005, intitulada *Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica para Instalações Mínero-Industriais*. Nesta norma o órgão regulador estabelece critérios de obrigatoriedade de fiscalização de instalações que manuseiem materiais radioativos ou que cujas práticas exponham os trabalhadores a condições insalubres devido à presença de materiais radioativos.

A Norma define: *Instalação mínero-industrial com urânio e ou tório associado*

de três radionuclídeos: o ^{226}Ra (devido a presença de urânio), ^{228}Ra (devido a presença de tório) e o ^{40}K , radionuclídeo mais comum na natureza (Jibiri et al, 2007).

Ainda não existe um Ra_{eq} para os produtos usados na nutrição humana e animal, mas é recomendável que se discuta tal valor (FAO/WHO, 2005).

ou simplesmente Instalação - local no qual matérias-primas, contendo radionuclídeos das séries naturais do urânio e ou tório são lavradas, beneficiadas e industrializadas, incluindo os depósitos de rejeitos e locais de armazenamento de resíduos.

Classifica as instalações da seguinte forma:

Instalações da Categoria I: São as instalações que apresentam atividade específica das substâncias radioativas sólidas naturais ou concentradas superior a 500 Bq/g .

Instalações da Categoria II: São as instalações que apresentam atividade específica das substâncias radioativas sólidas naturais ou concentradas compreendidas entre 500 Bq/g e 10 Bq/g .

Instalações da Categoria III: São as instalações que apresentam atividade específica das substâncias radioativas sólidas naturais ou concentradas inferior a 10 Bq/g .

Outros países possuem valores mais rígidos para os limites máximos permitidos de radioatividade natural nos produtos minerais, incluindo os de uso na agricultura.

Nos Estados Unidos, a agência ambiental *EPA - US Environmental Protection Agency*, recomenda o limite de isenção de 370 Bq/kg de radioatividade máxima devida a presença do ^{226}Ra , porém o estado do Oregon adota o valor de 185

Bq/kg de radioatividade devida a presença de ^{226}Ra no produto como o **limite de isenção** - valor acima do qual os produtores são obrigados a manter rígido controle de sua produção e entregar periodicamente relatórios minuciosos aos órgãos reguladores do estado (Oregon Secretary of State, 2008).

Segundo o Documento 1257 *Assessing the Need for Radiation Protection Measures in Work Involving Minerals and Raw Materials* da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 2006), os produtos com atividade específica de ^{226}Ra igual ou acima de 500 Bq.kg^{-1} devem ser monitorados e controlados.

A determinação do limite de isenção para a radioatividade nos produtos de uso na agricultura (como o fosfato e o fosfogesso) é um assunto efervescente (IAEA, 2006), uma vez que o limite de tal natureza é baseado nos efeitos biológicos da radiação.

A extensão dos efeitos biológicos das radiações ionizantes com níveis próximos à radiação natural do planeta não são consensualmente reconhecidos. Para as radiações ionizantes, com potencial genotóxico e carcinogênico, não há limites de dose que assegurem uma exposição sem efeitos deletérios de longo prazo, daí a discrepância nos limites adotados para a radiação máxima nos fosfatos. Prevalece o princípio básico da radioproteção chamado *ALARA As Low As Reasonable Achievable*, que pode ser entendido como “a exposição ocupacional às radiações ionizantes deve ser mantida no nível mais baixo possível, evitando-se exposições desnecessárias” (Kolluru et al, 1996; CNEN, 1988).

Cabe diferenciar os limites máximos admissíveis entre produtos que são usados externamente em paredes, onde permaneceram por gerações, expondo o público em geral - daqueles que são manipulados (na indústria ou na fazenda), com maior risco de serem ingeridos ou inalados no momento da manipulação.

As partículas alfa (^{226}Ra) são extremamente energéticas mas com alcance

curto, da ordem de milímetros, sendo assim nocivas e com risco real a células dos sistemas digestório e respiratório. Pelo decaimento radioativo, o ^{226}Ra decai em ^{222}Rn , gás de alto poder genotóxico e carcinogênico. Daí os limites da IAEA, EPA e do governo do Oregon serem baseados exclusivamente na atividade específica do ^{226}Ra . A preocupação é focada no trabalhador que lida diretamente com o produto. O uso de máscaras que protegem contra o material particulado (sólido) dentro da indústria, não é suficiente para proteger contra a inalação de radônio (gás).

Já o ^{228}Ra e o ^{40}K são radioisótopos de decaimento beta, com energias mais baixas - porém de maior alcance (centímetros) que as partículas alfa. Assim, usa-se o Ra_{eq} para limitar-se a exposição externa, focando na exposição do público ou dos residentes de um imóvel a todos três radioisótopos, por longos períodos.

4.2. Objetivo

O experimento teve como finalidade determinar a radioatividade natural da farinha de ossos (bovinos) calcinada FAR e dos fosfatos bicálcico BIC, monoamônico FMA, supersimples FSS, supertriplo FST, fosfosulfato amônio FSA, polifosfato de amônio e cálcio POLI, fosfato de rocha importado de Israel PR e de um sal mineral bovino SMB quanto aos três radionuclídeos: o ^{226}Ra (devido a presença de urânio), ^{228}Ra (devido a presença de tório) e o ^{40}K , radionuclídeo mais comum na natureza. A partir dos valores obtidos foi possível classificá-los segundo as normas brasileiras e internacionais, sob o aspecto da radioatividade natural.

4.3. Material e Métodos

Inicialmente, por uso da Ativação Neutrônica, determinou-se a concentração de K nos produtos. Como o ^{40}K está em equilíbrio secular com os outros isótopos do potássio, usa-se a abundância isotópica para

encontrar sua participação no total de potássio da amostra:

$$\text{Conc.}({}^{40}\text{K}) = 0,01167 * \text{Conc} (\text{K}_{\text{elementar}})$$

Para a determinação dos ${}^{226}\text{Ra}$ e ${}^{228}\text{Ra}$, utilizou-se a espectrometria gama com detector HPGe (germânio ultra puro).

Amostras representativas de 1,0g de cada produto foram acondicionadas em tubos próprios e colocadas dentro da blindagem onde um espectrômetro gama fez a contagem das atividades por um período

de 4 (quatro) horas, propiciando uma ótima estatística de contagem. Energias gamas correspondentes foram: para o ${}^{226}\text{Ra}$ - 351 keV de sua progenia ${}^{214}\text{Bi}$, e para o ${}^{228}\text{Ra}$ - 911 keV de sua progenia ${}^{208}\text{Tl}$.

4.4. Resultados e Discussão:

Os resultados (tab. 13) mostram que todos produtos possuem baixa presença/atividade do radionuclídeo ${}^{40}\text{K}$, uma vez que as fontes de fósforo não possuem grandes concentrações de potássio.

Tabela 13 Atividades do ${}^{226}\text{Ra}$, ${}^{228}\text{Ra}$, ${}^{40}\text{K}$ e atividade relativa do Ra

Fosfato	Atividade (Bq.kg^{-1})			Ra_{eq} (calculado)
	${}^{226}\text{Ra}$	${}^{228}\text{Ra}$	${}^{40}\text{K}$	
<i>POL</i>	140 ± 40	400 ± 100	250 ± 20	730 ± 184
<i>FST</i>	20 ± 10	600 ± 100	290 ± 10	898 ± 154
<i>FMA</i>	10 ± 10	60 ± 20	220 ± 10	111 ± 39
<i>FSS</i>	500 ± 100	500 ± 100	100 ± 10	1222 ± 244
<i>SMB</i>	60 ± 20	120 ± 30	280 ± 20	251 ± 64
<i>FSA</i>	10 ± 10	30 ± 10	250 ± 10	70 ± 25
<i>PR</i>	1600 ± 200	80 ± 30	380 ± 20	1741 ± 244
<i>BIC</i>	10 ± 10	90 ± 30	140 ± 10	149 ± 54
<i>FAR</i>	40 ± 10	30 ± 10	170 ± 10	95 ± 25

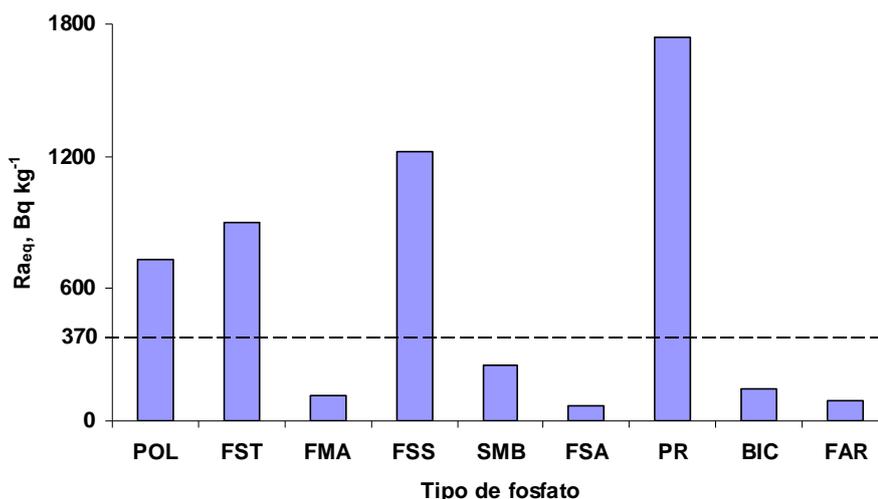


Figura 5: Gráfico Ra_{eq} (Bq.kg^{-1}) dos produtos estudados e o Ra_{eq} limite da construção civil

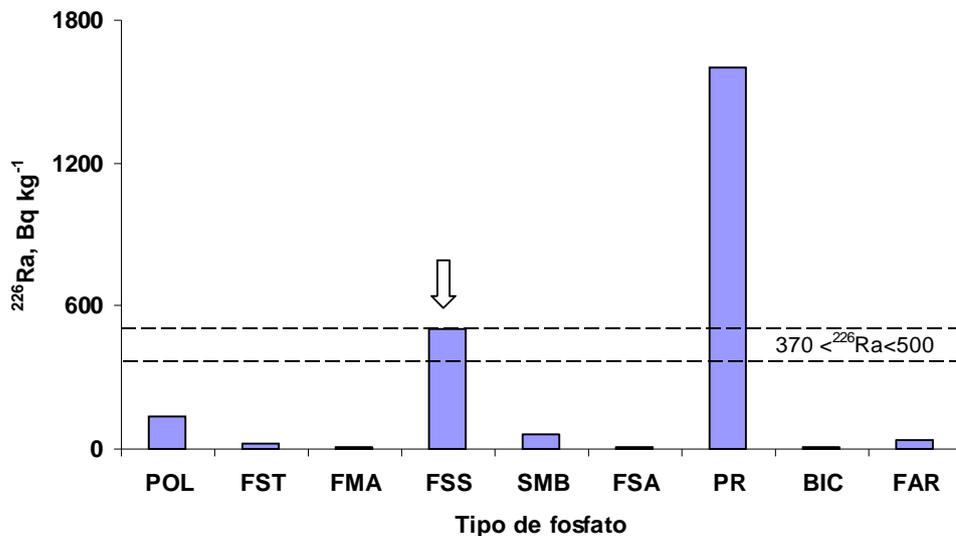


Figura 6 Atividade do ^{226}Ra (Bq.kg $^{-1}$) nos produtos estudados e limites da EPA e IAEA

Os produtos FMA, SMB, FSA, BIC e FAR possuem os menores valores de radioatividade entre todos os produtos estudados.

Como ilustração, os produtos POL, FST, FSS e PR não poderiam ser usados como insumo na construção civil devido à elevada radioatividade que emitem (fig. 5).

O PR (fosfato de rocha importado de Israel) é o produto com a radioatividade mais elevada, suficiente para classificá-lo como NORM, o que torna sua indústria susceptível ao controle do órgão nuclear de seu país. Porém, o produtor do PR seria isentado de controle externo pela norma brasileira (CNEN, 2005), uma vez que todos os fosfatos (incluindo o PR) apresentam radioatividade abaixo do chamado do limite de isenção, que no Brasil é 10000 Bq.kg $^{-1}$.

Houve discordância quanto a classificação do produto FSS (fig. 6), que seria isento do controle radiológico segundo as normas da CNEN, EPA e da IAEA (2006), porém não teria a isenção de fiscalização da Secretaria de Estado do Oregon (Oregon Secretary of State, 2008).

Uma situação que deve ser discutida é como os fertilizantes, na forma granulada ou pulverulenta são estocados e manipulados por trabalhadores rurais. Em muitos casos, não há esclarecimento quanto às normas de segurança e aos riscos a que estes trabalhadores estão submetidos em seu local de trabalho, o que contraria CNEN-NE 3.01, de *Diretrizes Básicas de Radioproteção*.

Kolluru et al. (1996) afirmam que em geral, os trabalhadores da agroindústria e silvicultura têm pouco controle sobre as circunstâncias intrínsecas do trabalho. No caso de exposição às radiações ionizantes de baixa energia, este fato é ainda mais dramático, visto que não há informação disponível nas embalagens dos produtos fosfáticos alertando para a presença de radiação ionizante, o que a torna praticamente um risco invisível.

A Portaria N $^{\circ}$ 777 do Ministério da Saúde, publicada em 28 de abril de 2004, entre outros pontos, define no Art. 1 $^{\circ}$ *Regulamentar a notificação compulsória de agravos à saúde do trabalhador - acidentes*

e doenças relacionados ao trabalho – em rede de serviços sentinela específica.

§ 1º São agravos de notificação compulsória, para efeitos desta portaria:

(...)

VI - Intoxicações Exógenas (por substâncias químicas, incluindo agrotóxicos, gases tóxicos e metais pesados);

(...)

XI - Câncer Relacionado ao Trabalho.

Assim, os agravos à saúde do trabalhador que ocorram pela manipulação e uso dos fosfatos, seja na indústria, seja em fábricas de ração ou na fazenda, são de comunicação obrigatória ao SUS.

A intervenção do poder público na questão é extremamente recomendável, no intuito da criação de políticas – principalmente de comunicação e treinamento para a manipulação e uso seguro destes produtos nas atividades agrícolas. Compete ao poder público elaborar propostas de ações que facilitem acesso às tecnologias (especialmente EPI – equipamentos de proteção individual e programas de radioproteção laborativa) e à assistência técnica.

A harmonização da norma brasileira com as normas de segurança adotadas no exterior deve ser discutida.

4.5. Conclusões

Os fosfatos FST, FSS e PR são os produtos analisados com as radioatividades mais elevadas.

O PR - fosfato de rocha importado de Israel é o único produto que pode ser classificado como NORM.

A nova norma da CNEN *Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica para Instalações Mínero-Industriais* vem preencher um hiato na regulação das atividades da indústria do fosfato. Porém, seu limite de isenção é bem superior aos valores internacionais para este tipo de indústria, onde há a ocorrência natural de radionuclídeos.

A norma não contempla a exposição dos trabalhadores rurais, que estão sujeitos a produtos de perfil radiológico desconhecido, uma vez que não há legislação que obrigue o importador a analisar a radioatividade dos produtos provenientes do exterior.

Somente que a pressão de órgãos fiscalizadores internacionais (FAO, IAEA, UNSCEAR, Secretaria de Comércio dos EUA, União Européia, entre outras) haverá uma mudança nos valores dos limites adotados no Brasil para os produtos minerais usados na nutrição animal.

CAPÍTULO 5

COMPOSIÇÃO MINERAL DA DIETA E DE TECIDOS MUSCULARES DE COELHOS NOVA ZELÂNDIA BRANCO

5.1. Introdução

A dieta desempenha um papel fundamental na saúde e manutenção da saúde do coelho, bem como na qualidade da carne para consumo humano (Cheeke, 1987; Lebas et al, 1997).

Conhecer o conteúdo nutricional dos alimentos, é sem dúvida a primeira etapa dos estudos da nutrição, pois só com um banco de dados confiáveis, será possível:

- determinar as quantidades adequadas de cada alimento na dieta humana e animal;
- selecionar e produzir espécies ricas ou carentes em nutrientes específicos;

- limitar ou proibir o consumo de alimentos tóxicos ou perigosos à saúde;
- determinar padrões de produção, transporte e armazenamento de alimentos (Iyengar et al, 2000).

O estudo dos tecidos animais cumpre com outro propósito (além de avaliar a carne oferecida à população): é um instrumento na avaliação da saúde do animal, no estabelecimento de relações entre carência (ou intoxicação) e o aparecimento de sintomas clínicos e sub-clínicos. Ressalta-se que somente um animal saudável poderá se tornar uma fonte eficiente e segura de nutrientes para o homem (Iyengar et al, 2000).

5.2. Exigências minerais para coelhos em desenvolvimento

Na literatura mundial e brasileira, encontram-se valores recomendados de

diversos nutrientes essenciais na nutrição dos coelhos em desenvolvimento, destacando-se:

Tabela 14: Valores recomendados para os macro e microelementos na nutrição de coelhos em crescimento (dados em %, exceto Zn, Mg e Mn, dados em $g \cdot \mu g^{-1}$)

Autor	Ca	P	Na	Cl	K	Zn	Mg	Mn
NRC, 1977*	0,4	0,22	0,2	0,30	0,6	-	-	8,5
Lebas, 1990*	0,8	0,50	0,2	0,35	0,6	-	-	8,5
Furlan, 1994*		0,30						
Vandelli, 1995	0,8	0,50	-	-	-	-	-	-
Xiccato, 1996*	0,8-0,9	0,60	0,2	0,30	-	-	-	25
Lebas et al., 1997	0,9-1,2	0,60-0,80	0,3	0,32	0,6	50	2500	8,5

5.3. Objetivos:

Formular dietas com as fontes de fósforo sob investigação no experimento, obedecendo as exigências nutricionais para coelhos em desenvolvimento.

Determinar os perfis minerais das dietas e dos tecidos musculares *longissimus dorsi* dos coelhos do experimento, abatidos aos 72 dias.

5.4. Formulação das rações empregadas no experimento:

As rações empregadas neste experimento foram formuladas utilizando-se o software PLE[®], respeitando-se as necessidades nutricionais de coelhos em crescimento (Cheeke, 1987).

Tabela 15 Formulação da dieta de referência

Ingrediente	Percentual
Feno de alfafa	34,63
Farelo de trigo	25,00
MDPS	15,00
Farelo de soja	12,13
Milho	6,05
Fonte de fósforo ¹	2,00
Melaço em pó	2,00
Calcário	1,00
Óleo de soja degomado	1,00
Sal branco (NaCl)	0,50
Premix ²	0,40
Lisina	0,25
Metionina	0,04
Total	100,00

¹ fosfatos e farinha de ossos calcinada

² Composição do *premix* vitamínico/mineral por kg de produto: Vit. A: 2000000 UI; Vit.

D3: 20000 UI; Vit. E: 4000 mg; Vit. K3: 722 mg; Vit. B1: 400 mg; Vit. B2: 1000 mg; Vit. B6: 600 mg; Vit. B12: 2000 mcg; Niacina: 6000 mg; Ácido fólico: 100 mg; Ácido pantotênico: 3000 mg; Biotina: 21 mg; Colina: 100000 mg; selênio: 19 mg; iodo: 140 mg; cobalto: 200mg; ferro: 20000 mg; cobre: 4000 mg; manganês: 4000 mg; zinco: 14000 mg; Avilamicina: 1000 mg.
MDPS milho desintegrado com palha e sabugo

5.5. Material e Métodos:

Foram testados os produtos¹: farinha de ossos calcinada (FAR), fosfato bicálcico (BIC), fosfato super triplo (FST), fosfato super simples (FSS), fosfato mono-amônico (FMA), fosfosulfato de amônio (FSA), polifosfato de cálcio e amônio (POLI) e um sal mineral bovino (SMB). Cada fonte foi introduzida na dieta referência com 2% de participação.

Os dados elementares foram obtidos com pela a análise por ativação neutrônica, exceção de P - colorimetria com fosfomobilitado (AOAC, 1990), e flúor por potenciometria de íon seletivo (Cunniff, 1995).

As análises (tabela 16) de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente ácido, lisina, metionina e cistina, e extrato etéreo segundo a literatura (MAPA, 2007) foram feitas na mistura contendo 98% da dieta, amostras colhidas antes da introdução da fonte de fósforo.

Tabela 16 Composição Química da dieta

Nutriente	Percentual
Matéria Seca	88,80
Proteína Bruta	17,02
FDA	17,53
Lisina total	0,75
Metionina + Cistina	0,55
<i>ED coelho (kcal/kg)</i>	<i>2600</i>

Tabela 17: Análise multielementar das rações experimentais ($\mu\text{g. g}^{-1}$), três repetições

Elemento	POLI	FST	FAR	BIC	FSS	FMA	FSA	SMB
P	8981 \pm 562	8954 \pm 498	7925 \pm 511	8928 \pm 485	6615 \pm 352	9513 \pm 588	7174 \pm 395	7453 \pm 336
Ca	14200 \pm 995	13900 \pm 788	15400 \pm 969	14830 \pm 855	14300 \pm 798	10290 \pm 566	9870 \pm 696	14489 \pm 880
K	14500 \pm 561	15200 \pm 622	16200 \pm 658	14070 \pm 612	15120 \pm 601	14900 \pm 583	14010 \pm 541	14920 \pm 647
Na	2120 \pm 159	2460 \pm 147	2610 \pm 152	2131 \pm 149	2540 \pm 214	2671 \pm 201	2320 \pm 115	2019 \pm 129
Cl	4850 \pm 368	4796 \pm 325	5007 \pm 251	4980 \pm 264	4890 \pm 307	5246 \pm 265	4920 \pm 251	5023 \pm 300
Mg	2570 \pm 225	3190 \pm 241	2420 \pm 188	2050 \pm 195	2500 \pm 205	2534 \pm 196	3290 \pm 177	2980 \pm 201
Mn	88,5 \pm 7,15	52,8 \pm 5,63	59,7 \pm 5,98	42,1 \pm 5,24	44,3 \pm 5,28	84,0 \pm 6,91	99,2 \pm 7,89	102,0 \pm 9,02
Fe	915 \pm 78	1060 \pm 85	577 \pm 58	756 \pm 72	1110 \pm 95	1090 \pm 87	724 \pm 71	773 \pm 73
Zn	113 \pm 12	99 \pm 10	134 \pm 15	121 \pm 12	106 \pm 10	114 \pm 15	124 \pm 12	119 \pm 18
Rb	18,9 \pm 1,2	21,2 \pm 1,3	21,0 \pm 1,5	20,3 \pm 1,2	20,8 \pm 1,3	18,4 \pm 1,0	20,2 \pm 1,3	24,6 \pm 1,5
Co	1,64 \pm 0,45	1,08 \pm 0,42	1,52 \pm 0,28	2,70 \pm 0,55	1,73 \pm 0,38	2,72 \pm 0,19	3,01 \pm 0,31	2,69 \pm 0,34
As	< 0,3*							0,53 \pm 0,15
Ba	< 140*				346 \pm 52			
Br	3,65 \pm 0,35	2,85 \pm 0,29	0,82 \pm 0,19	1,23 \pm 0,25	1,44 \pm 0,32	0,93 \pm 0,21	1,13 \pm 0,22	2,98 \pm 0,31
Ce	24,0 \pm 1,9	22,8 \pm 2,1	3,7 \pm 1,2	3,8 \pm 1,1	34,4 \pm 1,7	11,2 \pm 1,1	2,5 \pm 1,0	2,6 \pm 1,2
Cs	0,169 \pm 0,031	0,179 \pm 0,029	0,188 \pm 0,034	0,154 \pm 0,051	0,199 \pm 0,038	0,183 \pm 0,025	0,155 \pm 0,029	0,189 \pm 0,028
F	180 \pm 17	186 \pm 15	70 \pm 10	86 \pm 11	54 \pm 12	92 \pm 18	390 \pm 21	440 \pm 29
Th	2,020 \pm 0,341	2,030 \pm 0,289	0,347 \pm 0,101	< 0,1*	3,400 \pm 0,202	0,444 \pm 0,118	0,211 \pm 0,070	0,23 \pm 0,09
U	0,563 \pm 0,059	0,581 \pm 0,081	0,107 \pm 0,065	3,304 \pm 0,067	0,976 \pm 0,079	3,870 \pm 0,086	0,429 \pm 0,057	0,14 \pm 0,04
V	3,19 \pm 0,19	4,10 \pm 0,32	0,85 \pm 0,14	0,62 \pm 0,11	2,38 \pm 0,19	1,56 \pm 0,17	2,32 \pm 0,27	2,6 \pm 0,2

* Limite de detecção da técnica. Notação: farinha de ossos calcinada (FAR), fosfato bicálcico (BIC), fosfato super triplo (FST), fosfato super simples (FSS), fosfato mono-amônico (FMA), fosfosulfato de amônio (FSA), polifosfato de cálcio e amônio (POLI)

Tabela 18: Composição elementar do músculo *longissimus dorsi*, média de cada tratamento ($\mu\text{g. g}^{-1}$), n=12

Elemento	POLI	FST	FAR	BIC	FSS	FMA	FSA	SMB
K	4692 ^b	5180 ^{ab}	5083 ^{ab}	4576 ^b	5794 ^a	5911 ^a	4405 ^b	4120 ^b
Na	348 ^b	357 ^b	386 ^{ab}	390 ^{ab}	483 ^a	484 ^a	338 ^{bc}	399 ^{ab}
Cl	532 ^{ab}	448 ^b	471 ^{ab}	620 ^a	487 ^{ab}	415 ^b	501 ^{ab}	403 ^b
Mg	359 ^b	440 ^a	356 ^b	396 ^{ab}	398 ^{ab}	391 ^{ab}	463 ^a	352 ^b
Mn	< 0,6*							
Fe	< 345*							
Zn	< 20*							
Rb	12,6 ^a	9,9 ^b	11,4 ^{ab}	11,1 ^{ab}	5,9 ^c	14,3 ^a	12,3 ^a	11,0 ^{ab}
Co	0,110 ^a	0,073 ^b	0,080 ^{ab}	0,106 ^a	0,101 ^a	0,087 ^{ab}	0,073 ^b	0,089 ^{ab}
As	< 0,2*							
Ba	< 90*							
Br	< 4,3*							
Ce	< 1,2*							
Cs	0,070 ^{ab}	0,080 ^{ab}	0,090 ^a	0,067 ^b	0,080 ^{ab}	0,112 ^a	0,073 ^{ab}	0,058 ^b
F	<40*						64 ^a	72 ^a
Th	< 50*							
U	< 0,6*							
V	< 1*							

¹Médias com letras diferentes, na mesma linha diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$), n=12

* Limite de detecção da técnica. Notação: farinha de ossos calcinada (FAR), fosfato bicálcico (BIC), fosfato super triplo (FST), fosfato super simples (FSS), fosfato mono-amônico (FMA), fosfosulfato de amônio (FSA), polifosfato de cálcio e amônio (POLI)

5.6. Discussão dos resultados

Todos os elementos analisados nas dietas apresentaram concentrações que satisfazem as exigências nutricionais para coelhos em crescimento. Apenas a concentração de flúor em duas dietas (formuladas com o sal mineral bovino e fosfosulfato de amônia) foi superior ao limite máximo admissível recomendado que é inferior a 400 ppm (Lebas et al, 1997).

As concentrações dos minerais tanto nas dietas como nos tecidos musculares (tabelas 17 e 18) foram bastante diversas entre os tratamentos, porém seus os valores para a maioria dos elementos quantificados nos tecidos musculares estão de acordo com a literatura (USDA, 2007; Combes, 2004; Lebas, 1997).

A interação entre o conjunto de elementos presentes na dieta não é bem estabelecida, e deve ser objeto de futuras pesquisas (FAO, 2007). Ahola et al (2004) trabalharam com suplementação de bovinos com fontes de Cu, Zn e Mn, e afirmam que o conhecimento atual da interação de microelementos na dieta ainda não é suficientemente claro, e deve ser objeto de futuros estudos.

De fato, a homeostase mineral envolve o controle das concentrações intra e extracelulares de Ca, P e Mg e suas inter-relações com o hormônio da paratireóide (PTH), vitamina D e calcitonina (CT), atuando nos tecidos-alvo: osso, rins e intestino. Outros íons estão envolvidos: Na, K, cloro (Cl), bicarbonato, sulfato, e alteram também o envolvimento celular de Ca, P e Mg. Existem também outros hormônios que contribuem de forma importante para a regulação da homeostase mineral óssea: prolactina, glicocorticóides, hormônio de crescimento, insulina, e um grande número de citocinas. Sabe-se que existem outros tecidos-alvo, além dos conhecidos, que também participam da homeostase mineral. Este complexo sistema regula a homeostase mineral, e determina as reservas de minerais nos tecidos. Sua análise é complexa, e

requer diversas técnicas adicionais, especialmente de moléculas e compostos orgânicos.

A princípio, a presença de céσιο no tecido muscular pode causar estranheza, mas o elemento é componente até mesmo de tecidos musculares humanos de pessoas saudáveis e que nunca foram expostas a altas concentrações do elemento (Iyengar et al, 1978). O valor do elemento nos músculos dos coelhos do experimento é próximo ao encontrado em humanos que é de 0,10 ppm (Iyengar et al, 1978).

O teor de Rb nos tecidos musculares parece ser inédito na literatura. O rubídio não é considerado um elemento essencial e parece não ser um elemento tóxico (NRC, 1980).

Os teores de flúor nos tecidos dos coelhos dos dois tratamentos com fontes de alta concentração do elemento estão acima dos valores de referência para carne bovina e de aves: 0,05-0,50 ppm, com média 0,20 ppm (Institute of Medicine, 1997; USDA, 2004).

5.7. Conclusões

Não ocorreu a deposição de nenhum elemento considerado tóxico (à exceção do F), ou em concentrações discrepantes com a literatura, em nenhum dos tratamentos do experimento.

A exceção se dá quanto ao valor de F encontrado nos tecidos dos coelhos que receberam o sal mineral bovino e o fosfosulfato de amônia. Houve deposição do elemento nos dois grupos.

Houve efeito da dieta sobre a composição mineral. Os tecidos musculares dos animais apresentaram diferenças significativas para as concentrações de K, Na, Cl, Mg, Rb, Co e Ce - Teste SNK ($P < 0,5\%$).

As técnicas analíticas mostraram-se mais adequada à dieta do que aos tecidos, em função do alto limite de detecção para alguns elementos das matrizes biológicas.

CAPÍTULO 6

IMPACTO DO FLÚOR SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO DE COELHOS NOVA ZELÂNDIA RECEBENDO CALCÁRIO, SETE FOSFATOS E FARINHA DE OSSOS COMO FONTES DE FÓSFORO E CÁLCIO

6.1. Introdução

O flúor é o elemento mais eletronegativo da tabela periódica. O F combina de forma reversível com o hidrogênio formando o ácido HF. Este ácido possui grande poder de difusão, o que explica a grande absorção do F no estômago e sua presença nos fluidos intra e extracelulares. Sua elevada afinidade com o Ca torna o F um elemento sempre presente nos tecidos calcificados (Institute of Medicine, 1997).

O F também está presente na cadeia alimentar: praticamente todo alimento possui F em sua composição, principalmente as bebidas, uma vez que o F está presente na natureza em formas bastante solúveis (USDA, 2004). O F pode ser encontrado nos alimentos em concentrações (mg.kg^{-1}) nas seguintes faixas: Carne de boi e frango - 0,04 a 0,51; Leite e derivados - 0,02 a 0,82,

Vegetais - 0,08 a 0,70; Grãos e cereais - 0,08 a 2,00 (Institute of Medicine, 1997).

Alimentos produzidos em áreas de grande concentração de F no ambiente apresentam valores mais elevados de F em sua composição (ATSDR, 2003).

Uma grande fonte de F na cadeia alimentar são os fosfatos. Praticamente toda rocha fosfática não tratada possui F em sua estrutura. Os fosfatos dos tipos *food-grade* e *feed-grade* são beneficiados industrialmente para a remoção deste e de outros contaminantes, evitando que o flúor entre em elevadas concentrações na cadeia alimentar humana e animal (FAO, 2004; Lung et al, 2002).

Trabalho com bovinos demonstra que o emprego de fosfatos com altos teores de flúor na dieta animal ocasiona menor ingestão de alimentos e pior conversão (Lima, 2000), contudo não relata variações nos pesos dos fígados dos animais.

6.2. Objetivo

Este trabalho foi realizado para se avaliar o efeito do uso de fosfatos com diferentes concentrações de flúor sobre as variáveis zootécnicas de coelhos em desenvolvimento dos 30 aos 72 dias: peso final, ganho de peso, conversão e peso do fígado de coelhos alimentados com dietas formuladas com 2% de cada uma das fontes, no período dos 30 aos 72 dias de vida.

Foram testados os produtos: uma farinha de ossos calcinada (FAR), fosfato bicálcico (BIC), fosfato super triplo (FST), fosfato super simples (FSS), fosfato monoamônico (FMA), fosfosulfato de amônio (FSA), polifosfato de cálcio e amônio (POLI) e um sal mineral bovino (SMB).

6.3. Materiais e Métodos

Este experimento foi autorizado pelo comitê responsável por experiências com

animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA-UFMG Protocolo 44-04),

sendo conduzido no Laboratório de Metabolismo Animal – área de coelhos e animais silvestres do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, entre setembro e outubro de 2005, seguindo princípios éticos de cuidados durante o experimento e no abate dos animais (NRC, 1996).

Foram utilizados 96 coelhos da raça Nova Zelândia, variedade branca. Os láparos estavam com idade de 30 dias e estavam recém-desmamados, com peso médio de $685,1 \pm 108,4$ g. Os animais foram divididos em oito grupos de 12 animais, equilibradamente divididos por sexo e peso, em cada tratamento. Os grupos não apresentaram diferença significativa de peso vivo aos 30 dias, teste SNK ($P < 0,05$) realizado utilizando-se o pacote estatístico SAEG (SAEG, 2005).

O Laboratório conta com sistema de ventilação e exaustão, insolação indireta e iluminação artificial no período diurno. Os láparos foram alojados individualmente em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 60 x 30 x 45 cm (comprimento, largura e altura). Os láparos foram distribuídos de maneira aleatória pelo galpão. A água foi servida à vontade em bebedouros do tipo chupeta semi-automática e o alimento servido em comedouros de chapa galvanizada no interior da gaiola. A higienização das gaiolas foi realizada diariamente no período da manhã com remoção sistemática de fezes e urina e limpeza geral.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado de oito tratamentos e 12 repetições, sendo cada tratamento representado por dieta composta com 2% de uma fonte mineral diferente de fósforo e os demais ingredientes formulados de forma idêntica, em todas as dietas experimentais, respeitando as exigências nutricionais para coelhos em desenvolvimento. As relações Ca: P de todos os grupos estão de acordo com as recomendações; o coelho tolera altas concentrações de Ca, pois o elimina o

excesso de Ca via urina (Cheeke, 1987; Lebas *et al*, 1997).

Durante os 42 dias de experimento, os animais receberam água e ração à vontade até o dia do abate, quando a ração foi retirada às 07:00 da manhã. O abate ético-humanitário foi realizado no setor de Cunicultura da Escola de Veterinária da UFMG em Igarapé, MG. O método de abate foi pela sangria por punção na jugular, realizada rapidamente, com entrada individual no local de abate

As análises químicas foram realizadas utilizando técnicas consagradas na análise de alimentos, recomendadas pelo Ministério da Agricultura em sua publicação *Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para Uso Animal* (MAPA, 2007); a determinação da concentração de fósforo foi feita pela técnica de método espectrofotométrico do ácido molibdovanadofosfórico; a concentração de cálcio foi realizada pelo método espectrométrico por absorção atômica, e a determinação do flúor foi realizada pela técnica de potenciometria de eletrodo seletivo para o íon F^- .

Todas análises químicas das concentrações de fósforo, cálcio e flúor foram realizadas nas dependências do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN) em Belo Horizonte, MG. Os tecidos de interesse (deste e de outros trabalhos) foram colhidos e estocados em congelador até a análise laboratorial.

6.4. Resultados

Tabela 19. Composição Mineral das dietas formuladas com os fosfatos de interesse (dados em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, exceção das razões Ca:P e P:F dadas em $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Elemento	POLI	FST	FAR	BIC	FSS	FMA	FSA	SMB
P	8981	8954	7925	8928	6615	9513	7174	7453
Ca	14200	13900	15400	14830	14300	10290	9870	14489
Ca:P	1,58	1,55	1,94	1,66	2,16	1,08	1,38	1,94
F	180 ± 17	186 ± 15	70 ± 10	86 ± 11	54 ± 12	92 ± 18	390 ± 21	440 ± 29
P:F	49,89	48,14	132,08	103,81	70,37	103,40	18,39	16,94

Tabela 20. Variáveis Zootécnicas de interesse – Concentração de F na dieta, ganho de peso total, peso vivo total, consumo total, conversão e peso do fígado de coelhos do experimento (gramas), concentração de F na dieta: e conversão: ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

Variáveis	POLI	FST	FAR	BIC	FSS	FMA	FSA	SMB
Ganho total ¹	1370,0 ^a	1409,6 ^a	1446,6 ^a	1449,5 ^a	1320,5 ^a	1366,7 ^a	1009,1 ^b	1016,9 ^b
Peso vivo final ¹	2047,9 ^a	2115,6 ^a	2132,7 ^a	2136,7 ^a	1989,0 ^a	2059,4 ^a	1696,5 ^b	1703,6 ^b
Consumo total ¹	3934,1 ^a	4031,6 ^a	4283,4 ^a	4312,6 ^a	3992,84 ^a	4177,3 ^a	3231,0 ^b	3350,1 ^b
Conversão ¹	2,872 ^a	2,860 ^a	2,963 ^{ab}	2,996 ^{ab}	3,049 ^{ab}	2,988 ^{ab}	3,265 ^b	3,305 ^b
Peso Fígado ¹	69,9 ^{ab}	60,3 ^b	69,9 ^{ab}	70,1 ^{ab}	75,2 ^a	64,1 ^{ab}	47,0 ^c	46,9 ^c

¹Médias com letras diferentes, na mesma linha diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$), $n=12$, 96 animais, período 30-72 dias (SAEG, 2005)

Neste estudo, dois grupos (tabela 19) apresentaram concentração de F⁻ na faixa de 400 ppm: o grupo suplementado com Sal Mineral Bovino (SMB) e o suplementado com fosfosulfato de amônio (FSA), com 440 e 390 ppm de F⁻ nas dietas, respectivamente.

Lebas *et al* (1997) em publicação da FAO, afirmam que a concentração máxima admissível de F na dieta para coelhos em desenvolvimento antes do aparecimento de efeitos deletérios é de 400 ppm de F⁻, o que é corroborado com as observações realizadas no presente experimento (tabelas 19 e 20).

Furlan *et al* (1994) atribuíram os piores resultados para a conversão alimentar às dietas para coelhos em desenvolvimento

formuladas com fosfatos de rocha que apresentavam altas concentrações de flúor; contudo seu estudo não analisou o valor total de F na dieta, usando apenas o valor de F no fosfato, considerando que só a contribuição deste ingrediente para o F presente na dietas.

Com as análises realizadas, constata-se concentrações significativas de F em outros ingredientes da formulação.

No presente estudo foram avaliadas as concentrações de F total na dieta e também em seus ingredientes (individualmente), encontrando-se: (0,170 ± 0,020)% no calcário calcítico e (0,030 ± 0,010)% no melão de cana em pó – ambos empregados na formulação da dieta.

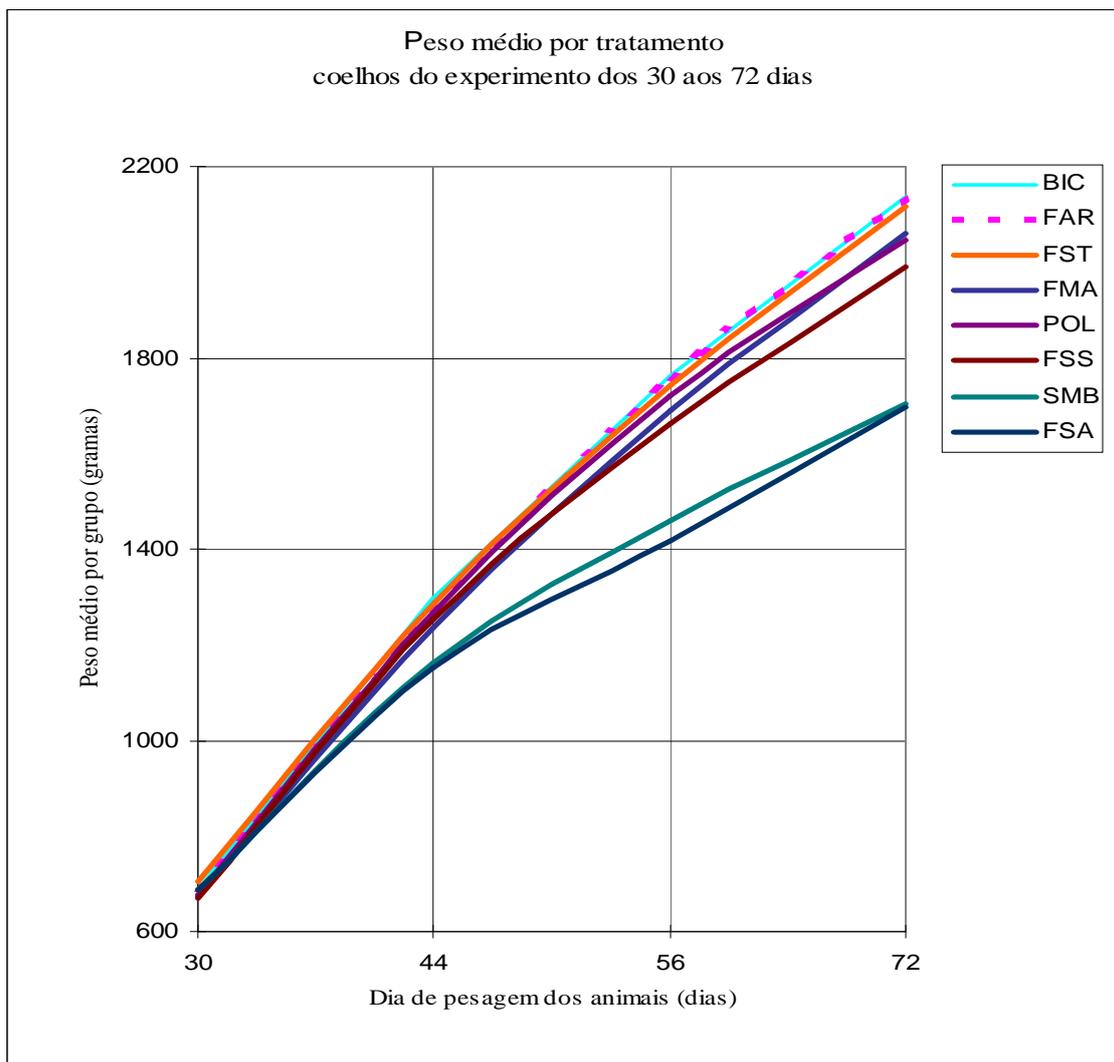


Figura 7. Curvas de crescimento dos grupos do experimento, coelhos dos 30 aos 72 dias

As curvas de crescimento têm forma semi-sigmoidal (fig. 7) para todos os tratamentos. Todas as rações ministradas proporcionaram desenvolvimento dos animais; contudo, observam-se dois grupos de respostas (como mostra o teste SNK para o ganho de peso, consumo e peso final – tabela 20): o primeiro grupo representado pelos tratamentos farinha de ossos, fosfatos: bicálcico, super triplo, polifosfato, super simples e mono-amônico, e o segundo, pelos tratamentos fosfosulfato de amônio e sal mineral bovino.

Na figura 7, observa-se que a diminuição do consumo é agravada no

decorrer do experimento para os grupos de FSA e SMB, uma vez que as inclinações ($\Delta y/\Delta x$) da variável peso vivo ao longo do tempo - para os dois grupos afetados pelo excesso de flúor - vão diminuindo e afastando-se cada vez mais dos outros tratamentos, em cada uma das pesagens: 1^a (30 dias), 2^a (44 dias), 3^a (58 dias) e 4^a (72 dias). Tal observação vem de encontro com o fato que a mucosa gástrica não é capaz de adaptar-se a uma exposição continuada de flúor, sendo um efeito degenerativo progressivo (ATSDR, 2003).

Um dos principais sintomas da toxicidade crônica por flúor é a redução do apetite (ASTDR, 2003). O menor consumo dos grupos FSA e SMB é bem caracterizado com diferença significativa nos valores do consumo dos dois grupos em relação aos demais ($P < 0,05$).

O menor consumo em parte explica os pesos significativamente menores dos fígados retirados dos animais dos tratamentos SMB e FSA ($P < 0,05$) em relação aos demais grupos. Apesar de todos animais do experimento terem ração à sua disposição, pode-se considerar que ocorreu restrição alimentar indireta devido à baixa apetência das dietas com altas concentrações

6.5. Conclusões:

Nas condições em que foi realizado o experimento, pode-se concluir que houve efeito da fonte de fósforo sobre consumo, o peso final, ganho de peso total, conversão e peso do fígado dos coelhos de 72 dias. Os animais que receberam dietas formuladas com fontes de P com maior concentração de F apresentaram os piores desempenhos em todas as variáveis zootécnicas estudadas. A concentração de 186 ppm de F na dieta formulada com fosfato super triplo (FST) - bem como as concentrações inferiores a este valor (POLI, FAR, BIC, FSS e FMA) não afetaram as variáveis zootécnicas: conversão, ganho de peso e peso final. O valor de 400 ppm de F nas dietas (FSA e SMB) prejudicou o consumo, ganho de peso e conversão dos coelhos em desenvolvimento no período de 30 a 72 dias de idade, bem como afetou significativamente o peso final do fígado dos animais destes grupos em relação a todos os demais.

O ataque químico do F da dieta sobre o fígado reduz o peso deste órgão, aparentemente pelos efeitos concomitantes de destruição de células hepáticas e redução do consumo alimentar (inapetência).

de flúor – restrição não intencional. É sabido que durante períodos de restrição alimentar, ocorre uma redução no peso dos órgãos internos do coelho, principalmente fígado e rins (Tumová *et al*, 2006).

Estudos confirmam a toxicidade que o Flúor representa para o fígado: a ingestão excessiva de Flúor resulta em mudanças degenerativas no órgão, que podem causar até a desintegração de células hepáticas de coelhos (Shashi & Taphar, 2000). Esta ação degenerativa do F sobre as células do fígado também pode ser responsável pela diferença significativa de pesos dos fígados dos animais FSA e SMB em relação aos demais animais.

CONCLUSÕES GERAIS

O fosfato super simples, o sal mineral bovino e a farinha de ossos apresentaram solubilidade inferior ao limite mínimo admitido pela legislação.

Com a exceção do calcário, do fosfatos monoamônico e do fosfosulfato de amônio, todos os fosfatos e a farinha de ossos testados são fontes binárias de fósforo e cálcio.

Os fosfatos supersimples e o fosfato sulfato de amônio são fontes de enxofre; a farinha de ossos e o fosfato sulfato de amônio são fontes de sódio; o polifosfato e o fofato supertriplo são as maiores fontes de Fe dentre os produtos testados.

A maioria dos fosfatos, a farinha de ossos e o calcário estudados apresentaram elementos tóxicos ou em concentrações possivelmente tóxicas.

O fosfato bicálcico e a farinha de ossos são os produtos de menor incidência de contaminantes inorgânicos estudados.

As concentrações dos contaminantes no calcário demonstram a necessidade da formulação de uma legislação pertinente, como a dos fosfatos, uma vez que o calcário apresenta praticamente os mesmos contaminantes, em concentrações próximas (incluindo o flúor e o arsênio).

Para alguns produtos é necessária a adoção de novas tecnologias que contribuam para a purificação destes produtos (especialmente em relação ao flúor, estrôncio e urânio), para que os mesmos possam ser vistos como fontes seguras de P na nutrição de rebanhos. Uma medida pode ser a mudança da rota de produção do fosfato, substituindo o ácido sulfúrico pelo ácido nítrico, que permite uma maior retirada de urânio e terras raras dos fosfatos.

Devido aos elevados níveis de elementos tóxicos em alguns produtos, existe o risco de difusão de contaminantes no meio-ambiente, seja no solo, nos mananciais e nas plantas.

Recomenda-se estudos detalhados sobre o potencial de difusão pelo meio-ambiente dos contaminantes presentes nestes produtos.

Os produtos POLI, FST e FSS possuem elevada radioatividade. Medidas de radioproteção são indispensáveis para aqueles que produzem, estocam e manipulam estes produtos.

Houve efeito da dieta sobre a composição mineral do músculo *longissimus dorsi*. Os tecidos musculares dos animais apresentaram diferenças significativas para as concentrações de K, Na, Cl, Mg, Rb, Co e Ce - teste SNK ($P < 0,5\%$).

Não ocorreu a deposição de nenhum elemento considerado tóxico, ou em concentrações consideradas anormais, em nenhum dos tratamentos do experimento. A exceção se dá quanto ao valor de F encontrado nos tecidos dos coelhos que receberam o sal mineral bovino e o fosfosulfato de amônia.

Os efeitos deletérios de perda de desempenho, diminuição do peso do fígado, demonstram a necessidade de avaliação constante do F nas rações animais.

A técnica analítica de ativação neutrônica mostrou-se mais adequada às matrizes fosfato e dieta do que aos tecidos animais, devido a altos limites de detecção da técnica para alguns elementos nas matrizes biológicas.

TRABALHOS FUTUROS SUGERIDOS A PARTIR DOS RESULTADOS DESTE PROJETO

Análise dos contaminantes presentes nas diversas fontes de cálcio usadas na nutrição animal, com especial atenção aos calcários.

Avaliação do impacto da ingestão humana de flúor de diversas fontes, tais como dieta, água potável, cremes dentais e enxaguantes, em estudos epidemiológicos de longa duração, focando especialmente populações mais susceptíveis como crianças e jovens até os 18 anos.

Análise epidemiológica do impacto do flúor em fraturas ósseas, litíase, entre outros efeitos deletérios em humanos.

Estudo do efeito carcinogênico e genotóxico da radiação ionizante presente no fosfato supersimples e no fosfato de rocha, com o acompanhamento de várias gerações de coelhos. O estudo deverá ser focado no sistema digestório, com análises histopatológicas, com emprego de microscopia de raios-X.

Implementação do sistema (*hardware e software*) de *prompt-gama* para a Análise por Ativação Neutrônica do flúor, que possibilitará a análise instrumental do elemento, com limite de detecção da ordem de 50 ppb (Chaudhri et al, 2007).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBION Disponível em <http://www.albionminerals.com/human/mineral-uses.htm/> Acesso em 23 de Janeiro de 2008.

AHAMED M., SINGH S., BEHARI J.R., KUMAR A., SIDDIQUI M.K.J. Interaction of lead with some essential trace elements in the blood of anemic children from Lucknow, *India Clinica Chimica Acta*, v.377, p.92-97, 2007.

AHOLA J.K., D. S. BAKER D.S., BURNS P.D., MORTIMER R.G., ENNS R.M., WHITTIER J.C., GEARY T.W., ENGLE T.E. Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over a two-year period *J. Anim. Sci.*, v.82, p.2375–2383, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS AOAC. *Official Methods of analysis*. 1990.15. ed. Arlington.: AOAC , 1117p.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. *Toxicological profile for uranium*. Atlanta, USA: U.S. Department of Health and Human Services, 1999. 432 p.

ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *Toxicological profile for fluorides, hydrogen fluoride, and fluorine* Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service, 2003. 404p.

ATSDR, 2005 CERCLA Priority List of Hazardous Substances 2005 Edition. Disponível em <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html>> Acesso em 05 de Setembro de 2007

BANDEIRA L.F.M., LOUREIRO F.E.L., ARAÚJO R.V.V. Estudo da Lixiviação Nítrica de Concentrado Fosfático In: Jornadas do Centro de Tecnologia Mineral, *Anais...*, Rio de Janeiro: CETEM, 2002, p.156-167.

BARUSELLI, M. S. Suplementos e co-produtos na nutrição de gado de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE DESAFIOS E NOVAS TECNOLOGIAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE. *Anais...* Brasília, 2005. Brasília: UPIS, 2005. p. 7-22.

BLAS, J. Fertiliser prices jump as planting grows, *Financial Times*, Caderno de Economia, p.12, 26 Outubro de 2007, Londres

BOOTH G.F. The need for radiation controls in the phosphate and related industries. *Health Physics*, v.32, p. 285-290, 1977.

CANELLA A.A., VEADO J.C., MENEZES M.A.B.C. Study of Essential Elements in Cattle Tissues from a tropical country using Neutron Activation Analysis *Food And Nutrition Bulletin* , v.23, p.237-240, 2002.

CATARINO, S.; SOARES, J.; CURVELO-GARCIA, A.S. Implicações da utilização de bentonitas sobre a fração mineral de vinhos: potássio, sódio, cálcio, alumínio e chumbo. *Ciência Téc. Vitiv*. Dois Portos, v.19, n.1, p.29-45, 2004.

CHAUDHRI M.A., NADEEM Q., CHAUDHRI M.N., JABBAR Q. Application of prompt activation analysis in the determination of fluorine in tea, in international geochemical standards, bones and teeth of experimental animals *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 271, n.3, p.697–700, 2007.

CHEEKE P.R. *Rabbit feeding and Nutrition*. Gainesville: Academic Press, 1987. 376p.

- CHEN W., CHANG AC., WU L Assessing long-term environmental risks of trace elements in phosphate fertilizers *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.67, p.48-58, 2007.
- CNEN - NE-3.01, 1988 “- Diretrizes Básicas de Radioproteção”, Comissão Nacional de Energia Nuclear
- CNEN - NE-6.02, 1988 “- Licenciamento de Instalações Radiativas”, Comissão Nacional de Energia Nuclear
- CNEN-NN - 4.01, 2005 “- Requisitos de Segurança e Proteção Radiológica para Instalações mínero-industriais”, Comissão Nacional de Energia Nuclear
- COMBES S. Valeur nutritionnelle de la viande de lapin, *INRA Productions Animales*, v.17, n.5, p.373-383, 2004.
- CONTIS E.T. Use of nuclear techniques for the measurement of trace elements in food. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. v. 243, n.1, p.53-58, 2000.
- CORREIA P.R.M., NOMURA C.S., OLIVEIRA P.V., Espectrometria de Absorção Atômica Multielementar: Desafios e Perspectivas, *Revista Analytica*, n.5, p.51-59, 2003.
- CUNNIF, P. *Official methods of analysis of AOAC International*. Arlington : AOAC International, 1995. vol. 1 e 2. p.5-26.
- DE GOEIJ, J.J.M. Radiochemical neutron activation analysis of biological materials: Past, present and future. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 245, n. 1, p.5-9, 2000.
- DE SOETE, D.; GIJBELS, R.; HOSTE, J. *Neutron Activation Analysis*. London: Wiley-Interscience, 1972, 834p
- DISSANAYAKE C.B., CHANDRAJITH R. Medical geology in tropical countries with special reference to Sri Lanka. *Environ. Geochem. Health*, v.29, p.155-162, 2007.
- DNPM - DIRETORIA DE DESENVOLVIMENTO E ECONOMIA MINERAL, Departamento Nacional de Produção Mineral *Informe Mineral*. Brasília: Governo Federal do Brasil, 2004. 17 p.
- DNPM DIRETORIA DE DESENVOLVIMENTO E ECONOMIA MINERAL, DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL - *Anuário Mineral Brasileiro 2006*. Brasília: Governo Federal do Brasil, 2006. 77 p.
- DUARTE H.C., GRAÇA D.C., BORGES F.M.O, DI PAULA O.J. Comparison between "in vitro" methods to determine the bioavailability of phosphorus, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, p.80-84, 2003.
- DUFFUS J.H. Heavy Metals—A Meaningless Term? *Pure Appl. Chem.*, v. 74, n.5, p.793-807, 2002.
- EHMANN W., VANCE D.E. *Radiochemistry and Nuclear Methods of Analysis*. Baltimore.: Wiley Interscience, 1991. 531p.
- EPA UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY *Consumer Factsheet on: Barium*. Disponível em <http://www.epa.gov/safewater/contaminants/dw_contamfs/barium.html> Acesso em 02 de Janeiro de 2007.
- FAO FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION *Use of phosphate rocks for sustainable agriculture*, Roma: FAO, 2004. 144 p.

FAO FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. *Tabla de Composición de Alimentos de America Latina*. Site da FAO, <http://www.rlc.fao.org/bases/alimento/comp.htm>, disponível em Abril de 2007.

FAO/WHO FOOD AND AGRICULTURE/WORLD HEALTH ORGANIZATION *Codex Alimentarius, General requirements, Section 6.2, Guideline levels for radionuclides in foods following accidental nuclear contamination for use in international trade*, Roma: FAO. 1995. 435 p.

FÁVARO D.I.T., AFONSO C., VASCONCELLOS M.B.A., COZZOLINO S.M.F. Determinação de elementos minerais e traços por ativação neutrônica, em refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, n. 1, p.176-182, 2000.

FIPR FLORIDA INSTITUTE OF PHOSPHATE Research Evaluation of Exposure to Technologically Enhanced Naturally Occurring Radioactive Materials (TENORM) in the Phosphate Industry, Winter Haven, Fl.: FIPR, 1998. 273p.

FURLAN A.C., TAFURI M.L., ROSTAGNO H.S., ALMEIDA E SILVA M., SCAPINELLO C., DONZELE J.L. Uso de fosfatos naturais de rocha na alimentação de coelhos em crescimento *Rev. Soc. Bras. Zoot.* v.23, n.5, p.829-851, 1994.

GNAMUS A.,BYRNE A.R.,HORVAT M. Mercury in the Soil-Plant-Deer-Predator Food Chain of a Temperate Forest in Slovenia. *Environmental Science Technology*, v. 34, p.3337-3345, 2000

HERMIDA M., GONZALEZ M., MIRANDA M., RODRYGUEZ-OTERO J.L. 2006 Mineral analysis in rabbit meat from Galicia (NW Spain) *Meat Science*, v.73, p.635-639, 2006.

IAEA INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Practical Aspects of Operating a Neutron Activation Analysis Laboratory*: documento técnico. n 564. Viena, 1990. 251p.

IAEA INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY *Assessing the need for Radiation Protection Measures in Work Involving Minerals and Raw Materials Safety Reports Series No. 49*, Viena: IAEA, 2006.

HUXLEY A., *Admirável Mundo Novo*, Ed. Globo Rio de Janeiro, 2000, 26. ed., 250p.

IHNAT, M. Biological reference materials for quality control of elemental composition analytical data. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 245, n. 1, p.65-72, 2000.

INSTITUTE OF MEDICINE, *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride* NRC: Washington, D.C., 1997. 449p.

ISINKAYE M.O., AJAYI I.R. NATURAL Background Dose and Radium Equivalent Measurements at Ikogosi Warm Spring, Nigeria *Radiation Protection Dosimetry* Advance Access published on June 30, 2006, DOI 10.1093/rpd/ncl065.

IYENGAR, G.V., KOLLMER W.E., BOWEN H.J.M. The elemental composition of human tissues and body fluids: a compilation of values for adults. New York: Verlag, 1978. 151p.

JCPDS JOINT COMMITTEE ON POWDER DIFFRACTION *Standards Powder Diffraction Files*, Pennsylvania: ICDD, 2000. 52p.

- IYENGAR, G.V. WOLF, W.R. TANNER, J.T. MORRIS, E.R. Content of minor and trace elements, and organic nutrients in representative mixed total diet composites from USA. *The Science of Total Environment*, v.256, p.215-226, 2000
- JIBIRI, N., FARAI, I., ALAUSA, S. Activity concentrations of ^{226}Ra , ^{228}Th , and ^{40}K in different food crops from a high background radiation area in Bitsichi, Jos Plateau, Nigeria *Radiation and Environmental Biophysics*, v. 46, n. 1, p. 53-59, 2007.
- KHAN T.A., ABBASI M.A. Effects of Trace Elements on Human Metabolism and Their Presence in the Potable Water of Ganga-Nim Groundwater Basin, *India Water Resources*, v.31, n.5, p.588-591, 2004.
- KOHN M.J., RAKOVAN J., HUGHES J.M. Phosphates – *Geochemical, Geobiological and Material Importance* Washington, D.C.: The Mineralogical Society of America, 2002. 742p.
- KOLLURU R.V., BARTELL S.M., PITBLADO R.M., STRICOFF R.S. *Risk Assessment and Management Handbook for Environmental Health and Safety Professionals*, New York: McGraw-Hill. 1996. New York., 363p.
- LABCONCO *Instruction Manual of FreeZone6 Liter Benchtop, Freeze Dry System, Model 77520*. Miami, Labconco Corporation. 37 p..
- LAGALANTE AF. Atomic absorption spectroscopy: A tutorial review *Appl. Spectros. Rev.*, n. 34, p.173-189, 1999.
- LEBAS F., COUDERT P., DE ROCHAMBEAU H., THEBAULT R.G. *The Rabbit: Husbandry, health and production*, FAO: Roma, 1997. 205 p.
- LIMA F.R. A importância do fósforo na dieta de vacas de leite, *Revista Balde Branco*, n. 425, p.46, 2000.
- LIMA F.R., MENDONÇA C.X., ALVAREZ J.C., RATTI G., LENHARO S.L.R., KAHN H., GARZILLO J.M.F. Chemical and Physical Evaluations of Commercial Dicalcium Phosphates as Sources of Phosphorus in Animal Nutrition *Poultry Science*, v.74, p. 1659-1670, 1995
- LIPPMANN M. *Environmental Toxicants - Human Exposures and Their Health Effects*. 1992, New York: Van Nostrand Reinhold. 543 p.
- LOPEZ ALONSO M., BENEDITO J.L., MIRANDA M., CASTILLO C., HERNANDEZ J., SHORE R.F. Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain) *Food Additives and Contaminants*, v.17, n.6, p.447-457, 2000.
- LUNG, M., KOSSIR A., MSATEF D. Towards a desalination initiative using cogeneration with an advanced reactor type and uranium recovered from Moroccan phosphoric acid production. *International Journal of Nuclear Desalination*, v.1, n.4, p. 416-426, 2004.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO *Instrução Normativa nº 12 de 30 de Novembro de 2004*, Governo Federal: Brasília. Disponível em <(http://www.mapa.gov.br)> Acesso em 12 de junho de 2006.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para Uso Animal – Disponível em http://www.agricultura.gov.br/ Acesso em 23 de Outubro de 2006.

- MANGINI A. SONNTAG C. BERTSCH G. MÜLLER E. Evidence for a higher natural uranium content in world rivers, *Nature*, v. 278, p. 337-339, 1979.
- MARÇAL W.S., GOMES G.P., NASCIMENTO M.R.L., MORENO A.M. Avaliação de fontes de fósforo para a nutrição mineral de bovinos *Arq. Inst. Biol.*, v.70, n.3, p. 255-258, 2003.
- MENEZES M.A.B.C., JACIMOVIC R. Optimised k₀-instrumental neutron activation method using the TRIGA MARK I IPR-R1 reactor at CDTN/CNEN, Belo Horizonte, Brazil *Nuc. Inst. and Met. in Phys. Res. A* n.564, p.707-715, 2006.
- MORES N., BARBOSA H.P., BARIONI W.J. Efeito de diferentes fontes de fósforo na dieta sobre as características dos ossos de porcas e suas proles *Pes. Vet. Bras.*, v.19, n.1, p.1-6, 1999.
- MOTTA W.M. *Apostila de Cunicultura*, DZOO-EV UFMG: Belo Horizonte, 2007. 151p.
- NICODEMO M.L.F. E MORAES S.S., Esclarecimentos sobre o uso de fontes alternativas de fósforo para bovinos. *Embrapa Gado de Corte Divulga N.27*, Campo Grande: Embrapa. 2000.
- NRC NATIONAL RESEARCH COUNCIL Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals Committee on Animal Nutrition *Mineral tolerance of domestic animals* Washigton: National Academy of Sciences, 1980. 577 p.
- NRC NATIONAL RESEARCH COUNCIL 2000 Subcommittee on Beef Cattle Nutrition: Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture National Research Council - *Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh Revised Edition: Update 2000*, USA: NRC. 248 p.
- NRC NATIONAL RESEARCH COUNCIL - *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, National Academy Press: Washington, D.C.: NRC, 1996, 128 p.
- OREGON SECRETARY OF STATE *Document 117: Regulation and Licensing of Naturally Occurring radioactive Materials (Norm)* Salem: Oregon Secretary of State, 2008, 14 p.
- PARRY, S.J. *Handbook of neutron activation analysis*. Woking: Viridian Publishing, 2003. 243p.
- REVEL, G. *Analyse par activation. Rapport Technique*. França: Techniques de L'Ingénieur, 1999, 21 p.
- SAIKI, M. Instrumental Neutron Activation Analysis of Rib Bone Samples and Bone Reference Materials. *Biological Trace Element Research*, v. 71, p.41-46, 1999.
- SASHI A., THAPAR S.P. Histopathology of fluoride-induced hepatotoxicity in rabbits, *Fluoride*, v.34, n.1, p.34-42, 2000.
- SERRA-MAJEM L., RIBAS L., NGO M., ORTEGA, A.G., PEREZ-RODRIGO C., ARANCETA J. Food, youth and the Mediterranean diet in Spain. Development of KIDMED, Mediterranean Diet Quality Index in children and adolescents. *Public Health Nutrition*, v.7, p. 931-935, 2004.
- SILVA FILHO J.C.; ARMELIN M.J.A.; SILVA A.G. Determinação da Composição Mineral de Subprodutos Agroindustriais utilizados na Alimentação Animal, pela Técnica de Ativação Neutrônica. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.34, n.2, p.235-241, 1999

STURNIOLO G.C., MESTRINER C., IRATO P., ALBERGONI V., LONGO G., D'INCA R. Zinc therapy increases duodenal concentrations of metallothionein and iron in Wilson's disease patients. *Am J. Gastroenterol*, v.94, n.2, p. 334-8, 1999.

SAEG - SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS – Versão 9.0 , Viçosa: UFV, 2005.

TOKARNIA C.H., DOBEREINER J., PEIXOTO P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos, *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.3, p. 127-138, 2000.

TUMOVÁ E., ZITA L., STOLC L. Carcass quality in restricted and ad libitum fed rabbits *Czech J. Anim. Sci.*, v.51, n.5, p. 214–219, 2006.

UNIÃO EUROPÉIA Directiva 2003/100/Ce da Comissão, 31 de Outubro de 2003 *Jornal Oficial da União Européia*, Bruxelas, 1/11/2003.

UNDERWOOD, E.J Trace elements in human and animal nutrition. New York, N.Y.: Academic Press, 1977, 545 p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE USDA Food and Nutrition Information Center. *Food Data Center*. Disponível em <<http://riley.nal.usda.gov/NDL>>. Acesso em 04 de Maio de 2007

UNSCEAR, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, *Sources and Effects of Ionizing Radiation, Report to the General Assembly with Scientific Annexes*, Volume I: Sources, Nova York, 2000.

U.S. Census Bureau - *U.S. International Trade in Goods and Services* - Disponível em: <http://www.census.gov/foreign-trade/www/> Acesso em 06 de Novembro de 2006.

USDA United States Department of Agriculture - National Fluoride Database of Selected Beverages and Foods U.S., Beltsville: Department of Agriculture Agricultural Research Service. 2004, 24p.

USGS United States Geological Survey *Data set of world phosphate mines, deposits, and occurrences - Part A. Geologic Data*, Washington: USGS. 2002. 352p.

WHEELOCK V. Food Safety in Danish Pigmeat – Chemical Aspects *British Food Journal*, v.96, n.8, p. 40-43, 1994.

WHO – World Health Organization Screening and surveillance of workers exposed to mineral dust WHO: Geneva. 1996. 68p.

WHO – World Health Organization *Guidelines for Drinking-Water Quality*, 2nd edition, Volume 3 - Surveillance and control of community supplies WHO: Geneva. 1997. 250p.

WHO – World Health Organization (2nd Ed.) *Trace Elements in Human Nutrition and Health*, Geneva: WHO, 1996. 343 p.