

## VALORES SANGÜÍNEOS DE CHUMBO EM BOVINOS NELORE SUPLEMENTADOS COM SAL MINERAL NATURALMENTE CONTAMINADO POR CHUMBO<sup>1</sup>

### BLOOD LEVELS OF LEAD IN NELORE CATTLE SUPPLEMENTED WITH MINERAL SALT NATURALLY CONTAMINATED WITH LEAD

Wilmar Sachetin Marçal<sup>2</sup> Otávio Campos Neto<sup>3</sup> Marcos Roberto do Nascimento<sup>4</sup>

#### RESUMO

*A pesquisa foi realizada em 8 propriedades rurais com regime de criação extensiva, situadas às margens da represa de Barra Bonita, no município de Anhembi, estado de São Paulo. Amostras de sal mineral, capim e sangue animal foram colhidas para análise laboratorial, para se investigar a presença de chumbo. Foram utilizados 160 bovinos, machos e fêmeas, da raça Nelore, divididos em dois grupos de 80 animais. A finalidade precípua foi realizar um estudo comparativo entre os dois grupos, sendo que no primeiro os animais recebiam sal mineral sabidamente contaminado com chumbo. O segundo grupo serviu como lote para efeito comparativo. O critério de comparação foi a análise sanguínea que revelou valores aquém do limite de tolerância biológico atribuído à espécie bovina, em ambos os grupos. Os resultados permitem a conclusão de que, aos níveis de chumbo detectados nas amostras mineralizadas, ainda não há risco de efeito cumulativo e tóxico para os bovinos avaliados.*

**Palavras-chave:** sangue, bovinos, sal mineral, chumbo.

#### SUMMARY

*This study was performed at the beef cattle region at Anhembi County, State of São Paulo, Brazil. Eight beef farms where cattle were raised at pasture were selected. These farms were located around Barra Bonita dam. One-hundred-and-sixty Nelore cattle, males and females, were divided into two groups of 80 cattle each. One group received mineral salt naturally*

*contaminated with lead, whereas the other group received lead-free mineral salt. The main goal of this study was to compare both groups. Blood samples, and samples from the mineral salt and grass were collected and analyzed for the presence of lead. Blood lead concentration was found to be below the "tolerance limit" for this species in both groups. It was concluded that the lead concentration detected in the mineral salt did not present a risk for toxicity and cumulative effects in the population studied.*

**Key words:** blood, cattle, mineral salt, lead.

#### INTRODUÇÃO

As fontes alternativas de matérias-primas, buscadas pelos pesquisadores para continuar garantindo a produtividade animal, a custos mais baixos, vem possibilitando o surgimento de muitas formulações minerais, algumas tendo em sua mistura, elementos de variadas origens, inclusive importados. Este aspecto fez nascer uma preocupação entre nutricionistas, clínicos veterinários e técnicos voltados à saúde e produção animal, pois acredita-se que algumas novas formulações minerais possam estar contaminadas por elementos tóxicos, sobretudo metais pesados e substâncias radioativas.

<sup>1</sup>Trabalho desenvolvido junto a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de São Paulo (FMVZ-UNESP), Curso de Doutorado, Campus de Botucatu - São Paulo.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Mestre em Patologia Bovina, Doutor em Clínica: Fisiopatologia Médica, Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, 86051-970, Londrina- PR. Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Professor Titular do Departamento de Nutrição e Melhoramento Animal da FMVZ-UNESP.

<sup>4</sup>Químico, CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear).

A criação de instrumentos práticos que possam dirimir estas dúvidas e proporcionar segurança sanitária, ao rebanho bovino e, principalmente, para os consumidores dos produtos de origem animal, tem sido a tônica experimental de alguns cientistas, em algumas partes do mundo. Desenvolver pesquisas de investigação para avaliar o nível de contaminantes em formulações minerais utilizadas no Brasil, torna-se imperioso neste momento, pois segundo levantamento efetuado junto ao Ministério da Agricultura, existem hoje no mercado nacional aproximadamente 5.500 misturas minerais sendo amplamente comercializadas.

O primeiro elemento escolhido para investigação no sal mineral e conseqüentemente no sangue dos animais foi o chumbo, considerado pela grande maioria dos estudiosos da Ciência Veterinária, como sendo o elemento químico inorgânico de maior risco à saúde dos animais de criação, particularmente na espécie bovina (NACIONAL RESEARCH COUNCIL, 1980; KANEKO, 1989; VILLEGAS-NAVARRO *et al.*, 1993; MARÇAL & TRUNKL, 1994; MARÇAL, 1994a).

Assim exposto, a contribuição que a presente pesquisa objetiva é realizar uma avaliação em bovinos da raça Nelore, com manejo extensivo, sendo suplementados com formulações minerais produzidas no país, criados em propriedades rurais localizadas no estado de São Paulo. O estudo é comparativo e seu panorama inclui a confrontação de resultados hematólogicos entre bovinos pertencentes a dois grupos experimentais. No primeiro, os animais são suplementados com sal mineral sabidamente contaminado por metais pesados. No outro grupo, os bovinos se alimentam de formulações minerais sem níveis tóxicos de contaminantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram estudados animais bovinos da raça Nelore, sendo machos e fêmeas em número igual, divididos em dois grupos experimentais para efeito comparativo. O primeiro grupo era composto de 80 bovinos, sendo 40 fêmeas e 40 machos, com idade média de 81,27 meses, pertencentes a quatro propriedades rurais. Esses animais eram suplementados com sal mineralizado, comprovadamente contaminado por chumbo através de análise química.

O grupo experimental 2 tinha a mesma quantidade de fazendas e o mesmo número de bovinos fêmeas e machos, com 62,95 meses de idade, em média. Entretanto, os animais se alimentavam com sal mineral sem níveis tóxicos de chumbo, cujas amostras foram previamente analisadas. Os bovinos machos,

incluídos no estudo, tinham no mínimo 20 meses de idade e as fêmeas eram vacas recém-paridas, todos caracterizavam-se como "crioulos" das propriedades. As fazendas selecionadas para o estudo são fortes redutos de criação extensiva de bovinos para corte, com predomínio de capim *Brachiaria decumbens*, localizadas no município paulista de Anhembi, cujos dados atuais registram uma população bovina de 36.589 cabeças (IBGE, 1994b), com 420 propriedades rurais cadastradas (INCRA, 1991).

Em cada uma das propriedades rurais selecionadas, foram colhidas pequenas porções da mesma partida do sal mineral. Juntas, formavam o "pool" de uma amostra representativa, tendo aproximadamente 200 gramas do estoque do sal mineral mantido na fazenda. As amostras acondicionadas em recipientes de plástico transparente, previamente identificados, foram analisadas no Laboratório de Poços de Caldas - Minas Gerais, da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). A metodologia analítica empregada para a determinação de chumbo no sal mineral, as amostras foram previamente secas a 110° C por aproximadamente duas horas. A solubilização foi feita por ácido nítrico sendo o chumbo separado da amostra por extração com pirrolidina ditiocarbomato de amônia (APDC) p.a. em pH 2,3±0,1. A determinação foi executada por espectrometria de emissão atômica por plasma de indução acoplada em 220,3nm, utilizando-se o espectrômetro JARREL-ASH, modelo 975. A metodologia de análise empregada baseia-se em CLESCERI *et al.* (1975) e no manual da AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (1980). O limite de determinação do método é de 0,05ppm.

De cada propriedade, nos pastos de convívio dos animais, foram colhidas amostras de capim *Brachiaria decumbens* em sacos plásticos transparentes e identificados. Cada amostra final das propriedades foi constituída por pequenas porções de diferentes pontos nos pastos dos bovinos, caracterizando assim um "pool" com aproximadamente dois quilos de cada fazenda selecionada. Adotou-se o critério de colher o capim arrancando as amostras com as mãos, efetuando esta atividade itinerante sempre no período matutino. Em seguida, as amostras eram encaminhadas ao laboratório para respectiva análise. O procedimento analítico foi executado no Laboratório de Poços de Caldas - Minas Gerais, do CNEN. Para a determinação de chumbo no capim *Brachiaria decumbens*, a amostra foi, também, inicialmente seca a 110°C e depois submetida a perda por aquecimento gradual até 450°C. A solubilização foi feita com ataque multiácido a quente com os ácidos clorídrico, nítrico, perclórico e

fluorídrico (HCL, HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> e HF). O chumbo foi separado da amostra com pirrolidina ditiocarbomato de amônia (APDC) p.a. em pH 2,3 ± 0,1. Para a determinação analítica e o equipamento utilizado, consideram-se as mesmas descrições referentes a dosagem do chumbo no sal mineral.

As amostras de sangue foram colhidas em duplicata por venopunção jugular no período da manhã, utilizando-se material descartável constituído de agulhas 40 x 16mm devidamente acopladas em seringas plásticas de 20ml, previamente preparadas com heparina sódica. O transporte até o laboratório de análises foi feito imediatamente após a colheita. As amostras de sangue ficaram conservadas sob refrigeração, utilizando-se para isso cubos de gelo reciclável acondicionados em recipiente térmico. O procedimento analítico foi efetuado no laboratório de toxicologia ocupacional da Indústria de acumuladores Reifor na cidade de Londrina - PR, utilizando-se a técnica analítica de espectrofotometria de absorção atômica por chama, recomendada por INTERSOCIETY COMITÉE METHODS (1975).

Para se efetuar a determinação de chumbo no sangue, as alíquotas foram hemolizadas com Triton X-100, o chumbo complexado com pirrolidina ditiocarbomato de amônio (APDC) e o complexo extraído com metil-isobutil-cetona (MIC). O conteúdo de chumbo da fase orgânica foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica em comprimento de onda de 282,3nm, usando-se chama de acetileno. O aparelho utilizado foi da marca Varian, modelo spectrA A10 plus. As amostras foram analisadas em duplicatas, a média calculada e os resultados expressos em ppm. Para se calcular os valores de tendência central, percentis para as variáveis quantitativas e valores de variabilidade, utilizou-se o programa SAS/BASIC.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Estado de São Paulo foi considerado apropriado para o desenvolvimento desse estudo, pois detém uma bovinocultura expressiva, possuindo um efetivo animal na ordem de 12.605.812 cabeças (IBGE, 1994a), tendo ainda 53,4% da área de pastagem cultivada com capim Braquiária, sendo 36,7% com *Brachiaria decumbens*, representando 2.755.070 hectares, conforme Camargo Filho *et al.* (1984) apud MARÇAL *et al.* (1995). Soma-se a essa escolha, o fato de existir, no território paulista, 1.376 diferentes marcas de formulações minerais conforme dados apurados, junto a Delegacia do Ministério da Agricultura no estado de São Paulo.

A questão defendida com esse trabalho, retrata a veiculação do elemento chumbo aos bovinos da raça Nelore através, única e exclusivamente, do sal mineral. Os resultados encontrados na análise das amostras de formulações minerais, destacados na Tabela 1, mostram valores de 44, 47, 38 e 36ppm, respectivamente para as fazendas A, B, C e D, que compõem o Grupo 1. Estes números demonstram que essas misturas contaminadas extrapolam o limite mínimo aceitável de 10 ppm atribuído por MALETTO (1986) e ao valor máximo de 30ppm destacado em NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1980) e ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS INCORPORATED (1993). Por outro lado, nas propriedades rurais E, F, G e H, que compõem o Grupo 2, os níveis respectivos de 5, 5, 6 e 5ppm, encontrados nas amostras analisadas, permitem caracterizá-las como sem níveis contaminantes de chumbo, pois encontram-se aquém do menor valor atribuído como limite mínimo referenciado, que é de 10 ppm, mencionado por MALETTO (1986).

Nas propriedades, a pesquisa requeria um criterioso levantamento para garantir que a presença do chumbo nos animais, provinha das amostras de sal mineral contaminado. Foi necessário, neste propósito, atuar clinicamente, investigando eventuais outras fontes de chumbo aos animais, para salvaguardar e a opinião de que a veiculação desse xenobiótico seria originado pelo sal mineral ingerido ao longo de um ano de consumo, no mínimo.

Outro quesito levado em consideração foi o de excluir a possibilidade de impregnações por resíduos industriais nas pastagens e na água de bebida das

Tabela 1 - Resultados da análise laboratorial efetuada nas amostras de sal mineral e capim *Brachiaria decumbens*, das 8 fazendas selecionadas, pertencentes ao município de Anhembi - SP.

Identificação das fazendas		Valores de chumbo expressos em ppm*	
		sal mineral	capim
Grupo 1	Fazenda A	44	0,18
	Fazenda B	47	0,11
	Fazenda C	38	0,12
	Fazenda D	36	0,11
Grupo 2	Fazenda E	5	0,20
	Fazenda F	5	0,16
	Fazenda G	6	0,20
	Fazenda H	5	0,16

\* com base na matéria-seca.

propriedades rurais selecionadas. Nesse sentido, realizou-se análise no capim das fazendas e constatou-se níveis aquém do limite mínimo aceitável, conforme evidenciado pela Tabela 1.

Os valores encontrados na análise das amostras de capim *Brachiaria decumbens* das oito propriedades rurais variaram entre 0,11 e 0,20ppm, com base na matéria-seca. Esses resultados médios observados, encontram-se dentro da faixa limite aceitável, preconizado por LAGERWERFF (1972); PENDIAS & PENDIAS (1984) e HATCH (1992), com valores respectivos de 1, 2, e 3 a 7ppm.

A questão da contaminação dos animais por meio da ingestão de água de bebida veiculando chumbo, também foi verificada nos preâmbulos, sendo descartada após estudos e pesquisa de dados. Em qualquer das propriedades não existiam fontes de água para os animais advindas do sistema de encanamento, já que os bovinos bebiam água na represa de Barra Bonita, formada pelos rios Tietê e Piracicaba. Parece-nos improvável a possibilidade dos bovinos, naquela localidade, se contaminarem com chumbo, pelas águas da represa, pois não foi detectado, desde 1989, qualquer nível de chumbo nas amostras de água analisadas e monitoradas (CETESB, 1995).

Os resultados encontrados no presente trabalho mostraram valores valores sanguíneos médios de 0,026 ppm para os animais do Grupo 1, que consumiram sal mineral contaminado pelo chumbo, enquanto que os bovinos do grupo 2, consumindo sal mineral sem níveis tóxicos de chumbo, tiveram valores sanguíneos médios de 0,019ppm, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados estatísticos para valores de chumbo sanguíneo (em ppm) nos bovinos da raça Nelore, conforme os grupos experimentais.

	Grupo 1	Grupo 2	Bovinos Fêmeas	Bovinos Machos
número de animais	80	80	80	80
média	0,026	0,019	0,028	0,017
desvio padrão	0,032	0,025	0,031	0,025
coef. variabilidade	122,42	128,98	111,53	145,36
valor mínimo	0	0	0	0
quartil 1	0	0	0	0
mediana	0	0	0,04	0
quartil 3	0,04	0,04	0,04	0,04
valor máximo	0,11	0,07	0,11	0,08

Todos os valores sanguíneos encontrados, seja no conceito geral ou nas comparações entre fêmeas e machos, entre grupos e dentro dos mesmos estão dentro do limite de tolerância biológico (LTB), com valores na faixa de 0 e 0,25ppm, atribuídos a espécie bovina por ROSENBERGER (1983b); KANEKO (1989); TAKLA *et al.* (1990); McEVOY & McCOY (1993); VILLEGAS-NAVARRO *et al.* (1993). Os valores sanguíneos médios encontrados são extremamente baixos nos bovinos de ambos os grupos, estando próximos de zero. Estes números refletem uma variabilidade metodológica aceitável, descrita nas checagens analíticas e instrumentais efetuadas por outros autores na medicina humana (BRADLEY & LEUNG, 1989). Os resultados encontrados pelas análises sanguíneas de chumbo nos animais, demonstram que as formulações minerais, contendo níveis desse xenobiótico acima do limite de 30ppm, considerado como valor máximo aceitável pelo NRC (1980), não foi suficiente, no espaço de um ano de consumo ininterrupto, para causar quadro cumulativo e manifestação nos valores hemáticos.

No futuro, outros estudos dirigidos poderão aquilatar se há qualquer efeito cumulativo no sangue de bovinos que consumirem sal mineral com maiores valores de chumbo inorgânico. Na presente pesquisa, entretanto, com valores excedendo 30ppm e níveis máximos atingindo 47ppm, isto não ocorreu.

Na detecção analítica do chumbo nas formulações minerais, não foi possível separar as matérias-primas para investigar cada um de seus componentes. Trabalhou-se com formulações industrializadas prontas. A suspeita maior é de que a presença de chumbo na mistura esteja incorporada às fontes de fósforo, já que estas representam o maior custo na composição de um sal mineral (ROSA, 1989), induzindo os fabricantes a buscá-lo em fontes alternativas mais baratas.

A conotação do chumbo estar agregado as fontes de fosfato, como por exemplo nos fosfatos naturais de rocha (AMMERMANN *et al.*, 1977; VIANA, 1985; ROSA, 1989; CAMPOS NETO, 1992; ou no ácido fosfórico importado (BRITO, 1993), certamente vem tendenciando pesquisas, muito embora deva-se lembrar que os xenobióticos podem ser oriundos de matérias-primas de micro-elementos (CAMPOS NETO & MARÇAL, 1996).

Com as formulações minerais analisadas, os resultados sanguíneos dos animais não nos permitem estender, momentaneamente, a preocupação com a sanidade dos subprodutos de origem animal e a saúde pública. Mesmo assim, não se

deve correr o risco com quaisquer suplementos contaminados por metais pesados, pois o perigo é iminente. Se esta conexão puder ser demonstrada em estudos complementares, com maiores níveis de contaminantes, o exemplo ressaltaria mais esta importante colaboração da ciência veterinária para com a saúde do homem.

## CONCLUSÕES

A análise dos resultados observados no presente trabalho, permite a conclusão de que formulações minerais com valores de chumbo de 44, 47, 38 e 36ppm com base na matéria-seca, consumidas pelos bovinos por um período mínimo ininterrupto de um ano, não ocasiona manifestação sanguínea de toxidez, pois os níveis de chumbo sanguíneo nos animais avaliados, nos dois grupos experimentais, encontra-se abaixo do limite de tolerância biológico atribuídos à espécie bovina, que é de 30ppm.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. *Annual book of ASTM Standards*. Philadelphia, 1980. p. 450-464. Water.
- AMMERMAN, C.B. MILLER, S.M., FICK, K.R. *et al.* Contaminating elements in mineral supplements and their potential toxicity: a review. *J Anim Sci*, v. 44, p. 485-508, 1977.
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS INCORPORATED. *Official guidelines for contaminant levels permitted in mineral feed ingredients*. Indiana, 1993. p. 172-176.
- BRADLEY, C., LEUNG, F.Y. Quality control procedures for monitoring whole blood and plasma trace metal levels by atomic absorption spectrophotometry. *Sci Total Environ*, v. 89, p. 353-359, 1989.
- BRITO, J. *Fosfato bicálcico feed grade*. Cajati: Serrana, 1993. 17 p.
- CAMPOS NETO, O., MARÇAL, W.S. Os fosfatos na nutrição mineral de ruminantes. *Rev Criad*, São Paulo, n. 793, p. 8-10, 1996.
- CAMPOS NETO, O. Pesquisa esclarece dúvidas sobre déficit na nutrição animal. *O Corte*, São Paulo, v. 24, p. 14-15, 1992.
- CETESB. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo*: 1994. São Paulo, 1995. 269 p.
- CLESCERI, L.S., GREENBERG, A.E., TRUSSELL, R.R. (Eds.). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington: APHA, 1975. p. 151-152.
- HATCH, R.C. Venenos causadores de estimulação ou depressão nervosa. In: BOOT, N.H., McDONALD, L.E. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1992, cap. 61, p. 877-893.
- IBGE. *Anuário estatístico do Brasil* - 1994. Rio de Janeiro. IBGE, 1994a. v. 54, p. 3-62: Efetivo pecuário.
- IBGE. *Produção da pecuária municipal*: região sudeste, efetivo bovino de 1993. Rio de Janeiro, 1994b.
- INCRA. *Quadro resumo do município*: exercício de 1990. São Paulo, 1991.
- INTERSOCIETY COMITÉE METHODS. Lead in blood and urine: analytical method. *Health Lab Sci*, v. 12, p. 375-378, 1975.
- KANEKO, J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4. ed. New York, Academic Press, 1989. p. 239-891.
- LAGERWERFF, J.V. Lead mercury and cadmium as environmental contaminants. In: MORTVEDT, J.V. (ed.). *Micronutrients in Agriculture*. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p. 593-628.
- MALETTO, S. Correlação da nutrição mineral e a sanidade. In: SEMINÁRIO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL. 1986. São Paulo. *Anais...* São Paulo, 1986. 38 p.
- MARÇAL, W.S. Contaminação por resíduos industriais em suprimentos hídricos para animais pecuários. *Hora Vet*, n. 80, p. 6-8, 1994a.
- MARÇAL, W.S., TRUNKL, I. Poluição industrial na zona rural: implicações na saúde pública. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., Olinda, 1994. *Anais...* Olinda, 1994. p. 656.
- MARÇAL, W.S., THOMASSIAN, A., COSTA, C. Contribuição ao estudo clínico do capim braquiária na pecuária brasileira. *Hora Vet*, n. 86, p. 9-12, 1995.
- McEVOY, J.D., McCOY, M. Acute lead poisoning in a beef herd associated with contaminated silage. *Vet. Rec*, v. 23, p. 89-90, 1993.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL Subcommittee on mineral toxicity in animals. In: *Mineral tolerance of domestic animals*. Washington D.C.: National Academy of Science, 1980. p. 256-276.
- PENDIAS, A.K., PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Florida, CRC Press, 1984. 315 p.
- ROSA, I.V. Fosfato natural como suplemento de fósforo para bovinos. In: VALLE, E.R., *Coletânea de seminários técnicos 1986/88*. Campo Grande: Embrapa, 1989. p. 59.
- ROSENBERGER, G. *Enfermedades de los bovinos*. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1983b. t. 2, p. 36-376.
- TAKLA, P.G., MOHAMED, H.A., WRIGHT, J. *et al.* Lead levels in whole blood of sheep from different areas of the Nile Delta. *Vet Rec*, v. 124, p. 300-302, 1989.
- VIANA, J. A. C. Fontes de sais minerais para bovinos e o desafio de suplementos de fósforo no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 3., 1985. Piracicaba, *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1985.
- VILLEGAS-NAVARRO, A., BUSTOS, O.D.M.L., REYES, A.R. *et al.* Determination of lead in paired samples of blood and synovial fluid of bovines. *Exp Toxicol Pathol*, v. 45, p. 47-49, 1993.