

# **PESQUISA DA PRESENÇA DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM PÓLEN APÍCOLA DO BRASIL**

LUANA C. **RABONATO**<sup>1</sup>; MARCELO A. **MORGANO**<sup>2</sup>; RAQUEL F. **MILANI**<sup>3</sup>; MARINA  
N. **OLIVEIRA**<sup>3</sup>

0801033

## **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo a validação de uma nova metodologia para a determinação dos contaminantes inorgânicos As, Cd, Ba, Cr, Pb, Ni e Hg em 76 amostras de pólen apícola desidratado, coletadas nas regiões produtoras de São Paulo, Santa Catarina, Bahia e Sergipe utilizando como método de abertura de amostra a digestão em sistema fechado assistida por microondas e a quantificação pela técnica de ICP OES. Foi encontrada contaminação acima dos níveis estabelecidos pela legislação brasileira de As e Cr (1,0 e 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente) em todas as regiões estudadas e em Santa Catarina contaminação por Hg. A validação da metodologia mostrou ser adequada para este tipo de produto. Os resultados obtidos demonstram que um monitoramento dos contaminantes inorgânicos em pólen apícola deve ser estimulado.

## **ABSTRACT**

The aim of this study was validate a new methodology to determine the inorganic contaminants As, Cd, Ba, Cr, Pb, Ni and Hg in 76 samples of bee pollen, collected in São Paulo, Santa Catarina, Bahia and Sergipe regions. The contents of inorganic contaminants were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) following wet digested using microwave. The samples were contaminated with higher levels of As and Cr than those set by the Brazilian legislation in all studied regions. Only one sample from Santa Catarina showed Hg contamination. The validation of the methodology made this suitable for bee pollen. The results show

1. Bolsista CNPq: Graduação em Tecnologia de Alimentos, UNIARARAS, Araras-SP

2. Orientador: Pesquisador, CENTRO DE CIÊNCIA E QUALIDADE DE ALIMENTOS/ITAL, Campinas-SP

3. Colaboradoras: Técnica de Laboratório, CENTRO DE CIÊNCIA E QUALIDADE DE ALIMENTOS/ITAL, Campinas-SP / Graduação em Química, IQ/UNICAMP, Campinas-SP

that a monitoring program of inorganic contaminants in pollen beekeeping should be recommended.

## **INTRODUÇÃO**

O pólen é uma fonte preciosa de elementos minerais (cobalto, níquel, silício, titânio, etc) com mais de 22 elementos, que o organismo humano necessita em pequenas quantidades. Atualmente, a medicina orto-molecular, está demonstrando a importância desses elementos para o bom funcionamento do organismo [1]. Para o homem o pólen apícola é indicado para o equilíbrio funcional e harmonioso do organismo, produzindo bem estar e vigor físico [2]. Arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo estão entre os metais que podem estar bem distribuídos no meio ambiente. A contaminação por metais no ambiente, como nos solos, cursos d'água e alimentos produzidos próximos a áreas contaminadas, pode colocar em risco o ecossistema e a cadeia trófica [3]. A toxicidade e os efeitos deletérios ao organismo humano destes contaminantes é função da concentração e da exposição crônica em pequenas doses que pode causar efeitos adversos ao homem quando estes contaminantes estão presentes na dieta [4]. A segurança da qualidade do pólen é garantida com medidas simples que começam desde sua coleta no apiário passando pelo processamento, beneficiamento e comercialização. Algumas dessas medidas são: O apiário deve estar longe de qualquer área agrícola que utilize defensivos e áreas com fontes de poluição; não aplicar medicamentos no apiário; cuidado com a fumaça que pode transmitir cheiro e gosto desagradável no pólen; as ferramentas e maquinário devem ser limpos com água quente antes do uso; evitar muitas manipulações com produtos agrícolas; estocar pólen em freezer; manter uma conduta de higienização e sanitização em todas as etapas da produção e processamento; os vasilhames que guardam o produto devem ser aprovados para uso alimentar; nunca estocar outros produtos com produtos apícolas [1]. Existem dois importantes pólos produtivos de pólen no Brasil: Santa Catarina, na região Sul e Bahia, na região Nordeste. As regiões de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Sergipe apresentam menores produções [5].

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de uma nova metodologia para a quantificação dos elementos As, Ba, Cd, Cr, Ni, Pb e Hg avaliando a precisão, exatidão, sensibilidade (limite de detecção e de quantificação), linearidade e seletividade do método e a determinação desses contaminantes inorgânicos em 76

amostras de pólen apícola desidratado, coletadas nas principais regiões brasileiras produtoras, utilizando a técnica de ICP OES.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras de pólen apícola desidratado foram adquiridas dos produtores das regiões de Sergipe (Neópolis n=13, Salgado n=4 e Aracaju n=1), Bahia (Canavieiras n=12, Ilhéus n=4 e Norte da Bahia n=3), Santa Catarina (Campos Novos n=13 e Porto União n=11) e São Paulo (S. J. dos Campos n=6, Santa Branca n=5, Holambra n=1 e Guaratinguetá n=3). As amostras de pólen apícola desidratada e granulada foram quarteadas em quarteador de inox, homogeneizadas e peneiradas em malha de 30 mesh (600 µm). Em seguida, as amostras foram digeridas usando um sistema fechado assistido por microondas, modelo STARD D, da Milestone (Soriso, Itália). Para a digestão, pesou-se entre 0,6500 a 0,7000 g da amostra no copo de digestão e adicionaram-se 10 mL de ácido nítrico conc. e 3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. Foram utilizados dois programas de digestão com temperatura máxima de 180 e 200 °C, durante 1:40 min e 1:20 min, em cada um dos programas. As amostras digeridas foram diluídas em balões volumétricos de 25 mL com solução de HCl 5 % (v/v). A quantificação dos contaminantes inorgânicos foi realizada em um ICP OES, modelo Vista MPX CCD Simultaneous, da Varian (Mulgrave Victoria, Austrália), com visão axial usando um nebulizador *sea spray*. As condições de operação do ICP OES foram: potência do plasma (1000 W); vazão argônio principal (15 L min<sup>-1</sup>); vazão argônio auxiliar (1,5 L min<sup>-1</sup>); vazão de nebulização (0,9 L min<sup>-1</sup>); pressão do nebulizador (200 kPa); número de replicadas (3); tempo de integração e leitura (1 e 10 s). Os comprimentos de onda (nm) usados foram: As (193,696), Ba (455,403), Cd (214,439), Ni (221,648), Cr (276,653), Pb (220,353), e Hg (194,164). As soluções-padrão dos elementos foram preparadas por diluição de um padrão multielementar rastreável Merck<sup>®</sup> 1000 mg L<sup>-1</sup>.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**VALIDAÇÃO INTRALABORATORIAL DO MÉTODO:** Para avaliar a exatidão do método foi usado o método de adição de solução-padrão em três níveis de concentração, obtendo-se uma recuperação média de: 87 % para As, 107 % para Ba, 86 % para Cd, 99% para Cr, 103 % para Ni, 86 % para Pb e 83 % para Hg. A repetitividade do método foi adequada com valores de coeficiente de variação de 5,1

% para As, 2,3 % para Ba, 6,7 % para Cd e Cr, 5,9 % para Ni, 5,5 % para Pb e 6,4 % para Hg. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados como sugeridos por MERMET e POUSSSEL (1995) [6]: As (0,01 e 0,07 mg L<sup>-1</sup>); Ba (0,0004 e 0,002 mg L<sup>-1</sup>); Cd (0,001 e 0,007 mg L<sup>-1</sup>); Cr (0,01 e 0,06 mg L<sup>-1</sup>); Ni (0,01 e 0,05 mg L<sup>-1</sup>); Pb (0,01 e 0,06 mg L<sup>-1</sup>) e Hg (0,0004 e 0,0019 mg L<sup>-1</sup>). A faixa linear de trabalho utilizada foi de: 0,005 a 0,5 mg L<sup>-1</sup> para As, Ba, Cd, Cr, Pb e Ni e 0,0005 a 0,010 mg L<sup>-1</sup> para Hg.

**RESULTADOS OBTIDOS:** Os níveis máximos permitidos de contaminantes inorgânicos em alimentos, no Brasil, são definidos pela ANVISA, através da Portaria nº 685, de 27/08/1998 [7] e pelo Decreto nº 55871, de 26/03/1965 [8]. Estes níveis são: As: 1 ppm (outros alimentos); Cd: 1 ppm (outros alimentos); Cr: 0,10 ppm (qualquer alimento); Ni: 5 ppm (outros alimentos); Pb: 0,8 ppm (outros) e Hg: 0,01 ppm (qualquer outro alimento). De acordo com os resultados obtidos para os contaminantes inorgânicos presentes nas amostras de pólen coletadas nas 4 diferentes regiões do Brasil (Tabelas 1 a 4), foi constatado a contaminação acima dos níveis estabelecidos pela legislação brasileira para As e Cr em todas as regiões estudadas. Apenas uma região (Campos Novos – SC) apresentou contaminação por Hg acima do estabelecido (0,01 mg kg<sup>-1</sup> para qualquer outro alimento). Para o contaminante Ba não existe valor para os níveis de contaminação máximos permitidos pela legislação brasileira. Os resultados sobre a composição dos elementos Cd, Ni e Pb nas amostras de pólen demonstraram estar de acordo com os níveis máximos determinados pela legislação. Os valores encontrados para o elemento Ba, dentre as regiões, foram os que apresentaram maior variação (SE=5,22; BA=10,60; SC=31,33 e SP= 11,10 mg kg<sup>-1</sup>). As Tabelas 1 a 4 apresentam os resultados obtidos para os contaminantes inorgânicos presentes em 76 amostras de pólen apícola desidratado coletadas e divididas conforme as regiões de Sergipe, Bahia, Santa Catarina e São Paulo, respectivamente.

**TABELA 1.** Resultados médios, estimativa do desvio-padrão, mediana, valor mínimo e valor máximo obtidos dos contaminantes inorgânicos presentes nas 18 amostras de pólen apícola coletadas no Estado de Sergipe (Neópolis n=13, Salgado n=4 e Aracaju n=1).

Elemento	Média (mg kg <sup>-1</sup> )	Desvio-Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Mediana (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Mínimo (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Máximo (mg kg <sup>-1</sup> )	% amostra acima legislação <sup>[7,8]</sup>
<b>Arsênio</b>	0.825	0.659	0.765	< 0.01	2.390	39
<b>Bário</b>	1,28	1,27	0,76	0,28	5,22	-
<b>Cádmio</b>	0,042	0,018	0,041	0,015	0,080	0
<b>Crômio</b>	0,262	0,230	0,155	< 0,01	0,703	67
<b>Níquel</b>	0,289	0,304	0,209	< 0,01	0,893	0
<b>Chumbo</b>	0,139	0,149	0,097	< 0,01	0,448	0
<b>Mercúrio</b>	0,0009	0,0007	0,0006	< 0,0004	0,0027	0

**TABELA 2.** Resultados médios, estimativa do desvio-padrão, mediana, valor mínimo e valor máximo obtidos dos contaminantes inorgânicos presentes nas 19 amostras de pólen apícola coletadas no Estado da Bahia (Canavieiras n=12, Ilhéus n=4 e Norte da Bahia n=3).

Elemento	Média (mg kg <sup>-1</sup> )	Desvio-Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Mediana (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Mínimo (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Máximo (mg kg <sup>-1</sup> )	% amostra acima legislação <sup>[7,8]</sup>
<b>Arsênio</b>	0,663	0,643	0,459	< 0,01	2,144	32
<b>Bário</b>	2,85	2,76	1,79	0,35	10,60	-
<b>Cádmio</b>	0,037	0,018	0,039	0,003	0,067	0
<b>Crômio</b>	0,171	0,103	0,165	< 0,01	0,342	79
<b>Níquel</b>	0,562	0,215	0,573	0,182	1,090	0
<b>Chumbo</b>	0,120	0,133	0,070	< 0,01	0,500	0
<b>Mercúrio</b>	0,0014	0,0015	0,0004	< 0,0004	0,0044	0

**TABELA 3.** Resultados médios, estimativa do desvio-padrão, mediana, valor mínimo e valor máximo obtidos dos contaminantes inorgânicos presentes nas 24 amostras de pólen apícola coletadas no Estado de Santa Catarina (Campos Novos n=13 e Porto União n=11).

Elemento	Média (mg kg <sup>-1</sup> )	Desvio-Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Mediana (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Mínimo (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Máximo (mg kg <sup>-1</sup> )	% amostra acima legislação <sup>[7,8]</sup>
<b>Arsênio</b>	0,322	0,377	0,303	< 0,01	1,290	8
<b>Bário</b>	5,87	6,09	4,30	1,07	31,33	-
<b>Cádmio</b>	0,048	0,042	0,033	< 0,001	0,148	0
<b>Crômio</b>	0,211	0,148	0,178	0,032	0,601	79
<b>Níquel</b>	0,690	0,438	0,649	0,113	1,388	0
<b>Chumbo</b>	0,151	0,100	0,127	< 0,01	0,379	0
<b>Mercúrio</b>	0,0024	0,0068	0,0004	< 0,0004	0,0340	4

**TABELA 4.** Resultados médios, estimativa do desvio-padrão, mediana, valor mínimo e valor máximo obtidos dos contaminantes inorgânicos presentes nas 15 amostras de pólen apícola coletadas no Estado de São Paulo (S. J. dos Campos n=6, Santa Branca n=5, Holambra n=1 e Guaratinguetá n=3).

Elemento	Média (mg kg <sup>-1</sup> )	Desvio-Padrão (mg kg <sup>-1</sup> )	Mediana (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Mínimo (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor Máximo (mg kg <sup>-1</sup> )	% amostra acima legislação <sup>[7,8]</sup>
<b>Arsênio</b>	0,450	0,491	0,236	< 0,01	1,375	20
<b>Bário</b>	6,65	2,38	7,05	2,87	11,10	-
<b>Cádmio</b>	0,053	0,040	0,037	0,003	0,126	0
<b>Crômio</b>	0,347	0,274	0,297	< 0,01	0,781	73
<b>Níquel</b>	0,688	0,295	0,681	0,102	1,130	0
<b>Chumbo</b>	0,197	0,141	0,216	< 0,01	0,436	0
<b>Mercúrio</b>	0,0016	0,0019	0,0006	< 0,0004	0,0068	0

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que existe a contaminação por crômio, arsênio e mercúrio nas amostras de pólen apícola desidratado das regiões estudadas e uma atenção especial deve ser dada a estes produtos, pois o consumo do pólen contaminado pode causar danos potenciais a saúde dos consumidores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] RIBEIRO, J.G.; SILVA, R.A. **Estudo comparativo da qualidade de pólen apícola fresco, recém processado, não processado e armazenado em freezer e pólen de marca comercial através de análises físico-químicas.** In.: I Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, Natal, RN, 2006, p. 1-11.
- [2] SANTOS, M.L.A. Pólen coletado por *Apis mellifera* no diagnóstico da poluição ambiental causada por praguicidas e metais no Brasil. Botucatu, 2005, 83 f. Tese. (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- [3] KEVAN, P. G. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 373-393, 1999.
- [4] LEBLANC, J.C.; MALMAURET, L.; GUÉRIN, T.; BORDET, F.; BOUSIER, B.; VERGER, P. Estimation of the dietary intake of pesticide residues, lead, cadmium, arsenic and radionuclides in France. **Food Additives and Contaminants**, v. 17, p. 925-932, 2000.
- [5] BARRETO, L.M.R.C., FUNARI, S.R.C., ORSI, R.O. **Pólen Apícola: perfil da produção no Brasil.** In.: Congresso de Apicultura do Mercosul, Punta Del Este. Uruguay, 2005, p. 1-21.
- [6] MERMET, J.M.; POUSSSEL, E. ICP Emission spectrometers: analytical figures of merit, **Applied Spectroscopy**, v. 49, p. 12-18, 1995.
- [7] BRASIL. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** Poder Executivo. Brasília, DF, 27 de agosto de 1998. Seção 1, nº 1, p. 1415-1437.
- [8] BRASIL. Leis, Decretos, etc. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965 do Ministério da Saúde. Estabelece limites máximos para contaminantes inorgânicos em alimentos. **Diário Oficial**, Brasília, DF, de 29 de maio de 1965.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPESP pelo apoio financeiro e a toda equipe do laboratório de Minerais do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos/Ital.