



ESTUDO DO TEOR TOTAL E ESTIMATIVA DE INGESTÃO DE ALUMÍNIO EM ALIMENTOS INFANTIS

Letícia Carvalho de **Sousa**¹, Esther Lima de **Paiva**²; Raquel Fernanda **Milani**³; Adriana Pavesi Ariseto **Bragotto**⁴, Marcelo Antonio **Morgano**⁵

Nº 18221

RESUMO – *Recém-nascidos e crianças de primeira idade tem como principal fonte de nutriente na sua dieta o leite materno, porém, nos últimos anos o consumo de fórmulas infantis tem aumentado em substituição ao leite materno. As fórmulas infantis são consideradas alimentos alternativos práticos, fonte de proteínas, de vitaminas e de minerais. Neste tipo de alimento o contaminante inorgânico alumínio (Al) pode estar presente em níveis elevados. Assim, este projeto tem como objetivos validar um método analítico para a determinação do teor de alumínio total presente em amostras de alimentos infantis e realizar o cálculo da estimativa de exposição ao Al pelo consumo deste alimento. Para a determinação do Al as amostras foram digeridas utilizando uma digestão ácida assistida por micro-ondas e a quantificação foi realizada por espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP OES). Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram $94 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $157 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente; a precisão 15,5% e a exatidão de 87 a 97%. Os resultados obtidos para Al variaram de: 330 a $5987 \mu\text{g kg}^{-1}$ para as fórmulas infantis para crianças de 0-6 meses; de 757 a $3873 \mu\text{g kg}^{-1}$ de 6-12 meses; de 172 a $3950 \mu\text{g kg}^{-1}$ de 0-1 ano; e de 427 a $5562 \mu\text{g kg}^{-1}$ acima de 1 ano. Para o cálculo da estimativa de exposição considerando o consumo de 6 mamadeiras por dia foi encontrado o valor máximo de 46% da PTWI (Ingestão Semanal Tolerável Provisória) indicando risco para crianças que utilizam este alimento.*

Palavras-chaves: fórmula infantil, alumínio, estimativa de ingestão, ICP OES.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; leticiacarvalhos30@hotmail.com

2 Colaborador: Doutoranda em Ciência de Alimentos, FEA-UNICAMP, Campinas-SP

3 Colaborador: Assistente de Pesquisa, ITAL, Campinas-SP

4 Colaborador: Professora Dra., FEA-UNICAMP, Campinas-SP

5 Orientador: Pesquisador Científico, ITAL, Campinas-SP; morgano@ital.sp.gov.br



ABSTRACT – *Breast milk is the main source of nutrients in newborns and infant diets, however, in recent years the consumption of infant formulas has increased as a suitable replacement. Infant formulas are considered practical alternative foods, source of proteins, vitamins and minerals. In this type of food, the inorganic aluminum contaminant (Al) may be present at high levels. Thus, this project aims to validate an analytical method to determine the total aluminum content present in infant foods samples and to assess the exposure intake for Al through this food. For the determination of Al, the samples were digested using a microwave-assisted acid digestion and the quantification was performed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP OES). The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were $94 \mu\text{g kg}^{-1}$ and $157 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectively; precision was 15.5% and accuracy ranged from 87 to 97%. The results obtained for Al ranged from: 330 to $5987 \mu\text{g kg}^{-1}$ for infant formulas for 0-6 months; from 757 to $3873 \mu\text{g kg}^{-1}$ for 6-12 months; from 172 to $3950 \mu\text{g kg}^{-1}$ for 0-1 year; and from 427 to $5562 \mu\text{g kg}^{-1}$ for above 1 year. Exposure estimate when calculation considering the consumption of 6 bottles a day is up to 46% of PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake), indicating a risk for children that make use of this food.*

Keywords: infant formulas, aluminium, exposure intake, ICP OES.

1. INTRODUÇÃO

A infância provavelmente é o período de vida em que as maiores necessidades nutricionais do corpo humano são observadas, sendo que o leite materno é considerado o melhor alimento para lactentes. Em circunstâncias em que a amamentação não seja possível ou suficiente, fórmulas infantis são usadas para suprir as demandas nutricionais dos lactentes (KAZI *et al.*, 2010), sendo a complementação alimentar realizada a partir dos primeiros meses de vida mediante carências energéticas e nutricionais relacionadas à suas características fisiológicas (PERALES *et al.*, 2006).

A dieta é considerada a principal fonte de ingestão de alumínio para o homem sendo que o Al pode ser incorporado aos alimentos através da água, do meio ambiente ou como aditivo para uso alimentício (CAC, 2016).

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares - JECFA confirmou na sua 74ª reunião anual, o valor de PTWI (*Provisional Tolerable Weekly Intake* – Ingestão Semanal Tolerável Provisória) de 2 mg/kg peso corpóreo (pc) para o alumínio. A PTWI aplica-se a todos os compostos de alumínio nos alimentos, incluindo os aditivos alimentares. O comitê do JECFA observou que a PTWI para Al é susceptível de ser ultrapassada em grande medida por alguns



grupos populacionais, particularmente as crianças que consomem regularmente alimentos que contêm aditivos nos quais este contaminante pode estar presente. O JECFA também inferiu que a exposição a este metal por lactentes alimentados com fórmulas infantis pode ser elevada (CAC, 2016).

Em um estudo realizado no Canadá, DABEKA et al. (2011) avaliaram fórmulas infantis com base láctea e encontraram teores de alumínio total variando de 10 – 3400 $\mu\text{g kg}^{-1}$, sendo que as maiores concentrações de Al foram obtidas nas amostras de fórmulas infantis em que a soja estava presente.

Este trabalho teve como objetivo validar um método analítico adequado, simples, rápido e suficientemente capaz para a determinação do teor total de alumínio presente em amostras de alimentos infantis utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP OES) e *realizar o cálculo da estimativa de exposição ao Al pelo consumo deste alimento.*

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

Foram estudadas amostras comerciais de fórmulas infantis de 4 marcas (A, B, C e D) de 3 ou mais diferentes lotes destinadas a lactentes de 0 a 6 meses (n =14); de 6 a 12 meses (n =17); até 1 ano (n =21) e acima de 1 ano (n=14), conforme disponibilidade no comércio local. As determinações de Al foram conduzidas em triplicata analítica.

2.2. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico. A água (18,2 M Ω cm) foi purificada utilizando um sistema de osmose reversa (Gekara, São Paulo, Brasil). Para a digestão das amostras de fórmulas infantis foi usado ácido nítrico purificado em destilador sub-boiling (Distillacid, Berghof, Eningen, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30% (m/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha).

2.3. Método analítico para a determinação de Al total em amostras de fórmula infantil

2.3.1. Curvas Analíticas



Para a construção das curvas analíticas foi utilizada solução 0,5% (v/v) de HNO₃ purificado em sistema sub-boiling (Distillacid, Berghof, Germany) e solução padrão certificada de alumínio de 1000 mg L⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha) em solução 5% de HNO₃ (v/v). As curvas analíticas foram preparadas por diluições sucessivas no intervalo de concentração de 2 a 200 µg L⁻¹.

2.3.2. Instrumentação

Para a digestão das amostras e determinação do Al nas amostras de fórmulas infantis foi usado um sistema fechado assistido por micro-ondas (Start D, Milestone, Sorisole, Itália) e um espectrômetro de emissão em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES, 5100 VDV, Agilent Technologies, Tóquio, Japão).

2.3.3. Determinação do alumínio

Para a determinação do Al presente nas fórmulas infantis e suplemento, as amostras foram homogeneizadas em moinho de hélice de tungstênio (modelo M-20, marca IKA, Staufen, Alemanha) e submetidas a um procedimento de digestão ácida usando um sistema fechado assistido por micro-ondas. Nos vasos de digestão de teflon PFA foram pesados, em balança analítica, 0,5 g das amostras e adicionados 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de peróxido de hidrogênio. Os vasos de digestão foram fechados e transferidos para o digestor de micro-ondas, com aplicação de potência de 1000 W e usando a seguinte programação: (a) ambiente à 70°C durante 5 min; (b) 70°C por 2 min; (c) de 70 C à 120°C durante 3 min; (d) 120 por 2 min; (e) de 120°C a 170°C durante 10 min e (f) 170°C por 15 min. Após resfriamento, os vasos foram abertos e o digerido foi transferido para um tubo falcon com água deionizada até o volume de 25 mL. Após agitação manual dos tubos foi usado um ICP OES para a determinação do Al utilizando as seguintes condições otimizadas: potência da radiofrequência (RF = 1,4 kW); tempo de estabilização e de leitura (10 s e 7 s, respectivamente); vazão de argônio e gás auxiliar (12,0 e 1,0 L min⁻¹, respectivamente); nebulizador tipo concêntrico (seaspray) com vazão de 0,60 L min⁻¹; número de leituras (3); vista axial do plasma e comprimento de onda de 396,152 nm.

2.4. Validação do método

A validação do método analítico para estudo de Al foi realizada de acordo com INMETRO (2016) e consistiu na avaliação das seguintes figuras de mérito: linearidade das curvas analíticas; exatidão avaliada utilizando material de referência certificado – MRC (Dieta, SRM TYPICAL DIET – 1548A, do National Institute of Standards & Technology e Ovo em pó, NRC EGGS -1 – Egg Power,



do National Research Council Canada) e expressa como porcentagem de recuperação; limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) e precisão do método, avaliada pelo coeficiente de variação em porcentagem de replicatas de análises de amostra em dois dias distintos.

2.5. Cálculo da estimativa de exposição

Para a avaliação da estimativa de exposição ao Al presente nas amostras de fórmula infantil foi considerado o valor médio de 168 g para o preparo de 6 mamadeiras por dia, conforme orientação nos rótulos das embalagens; PTWI para Al de 2 mg kg⁻¹ peso corpóreo (pc) e peso conforme as faixas etárias: 0 a 6 meses = 7,6 kg, 6 meses até 1 ano = 9,25 kg e acima de 1 ano = 11,85 kg, de acordo com FAO/WHO (2018).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Validação do método para estudo de Al total

Para a validação do método usado na determinação de Al presente nas amostras de fórmulas infantis foram avaliadas as seguintes figuras de mérito:

- **Linearidade:** A avaliação do coeficiente de regressão obtido para a curva analítica obtido no ICP OES consistiu na determinação da linearidade. Para a faixa de concentração (2 a 200 µg L⁻¹) foi observado valor satisfatório de coeficiente de determinação ($r^2 > 0,999$).
- **Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ):** Foram determinados a partir de 10 preparações de branco analítico. Os valores obtidos para o método foram: LOD (3 s) = 94 µg kg⁻¹ e LOQ (5 s) = 157 µg kg⁻¹, sendo “s” o valor de desvio-padrão para as concentrações das 10 repetições. O resultado obtido foi multiplicado pelo fator de diluição da amostra (50 x).
- **Precisão:** A precisão intermediária do método foi realizada utilizando 12 repetições analíticas de uma amostra de fórmula infantil, sendo analisadas 6 repetições em dois dias distintos. O valor do coeficiente de variação obtido foi 15,5% e satisfaz as condições recomendadas pela AOAC (2013) cujo limite máximo é de 16%, para a faixa de concentração estudada.
- **Exatidão:** A exatidão do método foi avaliada através de ensaios de recuperação para Al presente em dois materiais de referência certificados (MRC): Dieta (Typical Diet, NIST SRM 1548a) e Ovo em pó (NRC EGGS -1 – Egg Power). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1. Os valores de recuperação variaram entre 87% e 97%, sendo concordantes com o recomendado pela AOAC (2013), cujos valores devem estar entre 75 e 120% para este nível de concentração.



Tabela 1. Exatidão do método analítico para determinação de Al usando materiais de referencia certificados e avaliação por recuperação (n=3).

MRC	Valor Certificado (mg/ kg)	Al obtido experimentalmente (mg/ kg)	Recuperação (%)
Ovo em pó	540 ± 86	521 ± 1634	96 ± 26
Dieta	72,4 ± 1,5	62 ± 286	86 ± 2

Os resultados obtidos indicaram que a utilização do método empregando a extração assistida por micro-ondas e o espectrômetro de emissão atômica com plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP OES) permitiu obter boa eficiência de digestão das amostras para determinação de alumínio presente nas amostras de fórmula infantil. O método de digestão ácida utilizando um sistema assistido por micro-ondas apresentou como vantagens a redução no risco de contaminação e na perda de amostra, pois a extração do Al da amostra é realizada em sistema fechado.

3.2. Determinação de Al em amostras de fórmula infantil

Os resultados obtidos para alumínio nas amostras de fórmula infantil estão apresentados na Tabela 2 onde é possível verificar as médias e o intervalo de concentração obtidos. Analisando os dados obtidos para as amostras de fórmulas infantis podemos verificar que os maiores teores de alumínio foram obtidos para as amostras da faixa etária de 0 a 6 meses e acima de 1 ano.

Tabela 2. Valores médios (n=3) e intervalo de concentração para Alumínio encontrado nas análises das amostras de fórmula infantil.

Faixa etária	Marcas	Nº de amostras	Alumínio ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Intervalo ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
0 - 6 meses	A, B, C, D	14	1487	330 - 5987
6 - 12 meses	A, B, C, D	17	1618	757 - 3873
Até 1 ano	A, B, C, D	21	1867	172 - 3950
Acima de 1 ano	A, B, C, D	14	1713	427 - 5562

Para as amostras de 0 - 6 meses, a maior concentração de alumínio foi obtido na amostra **D** (5987 $\mu\text{g kg}^{-1}$), que continha soja em sua composição; na faixa de 6 - 12 meses a amostra **A** (3873



$\mu\text{g kg}^{-1}$) apresentou o maior teor de alumínio e nas amostras até 1 ano e acima de 1 ano o maior teor de Al foi encontrado na marca B, com valores de ($3950 \mu\text{g kg}^{-1}$) e ($5562 \mu\text{g kg}^{-1}$), respectivamente.

Na literatura são encontrados poucos estudos sobre a presença de alumínio em fórmulas infantis. No trabalho de BURRELL E EXLEY (2010) que determinaram a concentração de Al em diversas fórmulas prontas a base de leite procedentes do Reino Unido, foram encontrados teores variando de 176 a $700 \mu\text{g L}^{-1}$. Para os produtos em pó os resultados variaram de $2,4$ a $4,3 \mu\text{g g}^{-1}$ (ou 2400 a $4300 \mu\text{g kg}^{-1}$). Os autores relatam que os maiores níveis de Al foram observados nos produtos à base de soja e concluem que a vulnerabilidade à exposição precoce dos bebês ao Al demonstra grande importância da necessidade urgente de reduzir o seu teor em fórmulas para lactentes a um nível tão baixo quanto possível.

CHUCHU *et al.* (2013) estudaram fórmulas de leites prontos para beber e amostras de leite em pó para crianças disponíveis no comércio do Reino Unido e encontraram teores de Al para as amostras (sem soja) variando de 100 até $430 \mu\text{g L}^{-1}$. Para os produtos contendo soja o teor de Al variou de 656 a $756 \mu\text{g L}^{-1}$ e o cálculo da ingestão de Al nas fórmulas sem soja variou de 100 a $300 \mu\text{g/dia}$, enquanto que para os produtos com soja foram maiores que $700 \mu\text{g/dia}$. Os autores concluem que existe a necessidade de reduzir os níveis de Al nestes alimentos para proteger os lactentes da exposição crônica ao Al dietético.

Os resultados do cálculo da porcentagem de estimativa de exposição ao Al considerando os valores médios e máximos encontrados para cada faixa etária estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Estimativa de exposição ao Al considerando o consumo diário de 168 g de fórmula infantil (6 mamadeiras/dia) por faixas etárias de 0-6 meses ($7,6 \text{ kg}$); de 6-12 meses ($9,25 \text{ kg}$); até um ano ($9,25 \text{ kg}$); acima de um ano ($11,85 \text{ kg}$) e valor médio (máximo) de Al.

Faixa etária	Alumínio mg kg^{-1}	Ingestão diária mg/kg pc	% PTWI
0 - 6 meses	1,49 (5,99)	0,23 (0,93)	12 (46)
6 - 12 meses	1,62 (3,87)	0,21 (0,49)	10 (25)
Até um ano	1,87 (3,95)	0,24 (0,50)	12 (25)
Acima de um ano	1,71 (5,56)	0,17 (0,55)	8 (28)

PTWI Al = 2 mg/kg de pc (peso corpóreo)

O maior valor para a estimativa de exposição ao Al considerando o consumo diário de 168 g de fórmula infantil (6 mamadeiras) foi obtido para a faixa etária de 0-6 meses de idade atingindo um



máximo de 46% da PTWI. Neste cálculo foi considerado apenas o consumo de fórmula infantil, sendo que este valor poderia ser maior considerando a ingestão de outros alimentos fontes de Al.

Na Espanha, NAVARRO & ALVAREZ-GALINDO (2003) realizaram um estudo com fórmulas infantis e observaram que, em geral, as amostras que continham soja na sua formulação, apresentam um teor mais elevado de Al, quando comparada as fórmulas sem soja o que foi concordante com este estudo. Os autores também calcularam a estimativa de exposição ao Al encontrando valores de 4% da PTWI para fórmulas padrão; 8% – 12% da PTWI para fórmulas especializadas e pré-termo; e 15% da PTWI para fórmulas contendo soja. Os autores concluíram neste estudo que é necessário a diminuição dos níveis de alumínio em fórmulas infantis.

O trabalho de KAZI *et al.* (2009) relata que os níveis médios de alumínio variam na amostra de fórmulas infantis a base de soja e a base de leite de 2170 e de 1070 µg/ kg, respectivamente; e o PTWI para lactentes (> 1 ano) através de fórmulas de leite está bem abaixo dos níveis toleráveis recomendados para este elemento.

4. CONCLUSÃO

A utilização do método empregando a extração assistida por micro-ondas e a espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP OES) permitiu obter boa eficiência de extração do alumínio presente nas amostras de formulas infantis. O método de digestão utilizado neste trabalho apresenta como vantagens a redução no risco de contaminação e na perda de amostra, pois a extração do Al da amostra é realizada em sistema fechado. Os resultados mostraram altos teores de Al em todas as amostras estudadas e para o consumo de fórmulas infantis destinadas a faixa etária de 0 a 6 meses de idade foi encontrada a maior contribuição para atingir a PTWI do alumínio.

5. AGRADECIMENTOS

L.C. Sousa agradece ao CNPQ pela bolsa de IC; E.L. de Paiva agradece ao CNPQ pela bolsa de doutorado e M.A. Morgano agradece ao CNPq pela bolsa de PP. À FAPESP (2017/11334-8) pelo apoio financeiro.



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – Association of Official Agricultural Chemists - Appendix K: **Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals**, 2013.

BURRELL, S.A.; EXLEY, C. There is (still) too much aluminium in infant formulas. **BMC Pediatrics**, v. 10, n. 63, p. 1-4. 2010.

CAC - Codex Alimentarius Commission. **Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the gsctff**. 10 th Session Rotterdam, The Netherlands, 4-8 April 2016.

CHUCHU, N.; PATEL, B.; SEBASTIAN, B.; EXLEY, C. The aluminium content of infant formulas remains too high. **BMC Pediatrics**, v. 13, n. 162, p. 1-5, 2013.

DABEKA, R.; FOUQUET, A.; BELISLE, S.; TURCOTTE, S. Lead , cadmium and aluminum in Canadian infant formulae, oral electrolytes and glucose solutions. **Food Additives & Contaminants**, v. 28, n. 6, p. 744–753, 2011.

FAO/WHO (2018). Child growth standards – Charts weight-for-age. Disponível em: <http://www.who.int/childgrowth/standards/weight_for_age/en/>. Acesso em: 25 jun. 2018.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos**. DOQ-CGCRE-008. Rev.: 05, p. 1-31, ago. 2016.

KAZI, T. G.; JALBANI, N.; BAIG, J. A.; AFRIDI, H. I.; KANDHRO G. A.; ARAIN, M. B.; JAMALI, M. K.; SHAH A. Q. Determination of toxic elements in infant formulae by using electrothermal atomic absorption spectrometer. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1425-1429, 2009.

NAVARRO-BLASCO I.; ALVAREZ-GALINDO J. I. Aluminium content of Spanish infant formula. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 20, p. 470-481, 2003.

PERALES, S., BARBERÁ, R., LARGADA, M. J., & FARRÉ, R. . Bioavailability of zinc from infant foods by in vitro methods (solubility , dialyzability and uptake and transport by Caco-2 cells). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 971–978, 2006.