

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DIÁRIA DE MICRONUTRIENTES E MERCÚRIO EM PRÉ-ESCOLARES DE ALGUMAS COMUNIDADES DO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL

**Andrea C. P. Santos^{1,2}, Déborah I.T.Fávaro¹, Luciana Farias¹, Vera A. Maihara¹;
Marina B.A.Vasconcellos¹, Jaime P.L. Aguiar³,
Fernando H. Alencar³, Lúcia K. Yuyama³**

¹ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP, defavaro@ipen.br

² Universidade Presbiteriana Mackenzie
Rua da Consolação 930, São Paulo. CEP: 01302-907

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA
Av. André Araújo, 2936 - Aleixo
69060-001 Manaus, AM
yuyama@inpa.gov.br

RESUMO

Existe um consenso, nos dias atuais, de que na região Amazônica ocorrem fontes antrópicas e naturais de mercúrio (Hg). Já se sabe de que o estado nutricional do indivíduo e a interação dietética podem aumentar a toxicidade do Hg. O objetivo do presente estudo foi avaliar a ingestão dietética diária de Hg e alguns micronutrientes em dietas de pré-escolares de oito comunidades do estado do Amazonas, Brasil. Algumas crianças de cada comunidade foram selecionadas e suas dietas (consumo total de 24 horas) foram coletadas pelo método de porção em duplicata e um “pool” de dietas foi composta para cada uma dessas comunidades. As amostras de dietas foram analisadas para Hg total por CV AAS e Análise por Ativação com Nêutrons para a determinação dos seguintes micronutrientes: Ca, Fe, K, Na, Se and Zn. Ambas as metodologias analíticas foram validadas, quanto à precisão e exatidão, por meio da análise de materiais de referência certificados. A ingestão semanal provisória tolerável (PTWI) para Hg e a ingestão diária para os micronutrientes foram calculadas para cada grupo, considerando-se um peso médio de 10 kg para cada criança. Os resultados obtidos para todas as dietas mostraram prevalência de inadequação para os micronutrientes avaliados e algumas comunidades, excederam o limite de 5 µg Hg/kg de peso corpóreo (PTWI). Esses resultados sugerem que programas de educação nutricional devem ser implementados nessas comunidades, com objetivo de melhor utilização dos recursos alimentares naturais locais.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, observa-se um interesse cada vez maior na relação entre dieta e saúde. Além disso, sabe-se que uma dieta adequada reduz o número de doenças reduzindo, portanto, os gastos públicos relacionados ao tratamento de doenças ocasionadas por deficiências nutricionais [1].

Elementos inorgânicos são componentes essenciais das dietas, e sua deficiência ou excesso pode causar sérios danos à saúde. Os efeitos da deficiência de elementos traço tornam-se

mais severos durante o desenvolvimento e crescimento, e são especialmente importantes na fase da infância, mas também são de grande importância para idosos e enfermos [2].

Do ponto de vista nutricional, o interesse está focado na adequação dos nutrientes essenciais, presentes nas dietas consumidas pela população [3-5]. Por outro lado, toxicologistas estão preocupados com os níveis de certos elementos potencialmente tóxicos, como por exemplo, o mercúrio em alimentos [6,7]. Água, ar e alimentação são as diferentes fontes de elementos traço para o corpo humano, porém a alimentação é considerada a principal fonte [8].

Recentemente, estudos envolvendo a avaliação de dietas de pré-escolares de vários municípios da região Amazônica, foram realizados no LAN/CRPq (IPEN) em parceria com o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). O objetivo inicial era fazer uma avaliação nutricional dessas crianças por meio da análise de amostras de dietas, porém verificou-se a presença de Hg em níveis altos o que nos levou a pesquisar, com mais detalhes, esse problema decorrente de uma possível contaminação ambiental da região Amazônica [9].

Continuando essa linha de pesquisa, dietas de diferentes ecossistemas Amazônicos foram analisadas com o objetivo de avaliar o conteúdo de micronutrientes e Hg, nessas dietas. Nessas dietas foram determinadas as concentrações dos elementos Ca, Fe, K, Na, Se e Zn; pela técnica de ativação neutrônica (NAA) e Hg total, pela técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS). Posteriormente, os dados de concentração para os micronutrientes foram convertidos em dados de ingestão e, os valores comparados com as novas recomendações do National Research Council (USA e Canadá) (DRIs – Dietary Reference Intakes) [10,11]. Para o Hg, verificou-se se os valores de ingestão não ultrapassavam os valores de PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) [12].

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local de Estudo

A região do presente estudo é a Amazônica e contempla algumas de suas comunidades, tais como: Alvarães, Anamá, Borba, Beruri, Codajás, Benjamin Constant, Nhamundá, Nogueira, todas localizadas no estado do Amazonas.

2.2. Amostragem e Preparo das Dietas

As dietas coletadas nos municípios estudados foram coletadas por meio da porção em duplicata de um dia inteiro. Cerca de 30-40 dietas foram coletadas e misturadas, formando um *pool* de dietas. Imediatamente após a coleta, as amostras foram congeladas e levadas ao Laboratório de Nutrição e Físico-química de Alimentos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Posteriormente, separou-se a parte não comestível e levou-se a parte comestível para uma estufa a 60°C, a fim de determinar a umidade constituinte. Após a secagem, as dietas foram pulverizadas em moinho elétrico, homogeneizadas, acondicionadas em frascos de polietileno previamente desmineralizados e enviadas ao Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica (LAN/ CRPQ) do IPEN/CNEN – São Paulo, para determinação da concentração de micronutrientes e mercúrio total. As seguintes dietas foram coletadas, nos respectivos locais e idades das crianças. As dietas foram coletadas dos locais: Anamá (dieta

de crianças de 0 a 6 anos - Calha do Rio Solimões), Borba (dieta da população - Calha do Rio Madeira), Creche Borba (dieta de 0 a 3 anos e de 4 a 6 anos), Beruri (dieta de 0 a 3 anos e de 4 a 6 anos - Calha do Rio Purus), Codajás (dieta de 0 a 3 anos e de 4 a 6 anos - Calha do Rio Solimões), Benjamim Constant (dieta de 0 a 3 anos e de 4 a 6 anos - Calha do Rio Solimões), Nhamundá, Nogueira e Alvarães.

2.3. Determinação de Micronutrientes pelo Método de NAA

2.3.1. Preparo das amostras, padrões sintéticos e materiais de referência.

Pesou-se cerca de 200 mg de cada amostra em duplicata e 150 mg dos materiais de referência certificados Orchard Leaves (NIST SRM 1571 - OL) e Oyster Tissue (NIST SRM 1566b - OT). Os padrões sintéticos utilizados foram preparados a partir de soluções padrão Spex Certiprep diluídas a concentrações apropriadas e pipetadas sobre uma tira de papel de filtro Whatman nº 41.

2.3.2. Irradiação e contagem das amostras e padrões

A análise das amostras foi realizada em duplicata juntamente com os padrões sintéticos e materiais de referência, submetidos à irradiação no reator de pesquisas IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP durante 8 horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Após um tempo de decaimento de aproximadamente 7 dias, pôde-se determinar os radioisótopos de meia-vida intermediária: ^{47}Ca , ^{42}K e ^{24}Na , fazendo-se a contagem das amostras e padrões por cerca de 2 horas. Após 20 dias de decaimento, puderam-se determinar os radioisótopos de meia-vida longa: ^{59}Fe , ^{75}Se e ^{65}Zn , utilizando-se um tempo de contagem de 12 horas para amostras e materiais de referência e de 1 hora, para os padrões pipetados. As medidas da radiação gama emitida pelos radioisótopos foram feitas em espectrômetros gama, constituídos de detectores de Ge hiperpuro, acoplados a analisadores multicanais e eletrônica associada e a microcomputadores para aquisição e processamento dos dados. Para processamento dos espectros gama, foi utilizado o programa de computação VISPECT2, em linguagem TURBOBASIC, desenvolvido pelo Dr. D. Piccot, Saclay, França.

2.3.3. Validação de metodologia analítica para NAA

A validação da metodologia analítica quanto à precisão e exatidão foi realizada por meio da análise dos materiais de referência (Orchard Leaves (NIST SRM 1571 - OL) e Oyster Tissue (NIST SRM 1566b - OT)). A partir dos resultados obtidos, foi calculado o Z-score [13].

2.4. Determinação de Mercúrio Total por Espectrometria de Absorção Atômica (CV AAS)

Para a determinação de mercúrio total, utilizou-se a técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio e injeção em fluxo (CV AAS), no equipamento FIMS (Flow Injection Mercury System) da Perkin Elmer.

2.4.1. Digestão e análise das amostras de dietas

Para a análise das dietas, pesaram-se cerca de 0,5 a 1,0g de amostra diretamente em um frasco de Teflon. Em seguida, foram adicionados 8 mL de HNO_3 concentrado e 4 mL de

H₂SO₄ concentrado. No dia seguinte, os tubos foram colocados para digestão num bloco digestor da Tecnal, por três horas a 90°C. Após a digestão e resfriamento a temperatura ambiente, adicionou-se 500µL de solução de K₂Cr₂O₇ 10% (m/v) e completou-se o volume para 50 mL. Em seguida os tubos foram levados para leitura da absorbância no FIMS. A curva de calibração foi preparada nas mesmas condições das amostras.

2.4.2. Validação de metodologia analítica para CV AAS

A validação de metodologia para a determinação de mercúrio total em dieta foi feita por meio da análise dos materiais de referência Orchard Leaves (NIST SRM 1571) e DORM- 1 (Dogfish Muscle, NRCC), com valores certificados para Hg.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Análise de mercúrio total

Os resultados obtidos nas determinações de Hg total nos materiais de referência por CV AAS se encontram apresentados na Tabela 1. Os resultados obtidos apresentaram desvio padrão de 8,1 e 10,1 assim como erros relativos de 1,0 e 10,0 %, comprovando dessa forma a precisão e a exatidão do método analítico.

Tabela 1. Análise dos materiais de referência por CV AAS

Material de Referência	Valor Certificado (µg kg ⁻¹)	Hg total (µg kg ⁻¹)	Desvio Padrão Relativo (%)	Erro Relativo (%)
Dorm-1	798 ± 74	790 ± 80	10,1	1,0
OL	150 ±15	135 ± 11	8,1	10

n^o de determinações = 3

Os resultados obtidos para Hg total nas análises das dietas, assim como os valores de ingestão diária e consumo semanal para Hg estão apresentados na Tabela 2. O valor limite estabelecido pela OMS [12] para ingestão de mercúrio é de 5µg Hg/ kg peso corpóreo/ semana (PTWI – Provisional Tolerable Weekly Intake).

De uma maneira geral, os resultados obtidos indicaram altas concentrações de Hg nas dietas analisadas. Quando esses dados são convertidos em dados de ingestão diária e/ou semanal, verificam-se, altos valores principalmente para a região de Beruri. Em geral, os municípios estudados revelaram elevados níveis de ingestão de Hg, a exceção de Borba, Codajás (0 a 3 anos) e Benjamim Constant (0 a 3 anos), cujas dietas não ultrapassaram o valor do limite diário de 7,14 µg de Hg.

Contudo, apesar dos valores encontrados no presente estudo, sabe-se que a eliminação de mercúrio e o desenvolvimento de sinais e sintomas de intoxicação dependem de fatores genéticos ainda desconhecidos que, de certa forma, protegem o indivíduo contra a intoxicação. Esses fatores estão relacionados ao sexo, idade, hormônios, taxa de hemoglobina e capacidade de indução das melaotoneínas, que podem funcionar como barreiras protetoras do cérebro e, sobretudo, do cerebelo onde o acúmulo é mais pronunciado [9].

Tabela 2. Resultados para Hg total, ingestão diária e consumo semanal para Hg

Município (Nome e faixa etária)	Concentração de Hg nas dietas ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Quantidade ingerida (g)	Ingestão diária ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Consumo semanal ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Anamã (0 a 6 anos)	107 ± 10	116,2	12,4	8,7
Borba (população)	$21,4 \pm 1,5$	175,1	4,6	3,3
Borba (0 a 3 anos)	$20,5 \pm 0,7$	217,0	1,7	1,2
Borba (4 a 6 anos)	$23,3 \pm 0,5$	81,5	1,8	1,3
Beruri (0 a 3 anos)	155 ± 11	76,7	25,2	17,6
Beruri (4 a 6 anos)	199 ± 22	162,4	36,0	25,2
Codajás (0 a 3 anos)	$69,0 \pm 8,0$	180,5	7,4	5,2
Codajás (4 a 6 anos)	108 ± 12	107,4	10,5	7,4
Benj Cons (0 a 3 anos)	$42,0 \pm 6,0$	97,1	4,2	3,0
Benj Cons (4 a 6 anos)	$100 \pm 1,0$	102,3	13,5	9,4
Nogueira	$70,0 \pm 8,0$	184,6	10,3	7,2
Alvarães	$89,0 \pm 2,0$	148,5	15,5	10,9
Nhamundá	$57,0 \pm 7,0$	378,0	10,5	7,4

3.2. Análise de micronutrientes pelo método da análise por ativação com nêutrons

3.2.1. Resultados das análises de dietas

Os valores de Z-score para os elementos determinados pelo método de NAA foram obtidos utilizando os valores obtidos para os materiais de referência Oyster Tissue (NIST SRM 1566b – OT) e Orchard Leaves (NIST 1571 – OL). As Figuras 1 e 2 apresentam os resultados obtidos para os valores de Z-score. Os valores de Z score, para os dois materiais de referência, estiveram dentro do intervalo de -3 a 3, indicando que os valores obtidos se encontram dentro da faixa dos valores do certificado a um nível de confiança de 99%.

A Tabela 3 apresenta os valores médios de concentração, em mg kg^{-1} , obtidos pela técnica de AAN para os elementos Ca, Fe, K, Na, Se e Zn. A partir desses valores de concentração e da quantidade ingerida em gramas, para cada grupo de crianças estudado, calcularam-se os valores de ingestão média diária (IMD) em mg/dia . Os valores de AI (Adequate Intake), EAR (*Estimated Average Requirement*) e RDA (*Recommended Dietary Allowances*) recomendados para os micronutrientes, em dois estágios de vida (1 a 3 anos e de 4 a 8 anos) também se encontram apresentados na Tabela 3.

Cálcio

O consumo de cálcio mostrou-se bem abaixo do valor recomendado para todos os municípios estudados segundo o valor de ingestão adequada estabelecido (valor de AI de 500 mg/dia (1 a 3 anos) e 800 mg/dia (4 a 8 anos)). Todas as dietas se mostraram deficientes em Ca, com relação ao valor recomendado (AI).

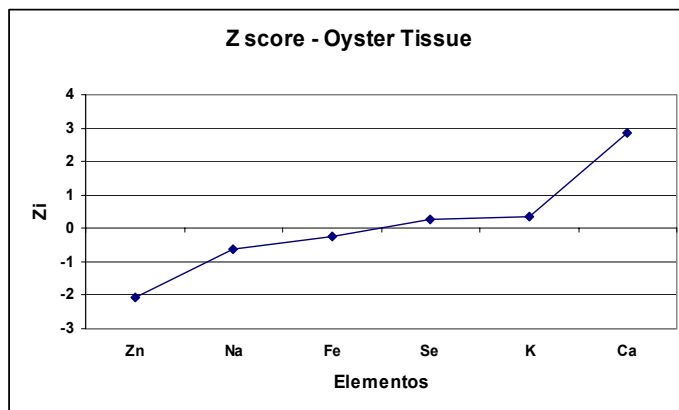


Figura 1. Valores de Z score obtidos na análise do material de referência Oyster Tissue (NIST SRM 1566b)

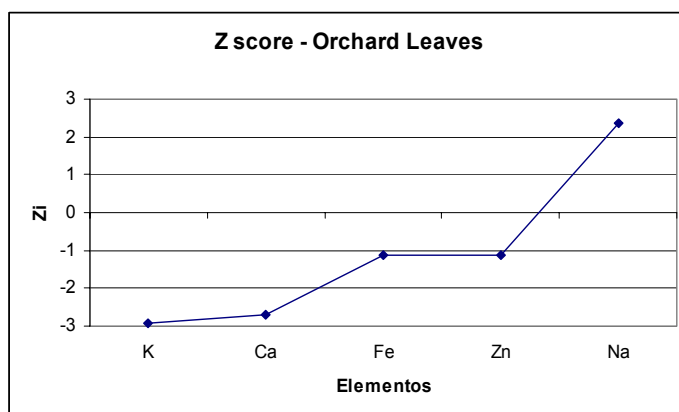


Figura 2. Valores de Z score obtidos na análise do material de referência Orchard Leaves (NIST 1571)

Ferro

Com relação à adequação da ingestão de ferro, os municípios de Anamã (0 a 6 anos), Borba, Benjamin Constant, Beruri e Codajás, nas faixas etárias de pré-escolares compreendidas entre 0 e 3 anos, apresentaram valores de acordo com o recomendado segundo dados de AI e EAR (em média 3,0 mg/dia), representando cerca de 38% das dietas analisadas. As demais dietas analisadas apresentaram valores de ingestão diária abaixo dos valores recomendados de AI/EAR (3,0 e 4,1 mg/dia, (1 -3 e 4-6 anos), respectivamente).

Zinco

Segundo os valores de EAR (2,2 e 4,0 mg/dia), verificou-se adequação da ingestão diária de zinco somente para os municípios de Beruri e Borba (0 a 3 anos), correspondendo a 15% das dietas analisadas. Com relação aos valores de AI (3,0 e 5,0 mg/dia), observaram-se valores muito inferiores aos recomendados para todas as populações com idade compreendida entre 4 e 6 anos, os quais apresentam valores de ingestão diária em cerca de metade do valor recomendado (ingestão de 2 a 3 mg/dia, em contraposição ao valor recomendado de 5 mg/dia).

Selênio

A ingestão diária de selênio foi comparada aos valores estabelecidos de RDA (20 e 30 µg/dia) e ADI (17 e 23 µg/dia). A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que apenas as comunidades de Nogueira, Benjamin Constant (0 a 3 anos), Beruri (4 a 6 anos), Alvarães e Nhamundá atingiram os valores recomendados (cerca de 38% das dietas analisadas).

Potássio e Sódio

Esses elementos apresentam valores de ADI de 3000 mg/dia (K) e 1000 mg/dia (Na) para a faixa etária de 1 a 3 anos e de 3800 (K) e 1200 mg/dia (Na), para a faixa etária de 4 a 8 anos. Comparando-se os valores de ingestão obtidos nas análises das dietas, verifica-se que em relação à ingestão de K, todas as dietas analisadas apresentaram valores bem inferiores aos recomendados. Com relação ao Na, somente as dietas das comunidades Beruri (0 a 3 anos) e (4 a 6 anos) e Alvarães alcançaram as recomendações.

Vale salientar a importância de fatores genéticos e demais características físicas e biológicas que influem na biodisponibilidade dos micronutrientes para o indivíduo e o grupo, bem como sua cinética de eliminação do organismo. Também a rotina e as atividades das populações e dos pré-escolares contribuem para modificações no perfil da concentração dos elementos no organismo, fato este que pode resultar num maior ou menor acúmulo do micronutriente e sua conseqüente alteração, não significando necessariamente uma situação de risco. O presente trabalho é instrumento de avaliação e, aliado a demais análises, possibilita uma visão concreta da adequação dos micronutrientes e elementos tóxicos nos ecossistemas estudados.

4. CONCLUSÕES

A utilização das técnicas de espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), utilizada para a determinação de mercúrio total e de análise por ativação com nêutrons (NAA), para a determinação da concentração dos micronutrientes (Ca, Fe, K, Na, Se e Zn) se mostraram bastante adequadas, com boa sensibilidade, precisão e exatidão.

De uma maneira geral, pode-se concluir que as dietas analisadas se mostraram deficientes para os micronutrientes analisados, devendo-se atentar à região de Beruri por apresentar valores de ingestão de Hg, muito acima do limite estabelecido. As dietas das comunidades Borba, em todas as faixas etárias e Benjamin Constant, na faixa etária compreendida entre 0 e 3 anos, foram as únicas que não ultrapassaram os limites diários de ingestão para Hg.

Com relação à adequação em micronutrientes, uma verificação das condições alimentares deve ser realizada com maior prioridade nas comunidades: Benjamin Constant (4 a 6 anos), Borba (4 a 6 anos), Anamã, Codajás e Nhamundá por apresentarem valores de ingestão de micronutrientes muito abaixo do recomendado.

Tabela 3. Valores de concentração, ingestão diária e valores de AI, EAR e RDA para os micronutrientes analisados (DRIs) [10,11]

local	idade		Ca	Fe	K	Na	Se*	Zn
Anamã	(0 a 6 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	2416	48	4554	6656	100	15,8
		IMD (mg/dia)	281	5,6	529	773	11,6	1,8
Alvarães		Conc (mg kg ⁻¹)	1018	22,6	3184	6189	217	16,4
		IMD (mg/dia)	178	4,0	557	1083	38	2,9
Benjamin Constant	(0 a 3 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1627	38,2	5308	8244	-	18,3
		IMD (mg/dia)	166	3,9	542,7	843	-	1,9
	(4 a 6 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1071	26,3	3395	7232	114	16,7
		IMD (mg/dia)	145	3,6	459	977	15,4	2,3
Beruri	(0 a 3 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1408	20,5	4204	5662	-	16,4
		IMD (mg/dia)	229	3,3	683	919	-	2,7
	(4 a 6 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1843	31	5478	6218	121,1	16
		IMD (mg/dia)	333	5,6	989	1123	21,9	2,9
Borba	população	Conc (mg kg ⁻¹)	1168	26,6	5096	4081	75,2	12,4
		IMD (mg/dia)	253	5,8	1106	886	16,3	2,7
	(0 a 3 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	-	49,7	3513	7635	67,8	27,2
		IMD (mg/dia)		4,0	286	622	5,5	2,2
	(4 a 6 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	-	38,3	2432	8121	74	33,5
		IMD (mg/dia)		2,9	187	623	5,7	2,6
Codajás	(0 a 3 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1849	33	3408	6162	108	13,4
		IMD (mg/dia)	199	3,5	366	662	11,6	1,4
	(4 a 6 anos)	Conc (mg kg ⁻¹)	1279	31,5	2380	7189	126	13,5
		IMD (mg/dia)	124	3,1	231	698	12,2	1,3
Nhamundá		Conc (mg kg ⁻¹)	1254	15,7	4908	7509	170	9,7
		IMD (mg/dia)	232	2,9	906	1386	31,4	1,8
Nogueira		Conc (mg kg ⁻¹)	399	5,8	7928	4990	219	13,2
		IMD (mg/dia)	59	0,9	1177	741	32,5	2
EAR (mg/dia)				3,0 (a) 4,1 (b)			17 (a) 23 (b)	2,2 (a) 4,0 (b)
RDA (mg/dia)				7,0 (a) 10,0 (b)			20 (a) 30 (b)	
AI (mg/dia)			500 (a) 800 (b)					3,0 (a) 5,0 (b)

* valores de ingestão calculados em µg/dia; IM = ingestão diária média (mg/dia) (a) – 1 a 3 anos, (b) – 4 a 8 anos

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de iniciação científica da aluna Andrea C. P. Santos.

REFERÊNCIAS

1. V.A.Maihara, M.G. Silva, V.L.S. Baldini, A.M.R. Miguel, D.I.T. Favaro. “Avaliação nutricional de dietas de trabalhadores em relação a proteínas, lipídeos, carboidratos, fibras alimentares e vitaminas”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **26** (3), pp.672-677, Campinas, jul/set. (2006).
2. D.I.T. Fávaro, V.A. Maihara, D. Mafra, S.A. Souza, M.B.A. Vasconcellos, M.B.B. Cordeiro, S.M.F. Cozzolino. “Application of neutron activation analysis in the determination of mineral and trace elements in Brazilian diets at IPEN/CNEN-SP”. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **244**(1), pp.241-245 (1999).
3. WHO, World Health Organization, “Progress towards the elimination of iodine deficiency disorders”, *World Health Organization* (Document WHO/NHD/99.4), Geneva (1999)
4. WHO, World Health Organization, “Iron deficiency, anemia assessment, prevention and control”. A guide for programme managers, *World Health Organization*, (Document WHO/NHD/01.3), Geneva (2001).
5. WHO, “Diet, food supply and obesity in the Pacific”, *World Health Organization*, Regional Office for the Western Pacific, Manila (2003).
6. L.K.O. Yuyama, J.P.L. Aguiar, S.H.M. Macedo, T. Gioia, K. Yuyama, D.I.T. Fávaro, C. Afonso, M.B.A. Vasconcellos, S.M.F. Cozzolino. “Determinação dos teores de elementos minerais em alimentos convencionais e não convencionais da região amazônica pela técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental”. *Acta Amazônica*, **27**(3), pp. 183-196 (1997).
7. P. Weihe, P. Grandjean, P., P.J. Jorgensen. “Application of hair-mercury to determine impact of seafood advisory”. *Environmental Research*, **97**, pp.201-208 (2005).
8. M.B. Alamin, A.A. Mhapes, A.M. Beje, A. Sadek, R.H. Atweer, K. Dubali, D.M. Saad. “Determination of essential and toxic elements in Libyan foodstuff using instrumental neutron activation analysis (INAA)”. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **271**(1), pp.247-250 (2007).
9. L.A. Farias. “Avaliação do conteúdo de mercúrio, metimercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da região amazônica”. Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). Autarquia associada à Universidade de São Paulo, (1996).
10. Institute of Medicine. “DRI’s – Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride”. *National Academic Press*, Washington, D.C., <http://www.nap.edu>. (1997).
11. Institute of Medicine. “DRI’s- Dietary Reference Intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc”. *National Academy Press*, Washington, D.C, p.1-27. <http://www.nap.edu>. (2002).
12. WHO, **Trace elements in human nutrition and health**. Library Cataloguing”, *World Health Organization*, Geneva (1996)
13. P. Bode. “Instrumental organizational aspects of neutron activation analysis laboratory”, *Delft: The Netherlands*, p.147, Delft university of Technology (1996).