

Christelle Sousa Afonso

Determinação de cádmio e chumbo em brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2013

Christelle Sousa Afonso

Determinação de cádmio e chumbo em brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Christelle Sousa Afonso

Determinação de cádmio e chumbo em brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos

Atesto à originalidade do trabalho:

Christelle Sousa Afonso

Projeto de Pós Graduação apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas.

Porto, 2013

Sumário

É importante garantir a segurança das crianças no que diz respeito aos brinquedos que possam originar algum tipo de perigo, nomeadamente à possível contaminação por metais tóxicos.

As crianças com idade inferior a 3 anos de idade são mais susceptíveis à contaminação por metais tóxicos pois manipulam o brinquedo de forma diferente, nomeadamente levando-o à boca.

Encontram-se estabelecidos limites máximos para vários metais pesados solúveis, como o antimónio, arsénio, bário, cádmio, chumbo, crómio e mercúrio. A Norma EN 71-3 prevê o controlo de determinados elementos que possam eventualmente apresentar risco de toxicidade para as crianças.

O presente trabalho pretende determinar a quantidade de chumbo e cádmio migrada de brinquedos, de forma a verificar se se encontram dentro dos limites impostos pela lei.

A migração de metal (cádmio e chumbo) dos diferentes brinquedos analisados foi determinada por voltametria de redissolução anódica de onda quadrada, usando um eléctrodo de carbono vítreo revestido com filme de bismuto.

Verificou-se, para todos os brinquedos analisados, que os valores de chumbo migrado, em mg/kg e em µg/dia, não excederam os limites de migração de chumbo impostos pela Diretiva 2009/48/EC (13,5 mg/kg) e pelo Decreto de Lei n.º 237/92 (0,7 µg/dia).

Abstract

It is important to ensure the safety of children in relation to toys that may lead to some kind of danger, including the possible contamination by toxic metals.

Children younger than 3 years of age are more susceptible to contamination by toxic metals because they manipulate the toy differently, including taking it to his mouth.

Maximum limits for various soluble heavy metals such as antimony, arsenic, barium, cadmium, lead, chromium and mercury are established. The Standard EN 71-3 provides control of certain elements which might present a risk of toxicity to children.

The present work aims to determine the amount of lead and cadmium migrated from the toys, in order to verify that they are within the limits imposed by the law.

The metal (cadmium and lead) migration from the different analysed toys was determined by square wave anodic stripping voltammetry using a glassy carbon electrode coated with bismuth film.

It was verified, for all the analysed toys, that the values of migrated lead ,in mg/kg and mg/day, did not exceed the lead migration limits imposed by the Directive 2009/48/EC (13,5 mg/kg) and the Decree Law n. 237/92 (0,7 mg/day).

Índice

I. Introdução.....	1
1.1. Os brinquedos no desenvolvimento da criança	2
i.i.i. Teoria de Piaget sobre o desenvolvimento cognitivo.....	2
1.2. Toxicidade dos metais	5
i.ii.i. Chumbo	7
i.ii.ii. Cádmio.....	11
1.3. Importância da determinação de metais em brinquedos.....	14
i.iii.i. Diretiva 2009/48/EC	16
i.iii.ii. Decreto de lei nº 237/92 do Diário da República	17
1.4. Métodos de preparação da amostra para análise de metais em brinquedos	18
i.iv.i. Calcinação da amostra.....	18
i.iv.ii. Digestão da amostra	18
i.iv.iii. Migração do metal da amostra	19
1.5. Métodos para análise de metais em brinquedos	20
i.v.i. Espectrofotometria de absorção atômica (AAS).....	20
i.v.ii. Plasma acoplado indutivamente (ICP)	23
i.v.iii. Voltametria.....	24
II - Parte Experimental	27
2.1. Reagentes e soluções	27
2.2. Amostragem	27
2.3. Instrumentação.....	29
ii.iv.i. Migração de metais dos brinquedos.....	30
ii.iv.ii. Determinação voltamétrica de Cd e Pb.....	31
ii.iv.iii. Determinação da concentração de Cd e Pb por adição de padrão	32
III - Resultados e Discussão	34

3.1. Determinação voltamétrica do Pb migrado dos brinquedos	34
3.2 Curvas de adição de padrão do Pb migrado dos brinquedos	35
3.3. Pb migrado dos diferentes brinquedos	37
IV. Conclusão	40
V. Bibliografia	42

Índice de Figuras

Figura 1 – Locais de ação do chumbo. Pontos de interação do chumbo: (1) canais de entrada de voltagem; (2) neurotransmissores (sistemas de mensageiros primários); (3) mensageiros secundários; (4) proteínas cinase; (5) sistemas de mensageiros terciários; (DNA reparador)	9
Figura 2 – Fatores nutricionais conhecidos que influenciam a susceptibilidade aos efeitos do chumbo	10
Figura 3 – Cádmio no organismo: Formas de ligação no sangue, síntese de metalotioneína e degradação no fígado e rins.....	12
Figura 4 – Mecanismos envolvidos na instabilidade genómica induzida pelo cádmio	13
Figura 5 – Carrinho “Happy Bear” (+ 18 meses)	28
Figura 6 – Anel de dentição “Zippy” (+ 3 meses)	28
Figura 7 – Anel de dentição “Chicco” (+ 4 meses)	18
Figura 8 – Brinquedos “Bazar Chinesa”. A - Anel de dentição (+ 4 meses); B - Crocodilo (< 3 anos); C - Linha de comboio (+ 3 anos); D - Carro dourado (+ 3 anos).....	29

Figura 9 – Potencióstato Ecochimie/Autolab modelo μ Autolab Type III acoplado com um Stand da Metrohm 663 VA29

Figura 10 – Banho de aquecimento com agitação GFL[®] 108330

Figura 11 – Voltamograma obtido para uma das amostras do brinquedo anel de dentição da “Chicco”, em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L, sem adição e após sucessivas adições de 5 μ g/L de Pb. Parâmetros de deposição: tempo de deposição (t_d) = 300 s; potencial de deposição (E_d) = -1,0 V34

Figura 12 – Curva de adição de padrão para a determinação de Pb numa das amostra do brinquedo anel de dentição da ”Chicco”, em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L36

Figura 13 – Curva de adição de padrão para a determinação de Pb numa das amostra do brinquedo carrinho da “Happy Bear[®]”, em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L36

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Sub-estádios do estágio sensorio-motor segundo Piaget3

Tabela 2 - Concentrações de chumbo, cádmio, crómio e zinco em brinquedos e outros objetos de vinilo e couro15

Tabela 3 - Limites de migração dos metais em brinquedos16

Tabela 4 – Valores de biodisponibilidade por dia (μg) dos vários elementos17

Tabela 5 - Valores (média \pm desvio padrão, $n = 3$) de Pb nos diferentes brinquedos de uma superfície comercial “Continente” e de uma loja “Bazar Chinesa”, ambas localizadas no Grande Porto38

Lista de Abreviaturas

AAS – Espectrofotometria de absorção atômica, do inglês *atomic absorption spectrophotometry*

ALAS – Ácido δ -aminolevulínico sintetase

ALAD – Ácido δ -aminolevulínico desidratase

Alb – Albumina

ASV – Voltametria de redissolução anódica, do inglês *anodic stripping voltammetry*

Bi – Bismuto

Cd – Cádmio

CdS – Sulfato de Cádmio

CE - Conformidade Europeia

FAAS – Espectrofotometria de absorção atômica de chama, do inglês *flame atomic absorption spectrophotometry*

GFAAS – Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrophotometry*

GSH - Glutathione

HCl – Ácido clorídrico

Hg – Mercúrio

HNO₃ – Ácido nítrico

ICP – Plasma acoplado indutivamente, do inglês *inductively coupled plasma*

ICP-OES – Espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

Determinação de cádmio e chumbo em brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos

ICP-MS – Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*

MT – Metalotioneína

Pb – Chumbo

PbCrO₄ – Cromato de chumbo

PbSO₄ – Sulfato de chumbo

PVC – Policloreto de vinilo, do inglês *polyvinyl chloride*

QI - Quociente de inteligência

ROS - Espécies reativas de oxigênio, do inglês *reactive oxygen species*

ZnS – Sulfureto de zinco

I. Introdução

Atualmente, a produção e o elevado consumo de brinquedos tem vindo a aumentar em todo o Mundo devido à melhoria das condições de vida do Homem. Contudo, o fabrico de brinquedos envolve a utilização de metais pesados, os quais podem ser tóxicos para as crianças.

É importante que os brinquedos não originem qualquer espécie de perigo para as crianças. Portanto, é primordial que os fabricantes tenham consciência e responsabilidade quanto ao cumprimento dos requisitos de segurança impostos pela legislação. A Norma EN 71-3 (British Standard, 2006) estabelece os limites máximos para vários metais pesados solúveis (incluindo o cádmio e o chumbo) em brinquedos de vários tipos de material, que possam originar qualquer tipo de toxicidade para as crianças.

Neste trabalho pretendeu-se efetuar a determinação de cádmio e chumbo em brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos. As crianças com menos de 3 anos de idade manipulam um brinquedo de forma diferente de uma criança com mais idade, levando o brinquedo à boca e até à possível ingestão parcial ou total deste.

Para a determinação da concentração destes dois metais, após migração, a metodologia utilizada foi a voltametria de redissolução anódica de onda quadrada, usando um eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de bismuto.

1.1. Os brinquedos no desenvolvimento da criança

Os brinquedos fazem parte do pequeno mundo mágico das crianças. São uma forma de descoberta, curiosidade e exploração, que leva a criança a procurar novos conhecimentos, proporcionando-lhe aprendizagem e desenvolvimento (Zatz, 2006).

A ligação com o brinquedo inicia-se nos primeiros meses de vida da criança e, ao longo dos seus estágios de desenvolvimento, os brinquedos são fundamentais na sua formação emocional, física e intelectual (Alysson et al., 2002; Feldman, 2001).

Nos primeiros meses de vida é importante que o bebé se familiarize com brinquedos que estimulem os seus sentidos. Sente-se particularmente atraído por objetos luminosos, brinquedos sonoros e brinquedos que se movimentam (Zatz, 2006).

i.i.i. Teoria de Piaget sobre o desenvolvimento cognitivo

De acordo com Piaget (*cit. in* Feldman, 2001), as crianças evoluem através de diversos estádios que se sucedem segundo uma ordem predeterminada. A evolução de um estádio para outro surge quando a criança atinge um determinado nível de maturidade e se encontra exposta a tipos de experiências relevantes. Sem estas experiências as crianças não se encontram aptas para alcançar o seu nível mais elevado de crescimento cognitivo (Feldman, 2001).

Piaget classifica quatro estádios ou períodos de desenvolvimento: o período sensório-motor, o período pré-operatório, o período das operações concretas e o período das operações formais (Feldman, 2001).

Período sensório-motor: do nascimento aos 2 anos

Este estágio caracteriza-se pela pouca aptidão das crianças para representar o contexto utilizando imagens, linguagem ou outro tipo de símbolos. Nesta fase ocorre essencialmente o desenvolvimento da permanência do objeto bem como das capacidades motoras (Feldman, 2001).

A partir dos 9 meses de idade as crianças começam por procurar de forma ativa o objeto escondido, indicando que desenvolveram uma representação mental do brinquedo (Feldman, 2001).

Este estágio é constituído por seis sub-estádios apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Sub-estádios do estágio sensorio-motor segundo Piaget (Boyd, 2011.)

Subestágio	Idade média (em meses)	Técnica básica	Características
1	0 a 1	Reflexos	Uso de esquemas ou reflexos inatos tais como sugar e olhar. Esquemas primitivos começam a mudar por meio de diversas etapas de acomodação. Imitação limitada, incapacidade de integrar as informações dos diversos sentidos.
2	1 a 4	Reações circulares primárias	Acomodação adicional de esquemas básicos, à medida que o bebê os pratica incessantemente – agarrar, ouvir, olhar, sugar. Início da coordenação dos esquemas dos diferentes sentidos, de modo que agora o bebê é capaz de olhar em direção a um som e sugar qualquer coisa que ele possa alcançar e levar à boca. Porém, o bebê ainda não relaciona suas ações corporais a resultados fora de seu corpo.
3	4 a 8	Reações circulares secundárias	O bebê se torna muito mais consciente dos eventos fora de seu corpo e os faz acontecer repetidamente em uma espécie de aprendizado por tentativa e erro. Contudo, os cientistas não sabem ao certo se bebês tão jovens assim já compreendem relações causais.* Imitação pode ocorrer, mas somente de esquemas que já existem no repertório do bebê. O bebê procura um objeto parcialmente escondido, mas carece de uma verdadeira permanência do objeto.
4	8 a 12	Coordenação de esquemas secundários	Comportamento intencional claro de meios e fins. O bebê não apenas vai atrás do que quer como pode combinar dois esquemas para isso, como mover um traveseiro para o lado para pegar um brinquedo (permanência do objeto). Ocorre imitação de novos comportamentos.
5	12 a 18	Reações circulares terciárias	Início da "experimentação", na qual o bebê experimenta novos modos de brincar ou manipular os objetos. Exploração muito ativa, muito propositada, através de tentativa e erro.
6	18 a 24	Primórdios da representação mental	O desenvolvimento do uso de símbolos para representar objetos ou eventos. A criança compreende que o símbolo é separado do objeto. Em consequência disso, os bebês nesse estágio são capazes de resolver problemas pensando sobre eles.

Período pré-operatório: dos 2 aos 7 anos

Neste período ocorre o desenvolvimento de sistemas representacionais internos que permite descrever pessoas, sentimentos ou acontecimentos. Este estágio também se caracteriza pelo desenvolvimento da linguagem, do pensamento simbólico e egocentrismo (Feldman, 2001).

Na fase pré-operatória as crianças têm a sua própria perspectiva de ver o mundo, pensando que toda a gente compartilha a sua perspectiva e conhecimento. Também utilizam frequentemente símbolos quando brincam e fingem que simples objetos, como um livro, é um carro empurrado ao longo do chão (Feldman, 2001).

Período das operações concretas: dos 7 aos 12 anos

Este estágio é essencialmente marcado pelo pensamento lógico e pela perda do egocentrismo. As crianças começam a pensar de uma forma mais lógica e adquirem o domínio do conceito de reversibilidade. Este domínio da reversibilidade caracteriza-se pela ideia de que algumas alterações têm a capacidade de ser anuladas por meio da reversão de uma ação anterior (Feldman, 2001).

Período das operações formais: dos 12 anos à idade adulta

O período das operações formais baseia-se no desenvolvimento do pensamento lógico e abstrato. O pensamento já não se encontra associado a situações que são observadas no contexto, e recorre-se essencialmente a técnicas lógicas para solucionar os problemas (Feldman, 2001).

Este pensamento das operações formais surge na adolescência mas é de referir que muitas pessoas não atingem este período, pois este encontra-se fundamentalmente influenciado pela cultura do indivíduo (Feldman, 2001).

1.2. Toxicidade dos metais

Os metais são considerados como os tóxicos mais antigos conhecidos pelo Homem. Compõem um grupo de elementos químicos sólidos no seu estado puro, com exceção do mercúrio que é líquido, caracterizados pelo seu brilho, dureza, boa condutividade de electricidade e calor, maleabilidade, além de elevados pontos de ebulição e fusão (Macedo, 2012).

Dentre estes elementos existem alguns que apresentam uma densidade ainda mais elevada do que a dos demais, sendo denominados metais pesados. Além da densidade elevada, os metais pesados também se caracterizam por apresentarem elevados valores de número atómico, massa específica e massa atómica (Macedo, 2012; Pascalicchio, 2002).

Os metais pesados apresentam, ainda, elevados níveis de reatividade e bioacumulação, o que significa que estes elementos permanecem em carácter cumulativo ao longo da cadeia alimentar (Pascalicchio, 2002).

Os metais pesados são frequentemente utilizados em pinturas para o revestimento de brinquedos ou como estabilizadores do policloreto de vinilo (PVC) (Kumar, 2007; Mert, 2012).

A exposição do ser humano aos metais pesados constitui um grande potencial de risco para o desenvolvimento de graves problemas de saúde a curto ou longo prazo, podendo afetar tecidos e órgãos. Conforme Macedo (2012) “ isso decorre da alteração dos processos bioquímicos, organelos e membranas celulares dos respectivos órgãos afetados, graças à afinidade dessas regiões com o agente tóxico em questão “.

Contudo, os metais podem ser inativados e eliminados perante a terapêutica com substâncias quelantes, resultando moléculas complexas, atóxicas e excretáveis (Mert, 2012).

A toxicidade dos metais depende da sua lipossolubilidade. Os sistemas mais afetados são o gastrointestinal, o renal, o hematopoiético e o neurológico (central e periférico) (Ahamed, 2007; Macedo, 2012).

A avaliação da biodisponibilidade é feita pela quantificação do metal presente no sangue, tecidos, órgãos, pelos e ossos. Estes ensaios utilizam cobaias, ratos, coelhos ou porcos (por exemplo) com o objetivo de simular a ingestão de materiais contaminados. As características fisiológicas e anatómicas dos porcos, as quais são semelhantes às dos humanos, possibilitam respostas quase idênticas (Bosso, 2008). Quanto aos ratos, estes são bons simuladores do trato gastro-intestinal infantil, devido às suas características de alimentação e pH gástrico (Bosso, 2008; Guney, 2012).

Para determinar a biodisponibilidade efetiva de materiais contaminados podem realizar-se ensaios de biodisponibilidade *in vivo*, os quais são relativamente úteis para simular a exposição ao material contaminado (Bosso, 2008).

Existem também os testes de bioacessibilidade *in vitro*, que se baseiam em simular as condições físico-químicas das soluções presentes no estômago e duodeno, de forma a

estimar a quantidade de metal. Utilizam-se soluções artificiais que simulam o meio dos compartimentos digestivos (Bosso, 2008; Guney, 2012).

Conforme Bosso (2007), “a bioacessibilidade oral de uma substância foi definida como a fração solúvel nas condições do trato gastro-intestinal e que está disponível para absorção”.

As crianças apresentam um elevado risco à exposição aos metais pesados, sendo especialmente susceptíveis aos seus efeitos tóxicos, devido ao seu sistema de destoxificação hepático e barreira hemato-encefálica serem biologicamente mais imaturos (Ahamed, 2007; Guney, 2012).

Por outro lado, os brinquedos podem conter níveis elevados de metais pesados, aumentando a exposição da criança aquando da manipulação do brinquedo com as mãos e a boca. As crianças com idade inferior a 3 anos manipulam de forma diferente um brinquedo do que uma criança com idade superior (Abhay, 2007; Almog, 1997; Kumar, 2007).

A exposição da criança aos metais provenientes do brinquedo pode dar-se por várias formas, entre as quais, inalatória, dérmica, saliva, ou através dos fluidos gástricos após ingestão parcial do brinquedo (Mert, 2012). A via mais comum é a saliva, pois é habitual que as crianças com idade inferior a 3 anos estejam em permanente contato com o brinquedo na boca (Ahamed, 2007).

i.ii.i. Chumbo

O chumbo é um elemento tóxico não essencial ao organismo, que não exerce nenhuma função fisiológica conhecida no Homem. Atualmente, este metal tem sido utilizado em vários setores industriais, e a sua contaminação pode ser proveniente de várias fontes,

tais como o ar, o solo e a água. Contudo, o chumbo pode interferir sobre vários processos bioquímicos essenciais, provocando efeitos adversos (Bosso, 2008; Matte, 2003).

A toxicidade deste metal deve-se essencialmente à sua interferência nas funções das membranas celulares e enzimas, formando complexos estáveis com ligandos contendo enxofre, fósforo, oxigênio ou azoto (Bosso, 2007; Matte, 2003).

Por outro lado, o chumbo compete com outros metais nos locais de ligação, nomeadamente com o cálcio, impedindo que este exerça as suas funções (Matte, 2003).

A absorção do chumbo na sua forma livre (Pb^{2+}), ou complexado com aminoácidos, ácidos ou sais orgânicos, dá-se no estômago e no duodeno. Deste modo, pode ser transportado através da parede epitelial, e conseqüentemente absorvido, e passar para a circulação sanguínea (Bosso, 2007).

A contaminação por chumbo pode ter efeitos graves no desenvolvimento cognitivo na criança, já que este metal contribui para a falta de atenção e níveis de QI baixos (Abelsohn, 2010; Finkelstein, 1998). Isso interfere com o desenvolvimento de sinapses, ou conexões entre os neurônios, que permitem uma criança a aprender (Figura 1) (Finkelstein, 1998).

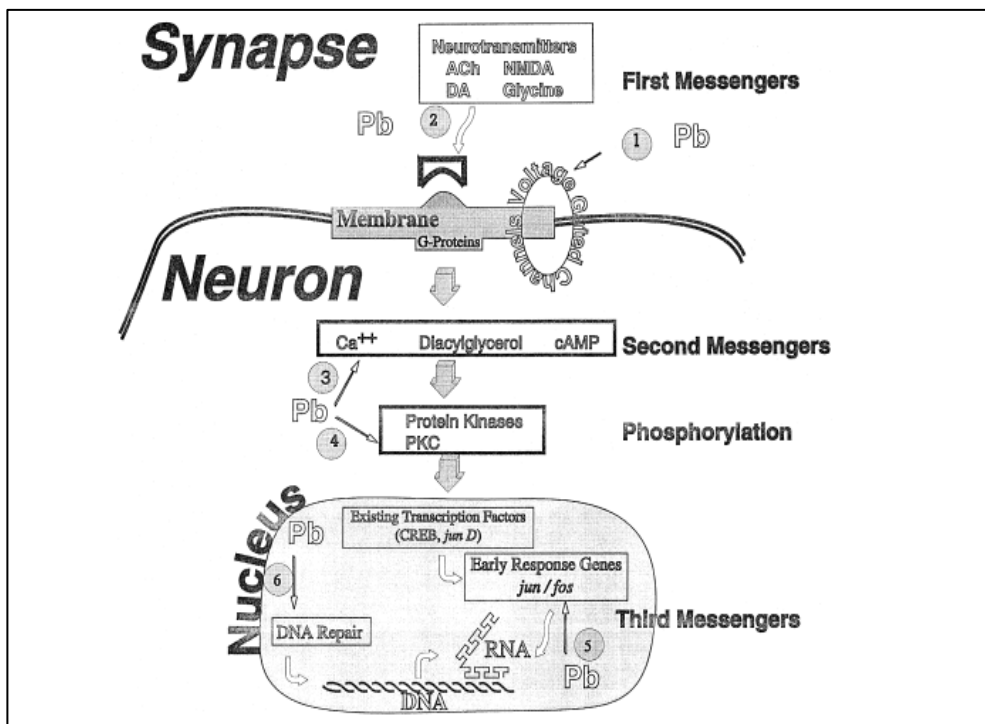


Figura 1 – Locais de ação do chumbo. Pontos de interação do chumbo: (1) canais de entrada de voltagem; (2) neurotransmissores (sistemas de mensageiros primários); (3) mensageiros secundários; (4) proteínas cinase; (5) sistemas de mensageiros terciários; (DNA reparador) (Finkelstein, 1998).

Para além disso, o chumbo também pode causar distúrbios hematológicos, tal como anemia, provocada pela inibição da ácido δ -aminolevulénico sintetase (ALAS) e da ácido δ -aminolevulénico desidratase (ALAD), enzimas necessárias na biossíntese do grupo heme (Bosso, 2007; Johnson, 1998). Por outro lado, o chumbo também inibe a incorporação do ferro na protoporfirina heme precursora, que se acumula no eritrócito (Matte, 2003).

Conforme Moreira (2004) “...a anemia não é uma manifestação precoce do envenenamento por chumbo, sendo rara sem outros efeitos detetáveis, e só é evidente quando o nível de Pb-S é significativamente elevado por períodos elevados”.

Os nutrientes também influenciam a toxicidade do chumbo, podendo reduzir os efeitos tóxicos deste (Figura 2).

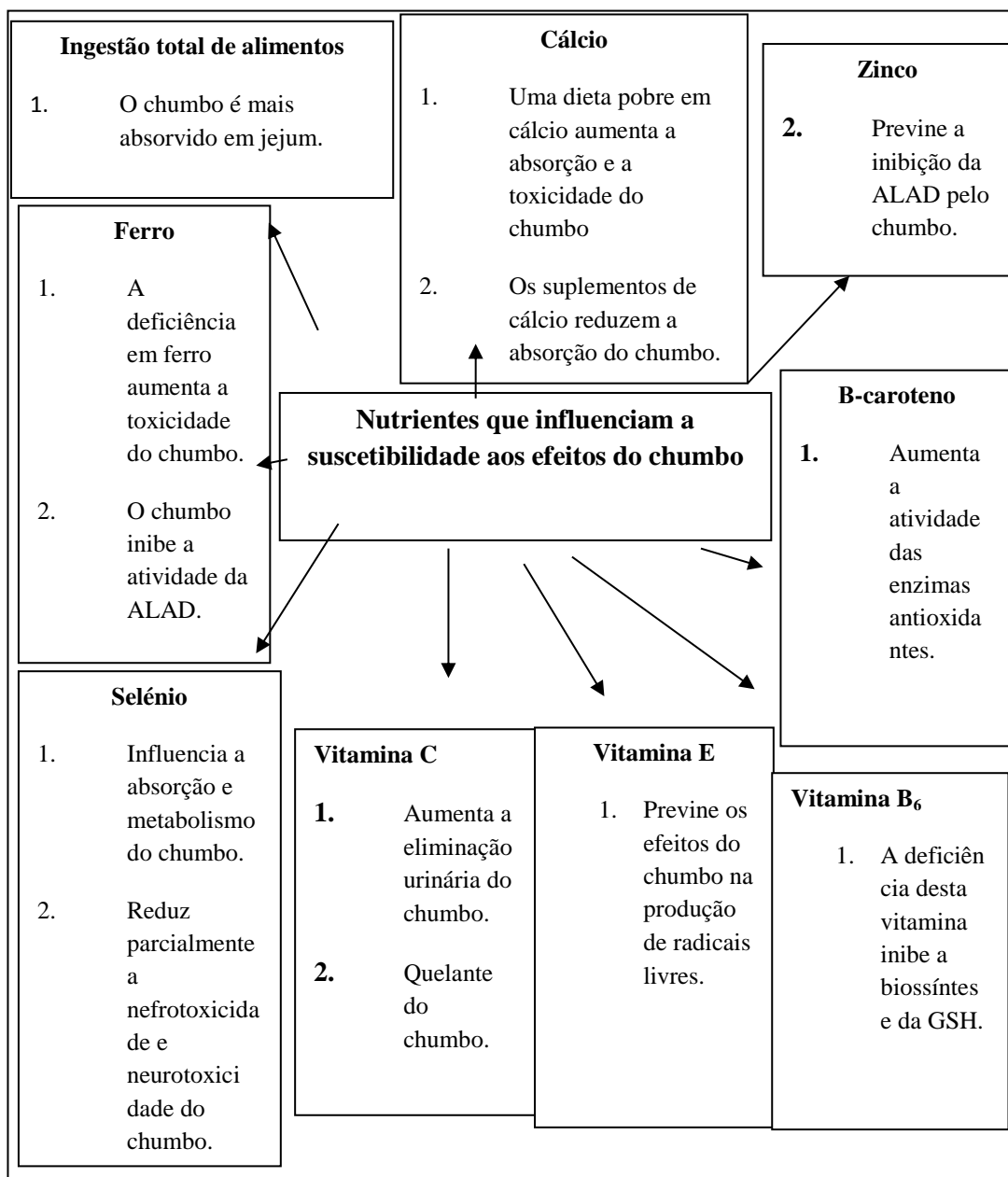


Figura 2 – Fatores nutricionais conhecidos que influenciam a susceptibilidade aos efeitos do chumbo [Adaptado de (Ahamed, 2007)].

i.ii.ii. Cádmio

O cádmio é um elemento não essencial, ubíquo no meio ambiente, e reconhecido como um perigo para o ser humano, devido ao seu longo tempo de semi-vida (Metka, 2012).

A exposição ao cádmio ocorre essencialmente através dos alimentos, em particular através da ingestão de mariscos bem como de frutas e vegetais. A exposição ocupacional ocorre principalmente na indústria, especialmente em refinarias e na produção de esmaltes e tintas (Jarup, 2009). Já a contaminação dos solos pode ocorrer através da precipitação, ocorrendo a deposição do cádmio presente na atmosfera. Outras formas de contaminação dos solos podem ocorrer através dos resíduos das fábricas e esgotos, ou na utilização de fertilizantes com cádmio na agricultura (Jarup, 2009; Filipic, 2012).

O cádmio pode ser absorvido por três vias: oral, inalatória e gastrointestinal. Aquando da sua absorção, este liga-se à albumina no plasma e é transportado para o fígado, onde o complexo é quebrado e o cádmio liga-se a uma proteína de baixo peso molecular, a metalotioneína, formando o complexo cádmio-metalotioneína (Figura 3) (Jarup, 2009; Nordberg, 2009)

Uma pequena proporção de metalotioneína hepática é lentamente libertada para o plasma sanguíneo e filtrada através da membrana glomerular e posteriormente reabsorvida no túbulo proximal. Após a reabsorção, o cádmio entra nos lisossomas nas células tubulares, onde é libertado a partir da metalotioneína. Os íões cádmio libertados podem eventualmente causar danos nos tecidos se a metalotioneína não estiver presente (Nordberg, 2009).

Com um longo tempo de exposição, o cádmio livre pode estimular uma nova produção de metalotioneína nas células tubulares renais. Assim, a ligação da metalotioneína ao cádmio proporciona a proteção das células (Nordberg., 2009).

Quando há disfunção tubular renal, o processo normal de reabsorção do cádmio-metalotioneína é diminuído e a concentração de cádmio presente na urina está aumentada. Os danos a nível dos túbulos renais são maioritariamente provocados pela longa exposição ao cádmio e pelo aumento da excreção de proteínas de baixo peso molecular. As manifestações renais provocadas pelo cádmio são principalmente a proteinúria, em que aparecem na urina proteínas como a beta2- microglobulina, e a alfa1 microglobulina (Jarup, 2009; Nordberg, 2009).

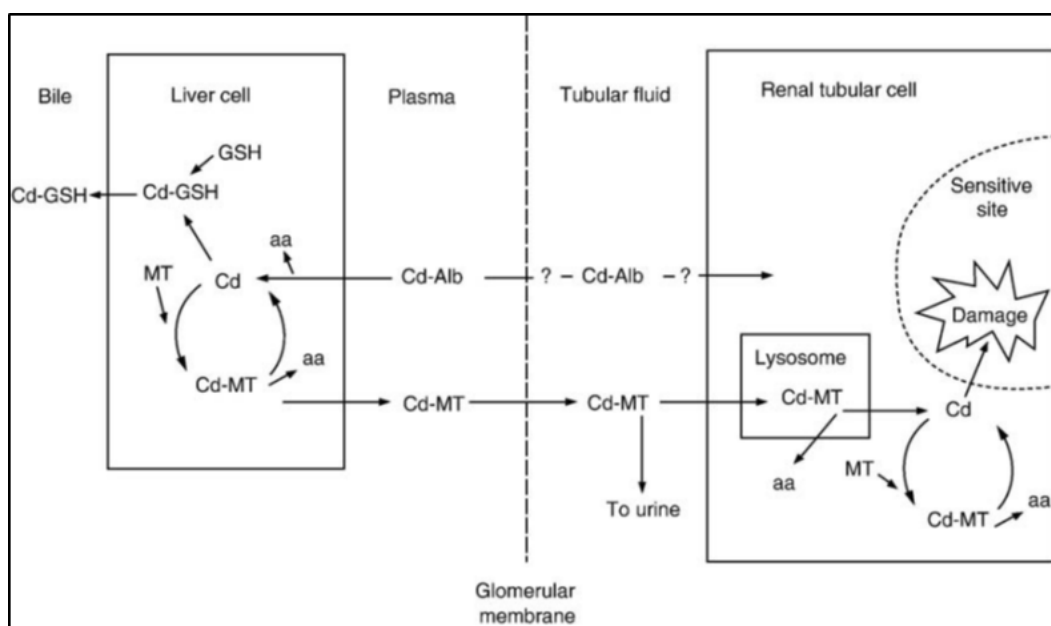


Figura 3 –Cádmio no organismo: Formas de ligação no sangue, síntese de metalotioneína e degradação no fígado e rins (Nordberg, 2009).

GSH: glutatona; MT: metalotioneína; aa: aminoácidos; Alb: albumina.

A prolongada exposição a elevados níveis de cádmio pode levar ao aparecimento de danos ósseos, nomeadamente da doença itai-itai. Esta patologia é caracterizada como uma espécie de osteomalacia, em que apresenta múltiplas fraturas e distorções ao longo dos ossos, provocando dores muito severas. Este fato deve-se à diminuição dos níveis

de cálcio no plasma associada à disfunção tubular renal e à indução da osteotoxicidade pelo cádmio (Jarup, 2009; Nordberg, 2009).

Segundo a “International Agency for Research on Cancer” e “US National Toxicology Program”, o cádmio é classificado como um carcinogénico. Esta classificação baseia-se em vários estudos que associam a exposição ocupacional do cádmio ao cancro do pulmão, dos rins e do fígado, entre outros. Isto deve-se à instabilidade genómica induzida pelo cádmio, ou seja, à acumulação de alterações no genoma durante o ciclo de vida das células (Figura 4) (Jarup, 2009).

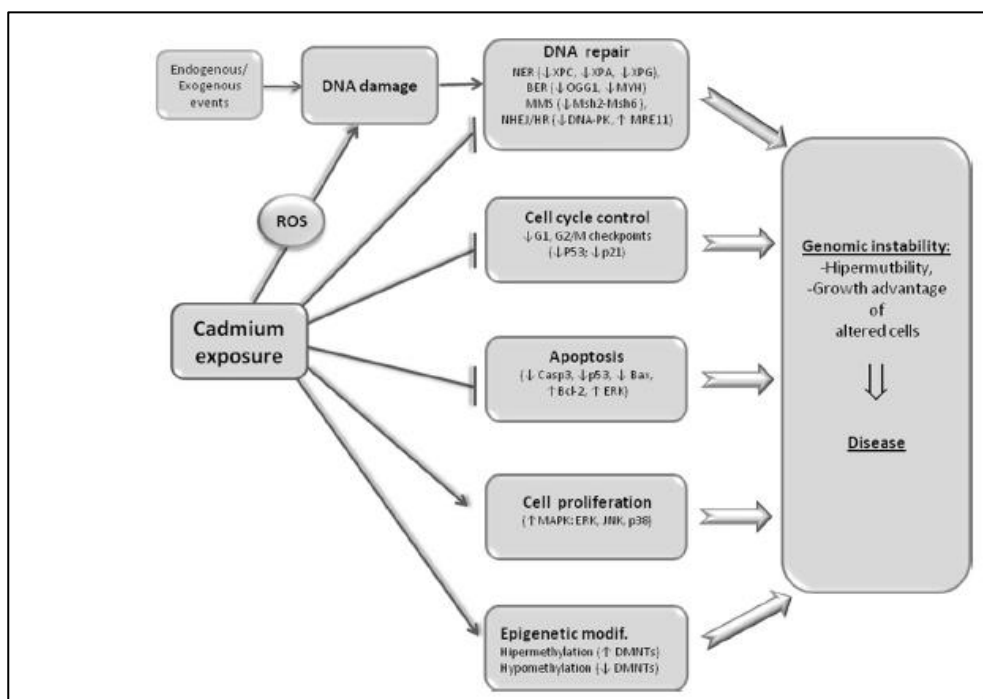


Figura 4 – Mecanismos envolvidos na instabilidade genómica induzida pelo cádmio (Filipic, 2012).

ROS: Espécies reativas de oxigénio.

A via inalatória e o trato gastrointestinal também podem encontrar-se afetados pela exposição ao cádmio provocando efeitos tóxicos como danos pulmonares, vómitos e diarreia (Nordberg., 2009).

Nas crianças a absorção do cádmio é maior que nos adultos podendo prejudicar o desenvolvimento cerebral em crianças muito jovens. Crianças com níveis mais elevados de cádmio são mais propensas a ter dificuldades de aprendizagem. Alguns estudos têm mostrado que doses elevadas podem provocar problemas neurológicos, atraso mental e diminuição do quociente de inteligência (QI) (Guney, 2012).

1.3. Importância da determinação de metais em brinquedos

É de primordial importância que os brinquedos não devam constituir qualquer espécie de perigo para as crianças. Por isso, é necessário que os fabricantes tenham consciência e responsabilidade quanto ao cumprimento dos requisitos de segurança impostos pela legislação. Os brinquedos que respeitem os requisitos apresentam a marcação de Conformidade Europeia (CE).

Os metais em brinquedos podem representar uma ameaça importante para as crianças, especialmente os metais pesados, que incluem o arsénio, o bário, o cádmio, o chumbo, o cromo, o selénio e o mercúrio. Este grupo de metais pode acumular-se no organismo e causar efeitos prejudiciais ao longo do tempo (Grosser et al., 2008; Guney, 2012; Zini et al., 2009).

A principal forma de contaminação por metais em crianças é por ingestão, pois as crianças com idade inferior a 3 anos encontram-se numa fase em que exploram maioritariamente o brinquedo com a boca (Almog, 1997; Kumar, 2007).

Os brinquedos de plástico e de madeira, sobretudo com superfícies pintadas, podem conter níveis elevados de metais pesados, daí a importância do estabelecimento de limites de forma a controlar o conteúdo de metais pesados no brinquedo e a assegurar a segurança deste para a criança (Grosser et al., 2008).

Diferentes estudos verificaram a existência de níveis elevados de chumbo, crômio, zinco ou cádmio, em brinquedos fabricados com pigmentos corantes metálicos (Almog, 1997; Guney; 2012; Zini, 2009).

Tabela 2 - Concentrações de chumbo, cádmio, crômio e zinco em brinquedos e outros objetos de vinilo e couro (Almog, 1997).

Sample	Element Concentration by Weight, µg/g (Range of Duplicate Analyses)				Element Concentration by Surface Area, µg/cm ² (Range of Duplicate Analyses)			
	Pb	Cd	Cr	Zn	Pb	Cd	Cr	Zn
Kit vinyl								
Red 1	266 (23)	179 (4)	16.5 (5)	255 (12)	19.3 (1.9)	13.0 (0.4)	1.2 (0.3)	18.5 (0.7)
Green	1703 (517)	128 (1)	195 (13)	982 (16)	108 (33)	8.1 (0.1)	12.4 (0.8)	62.4 (1.1)
Mustard	1448 (22)	126 (8)	206 (48)	1548 (158)	89.4 (3.0)	7.8 (0.9)	12.9 (3.6)	96.2 (14.5)
Yellow	1941 (210)	1811 (12)	280 (3)	443 (215)	129 (16)	120 (2)	18.6 (0.2)	29.7 (14.8)
Brown	251 (9)	160 (3)	65.9 (2.3)	2024 (123)	15.9 (0.5)	10.1 (0.2)	4.2 (0.1)	128 (1)
Red 2	327 (57)	164 (6)	110 (4)	1439 (32)	20.1 (3.5)	10.0 (0.3)	6.8 (0.2)	88.3 (1.8)
Vinyl cord								
Neutral	2513 (86)	<1 ...	656 (85)	127 (3)	114 (1)	<1 ...	29.8 (4.8)	5.7 (0.3)
Brown	5924 (47)	<1 ...	887 (15)	191 (2)	290 (5)	<1 ...	43.4 (0.4)	9.4 (0.3)
Leather trim								
Orange	4462 (70)	<1 ...	10080 (883)	7.9 (3.2)	280 (5)	<1 ...	632 (56)	<1 ...
Yellow 2	1981 (38)	<1 ...	29342 (1811)	15.1 (0.5)	89.5 (2.1)	<1 ...	1326 (88)	<1 ...
Red	1904 (17)	<1 ...	19824 (39)	17.6 (6.5)	66.2 (1.3)	<1 ...	690 (30)	<1 ...
Green 1	1124 (7)	<1 ...	4511 (110)	15.8 (9.7)	50.6 (0.5)	<1 ...	203 (6)	<1 ...
Green 2	791 (22)	<1 ...	20624 (2944)	22.2 (1.0)	42.5 (0.4)	<1 ...	1110 (180)	1.2 (0.1)
Teal	643 (3)	1.5 (0.1)	184 (6)	8.2 (4.6)	26.1 (4.0)	<1 ...	7.5 (0.8)	<1 ...
Brown	454 (11)	<1 ...	9313 (23)	12.4 (2.1)	25.6 (0.2)	<1 ...	525 (11)	<1 ...
Yellow	7.7 (0.2)	<1 ...	22598 (721)	37.5 (10.9)	<1 ...	<1 ...	1171 (92)	1.9 (0.5)
Leather pieces								
Yellow	613 (18)	<1 ...	29109 (1800)	18.0 (1.2)	19.9 (0.2)	<1 ...	947 (75)	<1 ...
Brown 1	1092 (29)	<1 ...	18340 (193)	12.0 (1.5)	53.4 (0.5)	<1 ...	899 (5)	<1 ...
Brown 4	2940 (101)	<1 ...	11790 (1432)	229 (11)	296 (8)	<1 ...	1181 (74)	23.2 (2.5)
Yellow/brown	1759 (27)	<1 ...	17445 (809)	43.3 (6.3)	92.0 (0.1)	<1 ...	912 (27)	2.4 (0.4)
Leather accessory								
Rose	837 (19)	<1 ...	17283 (1029)	136 (6)	55.4 (1.9)	<1 ...	1143 (56)	9.0 (0.5)
Leather glove								
Palm	3348 (222)	3.7 (0.6)	14559 (1222)	303 (67)	262 (29)	<1 ...	1141 (148)	23.9 (6.3)
Back	4972 (168)	<1 ...	18790 (1832)	110 (2)	537 (6)	<1 ...	2023 (108)	11.9 (0.3)

Na Tabela 2 apresentam-se concentrações de diferentes metais, entre os quais o chumbo e o cádmio, em diversos materiais utilizados no fabrico de brinquedos.

No fabrico de brinquedos, os pigmentos coloridos, tais como amarelo e laranja, resultam da utilização do sulfureto de cádmio (CdS) misturado com outros sulfuretos metálicos como o sulfureto de zinco (ZnS), bem como através da associação de cromato de chumbo (PbCrO₄) e sulfato de chumbo (PbSO₄) (Almog, 1993).

O chumbo e o cádmio também são adicionados ao PVC, na produção de brinquedos em plástico, como estabilizadores para prevenção da reação de radicais livres de cloro com

radicais livres de hidrogénio, dando origem ao ácido clorídrico (HCl). Como consequência, o HCl leva à digestão do PVC (Kumar, 2007).

i.iii.i. Diretiva 2009/48/EC

A segurança do brinquedo, indicada na Diretiva 2009/48/EC (European Council, 2009), prevê o controlo de determinados elementos que podem eventualmente apresentar um risco de toxicidade para a criança, dado que por ingestão repetida apresentam um efeito cumulativo.

A Tabela 3 apresenta os limites de migração de diferentes metais em brinquedos.

Tabela 3 - Limites de migração dos metais em brinquedos (European Council, 2009).

Element	mg/kg in dry, brittle, powder-like or pliable toy material	mg/kg in liquid or sticky toy material	mg/kg in scraped-off toy material
Aluminium	5 625	1 406	70 000
Antimony	45	11,3	560
Arsenic	3,8	0,9	47
Barium	4 500	1 125	56 000
Boron	1 200	300	15 000
Cadmium	1,9	0,5	23
Chromium (III)	37,5	9,4	460
Chromium (VI)	0,02	0,005	0,2
Cobalt	10,5	2,6	130
Copper	622,5	156	7 700
Lead	13,5	3,4	160
Manganese	1 200	300	15 000
Mercury	7,5	1,9	94
Nickel	75	18,8	930
Selenium	37,5	9,4	460
Strontium	4 500	1 125	56 000
Tin	15 000	3 750	180 000
Organic tin	0,9	0,2	12
Zinc	3 750	938	46 000

i.iii.ii. i.iii.ii. Decreto de lei nº 237/92 do Diário da República

As crianças são essencialmente vulneráveis aos riscos resultantes da utilização de brinquedos. De acordo com o Decreto de lei nº 237/92 (Diário da República, 1992) “este fato exige que o legislador proíba a comercialização de brinquedos perigosos e procure minimizar os riscos da sua manipulação. Nesta conformidade, o presente diploma estabelece um conjunto de exigências para garantir a proteção da saúde e segurança daqueles consumidores infantis”.

A Tabela 4 apresenta os valores de biodisponibilidade que não devem ser ultrapassados por dia, resultante da utilização dos brinquedos.

Tabela 4 – Valores de biodisponibilidade por dia (μg) dos vários elementos (Diário da República, 1992)

Elemento	Biodisponibilidade por dia (μg)
Antimónio	0,2
Arsénico	0,1
Bário	25,0
Cádmio	0,6
Crómio	0,3
Chumbo	0,7
Mercúrio	0,5
Selénio	5,0

1.4. Métodos de preparação da amostra para análise de metais em brinquedos

i.iv.i. Calcinação da amostra

A calcinação é um método usado desde a Antiguidade, que se baseia no aquecimento do metal a temperaturas muito elevadas (800 °C). Muitas vezes os metais encontram-se dispersos na matéria orgânica impossibilitando a sua análise devido ao sinal insuficiente fornecido pelo equipamento. Portanto, recorre-se à calcinação para destruir a matéria orgânica e concentrar os metais na forma de óxidos (Zini et al., 2009).

Este processo facilita a oxidação, para que o metal se converta do seu estado metálico ao estado pulveréneo de óxido calcinado. Esta transformação do metal é importante para alcançar o estado elementar da matéria e a eliminação tanto de elementos voláteis como de impurezas (Eco, 2012).

i.iv.ii. Digestão da amostra

Este processo permite a destruição da matéria orgânica presente na amostra bem como a dissolução dos íons metálicos dos complexos. Os métodos mais utilizados são a digestão por radiação micro-ondas e a digestão por radiação micro-ondas combinada com agentes químicos (Grosser et al., 2008).

A digestão por radiação micro-ondas diminui a etapa de pré-tratamento da amostra, bem como as possíveis contaminações, e possibilita a utilização de menores volumes de reagentes ácidos (Grosser et al., 2008).

A radiação eletromagnética não ionizante de micro-ondas afeta intensamente a rotação de dipolos elétricos e a condução iônica, provocando o aquecimento rápido do meio absorvente. O calor produzido pelo aquecimento vem de dentro da solução para fora, proporcionando uma maior rapidez no aquecimento. No sistema convencional, em primeiro lugar é aquecido o recipiente e só depois a solução (Quinágua, 2012).

De acordo com Marquez (*cit. in* Quinágua, 2012), “ A digestão de amostras por micro-ondas é mais eficiente que o sistema convencional, devido ao exato controle de energia fornecido às amostras, para longos e curtos períodos de tempo de digestão. O sistema fechado resulta em temperaturas e pressões mais reprodutíveis.”

O método mais usado é a digestão por radiação micro-ondas combinada com a oxidação por compostos químicos, que se caracteriza, por exemplo, pela adição de ácido nítrico (HNO_3) ou HCl concentrados à amostra previamente cortada e pesada. Posteriormente a amostra preparada é colocada num sistema de micro-ondas a temperatura e tempo devidamente programados (Grosser et al., 2008). Nesta técnica, o HNO_3 é essencialmente importante dado que decompõe a matéria orgânica das amostras proporcionando uma maior extração dos elementos presentes na amostra (Grosser et al., 2008). Contudo, este método não é o mais apropriado na determinação de metais em brinquedos, porque não simula as condições gástricas, sendo assim mais indicado quando se pretende obter uma análise do conteúdo total da amostra.

i.iv.iii. Migração do metal da amostra

Dependendo do tipo de material do brinquedo a analisar, existem vários procedimentos, descritos na norma EN 71-3 “Safety of toys- migration of certain elements” (British Standard, 2006).

O procedimento utilizado para o tipo de brinquedo analisado no presente trabalho (ISO 8124-3) (“Coatings of paint, varnish, lacquer, printing ink, polymer and similar

coatings”) (British Standard, 2006) consiste, resumidamente, na adição de uma quantidade apropriada de HCl 0,07 M às porções de amostra previamente pesadas com rigor, com posterior agitação a 37 °C durante uma hora ao abrigo da luz e mais uma hora em repouso. Este método é adequado, já que permite simular as condições gástricas do Homem (pH 1,0-1,5 e 37 °C) (Guney, 2012).

O procedimento descrito na norma americana ASTM 936-07 (método AOAC 973.32), (ASTM, 2007) difere do procedimento experimental referido acima, na substituição do HCl 0,07 M por ácido acético a 4%, e permanecendo 24 horas ao abrigo da luz (Grosser et al., 2008). Segundo Grosser et al (2008), foram realizados ensaios para avaliar qual destes dois procedimentos permite obter limites de deteção mais baixos. De acordo com os resultados obtidos, a utilização de HCl 0,07 M permite obter limites de deteção mais baixos, o que implica que é o método mais eficaz para a migração de metais de brinquedos.

1.5. Métodos para análise de metais em brinquedos

i.v.i. Espectrofotometria de absorção atómica (AAS)

A espectrofotometria de absorção atómica (AAS, do inglês *atomic absorption spectrophotometry*) é uma técnica muito utilizada para a análise de metais vestigiais em amostras biológicas, metalúrgicas, farmacêuticas e ambientais (Godoi et al., 2009). Esta técnica permite a determinação de aproximadamente 60 a 70 elementos e tem como princípio a medição da absorção da radiação proveniente de uma fonte, por átomos gasosos no estado fundamental (Gonçalves, 2001).

Um equipamento de absorção atômica é constituído por um sistema de emissão, sistema de absorção, sistema de seleção e por um sistema de deteção ou registo (Gonçalves, 2001).

O sistema de emissão baseia-se numa fonte de radiação que emite o espectro do elemento que se pretende analisar. A radiação emitida é encaminhada para o meio absorvente formado pelos átomos da amostra (Gonçalves, 2001).

O sistema de absorção tem como principal componente o vapor atômico que absorve parte da energia emitida pela fonte. O átomo no estado fundamental absorve um fóton e a sua energia produz uma transição eletrónica. Cada átomo tem os seus próprios níveis de energia definidos, o que implica que somente podem ser absorvidos fótons de dada frequência, correspondendo a determinados comprimentos de onda. A quantidade de radiação absorvida por estes átomos é medida e usada para determinar a concentração do elemento na amostra (Gonçalves, 2001).

O sistema de seleção corresponde à parte óptica para seleção espectral (inclui filtros, monocromadores com prisma ou rede), e acessórios mecânicos (fendas, etc). Os monocromadores isolam o comprimento de onda de ressonância e eliminam os restantes (Gonçalves, 2001).

O sistema de deteção ou registo é constituído por fotodetetores não multiplicadores e fotomultiplicadores que detetam a linha de ressonância depois de subtraída a absorção da amostra (Gonçalves, 2001).

A fonte mais utilizada para as medições de absorção atômica é uma lâmpada de cátodo oco. Consiste em um ânodo de tungstênio e um cátodo cilíndrico apoiado num tubo de vidro que contém gás inerte, como por exemplo o argon. O cátodo é feito com o elemento a ser analisado (Gonçalves, 2001).

No entanto, na AAS podem ocorrer erros sistemáticos, como brancos com teores elevados, devido aos reagentes ou devido ao material utilizado. Outra limitação caracteriza-se pela AAS ser uma técnica que oferece valores de absorvância relativos a um conjunto de padrões de composição conhecida e não valores de absorvância absolutos (Gonçalves, 2001).

i.v.i.i. Espectrofotometria de absorção atômica de chama (FAAS)

A espectrofotometria de absorção atômica de chama (FAAS, do inglês *flame atomic absorption spectrophotometry*) é uma técnica de análise rápida, eficiente, de fácil execução e com uma boa sensibilidade. A amostra é atomizada na chama, através da qual passa radiação com um comprimento de onda correspondente a cada elemento a analisar (Gonçalves, 2001).

Existem vários tipos de chamas, entre as quais, as chamas de ar/gás natural, ar/acetileno, ar/propano, etc. A chama de ar/acetileno apresenta mais vantagens que a chama de ar/gás natural, pois é uma chama mais quente que facilita a dissociação de alguns compostos. A chama de ar/propano é mais utilizada que a chama de ar/acetileno pois produz menor emissão de fundo. Contudo, a chama de ar/acetileno é a mais utilizada pois tem uma temperatura adequada para a sua atomização, a chama é totalmente transparente numa larga gama espectral e a sua emissão é baixa (Gonçalves, 2001).

i.v.i.ii Espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

De acordo com Vitoriano (*cit. in* Quináglia, 2012), “Na espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (ou electrotérmica) (GFAAS) os átomos no estado fundamental são obtidos com o uso de um forno de grafite como atomizador.”

A espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS, do inglês, *graphite furnace atomic absorption spectrophotometry*) é especialmente adequada para pequenos volumes de amostras. O pré-tratamento destas é efetuado no próprio tubo de grafite segundo um programa conveniente de aquecimento, reduzindo a etapa de manipulação e digestão da amostra, e conseqüentemente, a minimização dos erros (Quinágua, 2012).

A GFAAS proporciona elevada sensibilidade visto que a amostra é atomizada num curto espaço de tempo e a permanência dos átomos no caminho ótico é mais prolongada comparativamente, por exemplo, à atomização em chama (Quinágua, 2012).

i.v.ii. Plasma acoplado indutivamente (ICP)

Esta técnica permite uma maior sensibilidade pois os tempos de residência dos átomos são mais elevados do que na chama. As temperaturas atingidas também são mais elevadas, as quais se encontram entre 6000 e 8000 K, permitindo uma atomização mais completa e menos interferências químicas (Gonçalves, 2001).

O equipamento é constituído por uma bobina de indução alimentada por um gerador de frequência de rádio e arrefecida por um sistema de circulação de água. No tubo central entra a amostra misturada com o argon. A fonte é constituída por três tubos de quartzo concêntricos que permitem a passagem de uma corrente de argon (Gonçalves, 2001).

i.v.ii.i. Espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

A espectrometria de emissão ótica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) é uma poderosa

ferramenta analítica para a determinação de metais em diversos tipos de amostras. Permite a análise multielementar e determina com boa sensibilidade elementos refratários (Grosser al., 2008).

Esta técnica baseia-se na excitação de elementos em plasma de árgon a elevadas temperaturas. A energia do plasma é usada para converter os átomos e as moléculas num estado excitado. As espécies excitadas retornam ao estado fundamental, emitindo fótons que são medidos por um sistema de deteção (Quinágua, 2012).

i.v.ii.ii. Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

A espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*), tal como a ICP-OES, possibilita a análise multielementar, e associada à sua alta sensibilidade, possibilita limites de deteção baixos, oferecendo um elevado desempenho para análises de rotina (Becker, 2007).

Ao contrário da técnica de ICP-OES, na ICP-MS a tocha de plasma encontra-se posicionada horizontalmente e é utilizada para gerar iões carregados positivamente e não fótons. Desta forma, a ICP-MS torna-se mais sensível pelo fato de impedir que os fótons alcancem o detetor, visto que estes aumentam o ruído de fundo (Thomas, 2013).

i.v.iii. Voltametria

A voltametria caracteriza-se por ser uma técnica eletroanalítica através da qual a determinação da quantidade do analito é efetuada pela medição da corrente que se desenvolve numa célula eletroquímica em função do potencial aplicado, durante um determinado período de tempo (Gonçalves, 2001).

Nesta técnica, a etapa de extração ou separação é reduzida ou muitas vezes desnecessária, sendo uma grande vantagem relativamente às outras técnicas, pois leva à diminuição dos riscos de contaminação ou alteração das espécies químicas presentes na amostra. Além disso, apresenta elevada sensibilidade, repetibilidade, baixos níveis de detecção, reduzido custo de equipamento, bem como a possibilidade de determinar simultaneamente vários elementos e em curto período de tempo (Tonietto, 2012).

A célula eletroquímica consiste num eléctrodo principal ou de trabalho, num eléctrodo de referência, e num eléctrodo auxiliar (Leal et al, 2009). A eficácia desta técnica depende maioritariamente do eléctrodo de trabalho (Douglas et al., 2008).

Os eléctrodos de trabalho mais utilizados para a determinação de metais foram, durante muitos anos, os eléctrodos de filme de mercúrio ou os eléctrodos de gota de mercúrio, devido à sua elevada reprodutibilidade e sensibilidade. Contudo, a utilização de mercúrio têm um impacto negativo em termos ambientais, devido à sua elevada toxicidade (Leal et al., 2012).

A utilização de eléctrodos de filme de bismuto é vantajosa devido à sua baixa toxicidade para o ambiente comparando com a do mercúrio (Bernardelli et al., 2011; Leal, et al, 2012).

Para além disso, o mercúrio pode induzir interferências no caso da voltametria de redissolução anódica, em que ocorre a oxidação do mercúrio num intervalo de +0,25 a +0,4 V, limitando por essa razão, a utilização do eléctrodo de mercúrio na região positiva de potencial. Na região com potenciais acima de +0,4 V, ocorre a formação de mercúrio(I), provocando uma onda que mascara as curvas de outras espécies que podem sofrer oxidação. Na presença de iões que formam precipitados ou complexos com mercúrio(I), esse comportamento acontece mesmo em potenciais ainda mais baixos (Tonietto, 2012).

Existem vários métodos de voltametria, entre os quais a voltametria cíclica, a voltametria de redissolução catódica e a voltametria de redissolução anódica, a qual foi utilizada neste trabalho.

i.v.iii.i. Voltametria de redissolução anódica (ASV)

A voltametria de redissolução anódica (ASV, do inglês *anodic stripping voltammetry*) é o método mais sensível e rápido de voltametria, visto que permite limites de detecção mais baixos (Souza et al., 2002; Tonietto, 2012).

Esta técnica envolve duas etapas. A primeira consiste na pré-concentração, em que ocorre a redução dos íons metálicos presentes na solução devido à aplicação de um potencial adequado durante um período de tempo, resultando na deposição dos íons na superfície do eletrodo de trabalho. A deposição dos metais no eletrodo pode ser aumentada por agitação através do eletrodo rotativo (Silva et al., 2006).

A segunda etapa baseia-se na redissolução, ocorrendo o varrimento do potencial, que consiste na oxidação dos íons metálicos novamente para a solução devido à aplicação de um potencial anódico. Nesta etapa, surgem os sinais voltamétricos característicos de cada metal, podendo identificar o metal presente na amostra (Silva et al., 2006).

II - Parte Experimental

2.1. Reagentes e soluções

Na preparação das soluções foram utilizados reagentes de qualidade p.a. ou semelhante.

A água utilizada foi previamente purificada por sistema Milli Q (resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

O material usado foi descontaminado por lavagem com HNO_3 2 M e posteriormente lavado abundantemente com água purificada.

As soluções de HNO_3 2 e 6 M foram preparadas por diluição apropriada de uma solução de HNO_3 concentrado (Panreac).

O tampão acetato 0,10 M (pH 4,5) foi preparado pela adição de 9,00 mL de ácido acético concentrado (Sigma Aldrich), 8,203 g de acetato de sódio (Fluka) e água ultrapura até perfazer o volume de 1 L.

A solução de HCl 0,07 M foi preparada pela diluição apropriada de uma solução de ácido clorídrico concentrado (Panreac).

As soluções de Bi foram preparadas por diluição apropriada de uma solução 1000 mg/L (Fluka) em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5).

As soluções de Pb e Cd foram preparadas por diluição de uma solução 1000 mg/L (Fluka) em água purificada.

2.2. Amostragem

Utilizaram-se brinquedos de diferentes marcas (Happy Bear[®], Zippy[®] e Chicco[®]) de uma superfície comercial “Continente” (Figuras 5-8) e de uma loja “Bazar Chinesa” (Figura 9), ambas localizadas no Porto.



Figura 5 - Carrinho “Happy Bear[®]” (+ 18 meses)



Figura 6 - Anel de dentição “Zippy[®]” (+ 3 meses)



Figura 7 - Anel de dentição “Chicco[®]” (+ 4 meses)

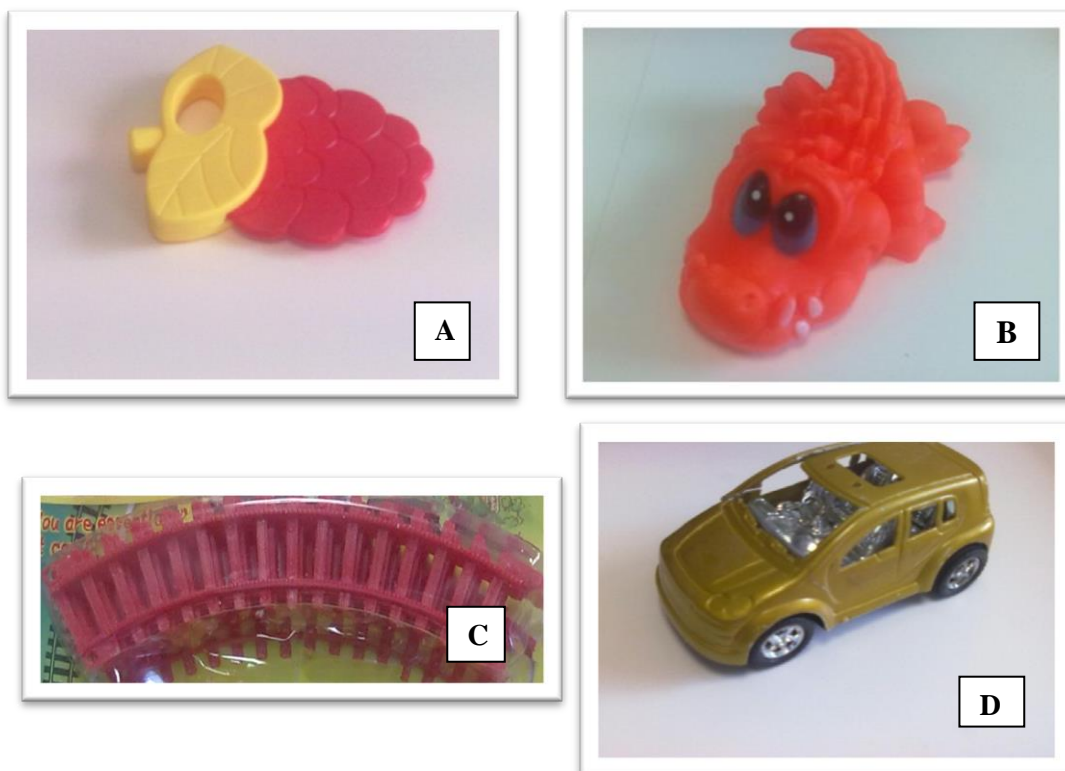


Figura 8 – Brinquedos “Bazar Chinesa”.

A - Anel de dentição (+ 4 meses); **B** - Crocodilo (< 3 anos);

C- Linha de comboio (+ 3 anos); **D** - Carro dourado (+ 3 anos).

2.3. Instrumentação

As determinações voltamétricas foram efetuadas num potencióstato Ecochimie/Autolab modelo μ Autolab Type III. A este equipamento foi acoplado um Stand da Metrohm 663 VA. O potencióstato foi controlado por um computador com um software GPES 4.9 (Figura 9).



Figura 9 - Potencióstato Ecochimie/Autolab modelo μ Autolab Type III acoplado com um Stand da Metrohm 663 VA.

O elétrodo de trabalho foi de carbono vítreo (diâmetro de disco de 2 mm), no qual foi depositado o filme de Bi.

Como elétrodo de referência utilizou-se um elétrodo de AgCl/Ag (KCl, 3,0 M), e como elétrodo auxiliar utilizou-se um elétrodo de carbono vítreo.

Durante as etapas de deposição as soluções foram agitadas com um elétrodo rotativo de politetrafluoretileno (PTFE) a 2500 rpm.

Para a migração de metais dos brinquedos usou-se um banho de aquecimento com agitação GFL[®] 1083, termostatizado a 37 °C (Figura 10).



Figura 10 - Banho de aquecimento com agitação GFL[®] 1083.

2.4. Procedimento experimental

ii.iv.i. Migração de metais dos brinquedos

Procedeu-se à realização do seguinte procedimento experimental, para a migração dos metais, segundo a Norma EN 71-3 “Safety of toys- migration of certain elements” (British Standard, 2006):

Cortou-se três amostras de cada brinquedo em pequenos pedaços. Pesou-se rigorosamente cerca de 500 mg de cada amostra em balança analítica (KERN 770).

Misturou-se a porção de teste com cerca de 25 mL de HCl 0,07 M durante 1 minuto a uma temperatura de $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Ajustou-se o pH da solução entre 1,0 e 1,5 com HCl 2 M.

Protegeu-se a mistura da luz, mantendo-a a uma temperatura de $37 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e agitou-se continuamente durante 1 hora. Posteriormente deixou-se repousar durante mais 1 hora a uma temperatura de $37 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Transferiu-se quantitativamente a solução para um balão volumétrico de 50,00 mL e fez-se com tampão acetato 0,1 M (pH 4,5).

ii.iv.ii. Determinação voltamétrica de Cd e Pb

No início de cada dia, o eletrodo de trabalho foi polido manualmente por fricção da sua superfície com pó de alumina (Buehler 40-6603-030-016), sendo posteriormente removido o material residual, com água purificada.

Efetou-se uma limpeza eletroquímica com tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), aplicando um potencial de condicionamento (E_c) de 1,8 V durante 600 s (t_c), para que todos os resíduos absorvidos ou depositados na superfície do eletrodo fossem removidos pela sua oxidação.

As determinações voltamétricas foram realizadas pipetando 40,00 mL de solução numa célula voltamétrica.

A formação do filme de Bi foi efetuada *ex situ* com Bi em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), ao qual se aplicou um potencial de deposição (E_d) de -1,4 V durante 90 s (t_d), sendo a solução purgada durante 180 s com azoto livre de oxigénio (Leal et al., 2009; Leal et al., 2012).

As determinações de Cd e Pb foram realizadas em triplicado, por voltametria de redissolução anódica. A deposição do Cd e Pb foi efetuada a um E_d de -1,0 V durante 300 s em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após a qual foi efetuado um varrimento de potencial depois de um tempo de equilíbrio (t_e) de 10 s. Os parâmetros de varrimento utilizados foram a voltametria de onda quadrada, frequência de 10 Hz, amplitude 0,05 V e degrau de variação de potencial de 0,005 V (Leal et al., 2009; Leal et al., 2012).

Para a remoção do filme de Bi procedeu-se a um varrimento anódico entre -1,0 e 1,0 V em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após um t_e de 10 s.

No final de cada dia, efetuou-se a limpeza química por imersão do elétrodo de trabalho numa solução de HNO_3 6 M durante 120 s.

ii.iv.iii. Determinação da concentração de Cd e Pb por adição de padrão

Recorreu-se ao método de adição de padrão para determinar a concentração de Cd e Pb presente nas diferentes amostras de brinquedo analisadas.

Este método consiste em adicionar quantidades conhecidas e diferentes de analito a todas as amostras, exceto à primeira. Por fim, diluem-se todas as amostras ao mesmo volume. O sinal medido é representado no eixo do y, enquanto que o eixo do x expressa a quantidade de analito adicionada em massa ou em concentração (Cartas et al., 2006). O método de adição de padrão é particularmente utilizado quando a composição da amostra é complexa ou desconhecida. Contudo, o principal inconveniente é o fato de ser um método de extrapolação, pelo que é menos preciso que o método de interpolação (Cartas et al., 2006; Harris, 2007).

Procedeu-se a várias adições de 5 µg/L de metal nas diferentes amostras de cada brinquedo, obtendo-se assim uma curva de adição de padrão para cada amostra.

Com os valores de declive (m) e ordenada na origem (b) da curva de adição de padrão, determinou-se os valores de metal nas amostras em µg/L através da seguinte equação:

$$[\text{Metal}] (\mu\text{g/L}) = b \frac{(\text{ordenada na origem})}{m(\text{declive})}$$

Para determinar a quantidade de metal em µg/dia migradas por cada amostra de cada brinquedo, foi utilizada a seguinte equação, onde V é o volume de solução usado:

$$[\text{Metal}] (\mu\text{g/dia}) = \frac{[\text{Metal}] (\mu\text{g/L}) \times V (\text{L})}{5}$$

5

Para conversão dos valores obtidos para mg/kg, foi dividido o valor de metal em µg/dia pela massa (M) de cada amostra. Sendo assim, os valores em mg/kg podem ser comparados com os existentes na Diretiva 2009/48/EC (European Council, 2009).

$$[\text{Metal}] (\text{mg/kg}) = \frac{[\text{Metal}] (\mu\text{g/dia})}{M (\text{g})}$$

III - Resultados e Discussão

3.1. Determinação voltamétrica do Pb migrado dos brinquedos

As determinações de Cd e Pb migrado foram realizadas por voltametria de redissolução anódica.

Em todos os voltamogramas sem adição de padrão não foi obtido nenhum pico para Cd, revelando que o Cd existente em todos os brinquedos estará abaixo do limite de detecção da técnica. Sendo assim, as adições de padrão só foram efetuadas para Pb.

Na Figura 11 apresenta-se o voltamograma obtido para uma das amostras do brinquedo anel de dentição da “Chicco®”.

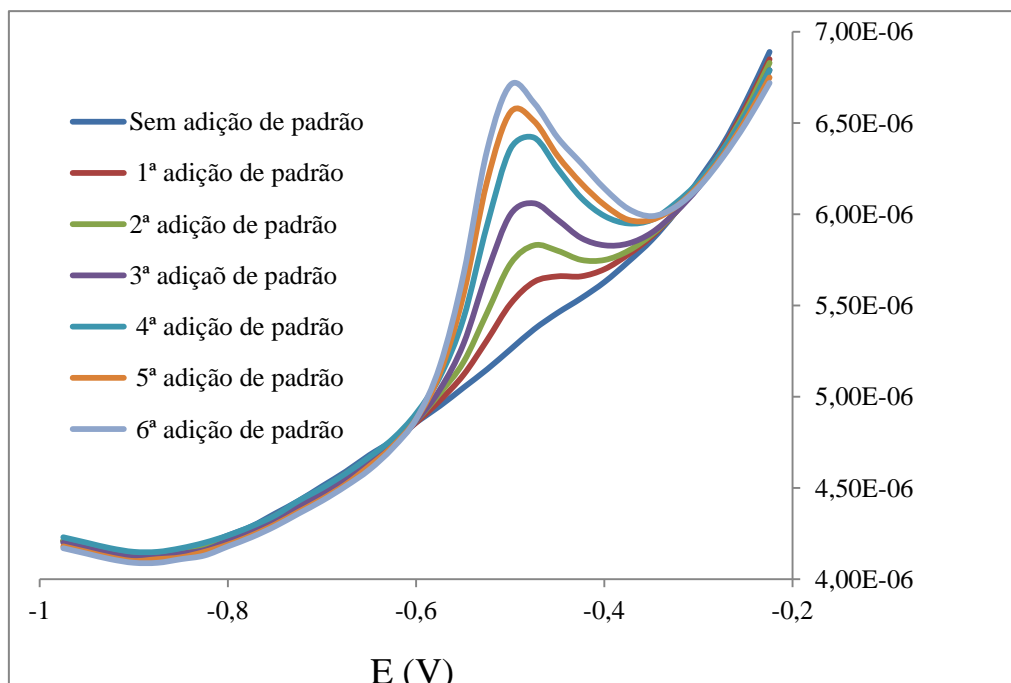


Figura 11 – Voltamograma obtido para uma das amostras do brinquedo anel de dentição da “Chicco®”, em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L, sem adição e

após sucessivas adições de 5 µg/L de Pb. Parâmetros de deposição: tempo de deposição (t_d) = 300s; potencial de deposição (E_d) = -1,0 V.

No voltamograma obtido pode constatar-se a presença de Pb sem adição de padrão devido à visualização de um reduzido pico com um potencial correspondente a -0,55 V.

Pode-se igualmente verificar que a intensidade da corrente aumenta de acordo com as adições sucessivas de Pb, podendo visualizar-se o aumento dos picos que se mostram mais definidos.

3.2. Curvas de adição de padrão do Pb migrado dos brinquedos

As Figuras 12 e 13 apresentam curvas de adição de padrão para uma das amostras dos brinquedos anel de dentição da “Chicco®” e carrinho da “Happy Bear®”, respetivamente. Foram escolhidas para apresentação as curvas de adição de padrão para estes dois brinquedos pois foram os que apresentaram, respetivamente, os valores mais baixos e mais elevados de Pb migrado.

Foram efetuadas sucessivas adições de 5 µg/L de Pb. O primeiro ponto em ambas as Figuras corresponde à amostra sem adição de padrão e os restantes pontos correspondem às adições sucessivas de padrão.

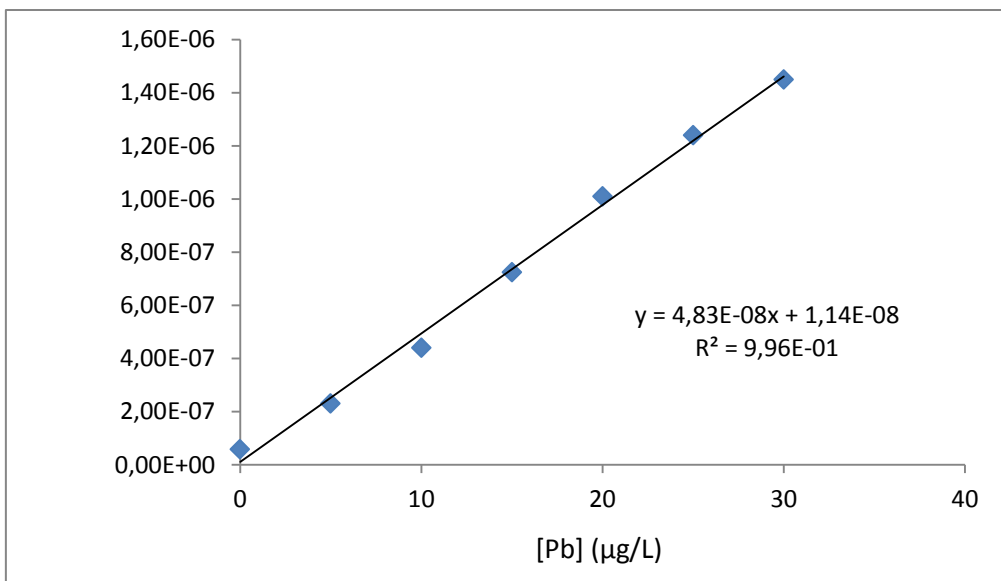


Figura 12 – Curva de adição de padrão para a determinação de Pb numa das amostra do brinquedo anel de dentição da "Chicco[®]", em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L.

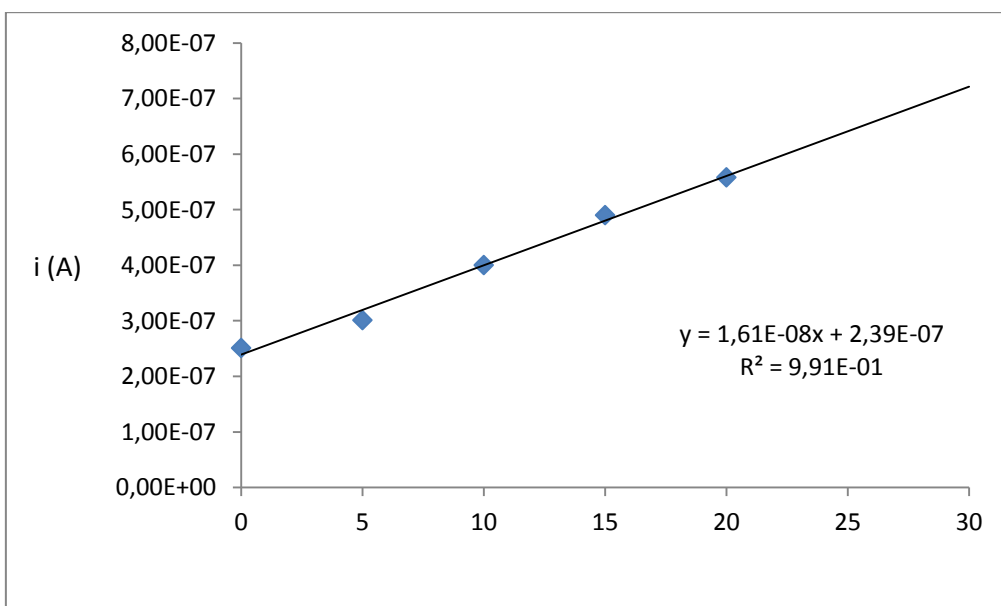


Figura 13 - Curva de adição de padrão para a determinação de Pb numa das amostra do brinquedo carrinho da "Happy Bear[®]", em tampão acetato 0,10 M (pH 4,5), após deposição de Bi 5 mg/L.

Relativamente à Figura 12, a curva de adição de padrão apresenta uma equação $i = 4,83 \times 10^{-8}c + 1,14 \times 10^{-8}$, em que o i corresponde à intensidade de corrente e c à concentração de Pb. O índice de correlação obtido foi de 0,996.

Quanto à Figura 13, a equação é representada por $i = 1,61 \times 10^{-8}c + 2,39 \times 10^{-7}$ em que o i corresponde à intensidade de corrente e c à concentração de Pb. O índice de correlação obtido foi de 0,991.

3.3. Pb migrado dos diferentes brinquedos

A Tabela 5 apresenta os valores (média \pm desvio padrão, $n = 3$) de Pb nos diferentes brinquedos, possibilitando a comparação com os limites estipulados pela Diretiva 2009/48/EC (European Council, 2009) e Decreto de Lei n.º 237/92 apresentado no Diário da República (Diário da República, 1992).

Tabela 5 - Valores (média \pm desvio padrão, n = 3) de Pb nos diferentes brinquedos de uma superfície comercial “Continente” e de uma loja “Bazar Chinesa”, ambas localizadas no Grande Porto.

Brinquedo	Pb / dia (μg)	Pb (mg/Kg)
Carro vermelho “Happy Bear[®]”	$0,16 \pm 0,01$	$1,5 \pm 0,1$
Anel de denteção “Zippy [®] ”	$0,054 \pm 0,006$	$0,51 \pm 0,05$
Anel de denteção “Chicco[®]”	$0,0024 \pm 0,0001$	$0,022 \pm 0,001$
Anel de denteção “Bazar Chinesa”	$0,058 \pm 0,007$	$0,55 \pm 0,05$
Crocodilo “Bazar Chinesa”	$0,047 \pm 0,009$	$0,46 \pm 0,10$
Linha de comboio “Bazar Chinesa”	$0,055 \pm 0,002$	$0,51 \pm 0,01$
Carro dourado “Bazar Chinesa”	$0,098 \pm 0,009$	$0,93 \pm 0,07$

Como se pode verificar, os valores de Pb migrado de todos os brinquedos, em mg/kg e em $\mu\text{g}/\text{dia}$, não excedem os limites de migração de Pb impostos pela Diretiva

2009/48/EC (13,5 mg/kg) (European Council, 2009) e pelo Decreto de Lei n.º 237/92 (0,7 µg/dia) (Diário da República, 1992).

No entanto, o anel de dentição da “Chicco®” obteve os valores mais baixos de Pb migrado em mg/kg ($0,022 \pm 0,001$) e em µg/dia ($0,0024 \pm 0,0001$). Pelo contrário, o carrinho da “Happy Bear®” apresentou os valores mais elevados de Pb migrado em mg/kg ($1,5 \pm 0,1$) e em µg/dia ($0,16 \pm 0,01$).

IV. Conclusão

As crianças são mais vulneráveis aos efeitos dos metais por razões comportamentais, metabólicas e neurológicas. Daí a importância em garantir a segurança dos brinquedos relativamente à contaminação por metais.

O presente trabalho pretendeu determinar a quantidade de chumbo e cádmio migrada de brinquedos para crianças com idade inferior a 3 anos, de forma a verificar se se encontravam dentro dos limites impostos pela lei.

O eléctrodo de carbono vítreo revestido com filme de bismuto foi preparado e utilizado para determinar a quantidade de chumbo e cádmio migrada de diferentes brinquedos. Os metais chumbo e cádmio foram detetados recorrendo à voltametria de redissolução anódica. As condições de deposição do filme de bismuto já se encontravam otimizadas em estudos anteriores.

Para a determinação do metal, foi efetuada a migração da amostra. Este método permitiu simular as condições gástricas do Homem (pH 1,0-1,5 e 37 °C).

Os resultados mostraram que os brinquedos analisados contêm o metal a analisar (chumbo) dentro dos limites impostos pela lei, descartando algum tipo de perigo para a saúde das crianças.

Verificou-se que em todos os voltamogramas sem adição de padrão não foi obtido nenhum pico para Cd, o que indica que o Cd existente em todos os brinquedos se encontra abaixo do limite de deteção, e também abaixo dos limites de migração de Cd impostos pela Diretiva 2009/48/EC (1,9 mg/kg) (European Council, 2009) e pelo

Decreto de Lei n.º 237/92 (0,6 µg/dia) (Diário da República, 1992). Foi decidido efetuar as adições de padrão apenas para Pb.

Analisando os resultados, pode-se concluir que todos os valores de Pb migrado dos brinquedos analisados, em mg/kg e em µg/dia, não excedem os limites de migração de Pb impostos pela Diretiva 2009/48/EC (13,5 mg/kg) (European Council, 2009) e pelo Decreto de Lei n.º 237/92 (0,7 µg/dia) (Diário da República, 1992).

No entanto, o anel de dentição da “Chicco®” obteve os valores mais baixos de Pb migrado em mg/kg ($0,022 \pm 0,001$) e em µg/dia ($0,0024 \pm 0,0001$). Já o carrinho da “Happy Bear®” mostrou valores mais elevados de Pb migrado em mg/kg ($1,5 \pm 0,1$) e em µg/dia ($0,16 \pm 0,01$).

V. Bibliografia

Abelsohn A. R. e Sanborn M. (2010). Lead and children. *Clinical management for family physicians*, 56, pp. 531-533.

Ahamed M., Kaleem M e Siddiqui J. (2007). Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clinical Nutrition*, 26, pp. 401-403.

Almog Y. J., Anglin M.D. e Fischer D. G. (1998). Lead and other metals in play kit and craft items composed of vinyl and leather. *American Journal of Public Health*, 87, pp. 1724-1726.

ASTM (American Society for Testing and Materials). (2007). Standard Consumer Safety Specification for Toy Safety. 936-07, West Conshohocken, PA.

Becker, J. S. (2007). *Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications*. England, Wiley.

Bernardelli J. K. B. *et alii*. (2011). Determination of Zinc and Cadmium with characterized electrodes of carbon and polyurethane modified by a bismuth film. *Materials Research*, 14(3), pp. 366-368.

Bosso S. T. e Enzweiler J. (2008). Ensaios para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. *Química Nova*, 31, pp. 394-397.

Boyd, D. e Bee H. (2011). *A Criança em Crescimento*. Brasil, Artmed.

Cartas S. T. *et alii.*, (2006). *Técnicas instrumentales: manual de laboratório*. Valencia, UPV.

Chang, R. (2006). *Química geral*. Brasil, Mc Graw-Hill.

Diário da República – 1 SÉRIE A. (1992). Decreto de Lei n.º 237/92, artigo 2º e 3º.

Daniel C. Harris. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Espanha, Reverté.

Douglas A, R. Crouch, e Holler F. J. (2008). *Principios de analisis instrumental*. México, Cengage Learning.

Eco, H., (2010). *Idade Média Bárbaros, cristãos e muçulmanos*. Portugal, Leya.

EN (British Standard). (2006). Safety of toys – Part 3: Migration of certain elements. BS EN 71-3. European Comitee of Standardization: Brussels, Belgium.

Feldman, S. R. (2001). *Compreender a Psicologia*. Mc Graw Hill.

Filipic, M. (2012). Mechanisms of cadmium induced genomic instability. *Mutation Research*, 733, pp. 69-74.

Finkelstein Y., Markowitz M. E. e Rosen J. F. (1998). Low-level lead-induced neurotoxicity in children: an update on central nervous system effects. *Brain Research Reviews*, 27, pp. 168-170.

Godoi Q. *et alii.* (2009). Preliminary studies of laser-induced breakdown spectrometry for the determination of Ba, Cd, Cr and Pb in toys. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, pp. 573-576.

Gonçalves, M. L. S. S. (2001). *Métodos instrumentais para análise de soluções. Análise Quantitativa*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Grosser, Z., Thompson L. e Davidowski, L. (2008). The inorganic analysis of toys and food for safety. *PerkinElmer*.

Guney M. e Zagury G. J. (2012). Heavy metals in toys and low-cost jewelry: Critical review of U.S. and Canadian legislation and recommendations for testing. *Environmental Science & Technology*, 46, pp. 4265-4270.

Jarup L. e Akesson A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, pp. 201-203.

Johnson, F. M. (1998). The genetic effects of environmental lead. *Mutation Research*, 410, pp. 123-125.

Kumar A. e Pastore P. (2007). Lead and cadmium in soft plastic toys. *Current science*, 93, pp. 818.

Leal, F. *et alii.* (2009). Importância da especiação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana – desenvolvimento de metodologias voltamétricas com

eléctrodos de filme de bismuto. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, 6, pp. 220-230.

Leal, F. *et alii*. (2012). Especificação de cobre e zinco em urina- Importância dos metais em doenças neurodegenerativas. *Química Nova*, 35 (10), pp. 1985-1990.

Macedo, R. B. (2012). *Segurança, Saúde, Higiene e Medicina do Trabalho*. Brasil, IESDE.

Matte T. D. (2003). Efectos del plomo en la salud de la niñez. *Salud Pública de México*, 45, suplemento 2: S220-S223.

Moreira, F. R., Moreira, J. C. (2004). Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Revista Panam Salud Publica*. 15(2), pp. 119-129.

Nordberg, G. F. (2009). Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, pp. 192-198.

Pascalichio, A. A. P. (2002). *Contaminação por Metais Pesados*. Brasil, Annablume.

Quinágua, G. A. (2012). *Caracterização dos Níveis Basais de Concentração de Metais*. Brasil, Biblioteca 24 horas.

Souza D., Machado S.A.S. e Avaca L.A. (2003). Voltametria de onda quadrada, primeira parte: Aspectos teóricos. *Química Nova*, 26, pp. 81-88.

Souza D., Machado S.A.S. e Avaca L.A. (2003). Voltametria de onda quadrada, segunda parte: Aspectos teóricos. *Química Nova*, 27, pp. 790-791.

Thomas, R. (2013). *Practical Guide to Icp-MS: A Tutorial for Beginners*. Seattle, CRC Press.

Tonietto A.E. e Grassi M.T. (2012). Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. *Química Nova*, 35, pp. 170.

Zatz, S., Zatz, A. e HALABAN, S. (2006). *Brinca comigo: tudo sobre brincar e os brinquedos*. Brasil, Marco Zero.

Zini J. *et alii*. (2009). Estudo de metais de substâncias tóxicas em brinquedos. *Química Nova*, 32, pp. 833-834.