# <sup>210</sup>Pb em sal mineral consumido por bovinos leiteiros da região do agreste semi-árido de Pernambuco

# C. M. Silva, R. S. Amaral, J. A. Santos Júnior, R. S. C. Menezes

Departamento de Energia Nuclear (DEN-UFPE). Avenida Professor Luiz Freire, 1000, Cidade Universitária, CEP-50740-540, Recife - PE - Brasil.

#### cleomacio@ig.com.br

#### (Recebido em 08 de julho de 2010; aceito em 07 de janeiro de 2011)

Em Pernambuco, a suplementação mineral do rebanho é realizada pela adição de sal mineral na alimentação volumosa. O sal mineral é um produto que contém em sua composição o fosfato bicálcio, que é oriundo do tratamento químico da rocha fosfática. O fosfato bicálcio consumido pelas vacas leiteiras do Brasil contém radionuclídeos naturais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar as concentrações de <sup>210</sup>Pb em amostras de sais minerais consumidos por vacas leiteiras da região do agreste semi-árido de Pernambuco. Para tanto, utilizou-se o método da resina trocadora de íons. As concentrações de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral variaram de 12 a 156 Bq.kg<sup>-1</sup>. Palavras-chave: Radioatividade, fosfato bicálcio, suplementação mieral.

At the Brazilian State of Pernambuco, the mineral supplementation of the cattle is performed by the addition of mineral salt to the feed. Mineral salt is a product that usually contains dicalcium phosphate in its composition, which is derived from the chemical treatment of phosphate rocks. Since phosphate rocks naturally contain uranium and thorium, the dicalcium phosphate consumed by dairy cows in Brazil may therefore contain natural radionuclides from these parental radioactive decay chains. The purpose of this study was to evaluate the concentrations of <sup>210</sup>Pb in samples of mineral salt consumed by dairy cows at Pernambuco. The method of ion exchange resin was used. <sup>210</sup>Pb concentrations ranged from 12 to 156

Bq.kg<sup>-1</sup>.

Keywords: radioactivity, dicalcium phosphate, mineral supplementation .

# 1. INTRODUÇÃO

A literatura apresenta casos de envenenamento de bovinos leiteiros em decorrência da ingestão de chumbo contido na alimentação desses animais [1]. O sal mineral é um suplemento utilizado na alimentação de bovinos, sendo composto por 50% de fosfato bicálcio. O fosfato bicálcio provém do ácido ortofosfórico que é obtido do tratamento químico da rocha fosfática com ácido sulfúrico [2]. Estudos realizados no Brasil mostraram que as rochas fosfáticas utilizadas na produção de fosfato bicálcio possuem concentrações elevadas de chumbo-210 (<sup>210</sup>Pb) variando de 329 a 1414 Bq.kg<sup>-1</sup> [3]. O <sup>210</sup>Pb é um elemento radioativo pertencente à série natural do <sup>238</sup>U. O chumbo-210 é ao mesmo tempo um elemento radioativo e um metal pesado.

Os municípios de Pedra e Venturosa fazem parte da chamada Bacia Leiteira do estado de Pernambuco, que envolve as cidades de Arcoverde, Buique, Águas Belas, Bom Conselho, São Caetano e Pesqueira. Nesses municípios, a suplementação mineral dos bovinos leiteiros é realizada pela adição de sal mineral na alimentação volumosa. O leite produzido nas fazendas destas cidades serve de insumo para as indústrias de laticínios do estado de Pernambuco.

A Portaria nº 6, de 4 de fevereiro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, liberou a utilização dos fertilizantes agrícolas (fosfato de rocha e fosfato triplo) como fontes de fósforo nas misturas minerais para suplementos destinados à alimentação de bovinos de corte, não sendo permitido para bovinos leiteiros [4]. Os fertilizantes agrícolas fosfatados produzidos no Brasil possuem concentrações elevadas de <sup>210</sup>Pb variando de 303 a 1234 Bq.kg<sup>-1</sup> [3]. No Brasil, não existem leis que estabelecem limites de concentração de elementos radioativos naturais nos suplementos alimentares para vacas leiteiras. Isto é muito preocupante do ponto de vista da questão da segurança alimentar, pois parte do chumbo radioativo ingerido por uma vaca em lactação é transferida para o leite [5, 6].

A ingestão de leite é uma via importante de contaminação com <sup>210</sup>Pb no homem [7]. Uma vez ingerido pelo ser humano, esse radionuclídeo deposita-se no fígado e nos ossos, podendo induzir diversos tipos de danos à saúde. Vários estudos têm confirmado que o <sup>210</sup>Pb tem preferência em se depositar nos ossos trabecular e cortical [8, 9]. Aproximadamente, 70% do <sup>210</sup>Pb presente no corpo humano encontram-se depositados nos ossos, sendo o restante distribuído nos tecidos moles (Salmon et al. 1988). A acumulação do <sup>210</sup>Pb no osso ocorre através de troca iônica entre o Pb<sup>+2</sup> e o Ca<sup>+2</sup>, daí a similaridade metabólica do chumbo com o cálcio no corpo, apesar dos mecanismos de metabolização não serem necessariamente idênticos [10]. Além dos danos causados à saúde humana em caso de ingestão, o chumbo é também responsável por intoxicação e morte de bovinos decorrentes do consumo de alimentos contaminados [1]. Sendo assim, dentro desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma investigação sobre as concentrações de <sup>210</sup>Pb em amostras de sal mineral consumido pelos bovinos leiteiros de fazendas localizadas numa área entre os municípios pernambucanos de Pedra e Venturosa. Os resultados obtidos serviram como um banco de dados sobre a qualidade do sal mineral fornecido aos bovinos leiteiros da área estudada.

# 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1. Critérios de seleção das amostras

As amostras de sal mineral foram coletadas em oito fazendas localizadas nos municípios de Pedra e Venturosa, durante o mês de março de 2006. A área delimitada para estudo encontra-se no mapa representado pela Figura 1. Na área escolhida realizou-se um levantamento para identificar pontos de coletas significativos para o desenvolvimento do trabalho. O principal critério utilizado foi a grande produção de leite das fazendas localizadas nos municípios de Pedra e Venturosa. Essas cidades agregam um grande número de fazendas e laticínios. Juntos, os municípios de Pedra e Venturosa são responsáveis por aproximadamente, 10% da quantidade de leite produzido na chamada Bacia Leiteira do estado de Pernambuco.

### 2.2. Tratamento das amostras

Foram coletadas em cada fazenda, 500 g de sal mineral em recipiente de polietileno. As amostras foram colocadas para secar a temperatura de 80 °C até obter peso constante. Em seguida, levou-se ao forno aumentando-se a temperatura gradativamente até atingir 450 °C, e então deixando-se por 48 horas a essa temperatura até a obtenção das cinzas.



Figura 1: Mapa dos locais de coletas.

# 2.3. Determinação do <sup>210</sup>Pb

Utilizou-se o método da troca iônica apresentado por Godoy et al. [11], para determinar as concentrações de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral. Após o procedimento de calcinação, 2 g de cinzas de sal mineral foram colocadas para lixiviar com 100 mL de HBr 0,5 M e 1,0 g de cloridrato de hidroxilamina, por um período de 12 horas. A solução foi filtrada e adicionou-se 1 mL de carreador de Pb<sup>++</sup> (20 mg/L de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Depois, a solução foi colocada para percolar numa coluna contendo resina trocadora de íons do tipo BIO-RAD DOWEX 1-X8 50-100 mesh chloride form. Durante esta etapa, o <sup>210</sup>Pb fica retido na resina, sendo depois, eluido com 50 mL

de HNO<sub>3</sub> 1M. A solução obtida foi aquecida até a secagem total. Adicionou-se 50 mL de água deionizada e corrigiu-se o pH (que deve estar entre 4,5 a 5,0) com acetato de amônio a 40%. A solução foi aquecida até a ebulição, e depois adicionou 2 mL de Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> a 25%. A solução foi filtrada em papel quantitativo, cobrindo-se o precipitado com papel contacto, que em seguida foi levado para o detector para determinar a contagem beta. A concentração de <sup>210</sup>Pb (C<sub>Pb-210</sub>) em Bq.kg<sup>-1</sup> foi determinada utilizando a Equação 1 [12].

$$C_{Pb-210} = \frac{A_L}{(1 - e^{-\lambda_{Bi}t})\eta y w}$$
(1)

Onde:

A<sub>L</sub> = contagem líquida obtida no detector (cpm);

t = tempo do crescimento do Bi (bismuto);

 $\lambda_{Bi}$  = constante de decaimento do Bi (dias<sup>-1</sup>);

 $\eta$  = eficiência de detecção do Bi (cpm/Bq);

y = rendimento químico (%);

w = quantidade de sal mineral utilizada na análise (kg).

### 2.4. Preparação das amostras padrões

Devido à ausência de amostras padrões certificadas de sal mineral, houve a necessidade da criação de procedimentos de avaliação do método da troca iônica desenvolvido por Godoy et al. (1998) [11]. Na avaliação do método da troca iônica, realizaram-se procedimentos de intercomparação no Laboratório de Monitoração Ambiental do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco. Para tanto, utilizaram-se padrões líquidos certificados de <sup>210</sup>Pb fornecidos pelo Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD). Os padrões líquidos foram diluídos em ácido nítrico 1 N, conformes recomendações do IRD. Inicialmente, prepararam-se amostras de sal mineral em quadruplicatas. Nessas amostras foram adicionados 3 Bq de padrão de <sup>210</sup>Pb, sendo então, submetidas aos procedimentos apresentados no item 3. Nesse caso, devido ao elevado grau de exigência radioanalítica, foram seguidos os procedimentos de validação de métodos analíticos e bioanalíticos, como estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde do Brasil [13]. Baseado nessa norma, os seguintes parâmetros foram estabelecidos na avaliação do método apresentado nesse trabalho:

**Linearidade**. É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. Se houver relação linear aparente após exame visual do gráfico, os resultados dos testes deverão ser tratados por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação, intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo. Se não houver relação linear, realizar transformação matemática. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser = 0,99.

Limite de Detecção. Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de detecção (LD) é estabelecido por meio da análise de

soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável. O valor de LD é calculado pela equação 2.

$$LD = \frac{DP_a \times 3}{IC}$$
(2)

Onde: DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações próximas ao suposto limite de quantificação. Este desvio padrão pode ainda ser obtido a partir da curva de calibração proveniente da análise de um número apropriado de amostras do branco; IC é a inclinação da curva de calibração.

**Limite de Quantificação**. É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação (LQ) é estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis. Pode ser calculado pela equação 3.

$$LQ = \frac{DP_a \times 10}{IC}$$
(3)

Onde: DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do fármaco próximas ao suposto limite de quantificação. Este desvio padrão pode ainda ser obtido a partir da curva de calibração proveniente da análise de um número apropriado de amostras do branco; IC é a inclinação da curva de calibração.

**Precisão**. A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A precisão (DPR) de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas, de acordo com a equação 4.

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$
 (4)

Onde: DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada. O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5%.

**Exatidão**. A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou como a diferença porcentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança. A recuperação mede a eficiência do procedimento de extração de um método analítico dentro de um limite de variação. Porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100% são desejáveis, porém, admitem-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata. A exatidão é calculada pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, conforme a equação 5.

$$Exatidão = \frac{Concentração média experimental}{Concentração teórica} \times 100$$
(5)

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1. Avaliação do método de análise do <sup>210</sup>Pb

## 3.1.1. Calibração do detector para análise do <sup>210</sup>Pb

Nos procedimentos de calibração do detector Canberra Tennelec S5E, prepararam-se amostras padrões conformes procedimentos apresentados nos itens 2.3 e 2.4. As concentrações dos padrões variaram de 0,153 a 6,124 Bq em análise de quadruplicatas. A Figura 2 mostra a curva de calibração média obtidas de cinco análises de concentrações diferentes.



Figura 2: Curva de calibração média do detector Canberra Tennelec S5E no platô beta.

Os limites de detecção e de quantificação calculados para as análises de <sup>210</sup>Pb foram 0.081 Bq e 0.120 Bq, respectivamente. A eficiência de contagem no platô beta ( $\eta$ ), pode se determinada diretamente nas Figura 2, pois, ela é numericamente igual ao coeficiente angular da reta. O valor de  $\eta$  foi de 19,7 cpm.Bq<sup>-1</sup>. Isso significou uma eficiência de contagem beta de aproximadamente, 33%.

# 3.1.2. Avaliação do método de análise do <sup>210</sup>Pb

Os valores médios da precisão e da exatidão foram respectivamente, 3,5% e 96%, respectivamente. O rendimento químico médio da técnica utilizada foi de 97%. Esse resultado indica a grande adaptabilidade e a aplicabilidade do método da troca iônica na quantificação do

<sup>210</sup>Pb em amostras de sal mineral. Entretanto, segundo, Jia e Torri [12], a exatidão do resultado final é afetada diretamente pela pureza das fontes de <sup>210</sup>Pb. De acordo com esses autores, os radionuclídeos emissores beta das séries radioativas naturais do urânio e de tório interferem grandemente na quantificação do <sup>210</sup>Pb em análise de amostras ambientais. Por outro lado, segundo, Godoy et al. [11] e Jia e Torri [12], o método da resina trocadora de íons, constitui-se um procedimento altamente eficaz para separar o <sup>210</sup>Pb de outros emissores beta em amostras ambientais. Decorrente disso, no presente trabalho, foi verificado nas amostras padrões, preparadas conforme item 2.4, o grau de separação do <sup>210</sup>Pb dos demais emissores beta. Para tanto, observou-se o crescimento radioativo do <sup>210</sup>Bi nas amostras padrões. As Figuras 3, 4, 5 e 6 mostram o crescimento do <sup>210</sup>Bi nas amostras de sal mineral, nas quais foram adicionados padrões de <sup>210</sup>Pb com concentrações iguais a 3 Bq.

Nas Figuras 3, 4, 5 e 6, observa-se que, quando os valores experimentais e teóricos tendem ao valor do equilíbrio secular radioativo, a curva experimental e teórica, coincidem. Nesse caso, o equilíbrio secular entre o <sup>210</sup>Pb e o <sup>210</sup>Bi foi alcançado num tempo de aproximadamente, 50.000 minutos ( $\cong$  35 dias), após o procedimento de eluição do <sup>210</sup>Pb da resina trocadora de íons. Sendo assim, foi considerada desprezível, a interferência dos demais emissores beta existentes nas amostras analisadas. O tempo de equilíbrio secular calculado no presente trabalho, foi aproximadamente igual, àqueles encontrados por Jia e Torri [12] e Silva et al. [14], em análises de amostras de rochas e solos.



Figura 3: Tempo de crescimento do <sup>210</sup>Bi na amostra padrão 1 após a eluição.



Figura 4: Tempo de crescimento do <sup>210</sup>Bi na amostra padrão 2 após a eluição.



Figura 5: Tempo de crescimento do <sup>210</sup>Bi na amostra padrão 3 após a eluição.



Figura 6: Tempo de crescimento do <sup>210</sup>Bi na amostra padrão 4 após a eluição.

# 3.2. Concentração de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral

As concentrações de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral foram determinadas em triplicatas e as médias encontram-se apresentadas na Tabela 1. No cálculo do desvio padrão das concentrações considerou-se um erro de 5% adotado na análise radioquímica das amostras, de acordo com um Programa Nacional de Intercomparação do Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD, 1983). Nas fazendas aonde foram realizadas as coletas do presente estudo, o sal mineral era a principal fonte de cálcio e fósforo fornecida aos bovinos leiteiros. De acordo com as informações obtidas nas embalagens do sal mineral analisado no presente trabalho, esse produto era composto de 50% de fosfato bicálcio, sendo o restante constituído de macro e micro nutrientes. Isso sugere que, as concentrações de <sup>210</sup>Pb apresentadas na Tabela 1 foram oriundas do fosfato bicálcio.

Amostra	Concentração de <sup>210</sup> Pb (Bq.kg <sup>-1</sup> )
Amostra 1	$52 \pm 10^*$
Amostra 2	$122 \pm 14$
Amostra 3	11±3
Amostra 4	$26\pm 6$
Amostra 5	$18 \pm 5$
Amostra 6	$27 \pm 4$
Amostra 7	$156 \pm 19$
Amostra 8	$28\pm 6$

Tabela 1: Concentração média de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral.

\*Desvio padrão (95% de confiança).

Observar-se na Tabela 1 grande variabilidade nos valores das concentrações de <sup>210</sup>Pb. Isto sugere diferentes graus de pureza das amostras de sal mineral, em relação à presença de <sup>210</sup>Pb. Apesar de não haver no Brasil leis que estabeleça limites para radionuclídeos naturais em fosfato bicálcio consumido por bovinos leiteiros, muitas empresas produtoras desse composto garantem elevado grau de pureza do produto, inclusive redução significativa da quantidade de elementos radioativos naturais.

De acordo com o teste estatístico LSD (least significant difference-Diferença Mínima Significativa) apresentado por Vieira [15], não houve diferença significativa entre os valores das médias das concentrações de <sup>210</sup>Pb nas amostras 4, 6 e 8. Isto sugere que essas amostras foram provenientes de um mesmo fabricante. As concentrações de <sup>210</sup>Pb nas amostras 2 e 7 foram uma ordem de grandeza maior do que nas demais. Esses valores encontram-se na faixa de variação das concentrações de <sup>210</sup>Pb em amostras de rochas fosfáticas utilizadas na produção de fosfato bicálcio no Brasil, que é de 329 a 1414 Bq.kg<sup>-1</sup>, conforme estudos realizados por Santos et al. [3]. Os resultados obtidos para as amostras 2 e 7 encontram-se também, na faixa de valores determinados por Santos et al. em amostras de fertilizantes agrícolas fosfatados produzidos no Brasil, que foi de 303 a 1234 Bq.kg<sup>-1</sup>. Sendo assim, certamente, as amostras 2 e 7 não foram propriamente sal mineral, mas fertilizantes agrícolas do tipo fosfato de rocha ou fosfato triplo. Entretanto, segundo Alckmin [4], a Portaria nº 6, de 4 de fevereiro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento proíbe o fornecimento de fertilizantes agrícolas como fonte de fósforo nas misturas minerais para suplementos destinados à alimentação de bovinos leiteiros, pois, esses animais são bastante sensível à incorporação de chumbo que geralmente, está presente nesse composto.

Até a presente data, não foram encontrados na literatura, trabalhos que abordassem a presença de <sup>210</sup>Pb em amostras de sal mineral consumido por bovinos leiteiros.

# 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o método da troca iônica constituiu-se uma excelente ferramenta na determinação de <sup>210</sup>Pb em amostras de sal mineral. As concentrações elevadas de <sup>210</sup>Pb em duas amostras de sal mineral utilizado na alimentação

As concentrações elevadas de <sup>210</sup>Pb em duas amostras de sal mineral utilizado na alimentação dos bovinos leiteiros da região estudada foram provenientes de fontes de suplementação mineral não recomendada pelo Ministério da Agricultura.

As concentrações elevadas de <sup>210</sup>Pb nas amostras de sal mineral pode induzir doenças nos bovinos leiteiros da região estudada.

- 1. CHRISTIAN, R.G.; TRYPHONAS, L. Lead poisoning in cattle: Brain lesions and hematologic changes. *American Journal Veterinary Research*. 32:203-216 (1971).
- 2. HARIDASAN, P.P.; PAUL, A.C.; DESAI, M.V.M. Natural radionuclides in the aquatic environment of phosphogypsum disposal area. *Journal of Environmental Radioactivity*. 53:155-165 (2001).
- SANTOS, A.J.G.; MAZZILLI, B.P.; FÁVARO, D.I.T.; SILVA, P.S.C. Partitioning of radionuclides and trace elements in phosphogypsum and its source materials based on sequential extraction methods. *Journal of Environmental Radioactivity*. 87:52-61 (2006).
- 4. ALCKMIN, T. Suplementação mineral assegura sanidade e incrementa produção leiteira. *Revista Balde Branco*, 34-41, Janeiro (2000).
- 5. STANLEY, R.E.; MULLEN, A.A.; BRETTHAUER, E.W. Transfer to milk of ingested radiolead. *Health Physics*. 21(2):211-215 (1971).
- 6. POTTER, G.D.; MCINTYRE, D.R.; VATTUONE, G.M. The fate and implications of <sup>203</sup>Pb ingestion in a dairy cow and a calf. *Health Physics*. 20(6):650-653 (1971).
- 7. RAYNO, D.R. Estimated dose to man from uranium milling via the beef/milk food-chain pathway. *The Science of The Total Environment*. 31(3):219-241 (1983).
- 8. HOLTZMAN, R. B. Measurement of the natural contents of RaD (Pb-210) and RaF (Po-210) in human bone estimates of whole body burdens. *Health Physics*. 9:385-400 (1963).

- 9. LADINSKAYA, L. A.; PARFENOV, Y. D.; POPOV, D. K.; FEDOROVA, A. V. <sup>210</sup>Pb and <sup>210</sup>Po content in air, water, foodstuffs and the human body. *Archives Environmental Health*. 27:254-258 (1973).
- 10. POUNDS, J.G.; MITTELSTAEDT, R.A. Mobilization of cellular calcium-45 and lead-210: effect of physiological stimuli. *Science*. 220:308-310 (1983).
- 11. GODOY, J.M.; MOREIRA, I.; WANDERLEY, C.; SIMÕES FILHO, F.F.; MOZETO, A.A. An alternative method for the determination of excess <sup>210</sup>Pb in sediments. *Radiation Protection Dosimetry*. 75:111-115 (1998).
- 12. JIA, G.; TORRI, G. Determination of <sup>210</sup>Pb and <sup>210</sup>Po in soil or rock samples containing refractory matrices. *Application Radiation Isotopes*. 65:1–8 (2007).
- 13. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.
- SILVA, C.M.; AMARAL, R.S.; TABOSA, J.N.; SANTOS JÚNIOR, J.A.; MENEZES, R. S. C.; FARIAS, E.E.G.; BEZERRA, J.D.; SILVESTRE, R.G.; OLIVEIRA, G.F. Pb-210 in rock and soils of the semi-srid sgreste region of Pernambuco, Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 82(6): 647-649 (2009).
- 15. VIEIRA, S. Análise de variância: ANOVA. Atlas, São Paulo, (2006).