

## Zinco eritrocitário (validação de um método de análise) e Zinco dietético na avaliação do estado nutricional de mulheres adultas

Hosana Gonçalves dos Santos, Fátima Aparecida Arantes Sardinha, Célia Colli \*

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

*O objetivo deste estudo foi validar um método de determinação de zinco eritrocitário (ZnER) por espectrofotometria de absorção atômica (EAA), avaliar com esse parâmetro o estado nutricional em Zn de mulheres adultas, relacioná-lo com a ingestão dietética diária, identificando os alimentos fonte do mineral. O método foi validado com limites de detecção e de quantificação de 0,006 e 0,045(0,013)  $\mu\text{gZn/mL}$ , respectivamente, e níveis de exatidão e de imprecisão intra-ensaio e inter-ensaio de 95 (0,4)%, 3,6% e 5,3%, respectivamente. A ingestão média de Zn do grupo ( $n=21$ ) foi de 9,7(3)  $\text{mgZn/dia}$  e 15 desses resultados estão acima da RDA de 8  $\text{mg/d}$  e 4 abaixo da EAR de 6,8  $\text{mg/d}$  (Institute of Medicine/2000b). A concentração média de ZnER foi de 38,2(5)  $\text{mgZn/gHb}$ , valor menor do que o encontrado por outros autores para o mesmo gênero e estágio de vida. As fontes de Zn da dieta do grupo ( $>1,2 \text{ mg Zn}/100 \text{ g}$ ) foram: carnes bovina e suína, fígado bovino, linguiça, queijos dos tipos prato, branco, gouda e mussarela e amendoim.*

### Unitermos

- Zinco eritrocitário
- Zinco dietético
- Mulheres adultas/nutrição
- Ingestões dietéticas de referência
- Estado nutricional

### \*Correspondência:

C. Colli  
Av. Professor Lineu Prestes, 580 Bloco  
14,  
05508-900, São Paulo  
E-mail: cecolli@usp.br

## INTRODUÇÃO

Ao avaliar o estado nutricional relativo a minerais é necessário que se conheça a distribuição compartimental do mineral no organismo e que se eleja um compartimento que reflita graus de depleção e seus efeitos a curto, médio e longo prazos. Nem sempre isso é possível. Uma avaliação do estado nutricional em zinco requer o uso de dados dietéticos combinados com os bioquímicos e antropométricos (Gibson, 1990).

Os parâmetros bioquímicos de avaliação do estado nutricional em minerais – e o zinco não é uma exceção – não são bem definidos, existindo dificuldades para se

estabelecer padrões de normalidade e de precisão metodológica de cada um deles (Laefoged, Hagen, 1988; Abdallah, Samman, 1993; Saris *et al.*, 2000).

Assim, a concentração plasmática de zinco (King, Keen, 1994), a concentração de metalotioneína (King, 1990; Wood, 2000), o Zn leucocitário (Solomons, 1979) e o Zn plaquetário (Gibson, 1990) são parâmetros usados na avaliação do estado de nutrição em zinco. Entretanto, todos têm limitações, seja quanto ao alcance em refletir o estado nutricional, por dificuldade metodológica, ou seja pelo custo.

Pelo fato de o eritrócito apresentar vida média de 110 a 120 dias, o zinco eritrocitário é utilizado como parâmetro bioquímico na avaliação do estado nutricional

pregresso relativo ao mineral (Gibson, 1990). Estudos de depleção em humanos têm demonstrado que a concentração deste mineral no eritrócito diminui apenas 21% após a ingestão de dietas com baixo teor do mineral, em um período de noventa dias. Assim, seriam necessários de 5 a 10 anos para que os estoques do organismo fossem depletados. Portanto, a deficiência de zinco se manifesta em seres humanos, após alguns anos de depleção, como resultado da ingestão constante de dietas deficitárias desse elemento (Gibson, 1990).

O objetivo do presente trabalho foi validar um método de análise de Zn eritrocitário a fim de que se torne uma referência para futuros trabalhos de avaliação do estado nutricional de humanos com relação a esse mineral. Para tanto foram também identificados os alimentos fonte de zinco na dieta dessas mulheres e determinadas suas concentrações em preparações caseiras desses alimentos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Casuística

Foram selecionadas no Campus da Universidade de São Paulo da Cidade Universitária (SP), 24 voluntários do sexo feminino com idade de 19 a 40 anos de idade, saudáveis, não praticantes de atividade física regular (frequência inferior a 2 horas semanais), não fumantes, sem queixas clínicas e declarantes de que não ingeriram suplementos alimentares ou medicamentos nas 72 horas que antecederam a coleta de sangue.

### Material de ensaio

#### Coleta de sangue

Foram colhidas amostras de 20 mL de sangue em seringas descartáveis, distribuídas em alíquotas de 5 mL com 5 mL de citrato de sódio a 30% como anticoagulante. Após centrifugação (centrífuga refrigerada RC5C Sorval Instruments, 9002607) a 4 °C, 1000 g, por 10 minutos, o plasma foi separado e a massa eritrocitária (papa de eritrócitos) resultante foi lavada três vezes com solução salina, transferida para tubos Eppendorf (2,0 mL) e armazenada em congelador a -70 °C até o momento da análise.

### Métodos

#### Zinco eritrocitário

A determinação de zinco eritrocitário baseou-se no método de Whitehouse *et al.* (1982) segundo o qual a papa de eritrócitos é lisada com água desmineralizada (lisado I) e diluída para uma concentração de zinco dentro do inter-

valo da curva padrão (lisado II). A adaptação feita no método original foi a diluição dos pontos da curva padrão com solução de ácido nítrico: glicerol: água (10:30:60) em lugar de solução de HNO<sub>3</sub> a 1% e solução de diversos sais do método original.

O zinco foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (espectrofotômetro Hitachi Modelo Z-5000) nas seguintes condições: fenda 0,9 nm, chama oxidante com mistura de ar acetileno, comprimento de onda de 213,9 nm. A curva padrão foi preparada utilizando-se o ZnCl<sub>2</sub> - Tritisol (Merck) nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1,0 µgZn/mL.

#### Pool de eritrócitos

Em balões volumétricos (10 mL) pipetou-se 0,5 mL da papa de eritrócitos de 5 mulheres selecionadas aleatoriamente entre as 24 amostras de sangue obtidas das voluntárias. O volume foi completado com água, e as amostras do lisado foram armazenadas a -70 °C até o momento da análise. O *pool* foi utilizado como padrão de referência secundário.

#### Linearidade

A linearidade das curvas padrão foi avaliada pelo coeficiente de correlação da curva de regressão linear, obtida com 5 pontos, analisados em replicatas (Barros, Hirata, 1997).

#### Sensibilidade

O limite de detecção foi calculado pela multiplicação por 3 do desvio padrão de 10 leituras do branco, dividindo-se o resultado pela inclinação da curva de calibração (Chairman *et al.*, 1983)

O limite de quantificação foi calculado pelo mesmo procedimento, mas multiplicando-se por 10 o desvio-padrão das leituras do branco (Chairman *et al.*, 1983)

#### Exatidão

##### • Recuperação

A exatidão do método de determinação de zinco eritrocitário foi avaliada pelo ensaio de recuperação (avaliação da interferência da matriz), pela não disponibilidade de padrões de referência certificados.

O *pool* de eritrócitos foi analisado em três dias diferentes, com um total de 17 repetições e as médias das respostas analíticas foram expressas em gráfico controle.

##### • Interferência da matriz

Para avaliar a exatidão do método utilizou-se tanto o *pool* de lisado I como as amostras individuais como matrizes para adição de padrão de zinco. Foi feita a adição de 3

diferentes volumes de uma solução de 5 µgZn/mL a volumes de 200 µL do lisado I completando-se para um volume final de 2mL com água desmineralizada, obtendo-se o que foi chamado de lisado II adicionado de massas diferentes de zinco. A massa correspondente à extrapolação na curva é o valor da concentração de zinco sem nenhuma interferência. Para calcular a porcentagem de recuperação do método relacionam-se os resultados obtidos da leitura direta do lisado II na curva padrão com os obtidos com o método de adição de padrão (Taylor, 1987; Barros, Hirata, 1997).

#### *Precisão*

A precisão intra-ensaio foi avaliada a partir do resultado de 10 determinações feitas no *pool* de lisado I. A reprodutibilidade inter-ensaio foi avaliada nesse *pool* em três ensaios, feitos em dias diferentes. O primeiro ensaio com 10 repetições, o segundo ensaio com 4 repetições e o terceiro ensaio com 3 repetições.

Em seguida, cinco amostras individuais, escolhidas aleatoriamente, foram analisadas em dois dias consecutivos. Em cada um dos dias foram feitas 3 repetições.

## CONSUMO ALIMENTAR

O padrão de consumo de alimentos do grupo estudado foi determinado a partir dos dados do Registro Alimentar de 3 dias (R 3).

Considerou-se alimento fonte de zinco, aquele cuja composição no mineral suprisse 15% das RDA (8 mgZn/dia) por porção diária consumida ou aquele cuja frequência de consumo levasse a esse nível diário de ingestão.

A análise dos dados foi realizada por meio do programa Virtual Nutri (Philippi *et al.*, 1996), complementando os valores da concentração de zinco com a tabela da *Royal Society of Chemistry* e com a tabela de composição de alimentos da Escola Paulista de Medicina de São Paulo (Maccance, Widdowson's, 1991).

#### *Preparação das amostras de alimentos*

Os alimentos selecionados foram comprados em 4 dias alternados, em feiras livres e supermercados. No mesmo dia da compra, parte das amostras foi submetida a técnicas de preparação domésticas usuais e homogeneizada em processadores. Amostras processadas e não processadas foram identificadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em congelador a -20 °C até o momento da análise.

#### *Zinco Total nos Alimentos*

As amostras dos alimentos foram analisadas em

triplicatas. A abertura de suas embalagens foi feita à 150 °C com HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na proporção de 5:1 e foram feitas diluições adequadas em água (AOAC, 1985).

## Análise Estatística

Para a avaliação de possível correlação dos dados de ingestão diária e concentração no eritrócito foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson (Bussab, Moetin, 2002).

O intervalo de confiança dos valores de Zn eritrocitário determinado foi:

$$x \pm t s/\sqrt{n}$$

onde x = média, s = desvio padrão, n = número de amostras e t de Student (n).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliando inicialmente os parâmetros de eficiência do método de determinação de Zn eritrocitário obteve-se coeficiente de correlação ( $r^2$ ) da reta média de calibração de zinco em intervalo de concentração de 0,1 a 1,0 µgZn/mL, de 0,9998, indicando bom ajuste entre o sinal gerado pelo aparelho e a concentração do analito. Os limites de detecção e de quantificação do método foram de 0,006 µgZn/mL e 0,045 (0,013) µgZn/mL, respectivamente. A exatidão do método variou de 83% a 95%, quando avaliado no *pool* de eritrócitos. Este último valor foi obtido com a curva padrão com amostras diluídas em ácido nítrico 1% e glicerol 3% (Tabela I), portanto, a melhor das 3 condições empregadas.

Nas cinco amostras individuais a porcentagem de recuperação foi de 93(1,2)%. Para o cálculo dessa dispersão foi utilizado o *pool* de desvios padrão (*Spool*) (Tabela II).

Horwitz (1982) considera a recuperação de 80% como o menor valor aceito para as análises de elementos-traço, em níveis de concentrações de mg/g. Wang e Li (1995), por outro lado, assumem como satisfatória a recuperação mínima de 90% e a máxima de 110%. Barros e Hirata (1997) destacam que embora seja desejável obter-se recuperação próxima a 100%, valores de recuperação superiores a 50% têm sido usados como limite aceitável, dependendo do analito a ser determinado e do método de análise.

Foram encontrados na literatura valores variando entre 94 e 106% (Prasad, 1965; Whitehouse *et al.*, 1982; Deuster *et al.*, 1987; Cordeiro, 1994). Com base nesses trabalhos podemos considerar que a porcentagem de recuperação do método depende do tipo de solução diluente, da massa do analito adicionada e do tipo de matriz.

**TABELA I** - Tipos de curvas padrão e porcentagem de recuperação do padrão adicionado no *pool* de eritrócitos

Curva padrão em:	Método direto (µg/mL)	Método de padrão adicionado (µg/mL)	Recuperação % (DP)
HNO <sub>3</sub> 1%/Solução de sais (Whitehouse <i>et al.</i> , 1982)	2,7	3,1	87 (0,3)
HNO <sub>3</sub> 1%	3,0	3,6	83 (0,4)
HNO <sub>3</sub> 1%/glicerol 3%	2,9	3,1	95(0,4)

(DP) = desvio padrão

**TABELA II** - Zinco eritrocitário (µgZn/gHb). Precisão e recuperação do método avaliada em amostras individuais. Mulheres (n=5)

Amostra	Concentração (µgZn/gHb )	N	Precisão%	Recuperação % (DP)	N
1	29(0,7)	2		95(0,8)	3
2	41(3,5)	2		90(2,3)	3
3	46(4,2)	2		89(0,4)	3
4	43(0,0)	2		96(0,7)	3
5	44(1,4)	2		93(0,5)	3
Média	41 (1,8)*		4,4	93(1,2)*	

(DP) = desvio padrão; N = número de replicatas

$$S_{pool} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 1) s_2^2 + \dots + (n_n - 1) s_n^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots + (n_n - 1)}}$$

Assim, por exemplo, se a separação dos componentes celulares não for eficiente, isto é, se a amostra preparada contiver leucócitos que apresentem quantidades apreciáveis de zinco, o resultado da determinação deste mineral no eritrócito será sensivelmente afetado.

Quanto à precisão do método, avaliada pela repetibilidade e expressa pelos coeficientes de variação (CV) intra e inter-ensaios (Tabela II), os valores obtidos foram 3,6 e 5,3%, respectivamente, encontrando-se, portanto, dentro do limite aceitável (<10%) para análises de micronutrientes e são semelhantes aos obtidos por outros autores (Horwitz, 1982; Sprenger, Franz, 1983; Deuster *et al.*, 1987; Cordeiro, 1994).

A precisão do método avaliada no *pool* de eritrócitos pela repetibilidade intra e inter-ensaio foi 3,6% e 5,3% respectivamente. Nas análises individuais de amostras de sangue, o coeficiente de variação médio ( $100 * s_{pool} / \text{média}$ ) foi 4,4%, portanto adequado.

Os resultados das análises em amostras de *pool* de eritrócitos armazenadas por 6 meses mostraram que há alteração na concentração de hemoglobina, de 8 g/dL para 7,4 g/dL, com o armazenamento, o que assinala que esta determinação deva ser feita logo após a coleta de sangue.

A concentração média de zinco eritrocitário encontrada no grupo avaliado (Tabela III) foi 38,2 (5) mgZn/gHb com intervalo de confiança de 35,6 a 40,20 mgZn/gHb. Este valor é mais baixo do que o encontrado por Whitehouse *et al.* (1982), de 40,8 (6,3) mgZn/gHb para indivíduos de ambos os sexos na faixa de 21 a 50 anos, e o de 42(5) mgZn/gHb encontrado também por Gibson (1990).

A análise dos resultados obtidos indicou a adequação da metodologia utilizada validando os resultados para que fossem empregados na interpretação do estado de nutrição em zinco de grupos populacionais.

À Tabela IV estão apresentados os valores de Zn eritrocitário em humanos de diferentes estágios de vida. Há uma tendência de a concentração de zinco eritrocitário aumentar até a idade adulta e diminuir no idoso.

## PARÂMETROS DIETÉTICOS

A distribuição da adequação de ingestão de zinco das dietas do grupo estudado encontra-se na Tabela III. Considerando-se inadequada uma ingestão de zinco menor do que a EAR (Estimated Average Requirement) (Institute of Medicine, 2000b) verificou-se que 19% (4/21) das mulheres avaliadas apresentaram a ingestão inadequada e

71,5% (15/21) apresentam a ingestão acima da RDA, considerada, portanto, adequada.

A avaliação nutricional desse grupo foi feita considerando-se a RDA de zinco de 8 mgZn/dia (Institute of

**TABELA III** - Concentração média de zinco eritrocitário e ingestão média de zinco do grupo estudado obtida por registro de 3 dias (R3)

Amostra	Ingestão de Zn (mg/dia) R3	Concentração de Zn eritrocitário (mgZn/gHb)
1	6,6	39
2	9,9	37
3	12	34
4	12	39
5	11	41
6	—	37
7	8,8	38
8	9,3	32
9	14	36
10	7	37
11	—	42
12	10	47
13	12	36
14	12	36
15	15	36
16	6,6	36
17	9,0	40
18	7,9	41
19	13	27
20	5,5	44
21	4,7	30
22	8,3	43
23	10	47
24	—	42
Média(S)	9,7(3)	38,2(5)

(S) = desvio padrão; R3 = registro de três dias

Medicine, 2000b) para mulheres de 19 a 40 anos. Para se avaliar a adequação dietética com base nas Ingestões Dietéticas de Referência (Institute of Medicine, 2000a), as chamadas DRI (Dietetic Reference Ingestions), levam-se em consideração as diferenças inter e intra-individuais de ingestão. Este método permite decidir, com o estabelecimento de um nível de confiança pré-determinado, se a ingestão de um nutriente está adequada ou excessiva, considerando-se o *escore Z*, já empregado na avaliação da desnutrição (Institute of Medicine, 2000a). Vale lembrar, porém, que este método só se aplica se a distribuição de ingestão do nutriente seguir uma curva de distribuição normal e se o coeficiente de variação inter-pessoal de ingestão for menor do que 60%. No caso do zinco, essa distribuição é assimétrica e, assim sendo, tomamos como referência o intervalo entre EAR e RDA para definir adequação de ingestão.

A distribuição da ingestão de zinco das 24 voluntárias foi avaliada a partir do registro de 3 dias. A média de concentração de Zn eritrocitário das 4 mulheres com ingestão inadequada foi de 40,2(3,5)mg/Zn/g Hb, ou seja, dentro do limite de normalidade.

Assim sendo, a concentração de zinco no eritrócito não refletiu a ingestão do mineral. Este fato pode ser o resultado da limitação desse parâmetro em responder à grande variação dos valores de ingestão (reflexo da grande variação intra e inter-pessoal e do erro de cerca de 40% associado à obtenção de dados a partir de somente três registros).

Considerando-se que a ingestão média de zinco do grupo estudado (n=21) foi 9,7(3) mg Zn/dia (Tabela III), podemos dizer que 15 indivíduos têm ingestão aparentemente adequada (> 8,0 mg Zn/d) e 4 têm ingestão aparentemente inadequada (< 6,8 mgZn/dia).

Como este, foram feitos no Brasil outros estudos em que a ingestão de micronutrientes foi avaliada em grupos específicos – crianças, grávidas, atletas, idosos – constituindo isoladamente uma amostragem relativamente pequena. No entanto, os resultados mostram que há uma tendên-

**TABELA IV** – Concentração de zinco eritrocitário. Dados da literatura

Idade (sexo)	Concentração $\mu\text{gZn/gHb(DP)}$	Referência
1 a 6 meses (F/M)	18,7(6,1)	Nishi, 1980
4 a 7 anos (F/M)	31(mediana)	Chicourel, 2001
7 a 9 anos(F/M)	36 (mediana)	Pedrosa, 1997
11 a 55 anos	42,2 (5,6)	Gibson, 1989
21 a 50 anos (F/M)	40,7(3,6)	Whitehouse <i>et al.</i> , 1982
19 a 40 anos (F)	38,2 (5)	Esta pesquisa
49 a 63 anos (F/M)	40,8(6,3)	Mafra, 1998
75 a 91 anos (F/M)	33,7(1,6)	Cordeiro, 1994

DP = desvio padrão

cia de atletas apresentarem ingestão mais alta de zinco do que a população em geral. Assim, valores de ingestão próximos a 10,5 mg de Zn/dia foram descritos para atletas de polo aquático feminino (Mari, 2000) e próximos a 11 mg/dia para maratonistas de elite (Vazquez, 1998). Esses valores contrastam com a ingestão diária média de 7,5 mg de Zn e 6 mg de Zn por homens e mulheres da população de baixa

renda no Estado de Santa Catarina (Tramonte, 1994).

Os alimentos fontes de zinco na dieta do grupo estudado, assim classificados por apresentarem mais do que 1,2 mg Zn/100 g de porção habitual foram carne bovina, lingüiça, carne suína, queijo tipo gouda, queijo branco, queijo tipo mussarela, queijo tipo prato, fígado bovino e amendoim (Tabela V).

**TABELA V** – Concentrações de zinco em alimentos consumidos por mulheres adultas (n = 24). Média (desvio padrão) e coeficiente de variação (n=3)

Alimento	Concentração Zn mg/100 g Base integral	C.V. (%)	Concentração Zn mg/porção habitual*	Peso (g) da porção habitual*
Arroz branco	0,07(0,003)	3,8	0,09(0,004)	125
Arroz integral <sup>2</sup>	1,0(0,03)	3,4	1,4(0,04)	140
Macarrão	0,35(0,01)	2,5	0,37(0,01)	105
Pão francês	1,06(0,16)	15,0	0,53(0,08)	50
Pão integral <sup>1</sup>	2,23(0,13)	5,9	0,96(0,06)	43
Batata crua	0,41(0,01)	3,3	0,24(0,006)	58
Batata frita	0,66(0,07)	11,0	0,38(0,04)	58
Ovo frito <sup>1,2</sup>	2,48(0,06)	2,5	2,48(0,06)	100
Leite integral	0,61(0,03)	5,6	1,11(0,05)	182
Leite desnatado	0,47(0,04)	8,1	0,86(0,07)	182
semidesnatado	0,46(0,06)	13,6	0,84(0,11)	182
Iogurte natural	0,27(0,02)	9,2	1,08(0,08)	400
Iogurte c/ frutas	0,49(0,01)	2,3	0,69(0,01)	140
Queijo prato <sup>1,2</sup>	3,54(0,10)	2,8	1,42(0,04)	40
Queijo branco <sup>1,2</sup>	4,19(0,07)	1,7	2,09(0,03)	50
Queijo mussarela <sup>1,2</sup>	3,46(0,40)	11,5	1,56(0,18)	45
Queijo provolone <sup>1,2</sup>	4,00 (0,16)	4,1	1,40(0,06)	35
Queijo gouda <sup>1,2</sup>	3,58(0,15)	4,1	1,25(0,05)	35
Frango cru	0,76(0,02)	2,1	0,76(0,02)	100
Frango cozido	0,79(0,10)	13,1	0,79(0,10)	100
Carne bovina crua <sup>1,2</sup>	3,19(0,08)	2,4	2,55(0,06)	80
Carne bovina frita <sup>1,2</sup>	4,15(0,16)	3,8	3,32(0,13)	80
Carne bovina refogada e moída <sup>1,2</sup>	5,34(0,93)	17,4	4,27(0,74)	80
Carne bovina crua e moída <sup>1,2</sup>	4,77(0,34)	7,1	3,82(0,27)	80
Carne suína crua <sup>1,2</sup>	1,54(0,07)	4,3	1,23(0,06)	80
Carne suína frita <sup>1,2</sup>	2,19(0,12)	5,5	1,75(0,09)	80
Salsicha crua <sup>1</sup>	1,80(0,07)	3,7	1,08(0,04)	60
Salsicha cozida <sup>1</sup>	1,93(0,02)	0,9	1,16(0,01)	60
Lingüiça crua <sup>1</sup>	2,00(0,07)	3,6	1,00(0,03)	50
Lingüiça frita <sup>1,2</sup>	2,52(0,05)	2,2	1,26(0,02)	50
Salame <sup>1,2</sup>	5,85(0,09)	1,5	4,39(0,07)	75
Fígado cru <sup>1,2</sup>	5,76(0,48)	8,3	5,76(0,48)	100
Fígado frito <sup>1,2</sup>	7,88(0,13)	1,6	7,88(0,13)	100
Peixe cru	0,82(0,02)	3,0	0,87(0,02)	106
Peixe frito	1,01(0,02)	2,5	1,07(0,02)	106

\*Philippi *et al.*, 1999; <sup>1</sup> alimentos fonte (>1,2 mgZn/100 g); <sup>2</sup> alimentos fonte por porção habitual

A dispersão dos resultados de determinação de Zn nos alimentos (Tabela V) encontra-se dentro do limite aceitável para as análises de micronutrientes, em estudos de repetibilidade, ou seja, abaixo de 10%.

A realização de levantamentos continuados de ingestão alimentar é importante para se avaliar os desvios intrapessoais e permitir a montagem de um banco de dados que possibilite o estabelecimento das necessidades médias estimadas (EAR) para a população brasileira.

## CONCLUSÃO

O método de determinação de zinco eritrocitário foi validado com 95 (0,4)% de exatidão, imprecisão menor do que 6% e limites de detecção e quantificação de 0,006 mg/mL e 0,045(0,013) mg/mL, respectivamente.

A concentração de zinco eritrocitário em amostras coletadas de 21 mulheres foi 38,2(5) mgZn/gHb com intervalo de confiança entre 35,6 a 40,2 mgZn/gHb; estes valores são mais baixos que os referidos na literatura para o gênero e faixa etária.

Considerando simultaneamente o intervalo de confiança para a distribuição de valores de ingestão de zinco (8,5 a 11,0 mg/d) e de concentração de zinco eritrocitário (35,6 a 40,2 mgZn/gHb) somente uma das mulheres apresentou deficiência do mineral.

## AGRADECIMENTOS

A Helena Chiebao e Aline Amorim pelo trabalho técnico e digitação do texto e versão do resumo para o inglês.

## ABSTRACT

### **Erythrocytic zinc (validation of an analytical method) and dietetic in nutriture evaluation of adult women**

*The aim of this study was to validate a method for determining erythrocytic Zn (ZnER) by atomic absorption spectrophotometry (AAS), in order to evaluate, with this parameter, the Zn nutriture of adult women (n=21), and to relate it with the dietary daily Zn ingestion by the group. The method was validated with limits of detection and quantification of 0.006 and 0.045(0.013)mgZn/mL, respectively, and accuracy and intra and inter-assay coefficients of variation of 95(0.4)%, 3.6% and 5.3%, respectively. The average daily ingestion of Zn by the adult women was 9.7(3)mgZn/d, 15 of them had intake levels above the Recommended Dietary Allowance of 8 mg/d (RDA/*

*2001) and 4 below the Estimated Average Requirement of 6,8 mg/d (EAR /2001). The average concentration of ZnER was 38.2(5) mgZn/gHb, a value lower than that found by other authors for the same age and gender group. Food sources of Zn in their diets (>1.2 mg Zn/serving) were: bovine and pork meat, bovine liver, sausages, plain cheese, white, gouda and mussarela type cheeses, and peanuts.*

*UNITERMS: Erythrocytic zinc. Analytical method. Women. Nutrition. Dietary Reference Intakes.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, S.M.; SAMMAN, S. The effect of increasing dietary zinc on the activity of superoxide dismutase and zinc concentration in erythrocytes of healthy female subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 47, n. 5, p. 327-32, 1993.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. *Official methods of analysis*. 15. ed. Washington, 1985.
- BARROS, C.B.; HIRATA, Y.S. *Validação de métodos analíticos*. Taboão da Serra: Isolab, 1997. 157 p. (Apostila de curso).
- BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. *Estatística Básica*. 5. ed. São Paulo: Saraiva, 2002.
- CHAIRMAN, L.H.K.; CRUMMETT, W.; DEEGAN, J.J.; LIBBY, R.A.; TAYLOR, J.K.; WENTLER, G. *Principles of environmental analysis. Anal. Chem.*, Washington, v. 55, n. 14, p. 2210-2218, 1983.
- CHICOUREL, E.L. *Zinco: efeito da suplementação no desenvolvimento físico e cognitivo de pré-escolares*. 2001. 150 p. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
- CORDEIRO, M.B. *Adequação alimentar do estado nutricional em relação do zinco em grupos de idosos de São Paulo*. São Paulo, 1994. 120 p. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].
- CURRIE, L.A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995) *Anal. Chim. Acta*, v. 391, n. 2, p.105-126, 1999.

- DEUSTER, P.A ; TROSTMANN, ERAN.D. Indirect vs direct measurement magnesium and zinc in erythrocytes *Clin. Chem.*, v. 33, n. 4, p. 529-532, 1987.
- INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes. Applications in dietary assessment. A report of the Subcommittee on interpretation and uses of Dietary Reference Intakes and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, *Food and Nutrition Board*, Washington, p. 185-202, 2000a.
- INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. A report of the Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary References Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board, Washington, p.442-501, 2000b.
- GIBSON, R.S. Assessment of trace element status in humans. *Progr. Food .Nutr. Sci.*, v.13, p. 67-111, 1989.
- GIBSON, R.S. *Principles of Nutritional Assessment*. New York: University Press, 1990. p. 543-53.
- HYDE, T. A.; MELLOR, L.D. Química. In: STANLEY, R.; LYNCH, S. *Técnicas de laboratório*. 4. ed. São Paulo, 1986. p.1053.
- HORWITZ, W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Anal. Chem.*, v. 54, n. 1, p. 67A-76A, 1982.
- KING, J. C. Assessment of techniques for determining human zinc requirement *J. Am. Diet. Assoc.*, v. 86, n. 86, p. 1523-1528, 1990.
- KING, J. C. ; KEEN, C.L. Zinc. In: SHILS, M.E.; OLSON, J. A. ; SHIKE, M. (Eds.). *Modern Nutrition in Health and Disease*. 8. ed. Philadelphia: A Waverly Company, 1994. v. 2, p. 198-211.
- LADEFOGED, K. E. HEGEN, K. Correlation between concentrations of magnesium, zinc and potassium in plasma, erythrocytes and muscles. *Clinica Chimica Acta*, v. 177, n.2, p.157-66, 1988.
- MACCANCE, R. A; WIDDOWSON, E.M. *The composition of foods*. 5<sup>th</sup> ed. Royal Society of Chemistry, Ministry of Agriculture, Cambridge, 1991. 462 p.
- MAFRA, D. *Avaliação do Estado nutricional relativo ao zinco de pacientes com insuficiência renal crônica*. São Paulo. 1998. 100 p. [Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- MARI, E.T.L. *Análises uni e multivariada na avaliação do estado nutricional de atletas de polo aquático feminino: enfoque em minerais*. São Paulo, 2002. 172 p. [Dissertação de Mestrado em Nutrição Humana Aplicada, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- MARQUES, A G. *Gosto e zinco eritrocitário em crianças de São Paulo*. São Paulo, 1999. 100 p. [Dissertação de Mestrado em Nutrição, Universidade Federal de São Paulo]
- NISHI, Y. Zinc levels in plasma, erythrocyte and leucocyte in healthy children and adults. *J. Med. Sci.*, v.13, p.7-13, 1980.
- NOGUEIRA, E. *Estudo comparativo sobre os efeitos da suplementação com ferro (diferentes concentrações), ácido fólico e zinco no estado nutricional de adolescentes grávidas e de seus conceitos*. São Paulo, 1997. 150 p. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- ORTEGA, R.S.; QUINTAS, M.E.; ANDRÉS, P.; MARTINEZ, R.M.; SOBALER, A. M. L.; REQUEJO, A.M. Zinc status of a group pregnant spanish women: effects on anthropometric data and apgar scores of neonates. *Nutr. Res.*, v. 19, n. 9, p. 1423-1428, 1999.
- PEDROSA, L.F.C. *Avaliação do estado nutricional relativo ao zinco de crianças com diabetes mellitus insulino dependente*. São Paulo, 1997. 109 p. [Tese de Doutorado em Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].
- PHILIPPI, S.T.; LATTERZA, A.R.; CRUZ, A.T.R.; RIBEIRO, L.C. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. *Rev. Nutr.* v. 12, n.1, p.65-80, 1999.

- PHILIPPI, S.T.; SZARFAC, S.C.; LATTERZA, A.R. *Virtual Nutri*, versão 1.0 (software). São Paulo: Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública de São Paulo, 1996. 1 CD-ROM.
- PRASAD, A.S.; OBERLEAS, D.; HALSTED, J.A. Determination of zinc in biological fluids by atomic absorption spectrophotometry in normal and cirrhotic subjects. *J. Labor. Clin. Med.*, v. 66, n. 3, p.508-516, 1965.
- RAMOS, K.S. *Efeito do processamento sobre as concentrações de ferro em carnes e em pulmão bovino*. São Paulo, 1999. 98 p. [Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- SALGUEIRO, M.J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, SARAIBIAM.I.; CARO, R.; PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc as essential micronutrient: a review. *Nutr. Res.*, v. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.
- SANDSTROM, B. Bioavailability of zinc. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 51, Suppl.1, p. S17-S19, 1997.
- SARIS, N.E.; MERVAALA, E.; KARPPANEN, H.; KHAWAJA, J.A.; LEWENSTAM, A. Review. Magnesium an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin. Chim. Acta*, v. 194, p. 1-26, 2000.
- SOLOMONS, N.W. On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.32, p. 856-871, 1979.
- SPRENGER, K.B.G.; FRANZ, H.E. Viscosity for automated micromethod of flame absorption spectrometry, and intracellular trace element analysis after pressure decomposition: zinc determination in plasma and erythrocytes. *Clin. Chem.*, v. 29, n. 8, p.1522-1526, 1983.
- TAYLOR, J.K. *Quality assurance of chemical measurements*. Chelsea: Lewis, 1987. 328 p.
- TRAMONTE, V.L.C. *Biodisponibilidade de ferro e zinco de dieta típica da população brasileira de baixa renda, estudo com isótopos estáveis em humanos*. São Paulo, 1994. 143 p. [Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- VÁSQUEZ, J.W.P. *Avaliação do estado nutricional de atletas maratonistas em fase pré-competitiva. Uma abordagem referente ao ferro*. São Paulo, 1998. 96 p. [Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo]
- VOET, H.V.D.; RHINJIN, J. A.; WIEL, H. Interlaboratory, time, and fitness for purpose aspects of effective validation. *Anal. Chim. Acta*, v.399, p.157-171, 1999.
- WHITEHOUSE, R.C.; PRASAD, A.S.; RABBANI, P.I.; COSSACK, Z.T. – Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin. Chem.*, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.
- WANG, G.; LI, X. Assuring regional data quality in the food composition program in China. In: *INTERNATIONAL FOOD DATA BASE CONFERENCE*, 1., Sidney, 1995. *Proceedings*. Arlington: AOAC International, 1995. p. 119-128.
- WOOD, R.J. Assessment of marginal zinc status in humans. *J. Nutr.*, v.130, p.1350S-1354S, 2000.

Recebido para publicação em 17 de fevereiro de 2005

Aceito para publicação em 22 de maio de 2005