



## OLIGO-ELEMENTOS METÁLICOS EM ÁGUAS MINERAIS PORTUGUESAS — PRESENÇA DO CRÓMIO <sup>(1)</sup>

*Apresentam-se para algumas águas minerais portuguesas, os resultados das determinações de vestígios de certos elementos metálicos (Cu, Co, Zn, etc.) usando de preferência as técnicas de separação com solventes selectivos ou com resinas iónico-permutadoras e dosagem por fotometria de absorção atómica. Relaciona-se a presença de Cr com as conclusões de trabalhos experimentais de autores norte-americanos sobre a acção favorável de micro-quantidades de  $\text{Cr}^{3+}$  no metabolismo da glucose, em homens, animais e em órgãos isolados (cristalino do rato).*

### 1 — INTRODUÇÃO

1.1 — Em nota publicada há perto de três anos (1), pusemos em relevo a composição muito singular de duas águas minerais portuguesas onde, a par de certas peculiaridades nos teores relativos dos iões mais comuns, se encontram concentrações anómalas de catiões metálicos, ordinariamente ausentes ou presentes só em vestígios ténues em águas naturais.

Trata-se das águas da Foz da Sertã e de Castelo de Vide (Fonte da Vila) das quais se apresentam, em anexo, os resultados analíticos mais importantes que obtivéramos (2).

São águas de tipo muito diferente mas qualquer delas com características notáveis.

Sobre a primeira, supomos não haver suficiente experiência clínica e, como experimentação biológica, apenas podemos citar CHARLES LEPIERRE (3), que observou acção bactericida da água da Foz da Sertã sobre os bacilos tífico, diftérico e sobre o vibrião colérico.

O muito baixo pH desta água (4,01), resultante da presença de teor relativamente elevado do ião  $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ , a muito pouca diversificada composição aniónica (sòmente  $\text{Cl}^-$  e  $\text{SO}_4^{2-}$ , com nítida predominância deste último) e os variados catiões metálicos satélites, em teor relativamente elevado numa água pronunciadamente hiposalina (172 mg/l), tornam este caso hidrológico muito interessante e merecedor de desenvolvido estudo biológico e clínico.

1.2 — A outra água (Castelo de Vide—Fonte da Vila) tem experiência clínica, relativamente recente mas válida, a qual revela acção benéfica no tratamento da diabetes.

Esta acção, cabalmente demonstrada pela baixa da glicémia após alguns dias de ingestão da água — isto independentemente de qualquer influência dietética — já tem sido atribuída à sua riqueza em  $\text{K}^+$ , pois o valor do quociente  $[\text{K}^+]/[\text{Na}^+]$  na água da Fonte da Vila é o mais alto que se encontra em águas minerais de Portugal continental. Mas outra forte peculiaridade da água é a muito alta concentração de  $\text{NO}_3^-$ , anomalia que não

(1) Apresentado ao IV Congresso Nacional de Bioquímica, realizado em Lourenço Marques, Moçambique, em Outubro de 1972.

corresponde a contaminação orgânica (256 mg/l, cerca de 15 vezes o limite para as águas potáveis) (1). Além disto tudo, verifica-se ainda um valor de  $[Mg^{2+}]/[Ca^{2+}]$  muito alto em comparação com o habitual em águas portuguesas.

É a água mais acentuadamente oxidante de Portugal europeu (pot. redox = 1,9 V).

1.3 — Em fins de 1966, tivemos conhecimento da existência duma série de trabalhos experimentais de autores norte-americanos, demonstrando nítida influência do ião  $Cr^{3+}$  no metabolismo da glucose. Assim, por exemplo, repetidas injeções de soluções contendo alguns microgramas desse ião aumentavam a tolerância do organismo pela glucose, diminuindo a taxa de glicémia nos diabéticos. As experiências referidas foram efectuadas «in vivo» (homens, ratos) e «in vitro» (cristalinos isolados de ratos, tecido adiposo) (4-7) (2).

Um dos artigos (5) intitula-se mesmo: «deficiência de crómio nos ratos».

Até então, não conhecíamos qualquer referência à importância biológica do crómio, que é mesmo expressamente indicado como ausente nos organismos vivos (8).

Mas as conclusões dos trabalhos experimentais citados acima não deixam dúvidas sobre o papel desse elemento metálico na vida.

## 2 — DOSEAMENTO DE Cr EM ÁGUAS

No Laboratório do Instituto de Hidrologia de Lisboa, de há muito que procedíamos ao doseamento de oligo-metais nas águas portuguesas (9), aperfeiçoando continuamente os métodos de separação e doseamento.

Mas, quanto ao crómio, nenhum caminho analítico satisfatório nos tinha aparecido até então e só algum tempo depois ficámos de posse de meios eficazes para realizar tal determinação. Hoje o problema não oferece dificuldades: a dosagem, pròpriamente, faz-se por espectrometria de absorção atómica e a separação, quase sempre acompanhada da necessária concentração dos micro-elementos, por co-precipitação, extracção com solventes selectivos ou emprego de resinas quelantes.

No fim desta nota, encontra-se breve descrição dos métodos usados com as referências bibliográficas necessárias à sua cabal execução.

Indicámos então que fosse incluído num trabalho

de revisão (10) do Centro de Estudos de Química (C.E.E.N. — I.A.C.) do Instituto Superior Técnico, a dosagem do crómio na água de Castelo de Vide (Fonte da Vila), a qual conduziu a valor relativamente elevado da respectiva concentração. Mais recentemente, em análises efectuadas no I. H. L. sobre duas águas de Pedras Salgadas e (a nosso pedido) na de Salus e nas duas nascentes de Melgaço, foram encontradas quantidades significativas de crómio. Em compensação, numa água potável e numa água mineral particularmente activa no tratamento de doenças do fígado mas sem qualquer indicação na diabetes, tinham-se achado (10) só vestígios desse metal.

No quadro I transcrevem-se os resultados obtidos até hoje, relativos ao teor de crómio em águas portuguesas.

Destas águas, as de Pedras Salgadas e de Salus têm sido indicadas como adjuvantes no tratamento da diabetes e Melgaço é tradicionalmente a nossa estância de tratamento dessa doença.

Como se pode ver pelas análises anexas a esta nota, a água da Fonte da Vila difere fundamentalmente de qualquer das outras e, portanto, o mecanismo da sua acção não será, provavelmente, o mesmo.

## 3 — DOSEAMENTO DE OUTROS OLIGO-ELEMENTOS

Quanto aos resultados obtidos no I. H. L. referentes à concentração de outros oligo-elementos nas águas citadas, apresentam-se, no Quadro II, alguns valores, incluindo-se ainda a água da Foz da Sertã, onde não houve ainda ensejo de dosear o crómio.

Com excepção do índio, trata-se de «bio-metais» e não deixam de ser impressionantes as concentrações de alguns deles em certas águas. Nestas condições, mencionamos o cobalto e o molibdénio na água das Pedras e o zinco e o cobre na da Foz da Sertã.

(1) A água da Fonte da Vila não tem  $NH_4^+$  nem  $NO_2^-$ , mostra o teor de 13,7 mg/l de  $O_2$  dissolvido e tem sempre revelado pureza bacteriológica nos exames periódicos a que a lei obriga.

(2) Para mais desenvolvida referência bibliográfica ver: W. Mertz, *Proc. Univ. Mo. 1st Annu. Conf. Trace Subst. Environ. Health*, p. 86, (1967).

## Quadro I

 $\mu\text{g/l}$  de Cr

Água potável	Bica	Fonte da Vila	Pedras Salgadas		Salus	Melgaço	
			AC-11	AC-12		P	N
0,1	2,0	52	40	38	40,6	8,8	7,3

## 4 — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

É conhecida, em bioquímica, a acção activante dos elementos metálicos Mn, Fe, Co, Zn e Cu e a presença de certos de entre eles em moléculas proteicas (enzimas, etc.) e outras.

No metabolismo dos hidratos de carbono, o zinco, por exemplo, tem papel relevante (12).

Agora, em face dos trabalhos atrás citados, afirma-se que o crómio também intervém nesse metabolismo.

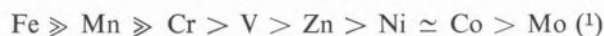
Teòricamente aquela acção parece plausível; com efeito:

V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Ni e Zn são todos metais que podem considerar-se «de transição», seguindo-se sucessivamente no quadro de classificação periódica e tendo números atómicos que vão de 23 (V) a 30 (Zn); possuem configuração electrónica exterior análoga (de  $3d^3 4s^2$  a  $3d^{10} 4s^2$ ). Com excepção dos dois metais extremos (V e Zn), que se afastam um pouco desta proximidade, os seus volumes atómicos e os raios covalentes têm valores muito próximos.

Também todos estes elementos exibem vincadas propriedades catalíticas das reacções de redox e são facilmente complexados por ligandos orgânicos, dando complexos estáveis.

Ora, se V, Mn, Fe, Co, Cu e Zn eram já reconhecidos como de importância biológica, não se via razão de ordem química para que Cr o não fosse. O mesmo se poderá dizer de Ni, se bem que até agora não existam experiências concludentes sobre tal atributo deste elemento.

Quanto à abundância nas rochas eruptivas da crosta terrestre, a posição do crómio também é favorável; por ordem decrescente, dessa abundância, temos:



Note-se finalmente que os raios iónicos de  $\text{V}^{4+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Co}^{3+}$  têm praticamente o mesmo valor (63-64 pm).

O facto de só há relativamente pouco se ter verificado ser o crómio um «bio-metal» e de se encontrar este elemento em águas naturais, pode, em grande parte, atribuir-se à falta dum método suficientemente sensível e específico de dosagem. A existência, agora comprovada, de Cr em águas minerais com acção benéfica reconhecida no tratamento da diabetes e, especialmente considerando

(1) O molibdénio é também considerado um «bio-metal», e ainda o são os elementos não metálicos selénio e iodo.

## Quadro II

Teores em  $\mu\text{g/l}$ 

	Fonte da Vila	AC-11	AC-12	Salus	Foz da Sertã
Mn	3	750	1 125	160	293
Co	—	120	130	—	—
Zn	32	24	20	18	120
Cu	43	0	0	25	266
Mo	—	80	80	—	—
In	—	5	5	—	—

Obs. — O traço indica que o elemento não foi doseado.

o teor do elemento em relação com a mineralização restante na água da Fonte da Vila, seria mais uma confirmação do papel biológico de Cr (III).

Não se pretende afirmar que esta presença seja a única razão da acção benéfica da água, na qual devem ter influência as peculiaridades já referidas, como o valor elevado do cociente K/Na, o alto teor de  $\text{NO}_3^-$ , anião também biologicamente activo que, por exemplo, pode ir substituir o radical CN na molécula da cianocobalamina, o teor relativo de  $\text{Mg}^{2+}$ , também anormalmente alto, e o seu excepcional poder oxidante.

Por sua vez, também outras características das águas de Melgaço, Pedras Salgadas e Salus terão certamente papel a desempenhar em tal acção.

Não pode deixar de impressionar a perfeição e eficácia dos mecanismos de absorção pelo organismo, de substâncias que lhe são fornecidas, através do aparelho digestivo, em grandes diluições e em micro-quantidades.

Tal mecanismo, pelo que diz respeito aos oligo-metais, necessitaria de ser elucidado com investigações sistemáticas, usando isótopos radioactivos, como foi feito, por exemplo, para o crómio (16). Mas, desde já, não existem dúvidas sobre a delicada economia do processo, bastando lembrar que, em

certas regiões em que aparece o bócio endémico, isto é devido à ingestão habitual de águas potáveis pobres de iodeto (por exemplo, com menos de 5  $\mu\text{l}$  de I).

E basta passar a alimentar as populações com outra água tendo  $> 10 \mu\text{g/l}$  desse ião para fazer cessar a endemia.

A este respeito, devemos ainda referir que, pelo menos num dos trabalhos sobre a influência de  $\text{Cr}^{3+}$  no metabolismo dos carbo-hidratos (17), a administração do ião era feita por ingestão de soluções aquosas diluídas (alguns  $\mu\text{g/l}$ ), verificando-se, entre outros factos, que a absorção de  $\text{Cr}^{3+}$  era mais completa quando o pH das soluções se situava muito próximo da neutralidade.

Parece pois legítima a hipótese de que, pelo menos quanto à água de Castelo de Vide (Fonte da Vila), a acção anti-diabética está relacionada com a existência, na água do elemento crómio, que provavelmente nela existe sob a forma de  $\text{Cr}^{3+}$  ou derivada. Admite-se que se trate de complexo facilmente assimilável e/ou que a presença simultânea de outros iões e a reacção, praticamente neutra, desta água contribuam para melhor assimilação daquele elemento metálico. O assunto merece investigação mais desenvolvida.

#### Anexo I

##### 1) ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DAS ÁGUAS CITADAS

	Foz da Sertã	Castelo de Vide Fonte da Vila	Pedras Salgadas		Salus	Melgaço	
			AC-11	AC-12	—	P	N
pH (16-20°)	4,01	7,16	6,07	6,07	6,34	6,23	6,35
Cond. el. 25° ( $\text{S.cm}^{-1}.10^{-5}$ )	27,6	202,5	365	372	393	190	208
Alcalinidade (mval) (1)	— 2,52	6,0	38,0	38,4	49,5	22,7	26,7
Res. seco (180°) mg/l	172	1 215	1 120	2 141	2 659	1 178	1 359
Força iónica $\times 10^3$	4,9	25,9	44,3	43,1	55,8	32,1	37,4
$\text{Cl}^-$ (mval)	0,27	7,92	0,58	0,60	1,42	0,40	0,38
$\text{HCO}_3^-$ (mval)	0	6,00	38,0	38,4	49,5	22,7	22,7
$\text{SO}_4^{2-}$ (mval)	2,1	1,61	0,04	0,05	0,17	0,10	0,08
$\text{NO}_3^-$ (mval)	0	4,3	Vest.	Vest.	Vest.	Vest.	0,01
$\text{Na}^+$ (mval)	0,22	6,50	25,95	29,23	39,9	5,56	6,54
$\text{K}^+$ (mval)	0,06	2,11	1,01	1,27	1,52	0,16	0,18
$[\text{Mg}^{2+}]/[\text{Ca}^{2+}]$	0,47	1,10	0,27	0,21	0,27	0,37	0,35
$\text{Fe}^{2+}$ (mval)	Vest.	Vest.	0,16	0,16	0,20	0,53	0,66
$\text{Al}^{3+}$ (mval)	0,79	0	0	0	0	0	0
$\text{SiO}_2$ (mg/l)	26,6	20,0	88,0	58,5	73,7	68,7	74,7
$\text{CO}_2$ livre (mg/l)	89,5	43,9	2 956	2 828	2 359	2 218	2 329
Potencial redox (V)	+ 0,33	+ 1,9	+ 0,39	+ 0,39	+ 0,29	+ 0,51	+ 0,38

(1) Convencionamos ser: mval  $\equiv$  meq./l.



## 2) CLASSIFICAÇÃO HIDROLÓGICA (INSTITUTO DE HIDROLOGIA DE LISBOA)

— A água da Foz da Sertã é «fracamente mineralizada, sulfatada aluminica» e portanto ácida, acentuadamente redutora ( $rH_2 = 19$ ).

— A água de Castelo de Vide (Fonte da Vila) é «cloretada, nitrada» e fortemente oxidante.

— As águas de Pedras Salgadas e Salus são: «carbonatadas sódicas, gaso-carbónicas».

— As de Melgaço são «carbonatadas mistas, gaso-carbónicas», excepcionalmente ricas de ferro (14-15 mg/l de Fe).

— Todas as águas citadas são frias (13,4 a 17,3°).

## ANEXO II

### DOSEAMENTO DE Cr NAS ÁGUAS

I — Amostras — A colheita faz-se na nascente, para recipientes de polietileno bem lavados previamente.

É de aconselhar a imediata junção à amostra de ácido clorídrico, de modo a conseguir pH um pouco inferior a 2; evita-se assim perda do elemento por precipitação ou adsorção nas paredes da vasilha.

II — Enriquecimento e separação de  $Cr^{3+}$  — Dois caminhos, em alternativa, se mencionam.

1) Co-precipitação com  $Fe^{3+}$ , seguida, sendo necessário, de separação, complexando com acetilcetona e extraindo com metil-isobutil-cetona (MIBK) (13).

2) Enriquecimento, por passagem em resina quelante «Chelex» (análoga à Dowex-A-1), eluindo depois selectivamente com ácido (14).

— Em qualquer das alternativas, partir-se-á de volume conveniente (1 a 10 l, ou mais), podendo conseguir-se concentração de Cr de acordo com a sensibilidade do método de dosagem.

III — Dosagem (13, 15) — A solução em MIBK é levada ao espectrómetro de absorção atómica, com lâmpada de cátodo de cromo e usando a linha 357,9 nm e chama de ar-acetileno. Se não foi separado Fe (e Ni, se o houver), usar então a chama de protóxido de azoto-acetileno.

— É indispensável assegurarmo-nos da pureza dos reagentes empregados e fazer paralelamente ensaios em branco convenientes. As escalas padrão devem ser frequentemente aferidas ou refeitas.

## AGRADECIMENTOS

Queremos exprimir os nossos melhores agradecimentos ao Sr. Professor Fraústo da Silva, actual Director do Instituto de Hidrologia de Lisboa e do Centro de Química da Comissão de Estudos de Energia Nuclear (I. A. C.) no Instituto Superior Técnico (IST) por todas as facilidades concedidas e aos seus colaboradores que nos forneceram vários esclarecimentos e realizaram algumas determinações, sendo de destacar os nomes do Sr. João Duarte de Almeida, Mário Legrand Moura,

Eng.<sup>a</sup> D. Maria Cândida de Abreu Vaz e Eng.<sup>a</sup> D. Maria Helena Mendonça Dias.

Igualmente agradecemos ao Sr. Eng.<sup>o</sup> Carlos Pulido, Adjunto do Presidente da C. E. E. N. o valioso auxílio dispensado.

## BIBLIOGRAFIA

1. Carvalho, A. H., Comunicação à Academia das Ciências de Lisboa, Abril 1970.
2. Carvalho, A. H. e Almeida, J. D., Instituto de Hidrologia de Lisboa, Relatório interno, 1952 e 1953.
3. Lepierre, C., «Le Portugal Hydrologique et Climatique», Vol. 3, Lisboa, 1934-35, p. 584.
4. Schroeder, H. A., *Life Sciences*, **4**, 2057 (1965).  
Schroeder, H. A., *J. Nutr.*, **88**, 409 (1966).
5. Mertz, W., Reginski, E. E. e Schroeder, H. A., *J. Nutr.*, **86**, 107 (1965).
6. Farkas, F. G. e Robertson, S. L., *Exp. Eye Res.*, **4**, 124 (1965).
7. Glinsmann, W. e Mertz, W., *Metab. Clin. Exptl.*, **15**, 510 (1966).  
Glinsmann, W. e Mertz, W., *Proc. Int. Congr. Nutr.*, **7th**, **5**, 714 (1966).
8. Williams, D. R., «Metals of Life», D. van Nostrand Co. Inc., New York, 1971.
9. Carvalho, A. H., Pulido, C. M. e Almeida, A. G., Comunicação à Academia das Ciências de Lisboa, Julho, 1964.
10. Pulido, C. M., Almeida, M. C. M. e Almeida, A. G., *Rev. Port. Química*, **11**, 84 (1969).
11. Silva, J. F., Almeida, J. D. e Moura, M. L., Trabalho a publicar.
12. Chenoweth, M. B., *Pharmacol. Rev.*, **8**, 57 (1956).
13. Chan, Y. K., Sim, S. S. e Wong, Y. H., *Anal. Chim. Acta*, **43**, 13 (1968).
14. Riley, J. P. e Taylor, D., *Anal. Chim. Acta*, **40**, 419 (1968).
15. Pinta, M., «Spectrometrie d'Absorption Atomique», Vol. 2, Masson, Paris, 1971.
16. Doisy, R. J., Streeten, D. H. P., Levine, R. A. e Chods, R. B., *Proc. Univ. Missouri, 2nd Annu. Conf. Trace Subst. Environ. Health*, **75** (1968).
17. Davidson, I. W. F. e Blackwell, W. L., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**, 66 (1968).

## ABSTRACT

Some results of trace metallic ions analysis in Portuguese mineral waters are presented. Quantitative separation by selective solvents or ion exchange resins followed by atomic absorption spectrometry determinations were mainly employed. A relation is established between the presence of Cr and the conclusions arrived at by experimental studies of American authors on the favourable action of micro quantities of  $Cr^{3+}$  upon the glucose metabolism, in men, animals and isolated organs.