AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**Estudo sobre a composição elementar de suplementos dietéticos pelo método de
análise por ativação com nêutrons**

Vitor Ito Souza

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Mitiko Saiki**

**São Paulo
2017**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**Estudo sobre a composição elementar de suplementos dietéticos pelo método de
análise por ativação com nêutrons**

Vitor Ito Souza

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Mitiko Saiki**

Versão Corrigida
Versão Original disponível no IPEN

São Paulo
2017

*Dedico à minha família por todo
encorajamento e estrutura que me
proporcionaram durante toda a trajetória.*

AGRADECIMENTOS

À Dra. Mitiko Saiki, pela exemplar orientação, dedicação e paciência, que me motivou a desenvolver este trabalho mesmo em momentos difíceis.

À Dra. Vera A. Maihara pelas sugestões apresentadas no seminário de área e pelas amostras de suplementos proteicos.

Aos pesquisadores do Centro do Reator de Pesquisas (CRPq) do IPEN Edson, Vera, Paulo, Maria José, Marina, Ana Maria, Deborah e Frederico pelo apoio e incentivo para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas do CRPq/IPEN Edson Alves, Regina, Liliana, Eliane, Amanda e Anna Paula pela amizade, companheirismo e ajuda, que foram essenciais para a condução deste trabalho.

À Bruna Moretti e Andrea Moretti pelo grande incentivo e ajuda que contribuíram muito para a conclusão desta dissertação

À minha família por todo o apoio, estrutura e encorajamento que foram necessários para a realização deste trabalho.

Aos colegas da empresa Alpax Comércio de Produtos para Laboratórios LTDA, que cooperaram muito para que este trabalho fosse concluído com êxito.

Ao CRPq do IPEN pela oportunidade concedida em desenvolver este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

RESUMO

SOUZA, V. I. **Estudo sobre a composição elementar de suplementos dietéticos pelo método de análise por ativação com nêutrons**. 2017. 81 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

O consumo de suplementos dietéticos tem crescido para complementar a deficiência da ingestão de nutrientes essenciais, para melhorar o desempenho das atividades físicas nos atletas, prevenir doenças e para retardar os efeitos do envelhecimento. Além disso, estes produtos são facilmente acessíveis e de custo relativamente barato. Consequentemente, a avaliação da composição elementar dos suplementos dietéticos é de grande interesse para o controle da qualidade destes produtos e também para avaliar riscos à saúde humana com o seu consumo. O objetivo deste trabalho foi a avaliação da composição elementar de suplementos dietéticos multivitamínicos e proteicos, adquiridos na cidade de São Paulo. As concentrações de As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se e Zn foram determinadas nestes suplementos utilizando o procedimento do método de análise por ativação com nêutrons (NAA). O procedimento experimental consistiu em irradiar alíquotas dos suplementos e os padrões sintéticos dos elementos no reator IEA-R1, seguida de espectrometria de raios gama. O controle da qualidade analítica dos resultados foi realizado pela análise de materiais de referência certificados. A comparação entre os resultados obtidos nos suplementos com os valores declarados nos rótulos, indicou que os suplementos multivitamínicos contêm quantidades de elementos concordantes com os valores dos rótulos, ao contrário dos suplementos proteicos, que apresentaram quantidades para alguns elementos que não concordaram com os valores apresentados nos rótulos. Comparando a quantidade de elemento por dose do suplemento dietético com o percentil de valor diário de ingestão recomendado, foi possível verificar que todos os elementos estão abaixo de 100%, exceto para os elementos Cr em dois suplementos e Se em um suplemento. Os resultados da ingestão dos elementos calculada para a porção diária recomendada pelo fabricante, mostrou que para os suplementos analisados, nenhum elemento ultrapassou o limite superior tolerável. Nos suplementos analisados, os elementos tóxicos Cd e Hg não foram detectados e foram calculados os limites de detecção. Os resultados obtidos

neste estudo demonstraram a viabilidade de aplicar NAA na avaliação da composição dos suplementos para diversos elementos.

Palavras-chave: suplementos dietéticos, análise por ativação com nêutrons, multivitaminas, proteicos, elementos químicos

ABSTRACT

SOUZA, V. I. **A study of the elemental composition of dietary supplements by the method of neutron activation analysis.** 2017. 81 p. *Dissertation* (Master degree in Nuclear Technology) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

Dietary supplement consumption has grown to complement deficiency of essential nutrient intake, to improve physical activity performance in athletes, to prevent diseases and to delay the effects of age. These products are readily accessible and relatively cheap. Consequently, the evaluation of the elemental composition of these supplements are of great interest for its quality control and to assess risks to human health. This study evaluated elemental composition of multivitamin and protein dietary supplements, acquired in São Paulo city. Concentrations of As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se and Zn were determined in these dietary supplements, using neutron activation analysis (NAA). The NAA procedure consisted of irradiating aliquots of supplement samples and synthetic element standards at the IEA-R1 nuclear research reactor, followed by gamma ray spectrometry. Analytical quality control of the results was evaluated by analyzing certified reference materials. Comparison between the results obtained in these dietary supplements and the values declared on their labels indicated that the multivitamin supplements contain element amounts according to the label values. On the other hand, protein supplements presented amounts of some elements that disagreed with those values presented on the labels. Comparing the element amount per dose of the dietary supplement with the recommended daily intake percentile, it was possible to verify that all elements are below 100%, except for Cr in two supplements and element Se in one supplement. Element intakes per daily portion calculated according to the supplement intake recommendations, showed element quantities do not exceed the tolerable upper intake levels. In the analyzed supplement samples, toxic elements such as Cd and Hg were not detected, and their detection limits were calculated. To assess the risks of dietary supplement intake, the elemental doses calculated were compared with the daily recommended and the upper

limit intake values. The results obtained in this study demonstrated the feasibility of applying NAA to evaluate composition of dietary supplements for several elements.

Key words: dietary supplements, neutron activation analysis, multivitamins, proteins, chemical elements.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Conceitos e justificativas	15
1.2 Revisão da literatura sobre efeitos e composição elementar dos suplementos dietéticos	19
2 OBJETIVOS.....	22
3 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ELEMENTOS QUÍMICOS DETERMINADOS NOS SUPLEMENTOS DIETÉTICOS.....	23
3.1 Elementos essenciais	23
3.1.1 Cálcio	23
3.1.2 Cobalto.....	24
3.1.3 Cobre	25
3.1.4 Crômio.....	25
3.1.5 Ferro.....	26
3.1.6 Potássio	27
3.1.7 Molibdênio.....	28
3.1.8 Sódio.....	28
3.1.9 Selênio	29
3.1.10 Zinco	30
3.2 Elementos tóxicos.....	31

3.2.1	Arsênio	32
3.2.2	Cádmio	32
3.2.3	Mercúrio	33
4	METODOLOGIA ANALÍTICA DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS	35
5	PARTE EXPERIMENTAL	40
5.1	Materiais	40
5.1.1	Materiais de referência certificados	40
5.1.2	Amostras de suplementos dietéticos	40
5.2	Preparo das amostras dos suplementos para análise	42
5.3	Preparo de padrões sintéticos elementares	42
5.4	Determinação de umidade dos materiais de referência e das amostras de suplemento dietéticos	44
5.5	Procedimento de análise por ativação com nêutrons	45
5.6	Tratamento de dados	488
5.6.1	Cálculo de Z-score	488
5.6.2	Cálculo de limites de detecção e quantificação	488
5.6.3	Avaliação da ingestão de elementos por meio do consumo de suplementos dietéticos	499
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
6.1	Análise dos materiais de referência certificados	51
6.2	Análise dos suplementos dietéticos	54

6.2.1	Verificação da homogeneidade das massas dos comprimidos das amostras de suplementos multivitamínicos.....	544
6.2.2	Determinação das concentrações de elementos nos suplementos multivitamínicos e proteicos	55
6.2.3	Massas dos elementos em cada comprimido ou dose dos suplementos...	588
6.2.4	Ingestão de elementos por meio do consumo de suplementos	622
6.3	Limites de detecção e de quantificação dos elementos nos suplementos	64
7	CONCLUSÕES.....	68
	APÊNDICE A – LIMITE SUPERIOR TOLERÁVEL DE INGESTÃO PARA OS ELEMENTOS DETERMINADOS ESSENCIAIS	7070
	APÊNDICE B – CARACTERÍSTICAS DOS SUPLEMENTOS DIETÉTICOS ANALISADOS.....	722
	REFERÊNCIAS.....	744

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Códigos das soluções padrão com as concentrações dos elementos e massas dos elementos irradiados	43
Tabela 5.2 – Massas dos materiais de referência e porcentagens de perda de umidade.....	45
Tabela 5.3 - Porcentagem de perda de umidade das amostras de suplementos dietéticos	46
Tabela 5.4 – Dados nucleares dos radioisótopos utilizados neste trabalho.....	47
Tabela 6.1 – Concentrações de elementos nos materiais de referência certificados 1633b <i>Coal Fly Ash</i> . Resultados em mg kg^{-1} a menos que esteja indicado	51
Tabela 6.2 – Concentração de elementos nos materiais de referência certificados 1632d <i>Coal/Bituminous</i> . Resultados em mg kg^{-1} a menos que esteja indicado	51
Tabela 6.3 – Médias das massas dos comprimidos de suplementos multivitamínicos na base úmida.....	53
Tabela 6.4 - Concentrações de elementos na base seca dos suplementos multivitamínicos. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$ exceto quando indicado	55
Tabela 6.5 - Concentrações de elementos na base seca dos suplementos proteicos. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$ exceto quando indicado	56

Tabela 6.6 - Massas dos elementos obtidos por comprimido nos suplementos multivitamínicos e os valores dos rótulos	58
Tabela 6.7 - Massas dos elementos por dose nos suplementos proteicos e os valores descritos nos rótulos	59
Tabela 6.8 - Valores de ingestão diária recomendada de nutrientes (IDR) conforme a RDC 360	60
Tabela 6.9 – Ingestão diária de elementos calculada para porção diária de suplemento multivitamínico recomendada pelo fabricante, e valores de limite superior tolerável de ingestão (UL)	62
Tabela 6.10 – Ingestão diária de elementos calculada para quantidade diária de suplemento proteico recomendada pelo fabricante e valores de limite superior tolerável (UL)	61
Tabela 6.11 – Valores de limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) dos elementos na análise de suplementos multivitamínico e proteico	63
Tabela 6.12 – Limite de detecção e de quantificação do Hg em suplementos dietéticos. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$	63
Tabela 6.13 – Valor de ingestão máxima tolerável para os elementos tóxicos levando em consideração o peso médio do brasileiro e idade acima de 19 anos.....	66
Tabela 6.14 – Ingestão dos elementos tóxicos para os suplementos multivitamínico e proteico, e o valor de limite de detecção (LD)	66

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i> (Espectroscopia de Absorção Atômica)
ABIFISA	Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de promoção à Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina Trifosfato
AVC	Acidente vascular cerebral
BG	<i>Background</i> (radiação de fundo)
EUA	Estados Unidos da América
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura)
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
GFAAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy</i> (Espectroscopia de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i> (Agência Internacional de Energia Atômica)
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma Acoplado Indutivamente)
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente)
IDR	Ingestão Diária Recomendada
IOM	<i>Institute of Medicine</i> (Instituto de Medicina)

IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
JECFA	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LT	<i>Live Time</i> (Tempo vivo de contagem)
MRC	Material de Referência Certificado
NAA	<i>Neutron Activation Analysis</i> (Análise por Ativação com Nêutrons)
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
PTMI	<i>Provisional Tolerable Monthly Intake</i> (Ingestão Mensal Tolerável Provisional)
PTWI	<i>Provisional Tolerable Weekly Intake</i> (Ingestão Semanal Tolerável Provisional)
RDA	<i>Recommended Dietary Allowance</i> (Valor de Referência de Ingestão)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SVS/MS	Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde
UL	<i>Tolerable Upper Intake Levels</i> (Limite Superior Tolerável de Ingestão)
VD	Valor Diário Recomendado
VDR	Valor Diário de Referência
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)
XRFS	<i>X-ray Fluorescence Spectroscopy</i> (Espectroscopia de Fluorescência de Raios X)

1 INTRODUÇÃO

1.1 Conceitos e justificativas

Os suplementos dietéticos (também chamados de suplementos nutricionais ou alimentares) são produtos destinados a complementar a dieta de uma pessoa e contém um ou mais dos seguintes componentes como vitaminas, minerais, ervas ou produtos à base de plantas, aminoácidos ou substâncias dietéticas destinados a aumentar do valor nutricional (FDA, 1995).

Esta definição de suplementos dietéticos foi aprovada pelo Congresso Americano dos Estados Unidos em 1994 com o propósito de garantir o acesso dos consumidores a suplementos variados e proporcionar mais informações sobre o uso destes produtos. Entretanto, a origem do uso destes produtos ocorreu na antiguidade desde 400 a.C a 500 a.C baseando no comportamento supersticioso dos soldados e atletas que eram orientados a consumir partes de animais como do leão e veados para adquirir características de bravura, habilidade, velocidade e força inerentes a esses animais (APPLEGATE e GRIVETT, 1997; GOSTON e CORREIA, 2009)

Os suplementos dietéticos surgiram para suprir a quantidade de nutrientes essenciais, quando a alimentação não é satisfatória para o funcionamento adequado do organismo ou para as atividades físicas exercidas. Entretanto, hoje os suplementos dietéticos são comercializados para diversas finalidades. Segundo Ashar e Rowland-Seymour (2008) a popularidade do uso destes produtos cresceu por diversas razões. Os suplementos são facilmente acessíveis, são relativamente baratos, seu uso previne doenças, retarda os efeitos do envelhecimento e melhora a estética corporal com a perda de peso e do desempenho corporal principalmente para os atletas (WILLIAMS, 2002; MAUGHAN e BURKE, 2004). No Brasil, segundo a Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (ABIFISA), 54 % dos brasileiros utilizam de algum tipo de suplemento alimentar, índice este bem próximo ao dos Estados Unidos, onde 68 % das pessoas afirmaram sua utilização (ABIFISA, 2015).

Os suplementos dietéticos são pesquisados e utilizados não só apenas para suprir a deficiência nutricional, mas também para prevenção de doenças, na atuação na performance dos atletas e para controle de peso. Por exemplo o suplemento de Ca é consumido para prevenção de osteoporose (WEAVER, 2000), o de Zn na hipozincemia ou deficiência marginal deste elemento (PERES e KOURY 2006), suplemento de proteína para síntese de proteína muscular (DEVRIES e PHILIPS, 2014), multivitamina ou mineral no estudo de doença cardiovascular (BAILEY et al, 2016), vitaminas antioxidantes na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares, doenças oculares relacionadas à idade e no envelhecimento (BERGER, 2005), entre outros.

Entretanto, segundo Yetley (2007), para os suplementos multivitamínicos ou minerais, estes produtos não têm uma definição científica, regulatória ou do mercado, uma vez que eles podem referir a produtos com composições ou características distintas.

No Brasil, os suplementos dietéticos são regulados pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS/MS) e são fiscalizados pela ANVISA. Para os suplementos multivitamínicos, tem-se o regulamento estabelecido pela Portaria Nº 32 de 1998 (BRASIL, 1998) e tem como objetivo normalizar o uso de suplementos vitamínicos e minerais no país, controlar efetivamente sua produção e/ou comercialização, aperfeiçoar constantemente as ações de controle sanitário da área de alimentos visando a proteção à saúde da população e fixar a identidade e as características mínimas de qualidade que os suplementos vitamínicos e/ou minerais devem obedecer. Para os suplementos proteicos, existe a Resolução RDC Nº 18/2010 (ANVISA, 2010) que se trata de um regulamento técnico vigente para alimentos de atletas objetivando estabelecer a classificação, a designação, os requisitos de composição e de rotulagem dos alimentos para atletas.

Para fins de Regulamento da Portaria Nº. 32 aprovado em 1998 pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS/MS), os suplementos vitamínicos e ou de minerais ou doravante denominados simplesmente de "suplementos", são definidos como alimentos que servem para contemplar com estes nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos onde sua ingestão a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação. Devem conter um mínimo de 25%, e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção diária indicada pelo fabricante, não

podendo substituir os alimentos, nem serem considerados como dieta exclusiva (BRASIL, 1998).

No caso do suplemento proteico, utilizado principalmente pelos atletas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define o como: “Produto destinado a complementar as necessidades proteicas”, em situações nas quais o acesso a alimentos que compõem a alimentação habitual seja restrito (ANVISA, 2010).

Verifica-se também que a propaganda e incentivo ao uso destes produtos exercem forte influência, fazendo a população acreditar que há necessidade de complementar a dieta, no seu dia a dia, com suplementos nutricionais (CORRIGAN e KAZLAUSKAS, 2003). Desta maneira, o mercado de suplementos apresenta demanda crescente de consumidores os quais preocupados com a saúde e bem-estar estão muitas vezes alheios quanto a qualidade do produto, bem como dos seus potenciais riscos relacionados ao consumo. Alguns estudos têm demonstrado que alguns suplementos dietéticos beneficiam a saúde em geral e ajudam a controlar certos transtornos tal como o cálcio e a vitamina D, que são importantes para reduzir a perda óssea (BRINGEL et al, 2014).

Apesar do crescente uso de suplementos em todo o mundo e de seus efeitos positivos terem sido comprovados, diversas publicações destacam também os efeitos negativos destes produtos. Entre as razões dos efeitos danosos dos suplementos dietéticos estão:

- Qualidade do produto não adequada. Os suplementos podem apresentar composição diferente da ideal ou daquela declarada nos seus rótulos, bem como conter substâncias não aprovadas ou elementos tóxicos na sua composição (AVULA et al, 2011);

- Falta da comprovação da eficácia e segurança dos suplementos dietéticos. Ashar et al (2008) apresentaram uma lista do potencial uso, eficácia, e também dos efeitos colaterais e interações com os fármacos;

- Adulteração do produto (ASHAR et al, 2008).

Em relação aos suplementos dietéticos multivitamínicos, hoje há numerosos estudos sobre a composição elementar para avaliar sua segurança para o consumo público (WAHEED et al, 2013; KREJCOVA et al, 2006; HIGHT et al, 1993).

Face ao exposto, julgou-se de grande importância avaliar neste trabalho a composição dos suplementos dietéticos comumente comercializados no Brasil. Com o desenvolvimento do presente trabalho, os resultados a serem obtidos poderão trazer

inúmeras contribuições, a saber, do desenvolvimento da metodologia analítica confiável para análise dos suplementos e avaliar os teores dos elementos presentes.

Convém ainda salientar que os suplementos dietéticos, principalmente as multivitaminas e os proteicos estão entre os suplementos de maior interesse para a análise da composição elementar devido o crescente consumo pela população e para uma contribuição na fiscalização destes produtos.

Face ao exposto e na fase atual em que os órgãos governamentais do Ministério da Saúde e da ANVISA estão investindo maiores esforços no sentido de controlar e fiscalizar estes suplementos dietéticos, julgou-se de grande interesse o desenvolvimento de uma metodologia confiável para estes produtos, uma vez que estes podem conter elementos tóxicos, elementos essenciais em excesso ou por não apresentarem a composição indicada nos rótulos. Além disso, estas análises são de grande interesse não só para a população e a classe médica, mas também para as indústrias no controle da qualidade da produção.

Várias técnicas analíticas são utilizadas na análise da composição elementar dos suplementos dietéticos, tais como a espectrometria de absorção atômica (AAS) (GARCÍA-RICO et al, 2007; WAHEED et al, 2013, ABARCA et al, 2001), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) (KRAWCZYK, 2014) espectrometria de emissão ótica acoplada com fonte de plasma acoplada indutivamente (ICP-OES) (KREJCOVA et al, 2006, 2012; MARRERO et al, 2012), espectrometria de massa com fonte de plasma acoplada indutivamente (ICP-MS) (KREJCOVA et al, 2012), espectrometria de massa com fonte de plasma acoplada indutivamente com célula reação/colisão (AVULA et al, 2011) análise por ativação com nêutrons (NAA) (VEATCH et al, 2005; REIS e SAIKI, 2009; WAHEED et al, 2013; PAUL, 2013; SALLES et al, 2017), espectrometria de fluorescência de raios X (XRFS) (ZUCCHI et al, 2002).

Dentre estas metodologias analíticas disponíveis, foi utilizado neste estudo o método de análise por ativação com nêutrons (NAA) devido às suas características bastante favoráveis para análise deste tipo de matriz de suplementos. Esta metodologia permite uma análise multielementar utilizando pequena quantidade de amostra, obtenção de resultados com boa precisão e exatidão, além da possibilidade de determinar elementos em uma ampla faixa de concentrações e a possibilidade de uma análise puramente instrumental sem a necessidade da digestão

da amostra, procedimento este não trivial quando o número de amostras é muito grande.

1.2 Revisão da literatura sobre efeitos e composição elementar dos suplementos dietéticos

Os posicionamentos dos pesquisadores sobre a utilização ou não de suplementos dietéticos são ainda bastante divergentes. Segundo Wildish (2004), apesar da grande maioria das pesquisas realizadas recomendarem o uso de suplementos dietéticos para obter os benefícios da ingestão controlada de nutrientes no tratamento e prevenção de doenças crônicas, há ainda muitos pontos que devem ser melhor investigados para avaliar os efeitos da complementação nutricional na forma de suplemento dietético.

As vantagens e desvantagens do uso destes suplementos têm sido estudadas por alguns pesquisadores (DUBICK e RUCKER, 1983; DUBICK, 1983; MURPHY et al, 2007) e também as concentrações de vários elementos nos suplementos principalmente naqueles contendo componentes dietéticos mistos (HIGHT et al, 1993).

Dwyer et al (2005) que abordaram o uso de suplementos na redução de peso salientam que não foi obtida uma evidencia sobre a eficácia dos suplementos em estimular perda de peso. Dossa et al (2002) estudaram sobre os efeitos da suplementação de multivitaminas e multiminerais em crianças com problemas de crescimento, porém não verificaram nenhum efeito que beneficiasse o crescimento.

El-Kadiki e Sutton (2005) em uma revisão sobre o papel das multivitaminas e suplementos minerais na prevenção de infecções, concluíram que a evidência de que o uso rotineiro destes produtos possa reduzir infecções é fraca e conflitante devido à heterogeneidade entre estudos e a variabilidade existente nas definições dos resultados usados para reportar as infecções.

Berger (2005) avaliando as estratégias para sucesso na suplementação informa que as vitaminas antioxidantes e elementos traço são importantes na prevenção de câncer, doenças cardiovasculares, doenças relacionadas a visão e no envelhecimento. Por outro lado, Lawson et al (2007) investigando sobre a aplicação de multivitaminas para evitar o desenvolvimento de câncer de próstata concluíram que

o seu uso não está associado com a diminuição de risco de câncer de próstata precoce.

Chandra (2001) que estudou o efeito da suplementação de vitaminas e elementos traço na função cognitiva em idosos, salienta sobre a melhora nas funções cognitivas e recomenda o seu uso para a melhora na qualidade de vida e a habilidade de executar as atividades diárias, retardando o início do desenvolvimento da doença de Alzheimer.

Kim et al (2001), comparando os resultados do estudo sobre a ingestão combinada de nutrientes da dieta e dos suplementos minerais com os valores de Ingestão Dietética Recomendada (IDR) e os Limites Superiores Toleráveis de Ingestão (UL) em uma população de adolescentes da Coréia, verificaram que muitas vezes a ingestão pode exceder os valores de UL recomendados, o que pode ocasionar efeitos negativos do seu uso.

Com relação aos trabalhos sobre a composição elementar em suplementos tem se o trabalho de Dolan et al (2003) que determinaram elementos tóxicos como As, Cd, Hg e Pb em 95 amostras pelo método de espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e concluíram que algumas amostras contêm teores de elementos tóxicos que excedem os níveis toleráveis de exposição, sugerindo a necessidade do controle destes produtos para minimizar a exposição a estes elementos.

Krejcová et al (2006) que determinaram macro elementos e elementos traço (Ca, Mg, P, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Ni e V) em preparações multivitamínicas pela técnica de ICP-OES verificaram que as concentrações encontradas foram comparáveis às quantidades declaradas pelo produtor. Em um outro trabalho, Krejcová et al (2012) usaram as técnicas de ICP-OES e ICP-MS na análise de preparações multivitamínicas e verificaram que diversos elementos estão presentes em quantidades superiores quando comparadas com os valores da ingestão diária.

Veatch et al (2005) determinaram pelo método de NAA selênio em 15 suplementos de 12 marcas diferentes e verificaram que as quantidades deste elemento indicada nos rótulos dos produtos são geralmente menores que as determinadas.

A revisão bibliográfica realizada mostrou que as pesquisas sobre os efeitos e a composição elementar dos suplementos dietéticos continuam sendo

assunto de grande interesse devido aos seus riscos com o consumo e ao aparecimento de novos produtos no mercado com uma nova composição.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi determinar elementos químicos em suplementos dietéticos para avaliar os seus riscos à saúde humana com a ingestão destes produtos.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Estabelecer o procedimento de análise por ativação com nêutrons para análise de suplementos dietéticos;
- Avaliar a qualidade dos resultados com relação à precisão e exatidão por meio das análises de materiais de referência certificados;
- Determinar limites de detecção e de quantificação dos elementos em suplementos dietéticos;
- Comparar as quantidades de elementos determinadas nos suplementos com os valores apresentados nos seus rótulos;
- Comparar as quantidades de elementos determinadas para um comprimido ou uma dose de suplemento com os valores de percentil de Valor Diário Recomendado (% VD)
- Comparar as quantidades de elementos determinadas para as doses recomendadas do suplemento com os valores de Limite Superior Tolerável (UL).

Com o desenvolvimento deste trabalho, espera-se identificar os suplementos dietéticos que apresentam doses de elementos diferentes daquelas indicadas nos seus rótulos, ou fora dos limites toleráveis assim como aqueles que contém elementos considerados tóxicos à saúde humana.

3 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ELEMENTOS QUÍMICOS DETERMINADOS NOS SUPLEMENTOS DIETÉTICOS

O corpo humano é formado por diversos elementos químicos que compõem a vida. Muitos destes elementos químicos são essenciais para o funcionamento correto do organismo e desempenham diferentes funções no corpo. Entretanto, há outros que são considerados tóxicos ao ser humano. Consequentemente, torna-se importante avaliar os efeitos da ingestão dos elementos para seu correto funcionamento do organismo. Além disso, os elementos essenciais podem ser prejudiciais à saúde humana quando ingeridos em quantidades excessivas.

Desta forma, julgou-se importante abordar neste Capítulo sobre os elementos determinados nos suplementos dietéticos, descrevendo as suas funções ou toxicidade para o organismo humano. Os valores de limite superior tolerável (UL) dos elementos determinados neste estudo estão na Tabela A-1 do Apêndice A (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006).

3.1 Elementos essenciais

3.1.1 Cálcio

O Ca é um elemento químico essencial para o funcionamento do organismo dos seres humanos, e é o quinto elemento mais abundante do corpo humano atingindo 1,9 % da massa corpórea, ficando atrás somente do oxigênio, carbono, hidrogênio e nitrogênio. O Ca é um elemento muito importante para prover rigidez ao esqueleto dos vertebrados que se encontram basicamente na forma de fosfatos. Este elemento também apresenta uma importante função na estrutura das células para sua rigidez da membrana, viscosidade e permeabilidade (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

A deficiência de Ca em nosso organismo pode ocorrer devido à falha na absorção no organismo por diversos fatores, sendo um deles a falta de vitamina D,

como agente transportador deste elemento. A hipocalcemia, caracterizada pelo baixo teor de Ca no soro sanguíneo, pode ser detectada por meio de alguns sinais como baixa qualidade dos ossos e dentes e malformação de ossos.

De todo o Ca ingerido por meio da alimentação, somente 25-50 % são absorvidos. A maior parte do Ca presente em alimentos está na forma de complexos que precisam ser quebrados para liberar o mineral em sua forma solúvel e ionizada. O Ca provido de suplementação, na maioria das vezes vem em forma de carbonato de cálcio ou fosfato de cálcio que é mais biodisponível (COZZOLINO, 2016).

Por outro lado, a ingestão de Ca em excesso, pode causar hipercalcemia, onde a sua concentração no soro sanguíneo fica acima de 10,5 mg/dL. A hipercalcemia pode ocasionar letargia, confusão, dores de cabeça, calcificação do tecido e até coma. Esta condição é conhecida também pelo nome de síndrome do leite-alcalóide. Esta síndrome geralmente ocorre com uma ingestão de carbonato de cálcio de 4000 mg/dia ou mais, sendo os pacientes mais suscetíveis são aqueles com falha renal e fazem uso de suplemento de cálcio.

3.1.2 Cobalto

O Co é um elemento essencial para o organismo humano, e este elemento faz parte da molécula da vitamina B12, que apresenta um importante papel no metabolismo de ácidos graxos e folatos. Apesar de ser um elemento essencial, não é comum a ocorrência da deficiência de Co em humanos e por isso não há muitos dados sobre os efeitos da deficiência de Co no corpo humano (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

As principais fontes de Co em alimentos são peixes, castanhas, vegetais e cereais. Não é comum a utilização de Co na composição de suplementos dietéticos.

Casos de cardiomiopatia, ou seja, condição em que o músculo cardíaco torna-se ampliado e inflamado, eram bastante comuns na década de 60 pelos consumidores exagerados de cerveja por causa do uso de cloreto de cobalto como agente estabilizante de espuma, presente em concentrações de 1 – 1,5 ppm. Há casos reportados também sobre a intoxicação por cobalto por ingestão, como em casos de tratamento de anemias. Nestes casos pode-se chegar a ingerir até 30 mg de sais de cobalto por dia, que pode causar doenças como problemas gastrointestinais, erupções

cutâneas, entre outros. Os efeitos crônicos da intoxicação por Co podem ser de problemas cardíacos, da tireoide e também nos rins (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

3.1.3 Cobre

O Cu é um micronutriente essencial para o organismo humano, encontrado geralmente na natureza na forma de óxido de cobre e também como cloreto de cobre. As principais fontes naturais de Cu são os cereais integrais, nozes, fígado e mexilhões. Altas concentrações deste elemento também podem ser encontradas na água onde o encanamento é de cobre.

O Cu está envolvido em algumas funções enzimáticas, tais como no fortalecimento dos ossos, maturação dos glóbulos brancos e vermelhos, transporte de ferro e no metabolismo de colesterol e glicose.

A deficiência de Cu pode ser a causa de doenças genéticas como a síndrome de Menke. Os principais sintomas clínicos desta doença são anemia, neutropenia, que é caracterizado por baixa contagem de glóbulos brancos e anomalias ósseas (KALER, 2016).

É rara a ocorrência de intoxicação por cobre, pois o gosto ruim dos sais de cobre previne que esta ingestão ocorra por acidente, porém pode ocorrer por contaminação em alimentos e bebidas. Os sinais de intoxicação por cobre são: salivação, náusea, vômito e diarreia (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003). Uma outra doença decorrente ao acúmulo de Cu é a doença de Wilson, caracterizada por sintomas hepáticos e neuropsiquiátricos.

3.1.4 Crômio

O Cr é um elemento essencial para o organismo humano, sendo a forma trivalente a mais importante. Este elemento é mais comumente encontrado em carnes processadas, produtos derivados de grãos, legumes e especiarias. O Cr tem se mostrado importante para potencializar a ação da insulina, influenciando assim no

metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

Em humanos a deficiência de Cr não é muito comum, porém em alguns pacientes em que foi observada a deficiência deste micronutriente os sintomas observados foram: diminuição da tolerância e utilização da glicose, aumento de gordura no sangue e anormalidades no metabolismo de nitrogênio.

O Cr pode afetar na interação do elemento Fe ao se ligar com a transferrina, bem como prejudicar no metabolismo e armazenagem de Fe no organismo humano (LIM et al, 1983).

A exposição oral excessiva a crômio pode causar hemorragia gastrointestinal, danos severos nos rins e fígado seguido de morte quando a ingestão ultrapassa 7,5 mg/kg como dicromato hexavalente e 4,1 mg/kg como ácido crômico hexavalente. Para a ingestão excessiva de sulfato de Cr trivalente (800 mg/kg), os sintomas apresentados são a necrose da mucosa do intestino, hemorragia e choque renal e cardíaco seguido de morte. Pacientes que ingerem quantidade sub letal, porém alta, podem apresentar efeitos hematológicos (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

Na suplementação, os estudos realizados com o Cr trivalente (geralmente na forma de picolinato) com doses até 1 mg/dia por períodos até 64 semanas, não foram observados efeitos adversos (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

3.1.5 Ferro

O Fe na forma bivalente é um elemento essencial para o organismo vivo e apresenta diversas funções no corpo humano. Uma das principais funções deste elemento é servir de transportador de oxigênio dos pulmões para os tecidos através da hemoglobina. Outras funções podem ser também como intermediador de transporte de elétrons dentro das células e também como parte integrante de importantes sistemas enzimáticos em alguns tecidos (WHO, 2001).

O Fe pode ser encontrado principalmente em duas formas nos alimentos: forma orgânica, proveniente principalmente de derivados de carne e que são mais

biodisponíveis, e na forma inorgânica, encontrado principalmente em suplementos dietéticos, cereais enriquecidos, feijão, entre outros.

A falta de Fe no corpo humano pode causar deficiência deste elemento e até anemia ferropriva, que é a diminuição de produção de células sanguíneas devido à falta de Fe no organismo. Os sintomas da anemia ferropriva são principalmente fadiga, letargia, tontura, queda de cabelo, falta de ar e irritabilidade. A anemia ferropriva pode ser tratada por meio de suplementos dietéticos.

Por outro lado, a hemocromatose, ou excesso de ferro, pode causar aumento do tamanho do fígado, desenvolvimento de diabetes, hipogonadismo, inflamação das articulações e doença cardíaca potencialmente fatal (COZZOLINO, 2016). Normalmente a hemocromatose ocorre devido ao consumo excessivo de Fe, principalmente se associado com o consumo de bebidas alcoólicas.

3.1.6 Potássio

O K é um elemento muito importante que regula a pressão osmótica das células, assim como o Na e o Cl. Praticamente todo o K do corpo humano é intracelular. Além disso, o K é muito importante no mecanismo de liberação de insulina no pâncreas, para fosforilar creatina, para o metabolismo de carboidratos e também para a síntese proteica (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

As principais fontes de K estão em alimentos não processados, como frutas, carne animal e vegetais, pois o processamento leva a perda deste nutriente.

Os baixos níveis de K no organismo pode causar hipocalemia, que é caracterizada pela baixa concentração deste nutriente no organismo, ocasionada principalmente do efeito secundário de diarreia, vômitos, uso de drogas diuréticas ou suor prolongado e intenso. Raramente este distúrbio ocorre pela falta de ingestão de K e sim pela perda deste elemento. A hipocalemia pode causar arritmia cardíaca, paralisia dos músculos, fraqueza ou irritabilidade muscular, náusea, vômito, diarreia e também pré-disposição à hipertensão (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

A hipercalemia ocorre quando há ingestão excessiva de K, podendo causar insuficiência cardíaca, cianose, que causa pigmentação azulada na pele e parada cardíaca.

3.1.7 Molibdênio

O Mo é um elemento essencial encontrado em quase todos os tecidos do corpo em baixas concentrações, principalmente como molibdoenzimas tais como o sulfito oxidase, xantina oxidase e aldeído oxidase. Estas enzimas apresentam um importante papel no catabolismo de aminoácidos sulfurados e compostos heterocíclicos (COZZOLINO, 2016).

Não é comum observar deficiência de Mo em humanos, porém em alguns distúrbios metabólicos raros, tem se observado alguns sintomas clínicos devido a falta deste elemento como problemas neurológicos, metabólitos urinários anormais, deslocamento do globo ocular e problemas de crescimento. Para crianças entre 2 e 3 anos de idade que apresentam este tipo de distúrbio pode ser fatal.

O excesso de ingestão de Mo pode produzir sinais de toxicidade que incluem diarreia, anemia e altos níveis de ácido úrico no sangue.

3.1.8 Sódio

O Na é o cátion mais abundante presente no líquido extracelular do corpo humano e este elemento como o K, exerce um importante papel na regulação da pressão osmótica. Além disso, o Na é importante na transmissão dos impulsos nervosos dos músculos.

O Na é ingerido principalmente por meio do sal de cozinha (NaCl), bem como em diversos tipos de alimentos de origem animal e vegetal. Entretanto a principal fonte de Na é de produtos industrializados como tablete de caldo de carne, macarrão instantâneo, biscoitos, extrato de tomate, mistura para bolo, entre outros (NEPA, 2006).

A ocorrência da deficiência de Na em humanos é raro, uma vez que este elemento está presente em muitos dos alimentos que são ingeridos diariamente. Porém, a baixa ingestão de Na pode gerar baixa pressão sanguínea, desidratação e câimbras musculares (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

A ingestão excessiva e prolongada de Na está diretamente relacionada ao aumento de pressão sanguínea. A hipertensão é bastante prejudicial à saúde, podendo causar graves doenças crônicas como o acidente vascular cerebral (AVC),

doenças coronárias, doenças renais e hipertrofia do ventrículo esquerdo (COZZOLINO, 2016). Apesar de a intoxicação por ingestão aguda de Na ser rara, pode ocorrer com a ingestão de 500 – 1000 mg de NaCl/kg de peso corporal. Dentre os sintomas ocasionados pelo Na estão vômitos, ulceração do trato gastrointestinal, dano nos rins, fraqueza muscular, desidratação, acidose metabólica e danos graves nos centros periféricos central e neural (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

3.1.9 Selênio

O conhecimento sobre a importância do Se no organismo humano cresceu muito nos últimos 20 anos. O Se é considerado elemento protetor contra o stress oxidativo em tecidos do corpo e atua na manutenção das defesas do corpo contra infecções e modulação do crescimento e desenvolvimento, por meio das selenoproteínas, que atualmente já se conhecem mais de 30 (WHO, 2001). Isto é, o Se desempenha diversas funções importantes no organismo humano, principalmente a função antioxidante por meio das enzimas como a glutathione peroxidase, que é amplamente correlacionada à prevenção de alguns tipos de câncer e a doença de Alzheimer.

O Se é encontrado nos alimentos de diversas formas químicas, como selenometionina, selenocisteína, metil-selenocisteína, selenato e nos suplementos normalmente este elemento é encontrado como selenito de sódio, diferindo bastante na biodisponibilidade dependendo da forma química encontrada. As principais fontes de Se são: Castanha-do-brasil, cogumelos, alfafa, frutos do mar, cereais, fígado, rins, leveduras e espécies crucíferas (WHANGER, 2002).

Segundo Reilly (1996) o Se apresenta uma faixa relativamente pequena entre a quantidade necessária para ingestão, sua deficiência e o excesso. A ingestão acima de 850 µg/dia deste elemento pode levar à toxicidade, no entanto abaixo de 11 µg/dia pode levar à deficiência deste nutriente.

Os principais indícios de falta de Se, muitas vezes são ignorados devido aos sintomas serem inespecíficos, como fraqueza muscular, cansaço, dores nas articulações dificuldade de concentração e a ocorrência de unhas e cabelos frágeis. A deficiência de Se normalmente é associada à doença de Keshan, que se trata de

uma cardiomiopatia endêmica. A correlação dos sintomas e a falta de Se no organismo foi descoberta em 1979, em Keshan, zona rural da China. Os sinais desta doença são: degeneração dos músculos, como necrose e fibrose do miocárdio, cardiomegalia, isquemia do miocárdio, edema pulmonar e eletrocardiograma irregular. Estes sintomas podem ocasionar arritmia cardíaca, pulso rápido, fraqueza muscular e mialgia generalizada.

Além da doença de Keshan, a falta de ingestão de Se também pode ser associada à doença de Kashin-Beck, que é uma osteoartropatia endêmica que afeta principalmente crianças entre 5 e 13 anos, ocasionando principalmente degeneração e necrose do tecido ósseo.

A intoxicação por Se pode ocorrer de duas formas, sendo elas aguda ou crônica (selenose). A intoxicação aguda ocorre normalmente pela ingestão acidental ou para tentativa de suicídio com doses de Se acima de 22 mg/kg de peso corporal. Já a selenose ocorre quando o indivíduo adulto ingere mais que 850 µg/dia. Os sintomas podem ser perda de cabelos e unhas, lesões na pele, manchas nos dentes e também os indivíduos com selenose podem exalar pelos poros odor de alho, devido à eliminação excessiva de selenito de metila.

3.1.10 Zinco

O Zn é um mineral essencial considerado um dos mais importantes para o organismo humano e ele desempenha função biológica com mais de 300 metaloenzimas. O Zn apresenta três funções principais no organismo. Na função catalítica, o Zn é necessário para a catálise de enzimas e controle de diversos processos do organismo; função estrutural, principalmente para atuar na estrutura de proteínas envolvidas na replicação de DNA; papel regulatório, para atuar como íon ativador ou inibidor de determinadas enzimas. O Zn é encontrado principalmente nas sementes e farelo de grãos e também na carne vermelha (COZZOLINO, 2016).

A deficiência de Zn pode ser causada principalmente pela ingestão insuficiente. Porém também pode ocorrer devido à sua baixa absorção do organismo e a perdas aumentadas. Os sinais de deficiência de Zn podem ser a anorexia, alopecia, diarreia, intolerância à glicose, perda de apetite, diminuição do olfato e

paladar, anemia, demora na cicatrização, entre outros (EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS, 2003).

A ingestão aguda de sais de Zn pode ocasionar dores abdominais, náusea, vômito, letargia, anemia e tontura, porém a ingestão em altas doses prolongadas, pode ocasionar problemas crônicos como deficiência em Cu.

Conforme mostrado nas considerações apresentadas sobre os elementos essenciais determinados, verifica-se que todos estes nutrientes são extremamente importantes para o organismo humano, entretanto dentro dos limites de ingestão diária recomendada. Quando ultrapassar os limites de ingestão superior tolerável, estes elementos podem tornar-se prejudiciais ao organismo. Portanto isto indica a importância da quantificação dos elementos presentes nos suplementos dietéticos para avaliar a qualidade destes produtos.

3.2 Elementos tóxicos

Como abordado no item anterior 3.1, vários elementos desempenham funções fundamentais no organismo humano para garantir o seu correto funcionamento. No entanto, quando estes elementos essenciais são ingeridos em excesso, tornam-se tóxicos. Já os elementos considerados tóxicos são aqueles que mesmo quando ingeridos em baixas quantidades causam danos à saúde, como é o caso do As, Cd, Hg e Pb. Para estes elementos tóxicos até então não foi encontrada uma função biológica ao organismo e eles podem afetar substancialmente o metabolismo de outros nutrientes essenciais como o Cu, Fe, Mn, Se e Zn (COZZOLINO, 2016).

Em 2013, a ANVISA pela resolução RDC Nº 42, aprovou os limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, que incluem os elementos As, Cd, Hg, Pb e Sn (ANVISA, 2013). A seguir serão abordados os elementos tóxicos As, Cd e Hg.

3.2.1 Arsênio

O As é um dos elementos mais tóxicos para o ser humano, responsável após exposição pela inativação de até 200 enzimas, das quais algumas destas são envolvidas na síntese de adenosina trifosfato (ATP) e replicação de DNA.

A exposição ao As pode ser aguda ou crônica. A exposição aguda pode ocorrer devido à ingestão acidental de defensivos agrícolas ou por tentativa de suicídio. A ingestão de pequenas quantidades de As (< 5 mg) pode gerar sintomas como vômitos e diarreia, porém a ingestão acima de 0,6 mg de As inorgânico/kg de massa corporal é considerada uma dose letal (RATNAIKE, 2003).

A exposição crônica de As pode gerar diversos tipos de complicações, sendo incerto qual manifestará em cada indivíduo. Algumas destas complicações podem ser na pele, como queratose e hiperpigmentação; no sistema gastrointestinal com diarreias crônicas e vômitos; no sistema cardiovascular, aumentando significativamente o risco de problemas cardiovasculares como hipertensão; no sistema neurológico podendo ocorrer principalmente infarto cerebral (AVC); no sistema urinário, podendo causar câncer na uretra ou na próstata; no sistema respiratório, com o surgimento de bronquite.

Além de causar todos estes distúrbios, a exposição crônica ao As apresenta uma grande relação entre o surgimento de diversos tipos de câncer, como câncer de pele, de pulmão, de fígado, rins e bexiga.

A Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) estabeleceu em sua 72ª reunião o limite de ingestão máxima de As de 2 a 7 µg/kg de peso corporal por dia (FAO/WHO, 2010).

3.2.2 Cádmio

O Cd também é um elemento considerado altamente tóxico para o organismo humano e até então não foi encontrada uma função biológica deste elemento no organismo humano.

O Cd é comumente utilizado nas indústrias como um agente anti-corrosivo, componente de pigmentos, na fabricação de baterias, fertilizantes, entre outros.

Quando em contato com o sangue, grande parte desse Cd se liga a proteínas como albumina e metaloproteínas (GODT et al, 2006).

Em 2010 foi revisado o valor de ingestão máximo tolerável de Cd, levando em consideração sua meia-vida biológica longa. Assim, pequenas quantidades ingeridas semanalmente ou mensalmente poderiam ser consideradas negligenciáveis. Desta maneira a JECFA elevou o valor da ingestão máxima tolerável de 7 µg de Cd/kg de peso corporal semanalmente para 25 µg de Cd/kg de peso corporal mensalmente (COZZOLINO, 2016).

A resolução RDC Nº 42 (ANVISA, 2013), apresenta os limites permitidos de Cd em alimentos e destaca sobre alguns alimentos que naturalmente são acumuladores de Cd tais como cogumelos, com limite de 0,05 mg/kg, peixes (com exceção de algumas espécies), com limite de 0,05 mg/kg, para moluscos de 2,0 mg/kg e crustáceos de 0,50 mg/kg.

Uma das principais fontes de exposição crônica ao Cd é por meio do cigarro, com a inalação da fumaça, podendo provocar bronquite crônica, enfisema e disfunções renais. A exposição crônica de Cd também pode atrapalhar o metabolismo do Ca, causando doenças como osteoporose (COZZOLINO, 2016).

3.2.3 Mercúrio

O Hg é um elemento conhecido como tóxico. Na história existiram alguns desastres envolvendo a exposição de Hg para a população, sendo o desastre de Minamata, Japão, um dos mais conhecidos, onde mais de 700 pessoas morreram e milhares foram intoxicados devido à exposição ao Hg decorrente dos dejetos contendo Hg lançados na baía de Minamata em 1930.

O Hg pode ser encontrado na forma inorgânica como Hg metálico, como sais de mercúrio, na forma monovalente e bivalente e também na forma orgânica como o metilmercúrio. Os compostos de Hg na forma inorgânica são relativamente pouco absorvidos pelo organismo sendo excretados principalmente pelas fezes. Já o Hg orgânico se liga facilmente com algumas proteínas do organismo, sendo assim, considerada a forma mais tóxica. O Hg encontrado em alimentos de origem marinha é predominantemente metilmercúrio, porém, há estudos que indicam que o Se

presente neste tipo de alimento pode exercer função de protetor sobre a toxicidade do Hg (WHO, 1998).

Os principais sinais de intoxicação por Hg, principalmente pelo metil-mercúrio, são a perda de coordenação muscular e complicações na visão e audição (BERNHOF, 2012).

A (JECFA) estabeleceu em sua 72ª reunião o limite de ingestão máxima de Hg inorgânico semanal para 4 µg/kg de massa corporal, onde não engloba peixes e mariscos. Para estas fontes alimentares a JECFA estipulou o limite máximo de ingestão de metil-mercúrio semanal de 1,6 µg/kg de massa corporal (FAO/WHO, 2010).

4 METODOLOGIA ANALÍTICA DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Neste Capítulo será descrita a metodologia de análise por ativação com nêutrons (NAA) aplicada neste trabalho para análise da composição elementar de suplementos dietéticos

Este método de NAA se baseia na medição da radioatividade induzida aos elementos da amostra pela sua irradiação com fluxo de nêutrons de um reator nuclear. Neste processo de irradiação, os isótopos estáveis são transformados em isótopos radioativos ou radionuclídeos artificiais.

A sequência de eventos que ocorre na irradiação, ou seja, no processo de interação para formação de um nuclídeo radioativo pode ser vista pelo esquema da reação nuclear apresentado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Esquema da captura radioativa.

Fonte: SPYROU, 1999

Na irradiação, quando um nêutron interage com um núcleo alvo por meio de uma colisão não-elástica, forma-se um núcleo composto num estado excitado. A

energia de excitação do núcleo composto é devida à energia de ligação do nêutron com o núcleo e a energia cinética do nêutron. O núcleo composto, quase que instantaneamente, ocorre des-excitação para uma configuração mais estável, por meio da emissão de raios gama "pronto" característicos. O tempo de vida do núcleo composto é da ordem de 10^{-16} a 10^{-14} s. O núcleo radioativo decai por emissão de partículas beta. Em muitos casos, esta nova configuração produz um núcleo radioativo, que também ocorre des-excitação por meio da emissão de um ou mais raios gama de decaimento característicos, mas a uma razão mais lenta, de acordo com o tempo de meia-vida do nuclídeo radioativo.

A medida da radiação emitida por $^{A+1}_{Z}X$ permite a análise qualitativa e quantitativa do elemento que deu origem a este radioisótopo. Como cada radionuclídeo decai com uma determinada meia vida e como a maioria deles emitem um ou mais raios gama característicos, a identificação do radioisótopo é feita pela meia vida e energias dos raios gama.

A atividade em taxas de contagens (A) induzida a um elemento após certo tempo de irradiação de acordo com o princípio desta técnica é dada pela relação 4.1 por (DE SOETE et al., 1972; PARRY, 2003).

$$A = \{z \phi \sigma N m f [1 - e^{-0,693t_i / t_{1/2}}]\} / \{M\} \quad (4.1)$$

Em que A = atividade em taxa de contagens; z = coeficiente de detecção ou eficiência do detector; ϕ = fluxo de nêutrons, em $n \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$; σ = secção de choque para nêutrons em cm^2 ; N = constante de Avogadro; m = massa do elemento; f = abundância isotópica do nuclídeo alvo; M = massa atômica do elemento; t_i = tempo de irradiação; $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida do radionuclídeo considerado.

A massa da relação (4.1) pode ser obtida desde que todos os seus parâmetros nucleares (meia vida, massa atômica, abundância isotópica, secção de choque para nêutrons, intensidade de raios gama, entre outros) sejam conhecidos. Para evitar o uso destes parâmetros, que nem sempre são disponíveis com uma boa exatidão, é frequente o uso do método comparativo, onde as amostras são irradiadas simultaneamente com os padrões dos elementos a serem determinados e após a irradiação, são medidos na mesma geometria. Entretanto neste caso quando se deseja determinar vários elementos em uma amostra, o número de padrões pode

facilmente exceder o número de amostras a serem analisadas. Como resultados alternativos, existem os conhecidos métodos paramétricos de K_{zero} (HAMIDATOU et al, 2013). Portanto, o método paramétrico e o de K_{zero} dependem da exatidão dos parâmetros nucleares e do fluxo de nêutrons.

Neste trabalho foi utilizado o método de NAA comparativo e no caso, a atividade de um radionuclídeo é considerada proporcional a massa do elemento que deu origem a este radionúclídeo.

Desta forma, escrevendo a relação (4.1) para um mesmo elemento da amostra e do padrão, que foram irradiados e medidos na mesma geometria, pode-se obter as seguintes relações para as taxas de contagens para tempo de decaimento $t = 0$ isto é no final da irradiação:

$$A_{a,0} = \{z \phi \sigma N m_a f [1 - e^{-0,693 t_i / t_{1/2}}]\} / \{M\} \quad (4.2)$$

$$A_{p,0} = \{z \phi \sigma N m_p f [1 - e^{-0,693 t_i / t_{1/2}}]\} / \{M\} \quad (4.3)$$

Em que os índices a e p se referem à amostra e ao padrão, respectivamente. Dividindo-se a relação (4.2) por (4.3), e para o tempo de decaimento $t = t_0 = 0$, tem-se:

$$A_{a,0} / A_{p,0} = m_a / m_p \quad (4.4)$$

Nesta relação (4.4) $A_{a,0}$ e $A_{p,0}$ são os valores das taxas de contagens da amostra e padrão medidos para um mesmo tempo de decaimento. Sendo na prática, a amostra e padrão medidos para diferentes tempos de decaimento, t_{da} e t_{dp} , respectivamente, aplica-se a relação da lei de decaimento radioativo para a correção do tempo de decaimento.

Pela lei de decaimento radioativo tem-se (FRIEDLANDER, et al., 1964):

$$A = A_0 e^{-0,693 t_d / t_{1/2}} \quad (4.5)$$

Na relação (4.5) A e A₀ são as taxas de contagens para tempos de decaimento t e t = 0, respectivamente. Escrevendo a relação (4.5) para amostra e padrão tem se:

$$A_a = A_{0,a} e^{-0,693 t_{da} / t_{1/2}} \quad (4.6)$$

$$A_p = A_{0,p} e^{-0,693 t_{dp} / t_{1/2}} \quad (4.7)$$

Substituindo as equações (4.6) e (4.7) na equação (4.4), tem-se:

$$m_a = [m_p \cdot A_a \cdot e^{-0,693(t_{dp} / t_{1/2})}] / [A_p e^{-0,693(t_{da} / t_{1/2})}] \quad (4.8)$$

Sendo a concentração do elemento na amostra $C_a = m_a/M_a$ em que M_a é a massa total da amostra, a relação (4.8) pode ser expressa como:

$$C_a = [m_p \cdot A_a \cdot e^{-0,693(t_{dp} / t_{1/2})}] / [M_a A_p e^{-0,693(t_{da} / t_{1/2})}] \quad (4.9)$$

Ou:

$$C_a = \frac{m_p A_a e^{0,693 (t_{da} - t_{dp}) / t_{1/2}}}{M_a A_p} \quad (4.10)$$

Em que os índices a e p se referem a amostra e padrão, respectivamente;

M_a = massa total de amostra;

m_p = massa do elemento no padrão

A_a = Taxas de contagem do radioisótopo medido na amostra

A_p = Taxas de contagem do radioisótopo medido no padrão

C_a = concentração do elemento na amostra

$t_{1/2}$ = meia vida do radioisótopo considerado

t_d = tempo de decaimento. O termo $e^{0,693 (t_{da} - t_{dp}) / t_{1/2}}$ da relação (4.10) permite o cálculo das taxas de contagens da amostra e do padrão para o mesmo tempo de decaimento.

A relação (4.10) foi utilizada no cálculo da concentração do elemento na amostra neste trabalho.

Relativamente às aplicações desta técnica, convém salientar que a NAA permite determinação de vários elementos de interesse nos diversos campos como na arqueologia, biomedicina, ciências ambientais, geologia e geoquímica, ciências forenses, produtos industriais, na nutrição, na garantia de qualidade, isto é, na certificação de materiais de referência e na caracterização de fluxo de nêutrons do reator nos canais de irradiação (HAMIDATOU et al, 2013; IAEA, 2001)

Entre as características favoráveis para uso da NAA, estão a capacidade de uma análise multielementar, alta sensibilidade, seletividade, aplicabilidade para analisar uma ampla variedade de tipos de matrizes, ausência do branco analítico a menos que exista impureza do involucro/capsula utilizado na irradiação da amostra, possibilidade de análise não destrutiva sem a necessidade de uso de reagentes, alta qualidade dos resultados com relação a exatidão e precisão e ausência de contaminação após a irradiação.

As limitações do uso da NAA estão na necessidade de um reator nuclear, manuseio de material radiativo, impossibilidade de quantificar determinados elementos como B, C, O, Li, N, Nb e Pb devido os isótopos destes elementos não apresentarem características nucleares favoráveis para ativação com nêutrons e em casos de irradiação longa o tempo de análise pode ser longo devido a necessidade medição das atividades após longo tempo de decaimento.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Materiais

5.1.1 Materiais de referência certificados

Os materiais de referência certificados (MRCs) foram analisados para avaliar a precisão e a exatidão dos resultados obtidos pelo método de análise utilizado. Neste trabalho foram realizadas as análises de dois MRCs, o 1633b Constituent Elements in Coal Fly Ash e o 1632d Trace Elements in Coal (Bituminous), ambos procedentes do National Institute of Standards and Technology (NIST). Foram selecionados estes MRCs para análise devido às suas composições elementares serem bastante semelhantes às dos suplementos dietéticos a serem analisados. Ambos os MRCs eram armazenados em um dessecador para evitar absorção de umidade.

5.1.2 Amostras de suplementos dietéticos

As amostras de suplementos dietéticos escolhidas para estudo foram dos tipos proteico e multivitamínico. A Figura 5.1 mostra as principais características destes tipos de suplementos dietéticos.

Foram escolhidos os suplementos comercializados na cidade de São Paulo os quais foram adquiridos em lojas especializadas em suplementos esportivos ou em farmácias e drogarias da cidade de São Paulo.

Os suplementos a base de proteína para esportistas analisados, foram os chamados de “Whey Protein”, que são compostos de proteínas extraídas do soro do leite. Este suplemento apresenta um papel nutricional muito importante principalmente para atletas, para ter um ganho mais rápido na massa muscular e melhorar a recuperação dos músculos após o exercício físico. O “Whey Protein” apresenta uma composição que inclui diversos aminoácidos essenciais.

Figura 5.1 – Tipos de suplementos dietéticos analisados e suas principais características

Fonte: Autor da dissertação.

Os suplementos multivitamínicos apresentam em suas formulações vitaminas e/ou minerais inorgânicos como vitaminas A, B1, B2, B3, C, D, entre outras, e minerais tais como Ca, K, Fe, Se, Zn, e outros que são essenciais para o organismo.

Os suplementos dietéticos, tanto os multivitamínicos como os proteicos, foram codificados e as suas características são apresentadas nas Tabelas B.1 e B.2 do Apêndice B. As características destes produtos foram tiradas dos respectivos rótulos. Foi adotado o prefixo MVM antes do código da amostra para os suplementos multivitamínicos e o prefixo SP para os proteicos.

5.2 Preparo das amostras dos suplementos para análise

As amostras de suplemento proteico como já se encontravam na forma de pó, foram pesadas e colocadas diretamente em invólucros de polietileno para irradiação no reator.

As amostras de suplemento multivitamínico foram adquiridas na forma de comprimidos. Para verificar a homogeneidade das massas destes comprimidos foram realizadas pesagens individuais de dez comprimidos de um mesmo suplemento. A seguir estes comprimidos foram moídos em um almofariz de ágata e alíquotas destas amostras foram pesadas em invólucros de polietileno para irradiação no reator.

5.3 Preparo de padrões sintéticos elementares

Os padrões sintéticos elementares foram utilizados na quantificação dos elementos nas amostras e nos MRCs pelo método comparativo de NAA.

Foram utilizadas soluções padrão de elementos preparadas utilizando soluções padrão estoque com concentrações de elementos certificados adquiridos da Spex Certiprep, EUA. A partir destas soluções padrão estoque, foram preparadas soluções mais diluídas simples ou multielementares. Estas soluções padrão eram armazenadas em geladeiras em frascos de polietileno e o seu uso foi após as soluções entrarem em equilíbrio térmico com a temperatura do meio ambiente. Foram pipetados 50 μL de cada uma das soluções padrão sobre tiras de papel de filtro Whatman Nº 40, de dimensões 1,5 cm X 5,0 cm aproximadamente, as quais foram mantidas na posição vertical utilizando dois bastões de vidro como mostra a Figura 5.2. No caso foi utilizado um pipetador da marca Eppendorf com sua calibração previamente verificada para 50 μL .

A lista das soluções padrões mistas ou individuais, com seus códigos, as concentrações de cada um dos elementos bem como as massas dos elementos utilizados neste trabalho estão apresentadas na Tabela 5.1.

Figura 5.2 – Foto mostrando soluções padrão sendo pipetado nas tiras de papel de filtro

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 5.1 – Códigos das soluções padrão com as concentrações dos elementos e massas dos elementos irradiados

Código dos padrões	Elementos químicos	Concentração do elemento ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Massa do elemento (μg)
S3	As	30,04	1,502
	Cu	2003,76	100,188
	Se	160,141	8,0070
	Cr	40,219	2,0109
	Mo	60,209	3,0104
	Sb	12,018	0,6009
F3	Ca	9979	498,95
	Rb	199,807	9,9903
	Fe	7205,76	360,288
	Zn	720,84	36,042
BR3	Br	100,20	5,01
L3	K	10013	500,65
	La	12,014	0,6007
	Cs	12,002	0,6001
	Sc	1,600	0,0800
	Co	3,007	0,15035
	Cd	199,92	9,996
N3	Na	4006,56	200,328
HG6	Hg	136,544	6,827

Fonte: Autor da dissertação.

As tiras destes papéis de filtro foram mantidas no dessecador para secagem das alíquotas pipetadas por um período de aproximadamente 24 horas. Posteriormente as bases destas tiras de papel foram cortadas. As tiras foram dobradas e colocadas individualmente em invólucros de polietileno, os quais foram selados com o uso de uma seladora elétrica para plásticos.

Os invólucros de polietileno foram confeccionados utilizando folhas de polietileno incolor previamente desmineralizadas usando solução de ácido nítrico P.A. diluído, água purificada Milli-Q, seguida de secagem à temperatura ambiente.

Para o caso do padrão HG6 de Hg, devido ao fato do Hg ser um elemento volátil, foi necessário pipetar 50 µL de solução de 7,83 mg de tioacetamida/mL na tira de papel de filtro antes de pipetar a solução de Hg para que não ocorra perda deste elemento. A tiocetamida evita a perda de Hg por volatilização. Isto é, o S^{2-} presente na estrutura da tiocetamida reage com o Hg e forma HgS evitando a sua volatilização (TAKEUCHI et al, 1979).

5.4 Determinação de umidade dos materiais de referência e das amostras de suplemento dietéticos

Os MRCs e as amostras foram guardados em dessecador para evitar a absorção de umidade. Para calcular as concentrações dos elementos na sua base seca, foram determinadas as umidades.

O procedimento de determinação de umidade consistiu em pesar aproximadamente 300 mg de cada um dos MRCs e das amostras de suplementos na forma de pó em pesa filtros para secagem em uma estufa de secagem da marca Fabbe Primar à temperatura de 85 °C até obter massa constante ou por cerca de 24 horas.

Na Tabela 5.2 são apresentadas as massas dos MRCs (massa úmida e seca) e as porcentagens de perda de umidade.

Na Tabela 5.3, estão os resultados da determinação de umidade obtidas nas amostras de suplementos proteicos e multivitamínicos.

Tabela 5.2 – Massas dos materiais de referência e porcentagens de perda de umidade

Material*	Massa úmida (g)	Massa seca (g)	Massa perdida (%)
CA	0,31580	0,31477	0,33
EC	0,31395	0,30872	1,67

*CA: MRC *Constituent Elements in Coal Fly Ash – 1633b*; EC: MRC *Trace Elements in Coal (Bituminous) – 1632d*;

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 5.3 – Percentagens de perda de umidade das amostras de suplementos dietéticos

Amostra	Perda de umidade (%)
MVM-BN	3,31
MVM-CMZ	1,11
MVM-CTA	1,33
MVM-SPD	1,40
SP-M	5,18
SP-MT	4,15
SP-SW	5,53

Fonte: Autor da dissertação.

5.5 Procedimento de análise por ativação com nêutrons

Cerca de 150 mg de cada um dos materiais de referência ou de suplementos na forma de pó foram pesados em invólucros de polietileno usando uma balança analítica da marca Shimadzu com precisão de 0,00001 g. Os padrões sintéticos e os materiais dos invólucros foram embalados individualmente em folhas de alumínio.

O conjunto de padrões sintéticos e amostras foram embrulhados em uma nova folha de alumínio e depois inseridos em um dispositivo de alumínio para irradiação chamado de “coelho” (Figura 5.3). A irradiação foi realizada no reator IEA-R1 sob fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $4,2 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por um período 4 a 8 h, dependendo da amostra. Para a determinação de Hg o tempo de irradiação foi de 1 h para evitar a perda deste elemento.

Após cerca de três dias de decaimento, sob supervisão da equipe responsável pela Proteção Radiológica, os “coelhos” foram abertos e as amostras e

os padrões foram individualmente fixados em suportes de aço inoxidável “panelinha” de 3 cm de diâmetro (Figura 5.4). No caso da determinação de Hg, o tempo de decaimento foi de cerca 1 dia. As atividades dos raios gama das amostras e padrões irradiados foram medidos em um detector de Ge hiperpuro da marca Canberra acoplado a um analisador de espectro digital DSA 1000 também da marca Canberra. A resolução do sistema utilizado foi de 1,00 keV para o pico 121,97 keV do ^{57}Co e de 1,80 keV para o pico de 1332,50 keV para o ^{60}Co . Diariamente, foi verificado o funcionamento do sistema fazendo a contagem de uma fonte de ^{57}Co e ^{60}Co . Para aquisição dos dados espectrais e seu processamento foi utilizado o software Genie versão 3.1 da Canberra.

Figura 5.3 – Foto do dispositivo de alumínio (coelho) utilizado para irradiação

Fonte: Autor da dissertação

Figura 5.4 – Foto do suporte de aço inoxidável “panelinha”

Fonte: Autor da dissertação

A primeira medição das atividades gama foi realizada depois de cerca de três dias de decaimento, para determinar elementos cujos radioisótopos apresentam

meias vidas intermediárias, (menos que cerca de 40 horas) como As, Br, Cu, K, La, Na. Após cerca de sete dias de decaimento, foi realizada uma segunda medida para determinar elementos como Cd, Cr, Mo, Rb e Sb. Após cerca de quatorze dias de decaimento foi realizada a terceira medição para determinar elementos de meia vida mais longa como o Ca, Co, Cs, Fe, Sb, Sc, Se e Zn. Para a determinação de Hg o tempo de decaimento para as contagens foi de cerca de 12 horas.

A identificação dos radioisótopos foi realizada por meio das energias dos raios gama e da meia vida consultando dados compilados de isótopos radioativos da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 1990). O cálculo da concentração foi realizado pelo método comparativo aplicando a Equação 4.10. Na Tabela 5.4 encontram-se os dados nucleares dos radionuclídeos utilizados neste trabalho.

Tabela 5.4 – Dados nucleares dos radioisótopos utilizados neste trabalho.

Elemento	Radionuclídeo	Tempo de meia-vida	Energias dos raios gama (keV)
As	⁷⁶ As	26,32 h	559,10
Br	⁸² Br	35,3 h	776,52
Ca	⁴⁷ Ca	4,54 d	1297,09/159
Cd	¹¹⁵ Cd	53,46 h	527,91
Co	⁶⁰ Co	5,27 a	1173,24/1332,50
Cr	⁵¹ Cr	27,7 d	320,08
Cs	¹³⁴ Cs	2,06 a	795,85
Cu	⁶⁴ Cu	12,7 h	1345,77
Fe	⁵⁹ Fe	44,5 d	1099,25/1291,60
Hg	¹⁹⁷ Hg	64,1 h	77,34
K	⁴² K	12,36 h	1524,58
La	¹⁴⁰ La	40,27 h	1596,21
Mo	⁹⁹ Mo	65,94 h	739,58
Na	²⁴ Na	14,96 h	1368,60
Rb	⁸⁶ Rb	18,66 d	1076,60
Sb	¹²² Sb	2,70 d	564,24
Sb	¹²⁴ Sb	60,2 d	1690,98
Sc	⁴⁶ Sc	83,81 d	889,28
Se	⁷⁵ Se	119,77 d	264,66
Zn	⁶⁵ Zn	243,9 d	1115,55
Zn	^{69m} Zn	13,76 h	438,63

Fonte: IAEA, 1990.

5.6 Tratamento de dados

Aos resultados das determinações de elementos nos materiais foram aplicados tratamentos de estatística básica para cálculo de média aritmética, desvio padrão, desvio padrão relativo e erro relativo.

5.6.1 Cálculo de Z-score

Para avaliar a exatidão dos resultados, além do erro percentual, calculou-se a diferença padronizada ou valor de Z-score (Bode, 1996), aplicando a Equação 5.1.

$$Z_{i-score} = \frac{C_i - C_{ref,i}}{\sqrt{\sigma_i^2 + \sigma_{ref,i}^2}} \quad (5.1)$$

Em que C_i é a concentração média do elemento i determinado; $C_{ref,i}$ é a concentração certificada do elemento i ; σ_i é a incerteza determinada da concentração do elemento i ; $\sigma_{ref,i}$ é a incerteza da concentração declarada no certificado para o elemento i . No presente trabalho foi utilizado para valor de σ_i o valor do desvio padrão das determinações.

Segundo este critério de Z-score (Bode, 1996), o resultado obtido é considerado satisfatório se $|Z_{i-score}| \leq 2$. Se $2 < |Z_{i-score}| < 3$, o resultado é considerado incerto, mas se $|Z_{i-score}| \geq 3$ o resultado é considerado insatisfatório.

5.6.2 Cálculo de limites de detecção e quantificação

Para se ter uma ideia da sensibilidade da NAA na análise de suplementos, foram calculados os limites de detecção e de quantificação.

Os limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) dos elementos foram obtidos adotando-se o critério de Currie (Currie, 1999). Estes limites, segundo este critério de Currie, foram obtidos em taxas de contagens por meio das relações 5.2 e 5.3.

$$LD_c = 3,29 \times \frac{\sqrt{BG}}{LT} \quad (5.2)$$

$$LQ_c = 10 \times \frac{\sqrt{BG}}{LT} \quad (5.3)$$

Onde: LD_c e LQ_c são os limites de detecção e de quantificação em taxas de contagens; BG é a radiação de fundo (*background*) ou a área sob o fotopico do radioisótopo e LT é o tempo de contagem. Quando o fotopico não foi detectado na amostra, repetiu-se a medição sobrepondo a esta o padrão do elemento de interesse, para obter o menor sinal detectável. Uma vez obtidos os valores de LD_c e LQ_c, os limites em unidades de concentração LD e LQ foram obtidos pelo método comparativo de NAA.

5.6.3 Avaliação da ingestão de elementos por meio do consumo de suplementos dietéticos

A ingestão de elementos por meio do consumo dos suplementos foi calculada multiplicando a concentração do elemento obtido na base seca pela quantidade consumida de comprimido ou dose na base seca. A quantidade consumida foi considerada como aquela indicada no rótulo de cada suplemento. No caso dos suplementos multivitamínicos, essa quantidade é dada por número de comprimidos e no caso dos proteicos, que são adquiridos na forma de pó, é dada por meio do número de conchas (colheres grandes e fundas).

Conceitos utilizados na avaliação dos resultados:

- Valor diário de referência de nutrientes (VDR) é o valor estabelecido de referência para carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, fibra alimentar e sódio para uma dieta de 2000 kcal e este valor é utilizado para definir a percentagem de valor diário (% VD). A declaração do VDR é obrigatória nos rótulos dos suplementos.

- Ingestão diária recomendada (IDR) é a média da quantidade de ingestão necessária de um nutriente suficiente para atender de 97 a 98% de indivíduos saudáveis para um determinado gênero e estágio de vida (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006). A apresentação do IDR no rótulo não é obrigatória para o produtor.

- Percentagem de valor diário (% VD) é a percentagem da quantidade de um nutriente necessário, baseado em uma dieta com valor calórico de 2000 calorias para adultos e crianças acima de 4 anos de idade. O % VD é calculado utilizando os

valores de valor diário de referência de nutrientes (VDR) e de ingestão diária recomendada (IDR) (ANVISA, 2003);

- Limite superior tolerável de ingestão (UL) é o valor mais alto de ingestão diária de um nutriente que não oferece nenhum efeito adverso em quase todos os indivíduos de um estágio de vida ou gênero (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

- Ingestão máxima tolerável é um termo utilizado para se referir à ingestão máxima tolerável semanal (PTWI) ou para a ingestão máxima tolerável mensal (PTMI). Estes valores são definidos pela Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) para estipular a quantidade máxima tolerável de ingestão de determinados elementos que possam acumular no organismo humano, como As, Cd, Hg e Pb.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análise dos materiais de referência certificados

Na aplicação de um método analítico é de grande importância garantir a qualidade dos resultados da análise com relação à precisão e exatidão. Desta maneira, para o controle dos resultados, foram analisados neste trabalho, os materiais de referência certificados: 1633b Constituent Elements in Coal Fly Ash (NIST, 2004) e o 1632d Trace Elements in Coal (Bituminous) (NIST, 2014), ambos procedentes da National Institute of Standards and Technology (NIST), EUA.

Os resultados obtidos nas análises dos MRCs 1633b Coal Fly Ash e 1632d Coal Bituminous estão apresentados nas Tabelas 6.1 e 6.2 respectivamente, junto com os valores dos respectivos certificados para comparação e para melhor visualização, os resultados de Z-score estão também apresentados nas Figuras 6.1 e 6.2. Nas Tabelas 6.1 e 6.2 são apresentadas as concentrações médias com seus desvios padrão, desvios padrão relativos, percentagens de erro relativo e valores de Z-score.

Os resultados obtidos nestes MRCs indicam que a maioria dos elementos apresentou uma boa concordância com os valores certificados. As exceções foram para os elementos As e Cr no MRC 1633b Coal Fly Ash que apresentaram valores de Z-score $2 < |Z_{i-score}| < 3$. A baixa exatidão do resultado de As se deve às baixas taxas de contagens obtidas para o pico de ^{76}As de 559,10 keV, devido a alta atividade do ^{24}Na que impediu efetuar as contagens logo após a irradiação.

No caso do Cr, cujo o pico dos raios gama de 320,1 keV, houve interferência do ^{147}Nd , que emite raios gama de energia de 319,4 keV. A presença deste radionuclídeo ^{147}Nd com meia vida de 10,98 d no espectro dos raios gama foi comprovada pela presença dos fotopicos deste radionuclídeo de 91,10 keV e 531,01 keV. A presença do $^{177\text{m}}\text{Lu}$ também pode interferir no pico de ^{51}Cr , pois o $^{177\text{m}}\text{Lu}$, com meia vida de 160,9 d, emite raios gama de 319,0 keV. A presença deste radionuclídeo foi comprovada pelo fotopico de 208,36 keV.

Já no MRC 1632d Coal Bituminous, o valor de Z-score obtido para As foi de -1,4 e o de Cr foi de 0,7 mostrando boa exatidão dos resultados na determinação destes dois elementos. Os valores de desvio padrão relativo e erro relativo para o

elemento Zn no MRC 1632d Coal Bituminous (Tabela 6.2) apresentaram valores elevados devido à interferência do pico 1120,55 keV do ^{46}Sc com $t_{1/2}$ de 83,81 dias no pico 1115,55 keV do ^{65}Zn .

Tabela 6.1 – Concentrações de elementos no material de referência certificado 1633b Coal Fly Ash. Resultados em mg kg^{-1} a menos que esteja indicado.

Elementos	$\bar{X} \pm \text{DP}^a$ (n) ^b	ER ^c , %	DPR ^d , %	Z-score ^e	Valor do certificado
As	121,4 $\pm$ 6,1 (4)	10,8	5,0	-2,4	136,2 $\pm$ 2,6
Ca, %	1,47 $\pm$ 0,24 (4)	2,6	16,6	-0,2	1,51 $\pm$ 0,06
Cr	166,0 $\pm$ 12,9 (5)	16,2	7,2	-2,7	198,2 $\pm$ 4,7
Fe, %	7,13 $\pm$ 0,50 (5)	8,4	7,0	-1,0	7,78 $\pm$ 0,23
K, %	1,850 $\pm$ 0,072 (5)	5,1	3,9	-1,2	1,95 $\pm$ 0,03
Na, %	0,218 $\pm$ 0,016 (4)	8,5	7,5	1,0	0,201 $\pm$ 0,03
Se	10,92 $\pm$ 0,71 (5)	6,4	6,5	0,9	10,26 $\pm$ 0,17

a. Média aritmética com desvio padrão; b. Número de determinações; c. Erro relativo; d. Desvio padrão relativo; e. Valor de Z-score.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 6.2 – Concentrações de elementos no material de referência certificado 1632d Coal Bituminous. Resultados em mg kg^{-1} a menos que esteja indicado.

Elementos	$\bar{X} \pm \text{DP}^a$ (n) ^b	ER ^c , %	DPR ^d , %	Z-score ^e	Valor do certificado
As	5,53 $\pm$ 0,40 (5)	9,3	7,3	-1,4	6,1 $\pm$ 0,2
Ca, %	0,1582 $\pm$ 0,0013 (5)	9,7	8,3	1,1	0,144 $\pm$ 0,003
Co	3,12 $\pm$ 0,15 (5)	8,8	4,8	-2,0	3,424 $\pm$ 0,048
Cr	13,91 $\pm$ 0,30 (5)	1,6	2,1	0,7	13,7 $\pm$ 0,1
Cs	0,60 $\pm$ 0,03 (5)	0,3	5,0	0,2	0,598 $\pm$ 0,006
Fe, %	0,772 $\pm$ 0,027 (5)	3,1	3,4	0,8	0,749 $\pm$ 0,016
K, %	0,1082 $\pm$ 0,0003 (4)	1,5	2,3	-0,6	0,109 $\pm$ 0,003
Na	339,0 $\pm$ 36,5 (4)	14,2	9,0	1,4	296,9 $\pm$ 4,2
Rb	7,42 $\pm$ 0,54 (5)	0,8	7,3	0,1	7,36 $\pm$ 0,20
Sb	0,454 $\pm$ 0,011 (5)	2,0	1,6	0,6	0,445 $\pm$ 0,015
Sc	2,84 $\pm$ 0,13 (5)	1,7	4,4	-0,4	2,89 $\pm$ 0,03
Se	1,394 $\pm$ 0,083 (5)	8,1	6,0	1,1	1,29 $\pm$ 1,2
Zn	16,5 $\pm$ 4,3 (4)	27,9	22,9	1,1	12,9 $\pm$ 1,2

a. Média aritmética com desvio padrão; b. Número de determinações; c. Erro relativo; d. Desvio padrão relativo; e. Valor de Z-score.

Fonte: Autor da dissertação.

Figura 6.1 – Valores de Z-score no material de referência certificado 1633b Coal Fly Ash

Fonte: Autor da dissertação

Figura 6.2 – Valores de Z-score no material de referência certificado 1632b Coal Bituminous

Fonte: Autor da dissertação

6.2 Análise dos suplementos dietéticos

6.2.1 Verificação da homogeneidade das massas dos comprimidos das amostras de suplementos multivitamínicos

Como os suplementos multivitamínicos se encontravam na forma de comprimidos, foi verificada a sua homogeneidade com relação a sua massa e cujos resultados obtidos estão na Tabela 6.3. São apresentadas as massas médias com seus desvios padrão e desvios padrão relativos.

O erro relativo percentual foi calculado em relação à massa do elemento de cada comprimido apresentado no rótulo do suplemento e a massa obtida experimentalmente.

Tabela 6.3 – Médias das massas dos comprimidos de suplementos multivitamínicos na base úmida

Amostra de suplemento	$\bar{X} \pm DP^a$, g	Massa informada ^b , g	DPR ^c , %	ER ^e , %
MVM-BN	1,045 $\pm$ 0,005	1,050	0,51	0,46
MVM-CTA	1,31 $\pm$ 0,01	1,320	1,06	0,76
MVM-CMZ	1,30 $\pm$ 0,01	ND ^e	0,82	-
MVM-SPD	1,230 $\pm$ 0,005	1,235	0,44	0,38

a. Média aritmética e desvio padrão; b. Massa do comprimido descrito no rótulo c. Desvio padrão relativo; d. Erro relativo percentual; e. Valor não declarado ou não disponível.

Fonte: Autor da dissertação.

Não foi calculado o erro relativo percentual da amostra MVM-CMZ, uma vez que no rótulo da sua embalagem não foi apresentada a massa de cada comprimido.

Os desvios padrão relativos obtidos nas pesagens de comprimidos individualmente da Tabela 6.3 variaram de 0,4 a 1,1 %, indicando a homogeneidade entre as massas nos comprimidos para um mesmo suplemento. A comparação entre as médias das massas obtidas e os valores informados nos seus rótulos indicaram que estavam em acordo.

6.2.2 Determinação das concentrações de elementos nos suplementos multivitamínicos e proteicos

Cada um dos suplementos dietéticos foi analisado em replicatas para avaliar a reprodutibilidade dos resultados.

Na Tabela 6.4 são apresentadas as concentrações médias dos elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, K, Na, Sb, Sc, Se e Zn determinados nos suplementos multivitamínicos. Estes resultados indicam, em geral, uma boa precisão, com desvios padrão relativos variando de 0,2 a 14,5 %. Os resultados menos precisos foram obtidos para os elementos Co e Sb no suplemento MVM-CTA devido aos baixos teores destes elementos na amostra. Os elementos As, K e Se não foram determinados em algumas amostras, uma vez que os picos dos raios gama dos radioisótopos ^{76}As , ^{42}K e ^{75}Se não foram detectados nos espectros gama.

Na Tabela 6.5 estão as concentrações de elementos obtidos nos suplementos proteicos, cujos resultados apresentaram desvios padrão relativos inferiores a 15% para a maioria dos elementos. Os resultados menos precisos foram obtidos para os elementos Cr, no suplemento SP-SW e Se no SP-M, devido às suas baixas concentrações nas amostras.

Tabela 6.4 - Concentrações de elementos na base seca dos suplementos multivitamínicos. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$ exceto quando indicado

Elemento	MVM-CTA		MVM-BN		MVM-SPD		MVM-CMZ	
	C $\pm$ DP ^a (n) ^b	DPR ^c (%)	C $\pm$ DP(n)	DPR (%)	C $\pm$ DP (n)	DPR (%)	C $\pm$ DP (n)	DPR (%)
As	ND ^d	-	0,060 $\pm$ 0,009 (3)	14,5	0,128 $\pm$ 0,014 (4)	10,8	0,338 $\pm$ 0,022 (5)	6,5
Ca, %	17,6 $\pm$ 1,7 (5)	9,4	8,59 $\pm$ 0,59 (4)	6,9	21,04 $\pm$ 0,85 (4)	4,0	25,5 $\pm$ 2,4 (5)	9,6
Co	0,181 $\pm$ 0,029 (5)	15,9	0,279 $\pm$ 0,017 (4)	5,9	1,293 $\pm$ 0,048 (4)	3,7	0,165 $\pm$ 0,010 (5)	6,3
Cr	15,01 $\pm$ 0,63 (5)	4,2	3,29 $\pm$ 0,30 (4)	9,1	32,1 $\pm$ 2,0 (4)	6,3	3,81 $\pm$ 0,16 (5)	4,1
Fe	6138,0 $\pm$ 127,9 (5)	2,3	5414 $\pm$ 85 (4)	1,6	7889 $\pm$ 127 (4)	1,6	226 $\pm$ 12 (5)	5,4
K	ND	-	1072 $\pm$ 20 (4)	1,9	ND	-	ND	-
Mo	ND	-	ND	-	38,5 $\pm$ 5,3 (3)	13,8	ND	-
Na	1380,4 $\pm$ 3,4 (4)	0,24	578,4 $\pm$ 1,2 (4)	0,2	998,2 $\pm$ 3,2 (4)	0,3	1891,4 $\pm$ 5,2 (5)	0,3
Sb	0,070 $\pm$ 0,013 (3)	18,7	0,0640 $\pm$ 0,0078 (2)	12,2	0,0668 $\pm$ 0,0072 (2)	10,7	0,0350 $\pm$ 0,0032 (2)	9,0
Sc	0,0529 $\pm$ 0,0046 (5)	8,6	0,0305 $\pm$ 0,0040 (4)	13,1	0,0456 $\pm$ 0,0032 (4)	7,0	0,0790 $\pm$ 0,0032 (5)	4,0
Se	14,42 $\pm$ 0,65 (5)	4,5	28,10 $\pm$ 0,45 (4)	1,6	22,31 $\pm$ 0,25 (4)	1,1	ND	-
Zn	4782 $\pm$ 69 (5)	1,4	4855 $\pm$ 52 (4)	1,1	3612 $\pm$ 38 (4)	1,0	3791 $\pm$ 45 (5)	1,2

a. Concentração média e desvio padrão; b. Número de determinações; c. Desvio padrão relativo; d. Não detectado.

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 6.5 - Concentrações de elementos na base seca dos suplementos proteicos. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$ exceto quando indicado.

Elemento	SP-M		SP-MT		SP-SW	
	C $\pm$ DP ^a (n) ^b	DPR ^c (%)	C $\pm$ DP (n)	DPR (%)	C $\pm$ DP (n)	DPR (%)
Ca, %	2,228 $\pm$ 0,031 (5)	13,9	1,254 $\pm$ 0,068 (4)	5,4	0,769 $\pm$ 0,050 (5)	6,5
Co	0,0322 $\pm$ 0,0042 (5)	13,2	0,0970 $\pm$ 0,0060 (4)	6,2	0,127 $\pm$ 0,010 (4)	7,8
Cr	0,159 $\pm$ 0,023 (2)	14,3	0,637 $\pm$ 0,096 (4)	15,0	0,256 $\pm$ 0,065 (2)	25,5
Fe	35,6 $\pm$ 2,7 (5)	7,6	102,4 $\pm$ 3,8 (4)	3,7	105,9 $\pm$ 4,8 (5)	4,6
K	3639 $\pm$ 170 (5)	4,7	6096 $\pm$ 375 (4)	6,1	5211 $\pm$ 165 (5)	3,2
Na	2407,7 $\pm$ 9,5 (5)	0,4	1386,2 $\pm$ 6,7 (4)	0,5	1729,7 $\pm$ 5,8 (4)	0,3
Rb	3,10 $\pm$ 0,19 (5)	6,1	5,45 $\pm$ 0,23 (4)	4,2	4,96 $\pm$ 0,31 (5)	6,3
Sb	ND ^d	-	0,0740 $\pm$ 0,0085 (4)	11,5	ND	-
Sc	ND	-	0,00510 $\pm$ 0,00046 (4)	9,0	0,1108 $\pm$ 0,0021 (5)	1,9
Se	0,104 $\pm$ 0,031 (2)	29,4	0,95 $\pm$ 0,11 (4)	11,1	1,08 $\pm$ 0,13 (5)	12,2
Zn	21,29 $\pm$ 0,45 (5)	2,1	43,59 $\pm$ 0,60 (4)	1,4	9,68 $\pm$ 0,32 (5)	3,2

a. Concentração média e desvio padrão; b. Número de determinações; c. Desvio padrão relativo; d. Não detectado.

Fonte: Autor da dissertação.

6.2.3 Massas dos elementos em cada comprimido ou dose dos suplementos

Tendo os valores das concentrações de elementos nos suplementos dietéticos (multivitamínicos e proteicos), as massas dos elementos por comprimido ou por dose, foram calculadas multiplicando as concentrações dos elementos encontrados com as massas de cada comprimido ou dose indicada nos rótulos. Estas massas de elementos obtidas estão na Tabela 6.6 e 6.7 para os suplementos multivitamínicos e os suplementos proteicos respectivamente. Nestas Tabelas são também apresentadas as massas dos elementos descritas nos rótulos pelos fabricantes, bem como os valores do percentil de ingestão diária recomendada (% VD).

Para verificar se as massas encontradas estão em concordância com os valores descritos nos rótulos, a comparação foi feita baseando-se no regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados (RDC Nº 360), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que permite uma tolerância de $\pm 20\%$ entre as quantidades determinadas e os valores de nutrientes declarados no rótulo (ANVISA, 2003).

Nas Tabelas 6.6 e 6.7 estão também indicados os resultados desta comparação. Nesta Tabela a letra S indica que a quantidade do elemento atende os critérios da RDC Nº 360 e N quando não atende.

Os resultados desta comparação mostraram que as massas dos elementos por comprimido dos suplementos multivitamínicos analisadas estão dentro dos valores descritos nos rótulos. Já no caso dos suplementos proteicos as massas de vários elementos estão em desacordo com os valores descritos nos rótulos conforme mostrado na quarta coluna da Tabela 6.7, não atendendo aos critérios da RDC Nº 360.

O percentil de ingestão diária recomendada de nutrientes (% VD) foi calculado para avaliar a quantidade de um determinado elemento que uma pessoa consumirá com um comprimido ou dose de suplemento, baseado em uma dieta com valor calórico de 2000 calorias para adultos e crianças acima de 4 anos de idade.

Para o cálculo do % VD foram utilizados os valores diários de referência de nutrientes (VDR), cujo valor para o elemento Na que é de 2400 mg (ANVISA, 2003) e de ingestão diária recomendada (IDR) apresentada na Tabela 6.8 (ANVISA, 2003).

Para os suplementos multivitamínicos, as quantidades dos elementos atendem a % VD, exceto pelo elemento Cr no suplemento MVM-SPD, cujo % VD ficou acima de 100%. Para os suplementos proteicos, todos os valores determinados destes elementos atendem a % VD, exceto para os elementos Cr e Se no suplemento SP-MT, cujo valor de % VD ficou acima de 100%.

Tabela 6.6 - Massas dos elementos obtidos por comprimido nos suplementos multivitamínicos e os valores dos rótulos

Amostra	Elemento	Massa do elemento por comprimido	Valor descrito no rótulo	Atende a legislação ^b	% VD ^a
MVM-CTA	Ca, mg	228 ± 21	250	S	22,8
	Cr, µg	19,36 ± 0,82	18	S	55,3
	Fe, mg	7,92 ± 0,17	8,1	S	56,6
	Se, µg	18,60 ± 0,85	20	S	54,7
	Zn, mg	6,17 ± 0,010	7,0	S	88,1
MVM-CMZ	Ca, mg	329 ± 32	333	S	32,9
	Zn, mg	4,89 ± 0,07	5	S	69,9
MVM-SPD	Ca, mg	255 ± 10	250	S	25,5
	Cr, µg	38,9 ± 2,5	35	S	111,1
	Fe, mg	9,57 ± 0,16	8,4	S	68,4
	Se, µg	27,1 ± 0,33	27	S	79,6
	Zn, mg	4,38 ± 0,050	4,2	S	62,7
MVM-BN	Ca, mg	86,8 ± 6,0	90	S	8,7
	Fe, mg	5,47 ± 0,09	5	S	39,1
	Se, µg	28,40 ± 0,48	30	S	83,5
	Zn, mg	4,91 ± 0,06	5	S	70,1

a. Percentil de ingestão diária recomendada de nutrientes por dose ou comprimido do suplemento; b. S indica que atende à legislação RDC Nº 360 e N indica que não atende à legislação RDC Nº 360.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 6.7 - Massas dos elementos por dose nos suplementos proteicos e os valores descritos nos rótulos.

Amostra	Elemento	Massa do elemento por dose ^a	Valor descrito no rótulo	Atende a legislação ^c	% VD ^b
SP-M	Ca, mg	273 ± 38	187	N	27,3
	Cr, µg	19,9 ± 5,6	7	S	56,9
	Fe, mg	4,30 ± 0,33	2,8	N	30,7
	Na, mg	364,8 ± 1,2	377	S	15,2
	Se, µg	12,7 ± 3,7	6,8	S	37,4
	Zn, mg	2,61 ± 0,06	1,4	N	37,3
SP-SW	Ca, mg	290 ± 19	318	S	29,0
	Cr, µg	9,7 ± 2,5	6,7	S	27,7
	Fe, mg	4,00 ± 0,18	2,5	N	28,6
	Na, mg	65,37 ± 0,22	81	S	2,7
	Se, ng	40,1 ± 5,0	600	N	1,8
SP-MT	Ca, mg	728 ± 39	385	N	72,8
	Cr, µg	36,9 ± 5,6	16	N	105,4
	Fe, mg	5,95 ± 0,22	6,6	S	42,5
	Na, mg	80,46 ± 0,39	115	N	3,4
	Se, µg	55,0 ± 6,1	15	N	161,7
	Zn, mg	2,530 ± 0,035	3,2	S	36,1

a. Massa calculada de acordo com a dose indicado no rótulo. Doses indicadas nos rótulos para cada suplemento: SP-M = 5 conchas ou 129 g; SP-SW = 2 conchas ou 40 g; SP-MT = 3 conchas ou 60 g; b. Percentil de ingestão diária recomendada de nutrientes por dose ou tablete do suplemento; c. S indica que atende à legislação RDC N° 360 e N indica que não atende à legislação RDC N° 360.

Fonte: autor da dissertação.

Para melhor visualização dos dados apresentados nas Tabelas 6.6 e 6.7, estes dados são mostrados em forma de gráfico nas Figuras 6.3 e 6.4. Nestas Figuras, as barras azuis indicam a quantidade de massa do elemento por dose ou comprimido do suplemento e na barra laranja o valor declarado pelo fabricante no rótulo do suplemento. A barra de erros da barra azul é o desvio padrão a análise do elemento onde para atender à legislação RDC N° 360, esta barra deve coincidir em algum momento com a barra de erros da barra laranja que é a faixa de tolerância de 20 % da legislação RDC N° 360.

Tabela 6.8 - Valores de ingestão diária recomendada de nutrientes (IDR) conforme a RDC 360.

Nutriente	Ingestão diária recomendada (IDR)
Ca, mg	1000
Cr, µg	35
Fe, mg	14
Mn, mg	2,3
Se, µg	34
Zn, mg	7

Fonte: ANVISA, 2003.

Figura 6.3 – Massa dos elementos por dose por comprimido nos suplementos multivitamínicos com seu desvio padrão e os valores dos rótulos e a faixa de tolerância de $\pm 20\%$. Massa dos elementos expressos em mg para Ca, Fe e Zn e µg para Cr e Se.

Fonte: autor da dissertação

Figura 6.4 – Massas dos elementos por dose nos suplementos proteicos com seu desvio padrão, os valores dos rótulos e as faixas de tolerância de $\pm 20\%$. Massas dos elementos expressos em mg para Ca, Fe, Na e Zn; μg para Cr e Se com exceção do Se no suplemento SP-SW que é dada em ng.

Fonte: Autor da dissertação

Nos suplementos dietéticos analisados, procurou-se também verificar a presença de elementos tóxicos como As, Cd e Hg. Nas condições experimentais utilizadas neste trabalho, o As foi determinado em três suplementos: MVM-BN, MVM-SPD e MVM-CMZ, mas em concentrações muito baixas, na ordem de ng g^{-1} . Foi verificado que a quantidade presente nos suplementos não atinge o valor de ingestão máxima tolerável de As, que é de 2 a 7 $\mu\text{g/kg}$ de massa corporal/dia.

Os elementos tóxicos Cd e Hg não foram detectados nos suplementos analisados e em algumas amostras foram determinados neste trabalho elementos que não estão apresentados nos rótulos dos produtos como Co, K e Na.

6.2.4 Ingestão de elementos por meio do consumo de suplementos

Os suplementos dietéticos analisados apresentam em seus rótulos a recomendação de uso, ou seja, o número de doses do suplemento que o produtor recomenda ingerir diariamente para se obter os resultados esperados. A partir destes dados, foi possível calcular os valores de ingestão diária para cada elemento se o indivíduo seguir a recomendação do rótulo e ingerir a quantidade de doses sugerida.

Estes dados de ingestão diária (Tabela 6.9 para os suplementos multivitamínicos e 6.10 para os suplementos proteicos) foram comparados com o limite superior tolerável de ingestão (UL) para o caso de adultos maiores que 19 anos de idade de ambos os sexos. Utilizou-se o valor de UL apresentado pelo Institute of Medicine (IOM) (2006). O UL é o limite máximo de ingestão de determinado nutriente, que não gera risco à saúde para a maior parte da população.

Os dados da Tabela 6.9, mostram que a ingestão dos suplementos multivitamínicos, obedecendo a porção diária indicada pelo fabricante, as massas dos elementos não excedem os valores de UL estipulados.

Na Tabela 6.10, para os suplementos proteicos, verificou-se que a ingestão da quantidade, obedecendo as porções recomendadas pelo fabricante, não ultrapassa o UL para os elementos determinados. No entanto, no suplemento SP-M a quantidade de Na é bastante elevada, chegando bem próximo ao UL.

Tabela 6.9 – Ingestão diária de elementos calculada para porção diária de suplemento multivitamínico recomendada pelo fabricante e valores de limite superior tolerável de ingestão (UL)

	Massas dos elementos por porção diária ^a				UL 19-50 ^b	UL >51 ^c
	MVM-CTA	MVM-CMZ	MVM-SPD	MVM-BN		
Ca, mg	228 ± 21	988 ± 95	255 ± 10	86,8 ± 6,0	2500	2000
Cr, µg	19,36 ± 0,82	14,57 ± 0,60	38,9 ± 2,5	3,32 ± 0,30	NE ^e	NE
Cu, mg	0,56 ± 0,07	ND	0,29 ± 0,06	ND	10	10
Fe, mg	7,92 ± 0,17	0,89 ± 0,04	9,57 ± 0,16	5,47 ± 0,09	45	45
K, µg	ND ^d	ND	ND	1084 ± 21	NE	NE
Na, mg	1,78 ± 0,01	7,68 ± 0,06	1,211 ± 0,006	0,585 ± 0,003	2300	2300
Mo, mg	ND	ND	0,047 ± 0,006	ND	2	2
Se, µg	18,60 ± 0,85	ND	27,1 ± 0,3	28,40 ± 0,48	400	400
Zn, mg	6,17 ± 0,01	14,67 ± 0,21	4,38 ± 0,05	4,91 ± 0,06	40	40

a. Quantidade diária recomendada pelo produtor para os suplementos MVM-CTA, MVM-SPD e MVM-BN é 1 comprimido e para o suplemento MVM-CMZ é de até 3 comprimidos; b. UL para indivíduos entre 19 e 50 anos de idade; c. UL para indivíduos com mais de 51 anos (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006); d. Não detectado; e. Valor não estabelecido.

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 6.10 – Ingestão diária de elementos calculada para quantidade diária dos suplementos proteicos recomendada pelo fabricante e valor de limite superior tolerável de ingestão (UL)

	Massas dos elementos por porção diária ^a			UL 19-50 ^b	UL >51 ^c
	SP-M	SP-SW	SP-MT		
Ca, mg	1365 ± 190	580 ± 38	1456 ± 78	2500	2000
Cr, µg	99 ± 28	19,4 ± 5,0	74 ± 11	NE ^e	NE
Cu, mg	ND ^d	ND	ND	10	10
Fe, mg	21,5 ± 1,7	8,00 ± 0,36	11,9 ± 0,4	45	45
K, mg	2388 ± 109	428 ± 13	731 ± 45	NE	NE
Na, mg	1824 ± 6	130,7 ± 0,4	160,9 ± 0,8	2300	2300
Se, µg	63,5 ± 18,5	82 ± 10	55,0 ± 6,1	400	400
Zn, mg	13,05 ± 0,28	ND	5,06 ± 0,07	40	40

a. Quantidade diária recomendada pelo fabricante para os suplementos: SP-M = 645 g; SP-SW = 80 g; SP-MT = 120 g; b. UL para indivíduos entre 19 e 50 anos de idade; c. UL para indivíduos com mais de 51 anos (INSTITUTE OF MEDICINE, 2006); d. Não detectado; e. Valor não estabelecido.

Fonte: Autor da dissertação.

6.3 Limites de detecção e de quantificação dos elementos nos suplementos

Na Tabela 6.11 são apresentados os limites de detecção e de quantificação determinados para os suplementos dietéticos multivitamínico MVM-BN e proteico SP-MT, utilizando as equações 5.2 e 5.3. Os resultados dos limites de detecção indicam que são inferiores às concentrações encontradas nestes suplementos (Tabelas 6.4 e 6.5), o que indica a alta sensibilidade da técnica e viabilidade do uso do procedimento nas análises de suplementos.

As determinações de limites de detecção e quantificação do elemento Hg foram realizadas para todas as amostras de suplementos e cujos resultados estão na Tabela 6.12. O fotopico utilizado para os cálculos foi o de 77,34 keV do ¹⁹⁷Hg.

Tabela 6.11 – Valores de limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) dos elementos na análise de suplementos multivitamínico e proteico.

Elemento	Pico de energia (keV)	Multivitamínico MVM-BN		Proteico SP-MT	
		LD	LQ	LD	LQ
As, ng g ⁻¹	559,10	39	119	31	95
Br, ng g ⁻¹	776,52	360	1080	25	79
Ca, µg g ⁻¹	159,40	145	445	111	338
Cd, µg g ⁻¹	527,91	0,4	1,1	2,6	7,9
Co, ng g ⁻¹	1173,24	8,9	28	2,3	6,7
Cr, ng g ⁻¹	320,08	181	550	73,3	222
Cs, ng g ⁻¹	795,85	191	577	4,0	12,5
Cu, µg g ⁻¹	1345,77	64	194	64	191
Fe, µg g ⁻¹	1099,25	25	48	1,6	4,6
Hg, µg g ⁻¹	77,34	0,8	2,4	0,4	1,3
K, µg g ⁻¹	1524,58	26	81	150	455
La, ng g ⁻¹	1596,21	15,2	47	13,6	41,2
Mo, µg g ⁻¹	739,58	9,5	29	0,4	1,0
Na, µg g ⁻¹	1368,60	0,5	1,5	1,2	3,7
Rb, µg g ⁻¹	1076,60	*	*	0,3	0,8
Sb, ng g ⁻¹	564,24	16,3	49	10,5	32
Sc, ng g ⁻¹	889,28	4,4	10,4	0,2	0,7
Se, ng g ⁻¹	264,66	186	468	46	141
Zn, µg g ⁻¹	1115,55	0,7	2,0	0,1	0,2

* indica que não foi determinado.

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 6.12 – Limite de detecção e de quantificação do Hg em suplementos dietéticos. Resultados em µg g⁻¹.

Amostra	LD	LQ
MVM-CTA	0,7	2,1
MVM-CMZ	0,4	1,2
MVM-SPD	0,6	0,9
MVM-BN	0,8	2,4
SP-M	0,4	1,3
SP-SW	0,3	1,1
SP-MT	0,4	1,2

Fonte: Autor da dissertação.

Usando os limites de detecção dos elementos, foi calculada a ingestão dos elementos tóxicos a qual foi comparada com a ingestão máxima tolerável.

Para avaliar se esta ingestão mínima dos elementos tóxicos está abaixo dos valores de ingestão máxima tolerável estipulados pela Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO, 2010), foi feito o cálculo utilizando-se os valores levando em consideração o peso médio do brasileiro com mais de 19 anos que, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2009), é de 66,38 kg. Calculou-se valores da ingestão máxima tolerável dos elementos considerados tóxicos As, Cd e Hg que foram estudados neste trabalho e estes dados encontram-se na Tabela 6.13. No caso do mercúrio foi adotado o valor de ingestão máxima semanal tolerável de 1,6 µg/kg de massa corporal que foi estipulado para Hg na forma de metilmercúrio inorgânico pela JECFA (FAO/WHO, 2010).

Foi calculada a ingestão máxima tolerável por grama dos suplementos cujos resultados estão na Tabela 6.14 juntamente com os valores de limite de detecção.

Tabela 6.13 – Valor de ingestão máxima tolerável diária para os elementos tóxicos levando em consideração o peso médio do brasileiro de 66,38 kg e idade acima de 19 anos

Elemento	Ingestão máxima tolerável, µg dia ⁻¹
As	132,8
Cd	55,3
Hg	15,2

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 6.14 – Ingestão dos elementos tóxicos para o suplemento multivitamínico e proteico, e o valor de limite de detecção (LD)

Elemento	Multivitamínico		Proteico	
	LD ^a , µg g ⁻¹	Ingestão máxima tolerável, µg g ⁻¹	LD ^a , µg g ⁻¹	Ingestão máxima tolerável, µg g ⁻¹
As	0,039	126,5	0,031	0,11
Cd	0,4	52,7	2,6	0,46
Hg	0,8	14,5	0,4	0,003

a. Valor de limite de detecção.

Fonte: Autor da dissertação.

Comparando os valores de limite de detecção com os dados de ingestão máxima tolerável, verifica-se que para o Cd e Hg no SP-MT, estes dados são inferiores aos seus limites de detecção, o que indica que para se determinar estes dois elementos, seria necessária uma técnica analítica mais sensível.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que a análise por ativação com nêutrons é uma ferramenta bastante adequada para determinação de elementos em suplementos dietéticos. Os resultados obtidos nos materiais de referência certificados demonstraram a sua qualidade analítica com relação a exatidão e precisão.

Nas análises dos suplementos dietéticos foi possível a determinação dos elementos As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Mo, Na, Rb, Sb, Sc, Se e Zn. Os limites de detecção dos elementos indicaram a alta sensibilidade da técnica.

Nos suplementos dietéticos multivitamínicos, as massas dos comprimidos de um mesmo suplemento não indicaram uma ampla variabilidade bem como as massas médias foram bastante concordantes com as massas indicadas no rótulo.

Os resultados das análises de suplementos multivitamínicos permitiram concluir que as quantidades de elementos encontrados nos suplementos multivitamínicos estão dentro dos valores apresentados nos rótulos de acordo com a resolução RDC Nº 360. Já para os suplementos proteicos, foi verificada a não concordância entre valores determinados com os valores dos rótulos dos produtos para alguns elementos.

As massas dos elementos calculadas para cada dose foram comparadas com o percentil de valor diário (% VD). A partir destes resultados foi possível concluir que ingerindo apenas uma dose do suplemento diariamente, os elementos Cr nos suplementos MVM-SPD e SP-MT e o elemento Se no suplemento SP-MT ultrapassam seus valores recomendados de ingestão diária. Para demais elementos determinados nos suplementos, as quantidades presentes ficaram abaixo do % VD.

Usando o dado da quantidade de ingestão de suplemento sugerida pelo produtor, foi calculada a ingestão diária de elementos para verificar se as quantidades não ultrapassaram os valores de limite superior tolerável (UL) para o caso dos indivíduos com mais de 19 anos de idade. Para os elementos Ca, Fe, Mo, Na, Se e Zn as quantidades calculadas não ultrapassaram os valores de UL. Entretanto para o elemento Na no suplemento proteico SP-M foi obtido o valor da ingestão diária bastante próximo ao UL.

Com relação aos elementos tóxicos As, Cd e Hg no suplemento multivitamínico MVM-BN, foi verificado que as suas concentrações estão abaixo dos limites de detecção, e estão abaixo dos valores de ingestão máxima tolerável estipulados pela JECFA. Também para o suplemento proteico SP-MT, a concentração do elemento As está abaixo do limite de detecção. No entanto para Cd e Hg, os limites de detecção são superiores aos valores de ingestão máxima tolerável para estes elementos.

APÊNDICE A – Limite superior tolerável de ingestão para os elementos determinados essenciais

Tabela A.1 – Limite superior tolerável de ingestão para os elementos determinados essenciais. Valores em mg dia⁻¹. (continua)

Estágio de vida	UL								
	Ca	Cr	Cu	Fe	K	Mo	Na	Se	Zn
Recém-nascidos									
0 – 6 meses	1000	NE ^a	NE	40	NE	NE	NE	0,045	4
7 – 12 meses	1500	NE	NE	40	NE	NE	NE	0,060	5
Crianças									
1 – 3 anos	2500	NE	1	40	NE	0,3	1500	0,090	7
4 – 8 anos	2500	NE	3	40	NE	0,6	1900	0,150	12
Homens									
9 – 13 anos	3000	NE	5	40	NE	1,1	2200	0,280	23
14 – 18 anos	3000	NE	8	45	NE	1,7	2300	0,400	34
19 – 30 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
31- 50 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
51 – 70 anos	2000	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
>70 anos	2000	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40

a. Valor não estabelecido.

(continuação)

Estágio de vida	UL								
	Ca	Cr	Cu	Fe	K	Mo	Na	Se	Zn
Mulheres									
9 – 13 anos	3000	NE ^a	5	40	NE	1,1	2200	0,280	23
14 – 18 anos	3000	NE	8	45	NE	1,7	2300	0,400	34
19 – 30 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
31 – 50 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
51 – 70 anos	2000	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
>70 anos	2000	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
Gestantes									
14 – 18 anos	3000	NE	8	45	NE	1,7	2300	0,400	34
19 – 30 anos	2500	NE	8	45	NE	2,0	2300	0,400	40
31 – 50 anos	2500	NE	8	45	NE	2,0	2300	0,400	40
Lactantes									
14 – 18 anos	3000	NE	8	45	NE	1,7	2300	0,400	34
19 – 30 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40
31 – 50 anos	2500	NE	10	45	NE	2,0	2300	0,400	40

a. Valor não estabelecido.

Fonte: INSTITUTE OF MEDICINE, 2006

APÊNDICE B – Características dos suplementos dietéticos analisados

Tabela B.1: Código e principais componentes dos suplementos dietéticos analisados

Código	Principais componentes
MBM-BN	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , vitaminas C, E, A, D, B1, B2, B12, B6, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, pantotenato de cálcio, fosfato tricálcico, fosfato dicálcio, óxido de magnésio, sulfato ferroso, óxido de zinco, sulfato de manganês, selenato de sódio e iodeto de potássio
MVM-CMZ	Carbonato de cálcio, óxido de magnésio, estearato de magnésio, sulfato de zinco e vitamina D3 (Colecalciferol)
MVM-CTA	Vitaminas A (betacaroteno + retinol), B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B5 (ácido pantotênico), B6 (Piridoxina), B9 (Ácido fólico), B12 (Cianocobalamina), C, D, E, H (Biotina), K, pantotenato de cálcio, carbonato de cálcio, fosfato dibásico de cálcio, óxido de zinco, molibdato de sódio, selenato de sódio, sulfato de cobre, sulfato de manganês, óxido de magnésio, cloreto hexaidratado de cromo, iodeto de potássio, fumarato ferroso
MVM-SPD	Vitaminas A, C, D, E, B1, B2, B3, B6, B12, K, ácido pantotênico, biotina, ácido fólico, Ca, Mg, Fe, Cu, I, Zn, Mn, Se, Cr, Mo
SP-M	Proteína concentrada do soro do leite, caseína, maltodextrina, clara de ovo desidratada, proteína hidrolisada do trigo, colágeno desidratado, vitaminas A, B1, B2, B6, B12, D, E, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, carbonato de cálcio, óxido de magnésio, cálcio arginatoquelato, Fe, Zn, Mn, Cu, I, Mo, Cr e Se.
SP-MT	Proteína isolada do soro do leite, vitaminas A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D (colecalfiferol), E, H, pirofosfato férrico, sulfato de zinco, fosfato tricálcico, sulfato de manganês, sulfato de cobre, iodeto de potássio, molibdato de sódio, picolinato de cromo, selenito de sódio.
SP-SW	Proteína isolada do soro do leite, vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, B12, C, D, E, biotina, ácido fólico, Ca, P, Fe, Mg, Mn, Mo, Cr, I, Se e F

Fonte: Autor da dissertação.

Tabela B.2: Códigos dos suplementos com as suas formas e dados dos rótulos. (As massas desta tabela são dadas na base úmida)

Suplemento	Forma	Dose indicada no rótulo	Quantidade diária do suplemento recomendada pelo produtor
MVM-BN	Comprimido	1 comprimido ou 1,05 g	1 comprimido ou 1,05 g
MVM-CMZ	Comprimido	1 comprimido ou 1,30 g*	1 a 3 comprimidos ou 1,30 a 3,90 g
MVM-CTA	Comprimido	1 comprimido ou 1,32 g	1 comprimido ou 1,32 g
MVM-SPD	Comprimido	1 comprimido ou 1,23 g	1 comprimido ou 1,235 g
SP-M	Pó	5 conchas ou 129 g	5 porções ou 645 g
SP-MT	Pó	3 conchas ou 60 g	1 a 2 porções ou 60 a 120 g
SP-SW	Pó	2 conchas ou 40 g	1 a 2 porções ou 40 a 80 g

* Valor obtido experimentalmente, pois no rótulo do suplemento MVM-CMZ não foi informado a massa do comprimido pelo produtor.

REFERÊNCIAS

ABARCA, A.; CANFRANC, E.; SIERRA, I.; MARINA, M.L. A validated flame AAS method for determining magnesium in a multivitamin pharmaceutical preparation. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis***, v.25, p. 941-945, 2001.

ABE-MATSUMOTO, L.T.; SAMPAIO, G.R.; BASTOS, D.H.M. Suplementos vitamínicos e/ou minerais: regulamentação, consumo e implicações à saúde. ***Cadernos de Saúde Pública***, v. 31, n.7, p.1371-1380, 2015.

ABIFISA, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR FITOTERÁPICO, SUPLEMENTO ALIMENTAR E DE PROMOÇÃO DA SAÚDE. **Suplementos: os brasileiros adoram.** Disponível em <<http://www.abifisa.org.br/noticia/02-12-2015-suplementos-os-brasileiros-adoram>>. Acesso em: 09 mar 2016.

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados:** Resolução RDC-360, 2003.

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução de Diretoria Colegiada. Regulamento técnico sobre alimentos para atletas:** Resolução RDC-18, 2010

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regulamento Técnico MERCOSUL Sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos:** Resolução RDC-42, 2013.

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais.** Disponível em <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8989-1-0%5D.PDF>>. Acesso em: 01 jun 2016.

APPLEGATA, E.A.; GRIVETTI, L.E. Search for competitive edge: a history of dietary fats and supplements. ***The Journal of Nutrition***, v. 127, n.5, p.869S-873S, 1997.

ASHAR B.H.; ROWLAND-SEYMOUR, A. Advising patients who use dietary supplements. ***The American Journal of Medicine***, v.121, n.2, p.91-97, 2008.

AVULA, B.; WANG, Y.; DUZGOREN-AYDIN, N.S.; KHAN, I.A. Inorganic elemental composition of commercial multivitamin/mineral dietary supplements: application of collision/reaction cell inductively coupled-mass spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 127, p.54-62, 2011.

BAILEY, R.L.; FAKHOURI, T.H.; PARK, Y.; DWYER, J.T.; THOMAS, P.R.; GAHCHE, J.J.; MILLER, P.E.; DODD, K.W.; SEMPOS, C.T.; MURRAY, D.M. Multivitamin-mineral use is associated with reduced risk of cardiovascular disease mortality among women in the United States. **Journal of Nutrition**. v. 114, p. 572-578, 2016.

BERNHOF, R.A. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. **Journal of Environmental and Public Health**. v. 2012, article ID 460508, 2012.

BERGER, M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally? **Clinical Nutrition Journal**. v. 24, p. 172-183, 2005.

BODE, P. **Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory**. 1996. Tese (Doutorado) – Interfaculty Reactor Institute, The Netherlands.

BRASIL. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico para suplementos vitamínicos e ou de minerais, constante do anexo desta portaria. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, DF, 15 jan. 1998. Disponível no site: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA_32_1998.pdf/551775c4-9fc2-4f62-bb62-c7ceea757476>. Acesso em 20/jan/2017>.

BRINGEL, A. I.; ANDRADE, K.F.S.; SILVA JUNIOR, N.D.; SANTOS G.G. Suplementação nutricional de cálcio e vitamina D para a saúde óssea e prevenção de fraturas osteoporóticas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.18, n.4, p.353-358, 2014.

CHANDRA, R.K. Effect of vitamin and trace-element supplementation on cognitive function in elderly subjects. **Nutrition**, v.17, p.709-712, 2001.

CORRIGAN, B.; KAZLAUSKAS, R. Medication use in athletes select for doping control at the Sydney Olympics (2000). **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 13, n. 1, p. 33- 40, 2003

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5. ed. Barueri: Manole, 2016.

CURRIE, L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. ***Analytica Chimica Acta***, v. 391, p.127-134, 1999.

DE SOETE, D.; GILBELS, R.; HOSTE, J. ***Neutron activation analysis***. London, Wiley-Interscience, 1972.

DEVRIES, M.C.; PHILLIPS, S.M. Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey. ***Journal of Food Science***. v. 80, p. A8-A15, 2015.

DOLAN, S.P.; NORTRUP, D.A.; BOLGER, P. M.; CAPAR, S.G. Analysis of dietary supplements for arsenic, cadmium, mercury, and lead using inductively coupled plasma mass spectrometry. ***Journal of Agriculture and Food Chemistry***, v.51, p.1307-1312, 2003.

DOSSA, R.A.M; ATEGBO, E.A.D.; VAN RAAIJ, J.M.A.; DE GRAAF. C.; HAUTVAST, J.G.A.J. Effects of multivitamin – multimineral supplementation on appetite of stunted young Beninese children. ***Appetite***, v.39, p.111-117, 2002.

DUBICK, M.A. Dietary supplements and health AIDS – A critical evaluation: Part 2 – Macronutrients and fiber. ***Journal of Nutrition Education***, v.15, p.88-93, 1983.

DUBICK, M.A.; RUCKER, R.B. Dietary supplements and health aids – A critical evaluation; Part 1- Vitamins and Minerals. ***Journal of Nutrition Education***, v.15, p.47-53, 1983.

DWYER, J.T.; ALLISON, D.B.; COATES, P.M. Dietary supplements in weight reduction. ***Journal of the American Dietetic Association***, v 105, p.S80-S86, 2005.

EL-KADIKI, A.; SUTTON, A. Role of multivitamins and mineral supplements in preventing infections in elderly people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. ***British Medical Journal***, v.330, p.871-874, 2005.

EXPERT GROUP ON VITAMINS AND MINERALS. ***Safe upper levels for vitamins and minerals***. Food Standards Agency, 2003

FAO/WHO, EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. Summary report of the seventy-second meeting of JECFA. Roma, 2010.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION: **U.S. Department of Health & Human Services**. Disponível em <http://www.fda.gov/aboutfda/transparency/basics/ucm195635.htm>. Acesso em 27 dez 2016.

FRIEDLANDER, G.; KENNEDY, J.W.; MILLER, J.M. **Nuclear and radiochemistry**. 2nd ed. New York: John Wiley, p.79, 1964.

GARCÍA-RICO, L., LEYVA-PEREZ, J., JARA-MARINI, M.E. Content and daily intake of cooper, zinc, lead, cadmium and mercury from dietary supplements in Mexico. **Food and Chemical Toxicology**. v.45, p.1599-1605, 2007.

GODT, J., SCHEIDIG, F., GROSSE-SIESTRUP, C., ESCHE, V., BRANDENBURG, P., REICH, A., GRONEBERG, D.A. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. **Journal of Occupational Medicine and Toxicology**. V. 1, p. 1-22, 2006.

GOSTON, J.L.; CORREIA, M.I.T.D. Suplementos nutricionais: Histórico, classificação, legislação e uso em ambiente esportivo. Revista Nutrição em Pauta, Edição setembro/outubro 2009. Disponível em http://www.janainagoston.com/artigos/09__ESPORTE_2a_via.pdf. Acesso em 27 dez 2016.

HAMIDATOU, L.; SLAMENE, H.; AKLAL, T.; ZOURANEN, B. Concepts, instrumentation and techniques of neutron activation analysis. In F. Kharfi, Ed., **Imaging and Radioanalytical Techniques in Interdisciplinary Research-Fundamentals and Cutting Edge Applications**, InTech, Rijeka, p. 141-178, 2013.

HIGHT S.C.; ANDRESON, D.L.; CUNNINGHAM, W.C.; CAPAR, S.G.; LAMONT, W.H.; SINEX, S.A. Analysis of dietary supplements for nutritional, toxic, and other elements. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.6, p.121-139, 1993.

IAEA. Use of research reactors for neutron activation analysis. International Atomic Energy Agency, IAEA-TECDOC-1216, **Report of an Advisory Group meeting held in Vienna**, 22-26, June, 1998, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Introduction to dietary reference intakes**. In: Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium and carotenoids, cap. 1, p. 21-34, 2001.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements**. Washington, DC: The National Academies Press, 2006

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Antropometria e estado nutricional de crianças adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro, 2009.

KALER, S.G. Inborn errors of copper metabolism. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 113, p. 1745-1754, 2013.

KIM, S.H.; HAN, J.H.; KEEN, C.L. Vitamin and mineral supplement use by healthy teenagers in Korea: motivating factors and dietary consequences. **Nutrition**, v.17, p. 373-380, 2001.

KRAWCZYK, M. Determination of macro and trace elements in multivitamin dietary supplements by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry with slurry sampling. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 88, p. 377-384, 2014.

KREJCOVÁ A, KAHOUN D, CERNOHORSKY T, POUZAR M. Determination of macro and trace elements in multivitamins preparations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with slurry sample introduction. **Food Chemistry**, v. 98 p. 171-178, 2006.

KREJCOVA, A.; LUDVIKOVA, I.; CERNOHORSKY, T.; POUZR, M. Elemental analysis of nutritional preparations by inductively coupled plasma mass and optical emission spectrometry. **Food Chemistry**, v.132, p. 588-596, 2012.

LAWSON, K.A.; WRIGT, M.E.; SUBAR, A, MOUW, T.; HOLLENBERCK, A.; SCHATZKIN, A.; LEITZMANN, M.F. Multivitamin use and risk of prostate cancer in the National Institutes of Health-AARP and Health Study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 99 p. 754-764, 2007.

LIM, T.H., SARGENT 3rd, T.; KUSUBOV, N. Kinetics of trace element chromium (III) in the human body. **American Journal of Physiology**, v. 244, p. R445-R454, 1983.

MARRERO, J.; REBAGLIATI, R.J.; LEIVA, E.; LONDONIO, A.; SMICHOWSKI, P. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of fifteen elements in dietary supplements: Are the concentrations declared in the labels accurate? **Microchemical Journal**, v. 108, p. 81-86, 2013.

MAUGHAN, R. J.; BURKE, L. M. **Nutrição esportiva**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

MURPHY, S.P.; WHITE, K.K.; PARK, S.; SHARMA, S. Multivitamin-multimineral supplements' effect nutrient intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 280S-284S, 2007.

NEPA, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Universidade Estadual de Campinas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos: Taco**. Campinas, 2004.

NIST. National Institute of Standards and Technology, Standard reference material, Constituent Elements in Coal Fly Ash 1633b, USA (2004).

NIST. National Institute of Standards and Technology, Standard reference material, Trace Elements in Coal (Bituminous) 1632d, USA (2014).

PADOVANI, R.M.; AMAYA-FARFÁN, J.; COLUGNATI, F.A.B.; DOMENE, S.M.A. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutrição**, v. 19(6), p. 741-760, 2006.

PARRY, S.J. **Handbook of neutron activation analysis**, Surrey, Viridian Publishing, 2003.

PAUL, R.L. Determination of arsenic in food and dietary supplement standard materials by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.297, p. 365-370, 2013.

PERES, P.M.; KOURY, J.C. Zinco, imunidade, nutrição e exercício. **CERES Nutrição e Saúde**, v.1, p. 9-18, 2006.

RATNAIKE, R.N. Acute and chronic arsenic toxicity. **Postgraduate Medical Journal**, v. 79, p. 391-396, 2003.

REILLY, C. **Selenium in food and health**. Londres: Blackie Academic and Professional, 1996.

REIS, R.A.S.; SAIKI, M. Elemental characterization of mineral supplements by neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 281, p. 27-30, 2009.

SPYROU, N.M. Neutron activation analysis challenges: Problems and applications in biomedical and other areas. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 239, n. 1, p. 59-70, 1999.

TAKEUCHI, T.; SHINOBI, M.; MORI, J. Volatilization losses of mercury in neutron activation analysis. ***Journal of Radioanalytical Chemistry***, v. 53, p. 81-88, 1979.

VEATCH, A.E.; BROCKMAN, J.D.; SPATE, V.L.; ROBERTSON, J.D.; MORRIS, J.S. Selenium and nutrition: The accuracy and variability of selenium content in commercial supplements. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 264, p. 33-38, 2005.

WAHEED, S.; RAHMAN, S.; SIDDIQUE, N.; FAIZ. Calcium supplements as additional source of trace elements in health and disease. Part 1: adequacy and safety of chelated calcium supplements. ***Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry***, v. 298, p. 1453-1461, 2013.

WEAVER, C.M. The growing years and prevention of osteoporosis in later life. ***Proceedings of the Nutrition Society***. v. 59, p. 303-306, 2000.

WHANGER, P.D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. ***The Journal of the American College of Nutrition***, v. 21, n. 3, p. 223-232, 2002.

WHO, Joint; CONSULTATION, FAO Expert. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. ***World Health Organization Technical Report Series***, v. 916, n. I-VIII, 2003.

WHO, Joint; CONSULTATION, FAO Expert. Human vitamin and mineral requirements, Report. ***Expert Consultation***, n. 7, 2001.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. ***Elementos traço na nutrição e saúde humana***. São Paulo: Roca, 1998.

WILDISH, D.E. An evidence based approach for dietitian prescription of multiple vitamins with minerals. ***Journal of the American Dietetic Association***. v. 104, n. 5, p. 779-786, 2004.

WILLIAMS, M.H. Introdução à nutrição para saúde, condicionamento físico e desempenho esportivo. In: WILLIAMS, M. H. (Ed.). **Nutrição para saúde, condicionamento físico e desempenho esportivo**. São Paulo, 2002. p. 13-24.

YETLEY, E.A. Multivitamin and multimineral dietary supplements: definitions, characterization, bioavailability, and drug interactions. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 85, p. 269S-276S, 2007.

ZUCCHI, O.L.A.D.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; SALVIO NETO, H. Application of X-ray fluorescence to determination of metals in commercial tablets containing digoxin. **Journal of Trace and Microprobe Techniques**, v.20, n.1, p. 141-149, 2002.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil
<http://www.ipen.br>

**O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada
à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela
Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do
Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.**