Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Determinação de vitaminas antioxidantes em
suplementos e avaliação da rotulagem nutricional**

Lucile Tiemi Abe-Matsumoto

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Nutrição em Saúde Pública para obtenção do
título de Doutor em Ciências**

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

**Orientadora: Profa. Dra. Deborah Helena
Markowicz Bastos**

**São Paulo
2016**

Determinação de vitaminas antioxidantes em suplementos e avaliação da rotulagem nutricional

Lucile Tiemi Abe-Matsumoto

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde
Pública da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências**

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

**Orientadora: Profa. Dra. Deborah Helena
Markowicz Bastos**

Versão corrigida

**São Paulo
2016**

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese.

Dedicatória

À Sofia, minha filha do coração, meu maior presente

Ao Marcos, meu marido, grande amor da minha vida

Aos meus pais Izuo e Ritsuko, meus maiores tesouros

Amo infinitamente ...

Agradecimentos

À querida Professora Dra Deborah Bastos, pela orientação do trabalho, pela confiança em mim depositada e por fornecer todas as condições para que este trabalho fosse executado. Obrigada pelas correções, pelos conselhos, pela amizade, pelos ensinamentos e principalmente por me permitir a realização deste grande sonho. Minha gratidão e admiração serão eternas.

Às Diretoras Deise Marsiglia e Regina Minazzi, do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo e apoio nesta importante etapa profissional.

À Dra Sabria Aued-Pimentel e à Profa Dra Ligia Muradian por terem contribuído com valiosas correções e sugestões na qualificação do projeto.

À Dra Geni Sampaio, pelo constante auxílio na realização deste trabalho. Esta tarefa teria sido muito mais difícil sem você por perto. Às Dras Liania e Rosana, sempre dispostas a ajudar com bom humor contagiante. É maravilhoso trabalhar em um ambiente harmonioso, e eu logo entendi por que vocês três são chamadas de “anjos do laboratório”.

Aos membros da banca examinadora, Profa Dra Ligia Muradian, Dra Sabria Aued, Dra Geni Sampaio, Dra Liania Luzia e Profa Dra Flavia Mori por prontamente aceitarem o convite e por contribuírem com correções e sugestões para a melhoria do trabalho.

À Simone, minha amiga-irmã, pela companhia nesta jornada, pela amizade, pelo apoio, pelas valiosas dicas no trabalho, pela companhia dos almoços e cafés.

Aos meus sogros, Sr Shinobu e D Julia, por me tratarem como filha e me receberem na casa de vocês com tanto carinho. Especialmente à D Julia, por estar sempre de prontidão para nos ajudar, e principalmente por tantos jantares deliciosos. Tenho muita sorte de tê-la sempre por perto; chega a ser uma ofensa chamá-la de sogra!

Aos meus pais, Izuo e Ritsuko, que mesmo distantes fisicamente, estão sempre presentes em pensamento, me apoiando, se preocupando e torcendo para que tudo corra bem. Se hoje eu alcancei algum mérito, foi graças à educação e aos estudos que vocês me proporcionaram com tanto esforço. Vocês são os principais responsáveis pelas minhas conquistas!

Ao meu marido Marcos, meu maior incentivador, apoiou-me em todos os momentos, de todas as formas possíveis, tentando manter-me calma e tranquila (difícil né?!). Obrigada pelo carinho, pela cumplicidade, pelas palavras de otimismo e incentivo, tão essenciais neste período. Esta conquista também é sua, meu amor!

À minha filha Sofia, pela torcida, pela companhia e por trazer tantas alegrias para o meu dia-a-dia. Talvez não tenha compreendido porque a mamãe demorou tanto para escrever uma tese se para você é sempre tão simples escrever uma história, um livro até. Filha, você é o meu maior orgulho!

À todos os amigos do Laboratório de Bromatologia, do Laboratório de Bioquímica e afins em especial, Camila, Bianca, Cíntia, Amanda, Marcelo, Julia ... por tornarem o dia a dia mais alegre e descontraído.

Um agradecimento especial à Dani Moura e Aurea Trevisan, que me auxiliaram na familiarização com os cromatógrafos no início do trabalho e ao Augusto Carioca pelas dúvidas esclarecidas e pelas revisões das análises estatísticas.

À todos os funcionários do Departamento de Nutrição e da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Saúde pública da USP, especialmente à Alessandra, Diego, Vânia, Ulisses, Marilene e Ângela, sempre solícitos em nos atender.

À Luz Marina e Helena Yano, do Centro de Medicamentos do Instituto Adolfo Lutz, por disponibilizarem o titulador potenciométrico para a realização das análises de vitamina C.

À todos os amigos e colegas do Núcleo de Química, Física e Sensorial do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz: Deise, Regina, Sabria, Rejane, Márcia, Cássia, Jussara, Cristiane, Maria, Emy, Dola, Maristela, Nelson, Mahyara, Viviane, Jacira, Luís, Edson, Claudio, Solange, Maritânia, Verinha, Jô, Beth, Sandra, Deucélia, Eliana, e à todos aqueles que em algum momento me apoiaram com palavras de otimismo e incentivo.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro ao projeto – Processo n. 2013/23006-4.

À Deus, por guiar-me sempre para o melhor caminho, por presentear-me com essas pessoas maravilhosas em minha jornada, permitindo-lhes que cada uma à sua maneira contribuísse para a realização deste trabalho.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada, de coração!

Abe-Matsumoto, L.T. Determinação de vitaminas antioxidantes em suplementos e avaliação da rotulagem nutricional [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2016.

Resumo

Introdução: Diante das mudanças nos hábitos de consumo alimentar da população brasileira, suplementos vitamínicos e alimentos enriquecidos são veículos comumente empregados para atender as necessidades de ingestão de micronutrientes. A diversidade de suplementos vitamínicos comercializados atualmente leva à necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos de fácil execução e alta produtividade. Informações confiáveis sobre os teores de vitaminas poderão ser obtidas somente com métodos analíticos validados. **Objetivos:** Validar metodologias analíticas e avaliar o teor de vitaminas antioxidantes em suplementos adquiridos no comércio do município de São Paulo - Brasil, o efeito do armazenamento nestes compostos e confrontar os valores analisados com os valores declarados na rotulagem. **Métodos:** As metodologias analíticas para determinação de vitaminas antioxidantes por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) e de vitamina C por titulação potenciométrica foram validadas para as matrizes sólidas, oleosas e líquidas de suplementos vitamínicos. A estabilidade das vitaminas foi avaliada a cada 6 meses durante 12 meses de armazenamento e a avaliação da rotulagem foi realizada de acordo com as legislações vigentes no Brasil. **Resultados:** Para os métodos cromatográficos, os limites de detecção (LDs) e de quantificação (LQs) variaram entre 0,3 e 4,3 µg/mL, e entre 0,5 e 14,0 µg/mL respectivamente. As recuperações dos padrões adicionados nas matrizes variaram entre 92 % e 109 % e entre 86 % e 108 % no material de referência. A repetitividade foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), apresentando valores entre 0,2 % e 9,6 %. Para a determinação de vitamina C pelo método potenciométrico, o LD e o LQ foram respectivamente 1 mg e 3 mg; a recuperação no material de referência foi de 99,8 % e a precisão variou entre 0,4 e 3,9 %. Das 57 amostras avaliadas, 59 % e 35 % apresentaram teores de vitaminas A e E respectivamente, abaixo dos valores declarados no rótulo; por outro lado, 20 % das amostras apresentaram teores de vitamina E acima dos valores declarados. Em relação aos teores de vitamina C, 60 % das amostras estavam de acordo com os valores declarados. O estudo da estabilidade demonstrou degradação significativa das vitaminas A, E e C em aproximadamente 90 % das amostras com 12 meses de armazenamento. Na avaliação da rotulagem dos suplementos vitamínicos, 47 % das amostras apresentaram uma ou mais irregularidades. **Conclusão:** Os métodos propostos se mostraram adequados para análise de

diferentes matrizes de suplementos vitamínicos. Os resultados das análises de vitaminas nestes produtos mostraram a necessidade urgente de monitoramento em conjunto com ações de fiscalização, pois verificou-se que a maioria das amostras não atenderam a legislação, principalmente quanto aos teores declarados na informação nutricional da rotulagem. A sobredosagem de vitaminas pode ser necessária para manter os teores declarados durante o armazenamento, porém, a quantidade adicional de vitamina a ser incluída no suplemento deve estar dentro de limites seguros e depende de cada amostra, pois além da matriz, diversos fatores relacionados aos compostos e à embalagem também podem influenciar na estabilidade das vitaminas.

Palavras-chave: Vitaminas, suplementos, validação, rotulagem nutricional, legislação sobre alimentos.

Abe-Matsumoto, L.T. [Determination of antioxidant vitamins and nutritional labelling evaluation of supplements] [thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2016. Portuguese.

Abstract

Introduction: In the face of changes in food consumption patterns of the population, vitamin supplements and fortified foods are vehicles commonly used to meet the micronutrient consumption needs. The diversity of vitamin supplements currently commercialized leads to the need to develop simple analytical methods with high productivity. Reliable information about vitamin levels may be obtained only with validated analytical methods. **Objective:** The validation of analytical methodologies to determine the content of antioxidant vitamins in supplements acquired in trade of São Paulo – Brazil, the effect of storage in these compounds, and to confront the analyzed values with the declared values on the label. **Methods:** The analytical methodologies for determination of antioxidant vitamins by high performance liquid chromatography coupled with diode array detector (HPLC-DAD) and vitamin C by potentiometric titration were validated for solid, oily and liquid matrices of vitamin supplements. The stability of vitamins was evaluated every 6 months in a period of 12 months of storage and evaluation of the labeling was performed according to the current Brazilian legislation. **Results:** For the chromatographic methods, the limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) ranged between 0.3-4.3 g/mL and between 0.5 and 14.0 mg/mL respectively. The recoveries of spiked samples ranged between 92-109 % and between 86-108 % from the reference material. The repeatability was calculated by the relative standard deviation (RSD), with values between 0.2-9.6 %. For the determination of vitamin C by a potentiometric method, the LOD and LOQ were respectively 1 and 3 mg; recovering the reference material was 99.8 % and the accuracy ranged between 0.4-3.9 %. From the 57 samples tested, 59 % and 35 % had vitamin levels A and E respectively, below the values declared on the label; On the other hand, 20 % of the samples had levels of vitamin E above declared values. Regarding the content of vitamin C, 60 % of the samples were in agreement with the reported values. The stability study demonstrated significant degradation of vitamins A, E and C in approximately 90 % of the samples with 12 months of storage. The evaluation of vitamin supplement labels showed 47 % of samples with one or more irregularities. **Conclusion:** The proposed methods were suitable for analysis of different matrices of vitamin

supplements. The analysis of vitamins in supplements showed the urgent need for monitoring in conjunction with enforcement actions, as it was found that most of the samples did not meet the requirements established by the Brazilian legislation, especially for the levels declared in the nutrition label information. Overage of vitamin added in supplements may be necessary to maintain the declared contents during storage, however, the additional amount must be included in security level and depends on each sample, as well as the matrices, several factors related to the compounds and packaging may also influence the stability of vitamins.

Keywords: Vitamins, supplements, validation, nutrition labelling, food legislation.

APRESENTAÇÃO DA TESE

A tese está estruturada em formato de artigos científicos, de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação Nutrição em Saúde Pública da FSP-USP, contemplando os seguintes manuscritos:

PRIMEIRO ARTIGO

Título: Suplementos vitamínicos e/ou minerais: Regulamentação, consumo e implicações à saúde (Publicado no periódico Cadernos de Saúde Pública, vol.31(7):1371-80,2015).

SEGUNDO ARTIGO

Título: Validação e aplicação de métodos cromatográficos para determinação de vitaminas em suplementos (Submetido ao periódico Revista do Instituto Adolfo Lutz)

TERCEIRO ARTIGO

Título: O conteúdo de vitaminas antioxidantes declarado nos rótulos de suplementos comerciais é fidedigno?

QUARTO ARTIGO

Título: Estabilidade das vitaminas A, E e C em suplementos vitamínicos do comércio da cidade de São Paulo

QUINTO ARTIGO

Título: Avaliação da rotulagem de suplementos vitamínicos e minerais comercializados na cidade de São Paulo

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	13
	1.1 VITAMINAS	13
	1.2 SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS	14
2	JUSTIFICATIVA	15
3	OBJETIVOS	17
4	MATERIAIS E MÉTODOS	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5.1	SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS E/OU MINERAIS: REGULAMENTAÇÃO, CONSUMO E IMPLICAÇÕES À SAÚDE	18
5.2	VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS PARA DETERMINAÇÃO DE VITAMINAS EM SUPLEMENTOS	36
	Material complementar	60
	1 - Definições e ilustrações dos suplementos	60
	2 - Fluxograma dos métodos de extração	62
	3 - Curvas analíticas e gráficos de resíduos	64
	4 - Resultados estatísticos da seletividade	69
	5 - Cromatogramas das vitaminas lipossolúveis	73
	6 - Cromatogramas das vitaminas hidrossolúveis	75
5.3	O CONTEÚDO DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES DECLARADO NOS RÓTULOS DE SUPLEMENTOS COMERCIAIS É FIDEDIGNO?	77
	Material complementar	100
	1 – Características das amostras de suplementos	100
	2 – Relatório de análise de vitamina C	102
	3 – Figura representativa dos resultados das análises	103
5.4	ESTABILIDADE DAS VITAMINAS A, E e C EM SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS DO COMÉRCIO DA CIDADE DE SÃO PAULO	104
5.5	AVALIAÇÃO DA ROTULAGEM DE SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE SÃO PAULO	122
6	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
7	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	138
	CURRÍCULO LATTES	

Siglas utilizadas

AI	Adequate Intake (Ingestão Adequada)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BHT	Butil Hidroxi Tolueno
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CE	Comunidade Europeia
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLUE	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência
DAD	Diode Array Detector (Detector de Arranjo de Diodos)
DRI	Dietary Reference Intake (Ingestão Dietética de Referência)
EAR	Estimated Average Requirements (Necessidade Média Estimada)
ER	Equivalentes de Retinol
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation
FDA	Food and Drug Administration
HCl	Ácido Clorídrico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICH	International Conference on Harmonization (Conferência Internacional de Harmonização)
IDR	Ingestão Diária Recomendada
INA	Inquérito Nacional de Alimentação
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IOM	Institute of Medicine
KI	Iodeto de Potássio
KIO ₃	Iodato de Potássio

LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
MVM	Multivitamínico e multimineral
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NIST	National Institute of Standards and Technology
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (Nível de Efeito Adverso Não Observado)
OMS	Organização Mundial de Saúde
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
RDA	Recommended Dietary Allowance (Ingestão Dietética Recomendada)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SRM	Standard Reference Material (Material de Referência Certificado)
UL	Tolerable Upper Intake Level (Limite Superior Tolerável de Ingestão)
α -TE	Equivalentes de α -Tocoferol

1 INTRODUÇÃO

1.1 VITAMINAS

Vitaminas são nutrientes essenciais para a manutenção de uma vida saudável e estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos. São compostos orgânicos que variam amplamente quanto à estrutura química e atividade biológica, desempenhando funções vitais e específicas nas células e nos tecidos do organismo. Podem agir tanto como co-fatores de enzimas em diferentes reações bioquímicas, quanto como antioxidantes/oxidantes, modulando o balanço oxidativo, e até mesmo como hormônios, regulando a expressão gênica (DAMODARAN et al., 2010).

As vitaminas são classificadas, de acordo com sua solubilidade, em dois grupos distintos: lipossolúveis e hidrossolúveis. O primeiro grupo compreende as vitaminas A, D, E e K; entre as hidrossolúveis estão a tiamina (B₁), riboflavina (B₂), piridoxina (B₆), biotina, ácido fólico, niacina, cianocobalamina (B₁₂), ácido pantotênico e ácido ascórbico (vitamina C) (MAHAN e ESCOTT-STUMP, 2010).

A RDC nº 269/2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA/MS) estabeleceu os valores de ingestão diária recomendada (IDR), considerando a necessidade de orientar consumidores e produtores de alimentos sobre os valores recomendados de proteínas, vitaminas e minerais (BRASIL, 2005). A IDR corresponde à quantidade de nutrientes a serem consumidos diariamente para atender as necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia e foram estabelecidos com base nas referências da *Food and Agriculture Organizations of the United Nations* (FAO) e do *Institute of Medicine* (IOM) (BRASIL, 2005; FAO, 2001; IOM, 2001). Além das recomendações de ingestão, o IOM estabelece ainda o limite superior tolerável de ingestão (*tolerable upper intake level/UL*) de alguns micronutrientes. O UL é o valor mais alto de ingestão diária continuada de um nutriente que aparentemente não oferece risco de efeito adverso à saúde para a maioria dos indivíduos de um determinado grupo (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de IDR e UL de vitaminas

Vitamina	Unidade	IDR*	UL**
Vitamina A (a)	µg	600	3000
Vitamina D (b)	µg	5	100
Vitamina C	mg	45	2000
Vitamina E (c)	mg	10	1000
Tiamina	mg	1,2	ND
Riboflavina	mg	1,3	ND
Niacina	mg	16	35
Vitamina B6	mg	1,3	100
Ácido Fólico	µg	240	1000
Vitamina B12	µg	2,4	ND
Biotina	µg	30	ND
Ácido Pantotênico	mg	5	ND
Vitamina K	µg	65	ND

(a) 1 µg retinol = 1 µg retinol equivalente (RE); 1 µg beta-caroteno = 0,167 µg RE; 1 µg de outros carotenoides provitamina A = 0,084 µg RE; 1 UI = 0,3 µg de RE;

(b) 1 µg de coлекаliferol = 40 UI;

(c) mg alfa-tocoferol = 1,49 UI;

* IDR: Ingestão Diária Recomendada, de acordo com a RDC n. 269/2005 da ANVISA/MS;

** UL: *Tolerable Upper Intake Level*, de acordo com o *Institute of Medicine*;

ND: Não determinado.

Uma dieta diversificada e balanceada deve proporcionar todos os nutrientes necessários ao organismo, porém em determinadas condições fisiológicas e orgânicas, a suplementação de micronutrientes pode ser necessária.

1.2 SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS

O primeiro comprimido de multivitamínicos e multiminerais (MVM) foi introduzido nos Estados Unidos da América no início de 1940. A melhora da saúde e a prevenção de doenças crônicas com o aumento da ingestão de micronutrientes foram as razões primárias reportadas para o seu uso (EGGERSDORFER et al., 2012).

Nos Estados Unidos não existe uma definição regulamentada para suplementos contendo vitaminas e minerais. Os produtos denominados como MVM são classificados como suplementos alimentares e regulamentados pelo Food and Drug Administration (FDA). Da mesma forma, a diretiva da Comunidade Europeia (CE) define como suplementos alimentares os produtos que contem vitaminas e minerais e estabelece que as doses máximas de nutrientes nos suplementos devem ser determinadas com base na UL.

No Brasil, os suplementos vitamínicos e ou de minerais são regulamentados pela ANVISA/MS por meio da Portaria nº 32/1998 da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS). Esta portaria classifica em suplementos as vitaminas isoladas ou associadas entre si; minerais isolados ou associados entre si; associações de vitaminas com minerais; e produtos fontes naturais de vitaminas e ou minerais, legalmente regulamentados por padrão de identidade e qualidade de conformidade com a legislação pertinente, e restringe ao intervalo de 25 a 100 % da IDR, os micronutrientes adicionados em sua composição (BRASIL, 1998).

À medida que a população busca estratégias para manter a saúde e prevenir doenças, o mercado oferece um número cada vez maior de produtos buscando alcançar as expectativas dos consumidores. O expressivo aumento no faturamento das indústrias de suplementos reportados pela Euromonitor mostra uma tendência mundial de aumento no consumo de suplementos, principalmente à base de vitaminas e minerais (EUROMONITOR, 2015). No Brasil, a partir de 2010, os suplementos vitamínicos e ou de minerais passaram a ser isentos de registro no Ministério da Saúde brasileiro, facilitando ainda mais a sua comercialização no mercado nacional (BRASIL, 2010).

2 JUSTIFICATIVA

Com a isenção da obrigatoriedade de registro sanitário, a fiscalização de suplementos vitamínicos por órgãos competentes torna-se extremamente necessária para assegurar a idoneidade dos mesmos. Assim, a implantação de metodologias analíticas para a quantificação de vitaminas em suplementos vitamínicos é importante tanto em laboratórios de saúde pública quanto em laboratórios de controle de qualidade nas indústrias a fim de garantir que os produtos oferecidos aos consumidores atendam às legislações vigentes.

Os métodos oficiais para determinação de vitaminas descritos na *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) são específicos para algumas matrizes como leite em pó, fórmula infantil e fórmulas enterais, os quais apresentam teores muito inferiores de vitaminas quando comparados aos suplementos vitamínicos (AOAC, 2012). Por outro lado, os métodos descritos na farmacopeia americana (USP, 2009) poderiam ser ajustados para análise em suplementos vitamínicos devido à semelhança destas matrizes, porém, tais métodos são

ultrapassados conforme citado por BLAKE (2007) e não se propõem, por exemplo, análise simultânea de vitaminas.

Estudos têm demonstrado diversos benefícios da ingestão de vitaminas antioxidantes tais como redução do stress oxidativo e menor incidência de doenças cardiovasculares (RYAN et al., 2010; CATANIA et al., 2009). Isto tem despertado cada vez mais o interesse das indústrias em lançarem produtos contendo antioxidantes e propiciando o aparecimento de diversas notícias na mídia sobre o assunto e consequentemente, induzindo os consumidores a buscarem e consumirem estes produtos sem qualquer orientação. As vitaminas antioxidantes são suscetíveis à oxidação e podem apresentar perdas decorrentes do tempo e das condições de armazenamento (HARO-VICENTE et al., 2013; SPÍNOLA et al., 2013), sendo importante verificar se os teores destas vitaminas estão de acordo com os valores declarados na informação nutricional da rotulagem até o prazo final de validade.

Assim como a carência de vitaminas pode trazer consequências à saúde, sua ingestão excessiva, principalmente das vitaminas lipossolúveis, também pode causar diversos problemas como danos hepáticos, descamação na pele, enxaqueca e vômito (FAO, 2002).

A resolução RDC nº 27/2010 (BRASIL, 2010) que dispõe sobre a isenção de registro sanitário de suplementos vitamínicos é recente e foi verificado que a partir de então, diversos produtos foram lançados no mercado, não existindo ainda, estudos que avaliam os teores de vitaminas em suplementos vitamínicos comercializados no Brasil. Ainda, por serem produtos em sua maioria na forma de cápsulas ou comprimidos, porém, considerados alimentos, existem equívocos quanto às informações constantes na rotulagem, os quais necessitam também ser averiguados.

Este estudo trará dados que auxiliarão os órgãos fiscalizadores e reguladores a tomar decisões sobre a necessidade ou não de registro prévio deste tipo de produto e poderá auxiliar o consumidor em decisões mais adequadas à saúde.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Validar metodologias analíticas e avaliar o teor de vitaminas antioxidantes em suplementos adquiridos no comércio do município de São Paulo, o efeito do armazenamento nestes compostos e confrontar os valores analisados com os valores declarados na rotulagem.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adequação e validação de metodologia para a determinação das vitaminas A e E e β -caroteno por CLAE/DAD;
- Adequação e validação de metodologia para a determinação de vitamina C por titulação iodométrica e por CLAE;
- Determinação dos teores de vitaminas A, C e E em suplementos vitamínicos;
- Comparação dos teores de vitaminas A, C, E em suplementos vitamínicos com os declarados nos rótulos;
- Avaliação da estabilidade das vitaminas antioxidantes nos suplementos vitamínicos;
- Avaliação da rotulagem geral e nutricional dos suplementos vitamínicos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A descrição detalhada dos materiais e métodos está apresentada nos respectivos artigos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PRIMEIRO ARTIGO

O artigo classificado na categoria “Ensaio” foi publicado na revista Cadernos de Saúde Pública, vol.31(7):1371-80,2015.

Suplementos vitamínicos e/ou minerais: regulamentação, consumo e implicações à saúde

Vitamin and mineral supplements: regulation, consumption, and health implications

Suplementos de vitaminas y/o minerales: normativas, consumo e implicaciones en la salud

Autores:

Lucile Tiemi Abe-Matsumoto ^{1,2}

Geni Rodrigues Sampaio ²

Deborah H. M. Bastos ^{2*}

¹ Núcleo de Química, Física e Sensorial do Centro de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

² Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

* dmbastos@usp.br

Resumo:

Em decorrência das mudanças no padrão alimentar da população, a suplementação da dieta com micronutrientes é prática comum. A preocupação com a saúde e a facilidade de comercialização dos suplementos vitamínicos e/ou minerais, aliadas ao forte apelo publicitário, têm estimulado a população ao consumo indiscriminado desses produtos, o que pode acarretar riscos à saúde. Este trabalho teve como objetivo avaliar a legislação relativa ao cenário do consumo e segurança do uso de suplementos vitamínicos e/ou minerais no Brasil. Verificou-se que as legislações brasileiras a esse respeito são complexas, dificultando o entendimento das normas e a aplicação destas. Estudos sobre o consumo de suplementos pela população brasileira são limitados, e o consumo inadequado por falta de conhecimento é um potencial risco à saúde da população. Concluiu-se que há necessidade de implementação de políticas públicas que promovam o esclarecimento da população, dos profissionais da área de saúde e do comércio sobre o assunto.

Palavras-chave: Suplementos Nutricionais; Vitaminas; Legislação sobre Alimentos

Abstract:

Micronutrient supplementation to reduce nutritional deficiencies has grown in recent years due to changes in the population's dietary patterns. Widespread preoccupation with health, ease in marketing vitamin and mineral supplements, and strong advertising appeal have encouraged increasing consumption of these products, thereby posing health risks. The current study addresses legislation, consumption, and health risks related to vitamin and mineral supplements in Brazil. The Brazilian legislation on dietary supplements is complex. Studies on their consumption by the Brazilian population are limited, and inappropriate use due to gaps in knowledge poses a potential health risk to the population. The study concludes that public policies are needed to raise awareness on this topic among the general public, health professionals, and sales personnel.

Keywords: Dietary Supplements; Vitamins; Food Legislation

Resumen:

Como resultado de los cambios en los hábitos alimenticios de la población, el consumo de suplementos alimenticios con micronutrientes es una práctica común. La preocupación sobre la salud y la comercialización de suplementos de vitaminas y/o minerales, combinadas con el fuerte atractivo de la publicidad, han animado a la población al consumo indiscriminado de estos productos, que pueden ocasionar riesgos a la salud. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la legislación existente, en relación con el consumo y seguridad en el uso de suplementos de vitaminas y/o minerales. Se descubrió que la legislación brasileña -en materia de suplementos alimenticios- es compleja y difícil de entender, así como la aplicación de la normativa. Los estudios de su consumo por parte de la población son limitados, y el consumo inadecuado por falta de conocimientos es un riesgo potencial para la salud pública. Se concluye que existe la necesidad de implementar políticas públicas que promuevan la transparencia de la información a la población, profesionales de la salud y comercio sobre este tema.

Palabras-clave: Suplementos Dietéticos; Vitaminas; Legislación sobre Alimentos

Introdução

Nas últimas décadas, tem-se observado, na população brasileira, maior consumo de alimentos processados com alta densidade calórica e pobres em nutrientes essenciais, em substituição ao consumo de alimentos mais nutritivos, como as frutas e as verduras (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/>, acessado em 30/Set/2014)¹. Em decorrência das mudanças no estilo de vida e, conseqüentemente, no padrão alimentar da população, suplementos vitamínicos e alimentos enriquecidos tornam-se veículos práticos de vitaminas para a população. O aumento da expectativa de vida e a preocupação com uma vida saudável passaram a ser prioridades para uma parcela crescente da população, que está disposta a investir tempo e recursos a fim de viver mais e melhor. A grande variedade de usos terapêuticos aliada ao lucrativo mercado desses produtos estimulam o aumento da publicidade e, conseqüentemente, o seu consumo com finalidades diversas, tais como retardar o envelhecimento, combater o estresse, prevenir doenças e melhorar a saúde^{2,3,4}.

Considerando o significativo aumento no consumo de suplementos vitamínicos e/ou minerais, os possíveis riscos da ingestão indiscriminada e, ainda, a aparente deficiência nas

ações de fiscalização, foi avaliado o panorama dos suplementos vitamínicos e/ou minerais no Brasil. Objetivou-se, ainda, esclarecer equívocos de nomenclaturas, por meio da correta interpretação das legislações, e verificar os potenciais riscos à saúde do consumidor.

Aspectos regulatórios

No Brasil, os produtos à base de vitaminas e minerais são divididos em duas categorias: suplementos vitamínicos e/ou minerais e medicamentos à base de vitaminas e minerais. O que os diferencia são os níveis de micronutrientes oferecidos na dosagem diária recomendada. Segundo a *Portaria nº 32/1998*⁵ da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS), “*suplementos vitamínicos são alimentos que servem para complementar 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. 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*”. Já os medicamentos à base de vitaminas e minerais são definidos como aqueles cujos esquemas posológicos diários situam-se acima dos 100 % da IDR⁶.

O conceito atual de recomendação nutricional é baseado na *Dietary Reference Intake* (DRI), estabelecida conjuntamente pelos Estados Unidos e Canadá, tendo como referência a população destes países. Tais valores de referência são utilizados na avaliação e planejamento de dietas, com os objetivos de promover a saúde, diminuir o risco de doenças e evitar o consumo excessivo de algum nutriente por um indivíduo ou um grupo. As recomendações nutricionais da DRI compreendem quatro conceitos para consumo de nutrientes: (i) Necessidade Média Estimada (*Estimated Average Requirements* – EAR; (ii) Ingestão Dietética Recomendada (*Recommended Dietary Allowance* – RDA; (iii) Ingestão Adequada (*Adequate Intake* – AI); (iv) Limite Superior Tolerável de Ingestão (*Tolerable Upper Intake Level* – UL). O UL não é um nível de ingestão recomendado, e seu estabelecimento surgiu como um alerta para se evitar o consumo excessivo de micronutrientes devido ao crescente uso de suplementos nutricionais e de alimentos fortificados⁷. A *RDC nº 360/2003*⁸ da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os valores de IDR de nutrientes, tendo como base as recomendações da DRI, porém sua principal finalidade é padronizar, na rotulagem de alimentos, informações quanto à porcentagem de atendimento às necessidades nutricionais.

A legislação brasileira segue a tendência mundial no que diz respeito à preocupação com a qualidade e segurança dos alimentos, estabelecendo cooperações internacionais. O Brasil é membro integrante do MERCOSUL (Mercado Comum do Sul), que, por meio de amplos debates entre os países membros, determina normas, adaptadas às políticas e aos programas públicos de cada país, a fim de estabelecer a livre circulação de alimentos seguros e saudáveis. Na mesma linha de cooperação internacional, o *Codex Alimentarius* é um programa conjunto da Organização das Nações Unidas para Agricultura (FAO) e Alimentação e da Organização Mundial da Saúde (OMS), criado em 1963, cuja finalidade é proteger a saúde da população e incentivar práticas justas no comércio internacional de alimentos⁹.

Em relação aos suplementos vitamínicos e/ou minerais, a *Portaria nº 32/1998* tem como referência as normas do *Codex Alimentarius* (<http://www.codexalimentarius.org/>, acessado em 21/Jan/2014), que define suplementos de vitaminas e minerais como fontes de nutrientes na forma concentrada, isolados ou em combinação, comercializados em cápsulas, comprimidos, pós, soluções etc., que são formulados para serem ingeridos em pequenas quantidades, diferindo de alimentos convencionais e cujo propósito seja suplementar a ingestão de vitaminas e/ou minerais na dieta normal. Essa norma estabelece que o teor mínimo de vitaminas e minerais em suplementos, na porção diária sugerida pelo fabricante, deve ser de 15 % da IDR; já a quantidade máxima deve ser estabelecida tendo como critérios níveis seguros de vitaminas e minerais determinados por avaliações de risco baseados em dados científicos e ingestão diária de vitaminas e minerais de outras fontes dietéticas.

O *Codex Alimentarius* tornou-se referência mundial para os consumidores, produtores de alimentos e para os organismos internacionais de controle e comércio de alimentos. Sua influência se estende a todos os continentes, oferecendo aos países a oportunidade de se unirem à comunidade internacional, com o objetivo de formular e harmonizar as normas alimentares. A harmonização dessas normas ajuda a eliminar as barreiras comerciais e permite maior liberdade de comércio de alimentos entre os países.

O *Food and Drug Administration* (FDA) é o órgão governamental dos Estados Unidos responsável pelo controle de alimentos e medicamentos, promovendo a proteção da saúde da população. Segundo o FDA (<http://www.fda.gov/food/dietarysupplements/consumerinformation/ucm191930.htm>, acessado em 05/Ago/2014), suplementos dietéticos são produtos que podem conter múltiplos ingredientes, incluindo vitaminas, minerais, ervas, aminoácidos, substâncias dietéticas para suplementar a dieta aumentando a ingestão dietética total, concentrados, metabólitos, constituintes e extratos, a combinação de um ou mais destes

ingredientes, não existindo definição legal e classe específica para suplementos vitamínicos e/ou minerais. No Brasil, os produtos definidos como suplementos dietéticos pelo FDA são subdivididos de acordo com legislações específicas, abrangendo uma classificação muito mais ampla, os quais estão descritos na Tabela 1.

No nosso país, legalmente, o conceito de suplemento se restringe aos alimentos para atletas¹⁰ e aqueles à base de vitaminas e minerais⁵, foco deste artigo. Segundo a *RDC nº 18/2010*¹⁰, os alimentos para atletas podem, ainda, ser compostos por vitaminas e minerais, conforme regulamento técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais. A complexidade na classificação desses produtos faz com que aqueles que tenham algum apelo voltado à saúde ou a finalidade de suplementar a dieta, sejam denominados de suplemento; assim, com esta denominação, são frequentemente anunciados nos informes publicitários.

Em relação à rotulagem de suplementos vitamínicos, além das exigências de rotulagem gerais para alimentos, a *Portaria nº 32/1998* estabelece algumas determinações específicas, tais como a obrigatoriedade de destacar em negrito as expressões: “*Consumir este produto conforme a Recomendação de Ingestão Diária constante da embalagem*” e “*Gestantes, nutrízes e crianças até 3 (três) anos somente devem consumir este produto sob orientação de nutricionista ou médico*”. Diferentemente dos medicamentos, os suplementos não apresentam funções curativas, sendo, portanto, proibida toda e qualquer expressão que se refira ao uso do suplemento para prevenir, aliviar, tratar uma enfermidade, ou alterar o estado fisiológico⁵. Já os medicamentos à base de vitaminas e minerais devem apresentar a denominação “polivitamínicos e/ou poliminerais”, porém não se exige que conste no rótulo a palavra “medicamento”, dificultando a distinção entre suplemento e medicamento¹¹.

Segundo o *Código de Defesa do Consumidor*¹², todo o produto deve trazer informações claras, precisas e em língua portuguesa, sendo que os rótulos de alimentos, os quais incluem os suplementos vitamínicos, devem indicar o prazo de validade, quantidade, ingredientes, nome e endereço do fabricante, entre outros dados, como forma de conservação e de consumo. As informações constantes na rotulagem dos alimentos são de extrema importância, visto que a informação é um dos direitos básicos do consumidor. É por meio da rotulagem que os consumidores são orientados a escolher produtos que contribuam para sua adequada alimentação, além de se conscientizarem sobre o que estão ingerindo.

Tabela 1. Portarias e Resoluções que aprovam o Regulamento Técnico para cada classe de produtos.

Legislações	Regulamento técnico aprovado	Subclassificação ou exemplos de produtos
Portaria nº 32/1998 ⁵	Suplemento vitamínico e/ou mineral	Suplemento de vitaminas e/ou minerais
		Suplemento de vitaminas
		Suplemento de minerais
Resolução RDC nº 18/1999 ⁵⁰	Alimento com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde	Óleo de peixe,
		Carotenóides (licopeno, luteína e zeaxantina)
Resolução RDC nº 16/1999 ⁵¹	Novo alimento	Óleo de cártamo
		Óleo de prímula
Resolução RDC nº 18/2010 ¹⁰	Alimento para atleta	Suplemento hidroeletrólítico para atletas
		Suplemento energético para atletas
		Suplemento protéico para atletas
		Suplemento para substituição parcial de refeições de atletas
		Suplemento de creatina para atletas
		Suplemento de cafeína para atletas

Fiscalização

Os suplementos vitamínicos e minerais, juntamente com outras 14 categorias de produtos, foram classificados como alimentos de baixo risco pela ANVISA e passaram a ser dispensados de registro sanitário a partir de 2010¹³. Segundo a ANVISA, pretendia-se otimizar as ações de controle sanitário, focando na análise e fiscalização dos alimentos expostos ao consumo da população, já que o volume de pedidos de registro era muito alto, e a finalização de um processo de registro chegava a demorar até dois anos¹⁴.

Os produtos alimentícios de competência da ANVISA são divididos em dois grupos: alimentos com registro obrigatório prévio à comercialização e alimentos dispensados da obrigatoriedade de registro, conforme estabelecido na *RDC nº 27/2010*¹³. A solicitação de registro de um produto é efetuada pela empresa interessada, junto ao órgão de Vigilância Sanitária local, mediante apresentação de documentos específicos e formulários de petição, além de pagamento de taxa. Para os produtos dispensados da obrigatoriedade de registro, a empresa deve somente informar o início da fabricação ao órgão de Vigilância Sanitária, podendo dar início imediato à comercialização. A autoridade sanitária terá um prazo de sessenta dias para proceder à inspeção na unidade fabril, e a empresa terá um prazo de trinta dias para solicitar à Coordenação de Vigilância em Saúde (COVISA) que proceda à coleta de amostra, visando a uma análise de controle, ou seja, a uma análise a ser realizada em um laboratório de referência. No caso de a empresa e/ou de o produto estarem em desacordo com as legislações vigentes, aquela será notificada para suspender a produção, recolher os produtos do mercado e notificar a população. Para os suplementos importados, o importador ou a empresa representante no Brasil será responsável por enquadrá-los na categoria prevista na legislação, responsabilizando-se, ainda, por comunicar a importação de produtos dispensados de registro; no caso dos medicamentos, deve registrá-los no Ministério da Saúde¹⁴.

A isenção de registro sanitário para algumas categorias de alimentos é um fato questionável, já que a ANVISA exige que as empresas busquem a melhor forma de disponibilizar um alimento com mínimo risco para o consumidor. Além dos suplementos vitamínicos e minerais, outra categoria cuja isenção de registro é questionável é a dos alimentos para atletas. Em estudo realizado por Yano et al.¹⁵, verificou-se presença de substâncias ativas não declaradas no rótulo, como a metoclopramida e o cloridrato de sibutramina, em amostras de alimentos para atleta coletadas pela Vigilância Sanitária e pelo Departamento de Polícia do Estado de São Paulo. Com a isenção de registro, há necessidade de efetiva fiscalização destes produtos por parte da Vigilância Sanitária, pois estarão sendo consumidos pela população antes de qualquer verificação. O registro no Ministério da Saúde garante-lhes maior confiabilidade, já que, entre as documentações solicitadas para o seu registro, constam a licença de funcionamento da empresa, aprovação do local de produção na inspeção sanitária, sendo exigido, ainda, um laudo oficial de análise do produto antes da comercialização¹⁴. No caso dos produtos isentos, uma parcela da população já terá consumido o produto se for detectada qualquer inconformidade neste ou no local de fabricação. Em

relação aos produtos importados, somente a legislação brasileira estabelece limite de 100 % da IDR para suplementos vitamínicos e/ou minerais⁵. Sendo assim, produtos importados contendo maior teor de micronutrientes (acima de 100 % da IDR), no Brasil, seriam classificados como medicamentos e estariam sujeitos à obrigatoriedade de registro. Existem, no mercado nacional, diversos produtos importados dos Estados Unidos ou do Canadá, por exemplo, países nos quais a dosagem máxima de micronutrientes em suplementos dietéticos não é limitada a 100 % da IDR; ao serem exportados para o Brasil como suplementos, as empresas importadoras apenas os rotulam como suplementos vitamínicos e/ou minerais, comercializando-os sem registro prévio, ou seja, sem a verificação da real concentração de micronutrientes presente (<http://www.fda.gov/food/dietarysupplements/consumerinformation/ucm191930.htm>, acessado em 05/Ago/2014)⁵. Neste caso, cabe às autoridades da Vigilância Sanitária proceder à fiscalização desses produtos, notificando a empresa para que suspenda a produção e os recolha do mercado, além de informar a população.

Consumo de suplementos vitamínicos e/ou minerais: panorama nacional e internacional

O consumo de produtos à base de vitaminas e minerais é amplamente difundido em países como os Estados Unidos e Alemanha¹⁶. No Brasil, informações sobre a extensão e frequência de consumo desses produtos são escassas, porém alguns estudos disponíveis, apesar de restritos a determinados segmentos da população, mostram que o consumo de suplementos vitamínicos e/ou minerais chega a ser comparável ao encontrado nos Estados Unidos^{17,18}.

Santos & Barros Filho¹⁹ verificaram que cerca de 30 % dos universitários de uma universidade privada faziam uso de algum produto vitamínico, a maioria consumindo multivitamínicos, seguidos de suplementos de vitamina C. Neste estudo, não foram obtidas informações sobre a dosagem consumida, não sendo possível concluir se os produtos vitamínicos referiam-se a suplementos ou medicamentos. Há maior prevalência de consumo de suplementos entre os frequentadores de academias, os quais buscam suplementação com objetivos específicos, tais como aumentar a massa muscular, repor perdas e melhorar o desempenho no exercício físico. Trata-se de propósitos típicos dessa população, principalmente do público masculino, fato que já foi confirmado em algumas cidades de São Paulo^{17,18,20}. Ao contrário, quando se avalia a população em geral, observa-se baixa prevalência de consumo de suplementos, que ainda é maior entre o público feminino, possivelmente porque as mulheres têm preocupação maior com a saúde; ademais, existem,

ainda, recomendações específicas para as mulheres, como a suplementação de ácido fólico e ferro durante o período reprodutivo^{2,21}.

Observou-se, também, que, em trabalhos recentes, a prevalência de consumo de suplementos é maior em comparação à encontrada em trabalhos realizados há cerca de uma década, sendo possível presumir que houve aumento no consumo de suplementos pela população^{17,18,20,22}. Estes artigos avaliaram o consumo de produtos categorizados como suplementos nutricionais, suplementos alimentares, suplementos dietéticos ou simplesmente suplementos, impossibilitando discriminar se o consumo se referia a suplemento vitamínico e/ou mineral, alimento para atleta, ou medicamento. Tais categorias não estão previstas na lei brasileira, assim como não estão previstas nos regulamentos técnicos da ANVISA. Além disso, a população de estudo era restrita e específica. O único estudo disponível no Brasil sobre consumo de suplementos alimentares numa população heterogênea foi realizado por Brunacio et al.²³, no qual se observaram 6,35 % de prevalência de consumo de suplementos alimentares na população residente no Município de São Paulo. Os suplementos compostos por vitaminas, minerais e multivitamínicos lideraram o uso. Os autores concluíram que essa prevalência é similar à encontrada na Grécia, Espanha e Itália, e menor que a verificada nos Estados Unidos, Reino Unido, Suécia e Alemanha.

O *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) é um programa que avalia o estado nutricional de adultos e crianças nos Estados Unidos, por meio de entrevista e exame físico. O NHANES faz parte do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e tem a responsabilidade de produzir estatísticas de vida e de saúde para a nação²⁴. De acordo com esse programa, observou-se que 40 % da população americana consumia um ou mais suplemento dietético durante o período de 1988 a 1994; entre 2003 e 2006, essa prevalência passou a ser superior a 50 %. Os multivitamínicos/multiminerais foram o tipo de suplemento mais reportado em todas as pesquisas realizadas pelo NHANES²⁵.

No Brasil, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) é a pesquisa domiciliar por amostragem que avalia, principalmente, o orçamento domiciliar, mas também permite obter informações sobre consumo alimentar da população e prevalência de inadequação do consumo de nutrientes (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/>, acessado em 30/Set/2014). Apesar de sua abrangência nacional, não há qualquer menção sobre suplementos, não sendo possível verificar o real consumo de suplementos vitamínicos e/ou minerais pela população brasileira.

Em 2003, o mercado que engloba vitaminas, minerais, fitoterápicos e suplementos nutricionais faturou aproximadamente 10 bilhões de dólares nos Estados Unidos, sendo esse mercado composto principalmente por multivitamínicos, suplementos vitamínicos e bebidas destinadas a atletas. Em 2007, o faturamento anual foi maior que 30 bilhões de dólares²⁶. Em 2010 e 2011, estudos realizados pela *Euromonitor International* demonstraram que 175 bilhões de dólares foram gastos no mundo em suplementos vitamínicos e minerais, enquanto suplementos para atletas movimentaram cinco bilhões de dólares²⁷.

No Brasil, o faturamento do comércio de complementos vitamínicos aumentou quase 55 % em apenas quatro anos²⁶. Segundo a Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos (BRASNUTRI), de 2008 até 2012, houve aumento no faturamento, de 150 milhões de reais para 600 milhões de reais, com uma média de crescimento de 15 % ao ano. A indústria de suplementação teve um crescimento de 21 % em sua produção no ano de 2013, com faturamento médio de um bilhão de reais, e a expectativa para o setor é atingir 15 % de crescimento em 2014²⁸. As projeções dos principais fabricantes indicam que o consumo de complementos vitamínicos continua em ascensão²⁶. A forte expansão do mercado de produtos vitamínicos é o principal indício de aumento no consumo destes pela população brasileira.

Cenário atual: há necessidade de consumo de suplementos?

Novos produtos à base de vitaminas e minerais são frequentemente lançados no mercado, sendo visível o aumento da oferta de suplementos vitamínicos e/ou minerais no comércio. Esse crescimento certamente foi impulsionado pela isenção da obrigatoriedade de registro no Ministério da Saúde¹³.

Há algum tempo, a importância das vitaminas era atribuída somente às funções nutritivas e de prevenção de doenças decorrentes de sua deficiência. Recentemente, diversas pesquisas têm se concentrado no papel que esses micronutrientes desempenham na manutenção da saúde, especificamente na redução do risco de desenvolvimento de patologias crônicas, como doenças coronarianas, câncer e diabetes. Muitas dessas investigações têm como foco os alimentos que contêm vitaminas C e E, além de β -caroteno, precursor da vitamina A, reconhecidos por apresentarem atividade antioxidante, exercendo importante função de defesa do organismo contra os radicais livres^{29,30,31}. Hoje, é comum observar no mercado uma categoria de suplementos vitamínicos com apelo comercial de antioxidantes.

Assim como as vitaminas antioxidantes, a vitamina D também tem sido alvo de muitas pesquisas nos últimos anos. Embora sua função de manter o metabolismo do cálcio e de

prevenir o raquitismo tenha sido descrita pela primeira vez há cerca de cem anos, estudos atuais têm relacionado a deficiência de vitamina D com o desenvolvimento de várias doenças, como diabetes tipo II, esclerose múltipla, doença inflamatória intestinal, lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide³². Nos últimos anos, a deficiência de vitamina D tem aumentado em virtude dos hábitos da vida moderna e principalmente por causa do tempo limitado de exposição ao sol pela população, a fim de evitar câncer de pele³³. Seguindo essa tendência, foram lançados diversos suplementos à base de vitamina D no mercado, alguns específicos para o público infantil e outros destinados ao uso adulto. Durante várias décadas, defendeu-se a utilização de suplementos de cálcio para prevenção e tratamento da osteoporose, porém estudos recentes demonstraram que esse uso pode aumentar o risco de eventos cardiovasculares, formação de cálculos renais e causar problemas gastrointestinais^{34,35}.

Após revisar mais de mil estudos sobre suplementação com cálcio e vitamina D e os possíveis efeitos adversos do consumo em excesso, o *Institute of Medicine* (Estados Unidos) publicou, em 2010, novas recomendações de cálcio e vitamina D³⁶. Pesquisas demonstraram que indivíduos saudáveis que ingerem as recomendações de cálcio e vitamina D na dieta e se expõem ao sol não necessitam de suplementos para manter a saúde óssea; no entanto, a dieta da população brasileira tem se mostrado muitas vezes inadequada com relação ao consumo de cálcio e vitamina D, levando à necessidade de suplementação³³. O cálcio com a vitamina D é uma das associações mais comuns de nutrientes em suplementos, já que esta vitamina age como um hormônio fundamental para a homeostase do cálcio e para o desenvolvimento saudável do sistema ósseo^{36,37}.

Riscos à saúde

A quantidade de micronutrientes necessária para cada indivíduo depende de vários fatores, tais como sexo, idade, nível de atividade física, presença de patologias, entre outros. Em geral, não há necessidade de se fazer suplementação de qualquer nutriente quando se tem uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis. Como consta em sua definição, suplementos vitamínicos e/ou minerais são indicados somente para pessoas que necessitem complementar a dieta caso a ingestão não seja suficiente, já que a carência de nutrientes pode levar ao desenvolvimento de doenças. A carência de vitamina A, por exemplo, leva ao desenvolvimento da cegueira noturna; a falta de vitamina C é responsável pelo escorbuto; a deficiência de ferro causa a anemia ferropriva³⁸.

Atualmente, a deficiência de vitamina D é considerada uma epidemia, e a suplementação desta vitamina tem sido cada vez mais recomendada³⁹. A suplementação com micronutrientes pode ajudar a evitar o desenvolvimento de doenças, contudo sua ingestão excessiva, principalmente das vitaminas lipossolúveis, pode trazer consequências à saúde, causando diversos problemas, como danos hepáticos, descamação na pele, enxaqueca e vômito⁴⁰. Têm sido relatados alguns casos de intoxicação por excesso de vitamina D, principalmente em crianças. Araki et al.⁴¹ reportaram dois casos em crianças por erro do fabricante na formulação e na recomendação de ingestão, resultando em hipercalcemia e sintomas como náusea, poliúria e fadiga após consumirem uma quantidade aproximadamente mil vezes acima da dose recomendada. Kara et al.⁴² observaram sete casos de intoxicação por vitamina D em crianças, em decorrência de erro de fabricação de um suplemento de óleo de peixe. O produto apresentou dose excessivamente alta de vitamina D, causando hipercalcemia, perda de apetite, vômito, perda de peso e constipação após a ingestão de uma quantidade 4 mil vezes superior à dose indicada.

Na década de 1980, diversos estudos epidemiológicos reconheceram o β -caroteno e o α -tocoferol como fatores de proteção contra o desenvolvimento de câncer por suas propriedades antioxidantes, mas os resultados se mostraram controversos^{43,44}. Conclusões consistentes sobre o papel protetor desses antioxidantes na prevenção do câncer foram obtidas somente a partir de 1994 com o *The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene (ATBC) Lung Cancer Prevention Study*, ensaio clínico em larga escala, o qual testou a hipótese de que o aumento no consumo de α -tocoferol e/ou β -caroteno em fumantes poderia prevenir o câncer de pulmão e outros tipos de câncer. Porém, os resultados demonstraram que a incidência de câncer de pulmão aumentou 17 % entre a população que recebeu suplementação de β -caroteno⁴⁵. Outro estudo, denominado *The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET)*, demonstrou que a suplementação de β -caroteno e retinol aumentou em 28 % a incidência de câncer no grupo suplementado⁴⁶. Algumas críticas a estes estudos estão relacionadas à dose utilizada para suplementação, que claramente ultrapassou a quantidade que seria ingerida por meio de fontes alimentares; além disso, já foi demonstrado que altas doses de antioxidantes podem agir como pró-oxidantes⁴⁷. Portanto, toda suplementação deve ser cautelosa, para se evitarem riscos desnecessários à saúde.

Suplementos vitamínicos comerciais analisados quanto aos teores de vitaminas A e E, utilizando técnica de cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e espectrometria de massas, mostraram resultados preocupantes, pois os valores verificados

diferiram dos declarados no rótulo entre 46 % e 245 %⁴⁸. No Brasil, não existem ainda análises confrontando os teores encontrados com os declarados nos rótulos de suplementos vitamínicos. É evidente a necessidade de fiscalização imediata desses produtos após a notificação de início da comercialização. As vigilâncias sanitárias de estados e municípios têm autonomia administrativa; ademais, os estados têm laboratórios públicos, os quais devem garantir a qualidade desses suplementos, incluindo o controle da conformidade entre os teores declarados e os apresentados para consumo. Tal controle é de extrema importância, já que a legislação (*RDC nº 27/2010*¹³) permite a isenção de registro, mas não permite que o teor de vitaminas e minerais nesses produtos seja livre.

Considerações finais

Nota-se dificuldade, por parte tanto dos profissionais de saúde e do comércio, como dos consumidores, em se diferenciar o que é suplemento vitamínico e/ou mineral de medicamento à base de vitaminas e/ou minerais. Esse quadro pode levar os consumidores mais desavisados ao risco de consumir produtos com doses acima das recomendadas, sem real necessidade.

Não é raro observar, no comércio, ambas as categorias de produtos dispostas à venda na mesma prateleira, verificando-se total desconhecimento por parte de comerciantes e profissionais de saúde, confundindo ainda mais os consumidores leigos. Ressalta-se a importância de se diferenciarem os suplementos dos medicamentos, uma vez que as dosagens de micronutrientes contidos nos medicamentos são sempre muito superiores às IDRs, podendo ser prejudiciais à saúde de quem os ingere sem a real necessidade e sem a devida orientação, causando problemas de intoxicação. Sugere-se que os profissionais de saúde, principalmente médicos, farmacêuticos e nutricionistas, sejam orientados por seus conselhos de classe quanto à diferenciação entre suplementos e medicamentos, essencial para que o profissional esteja apto a indicar ou recomendar o produto que melhor atenda às necessidades do consumidor.

A publicação de uma RDC que regule todos os produtos em uma categoria única denominada suplemento dietético, como acontece em outros países, resultaria na definição de uma legislação estável e harmonizada com os principais órgãos reguladores do mundo, facilitando o seu entendimento. Esse tipo de regulamentação é também encontrado em outros países, como os da União Europeia, Estados Unidos, Chile, Argentina, México, Colômbia, além dos países do continente asiático, como o Japão e a Coreia do Sul, entre outros⁴⁹. A

padronização é importante, tanto para a comercialização de produtos entre os países, quanto para facilitar o entendimento do consumidor. As doses de vitaminas e minerais para os suplementos devem ser definidas como um valor que represente um consumo seguro para a população, independentemente de se seguir o *Codex Alimentarius* ou o FDA. No caso dos medicamentos, estes deveriam ser prescritos somente em caso de deficiência ou necessidades específicas, estabelecendo-se uma dose superior. Estudos sobre o consumo de suplementos pela população brasileira são escassos, havendo uma lacuna quando se tenta comparar tais dados com os de estudos americanos. Todavia, o faturamento da indústria de produtos vitamínicos, o forte apelo publicitário e o visível aumento na oferta de suplementos no mercado indicam aumento no consumo desses produtos.

Portanto, a falta de estudos suficientes e conclusivos sobre suplementos vitamínicos e/ou minerais deve-se não ao fato de ser um assunto recente, mas, principalmente, ao constante aparecimento de novos produtos no mercado. Políticas públicas que promovam campanhas de esclarecimento a respeito do consumo de suplementos são necessárias e urgentes, já que o consumo desse tipo de produto parece ser significativo na população brasileira. É preciso garantir a saúde reduzindo o risco de consumo de suplementos em excesso.

Colaboradores

L. T. Abe-Matsumoto participou da concepção e de todas as etapas de produção do artigo, sendo responsável pela sua redação. G. R. Sampaio realizou o planejamento, a elaboração do rascunho e a revisão crítica do conteúdo; aprovou a versão final do manuscrito. D. H. M. Bastos participou da concepção e planejamento do artigo, da revisão crítica do conteúdo e da aprovação da versão final do manuscrito.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro (processo FAPESP 2013/23006-4).

Referências

(1) Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, Castro IRR, Cannon G. Increasing consumption of ultraprocessed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. *Public Health Nutr* 2010;14:5-13.

- (2) Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern Med* 2013; 173:355-61.
- (3) Oakes ME, Slotterback CS, Bator T, Corrigan ER, Alaimo S, Vagner E. The vitamin mystique: an analysis of beliefs and reputations of vitamin supplements among a regional sample of grocery shoppers. *Food Qual Prefer* 2005; 16:151-5.
- (4) Schroeter C, Anders S, Carlson A, Rickard B. The economics of health behavior and vitamin consumption. *The economics of food, food choice and health*. Freising: AAEA; 2010.
- (5) Ministério da Saúde. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de suplementos vitamínicos e ou de minerais. *Diário Oficial da União* 1998; 15 jan.
- (6) Ministério da Saúde. Portaria nº 40, de 13 de janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento que estabelece normas para níveis de dosagens diárias de vitaminas e minerais em medicamentos. *Diário Oficial da União* 1998; 15 jan.
- (7) Cominetti C, Cozzolino SMF. Parte 1: recomendações de nutrientes. In: Cozzolino SMF, organizadora. *Biodisponibilidade de nutrientes*. 3ª Ed. São Paulo: Manole; 2009. p. 12-45.
- (8) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial da União* 2003; 26 dez.
- (9) Costarrica ML, Dawson R. La normalización de alimentos y el Codex alimentarius en el marco del Mercosur. <http://www.fao.org/docrep/v9723t/v9723t0b.htm> (acessado em 20/Out/2014).
- (10) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 18, de 27 de abril de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre alimentos para atleta. *Diário Oficial da União* 2010; 28 abr.
- (11) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 71, de 22 de dezembro de 2009. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes para a rotulagem de medicamentos. *Diário Oficial da União* 2009; 23 dez.
- (12) Brasil. Código de Defesa do Consumidor. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. *Diário Oficial da União* 1990; 12 set.
- (13) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 27, de 6 de agosto de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. *Diário Oficial da União* 2010; 9 ago.
- (14) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Isenção e obrigatoriedade de registro de produtos da área de alimentos. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Registro> (acessado em 22/Set/2014).
- (15) Yano HM, Guardia RCA, Auricchio MT. Detecção de sibutramina e metoclopramida em alimentos para atleta. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2011; 70:599-605.
- (16) Soni MG, Thurmond TS, Miller ER, Spriggs T, Bendich A, Omaye S. Safety of vitamins and minerals: controversies and perspective. *Toxicol Sci* 2010; 118:348-55.
- (17) Alves SCR, Navarro F. O uso de suplementos alimentares por frequentadores de academias de Potim-SP. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva* 2010; 4:139-46.

- (18) Fayh APT, Silva CV, Jesus FRD, Costa GK. Consumo de suplementos nutricionais por frequentadores de academias da cidade de Porto Alegre. *Rev Bras Ciênc Esporte* 2013; 35:27-37.
- (19) Santos MO, Barros Filho AA. Consumo de produtos vitamínicos entre universitários de São Paulo, SP. *Rev Saúde Pública* 2002; 36:250-3.
- (20) Pereira RF, Lajolo FM, Hirschbruch MD. Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. *Rev Nutr* 2003; 16:265-72.
- (21) Vasconcelos FAG. Avaliação nutricional de coletividades. 4ª Ed. Florianópolis: Editora UFSC;2008.
- (22) Hirschbruch MD, Fisberg M, Mochizuki L. Consumo de suplementos por jovens frequentadores de academias de ginástica em São Paulo. *Rev Bras Med Esporte* 2008; 14:539-43.
- (23) Brunacio KH, Verly-Jr E, Cesar CLG, Fisberg RM, Marchioni DM. Uso de suplementos dietéticos entre residentes do Município de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2013; 29:1467-72.
- (24) Centers for Disease Control and Prevention. About the National Health and Nutrition Examination Survey. http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/about_nhanes.htm (acessado em 03/Fev/2014).
- (25) Gahche J, Bailey R, Burt V, Hughes J, Yetley E, Dwyer J, et al. Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988-1994). Hyattsville: National Center for Health Statistics; 2011.
- (26) Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Prioridade à saúde. <http://www2.rj.sebrae.com.br/boletim/prioridade-a-saude/> (acessado em 02/Jun/2012).
- (27) Euromonitor International. Sports nutrition in Brazil. <http://www.euromonitor.com/sportsnutrition-in-brazil/report> (acessado em 15/Ago/2014).
- (28) Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos. Os mercados que mais crescerão no Brasil em 2014. <http://brasillink.usmediaconsulting.com/2014/03/os-mercados-que-mais-cresceraono-brasil-em-2014/> (acessado em 04/Nov/2014).
- (29) Boni A, Pugliese C, Cláudio CC, Patin RV, Oliveira FLC. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância. *Rev Paul Pediatr* 2010; 28:373-80.
- (30) Farbstein D, Kozak-Blickstein A, Levy AP. Antioxidant vitamin and their use in preventing cardiovascular disease. *Molecules* 2010; 15:8098-10.
- (31) Ryan MJ, Dudash HJ, Docherty M, Geronilla KB, Baker BA, Haff GG, et al. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp Gerontol* 2010; 45:882-95.
- (32) Dobnig H. A review of the health consequences of the vitamin D deficiency pandemic. *J Neurol Sci* 2011; 311:15-8.
- (33) Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MCT, Sasaki AL, Reis LM, et al. Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? *Clin Nutr* 2010; 29:784-8.
- (34) Bolland MJ, Grey A, Avenel A, Reid IR. Calcium supplements increase risk of myocardial infarction. *J Bone Miner Res* 2015; 30:389-90.
- (35) Taksande SR, Worcester EM. Calcium supplementation in chronic kidney disease. *Expert Opin Drug Saf* 2014; 13:1175-85.

- (36) Nestle M, Nesheim MC. To supplement or not to supplement: the US preventive services task force recommendations on calcium and vitamin D. *Annals Intern Med* 2013; 158:701-3.
- (37) Barbosa AM, Nunes IFOC, Carvalho LR, Figueiredo RG, Nogueira AMT, Carvalho CMRG. Ingestão alimentar de cálcio e vitamina D e associação com o nível de escolaridade na pessoa idosa. *Demetra* 2013; 8:173-81.
- (38) Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL. Krause alimentos, nutrição e dietoterapia. 11ª Ed. São Paulo: Roca; 2010.
- (39) Kuriacose R, Olive KE. Vitamin D insufficiency/deficiency management. *South Med J* 2014;107:66-70.
- (40) FAO/WHO Expert Consultation on Human Vitamin and Mineral Requirements. Vitamin and mineral requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation. 2nd Ed. Bangkok: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2004.
- (41) Araki T, Holick MF, Afonso BD, Charlap E, Romero CM, Rizk D, et al. Vitamin D intoxication with severe hypercalcemia due to manufacturing and labeling errors of two dietary supplements made in the United States. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:3603-8.
- (42) Kara C, Gunindi F, Ustyol A, Aydin M. Vitamin D intoxication due to an erroneously manufactured dietary supplement in seven children. *Pediatrics* 2014; 133:240-4.
- (43) Menkes MS, Comstock GW, Vuilleumier JP, Helsing KJ, Rider AA, Brookmeyer R. Serum beta-carotene, vitamins A and E, selenium, and the risk of lung cancer. *N Engl J Med* 1986; 315:1250-4.
- (44) Peto R, Doll R, Buckley JD, Sporn MB. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature* 1981; 290:201-8.
- (45) Heinonen OP, Huttunen JK, Albanes D. The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994; 330:1029-35.
- (46) Omenn GS, Goodman G, Thornquist M, Grizzle J, Rosenstock L, Barnhart S, et al. The betacarotene and retinol efficacy trial (CARET) for chemoprevention of lung cancer in high risk populations: smokers and asbestos-exposed workers. *Cancer Res* 1994; 54:2038s-43s.
- (47) Pearson P, Lewis AS, Britton J, Young IS, Fogarty A. The pro-oxidant activity of high-dose vitamin E supplements in vivo. *Biodrugs* 2006; 20:271-3.
- (48) Breithaupt DE, Kraut S. Simultaneous determination of the vitamins A, E, their esters and coenzyme Q10 in multivitamin dietary supplements using an RP-C30 phase. *Eur Food Res Technol* 2006; 222:643-9.
- (49) Bagchi D. Nutraceutical and functional food in the United States and around the world. 2nd Ed. Houston: Academic Press; 2008.
- (50) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. *Diário Oficial da União* 1999; 3 dez.
- (51) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e/ou novos ingredientes. *Diário Oficial da União* 1999; 3 dez.

5.2 SEGUNDO ARTIGO

O segundo artigo descreve as etapas de adequação e validação das metodologias para a determinação de vitaminas por CLAE e foi submetido ao periódico Revista do Instituto Adolfo Lutz.

Validação e aplicação de métodos cromatográficos para determinação de vitaminas em suplementos

Validation and application of chromatographic methods for determination of vitamins in supplements

RESUMO

Foram propostas duas metodologias para a determinação de vitaminas em suplementos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE): Uma para a determinação simultânea de vitaminas lipossolúveis (acetato de retinol, palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno) e outra para a determinação simultânea de vitaminas hidrossolúveis (B1, vitamina C, nicotinamida, ácido nicotínico, B6 e ácido pantotênico) em suplementos vitamínicos. A validação das metodologias foi realizada utilizando material de referência certificado SRM 3280 do NIST e padrões de vitaminas. Os limites de detecção (LDs) e de quantificação (LQs) variaram entre 0,3 e 4,3 $\mu\text{g/mL}$, e entre 0,5 e 14,0 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. As recuperações dos padrões adicionados nas matrizes variaram entre 92 % e 109 % e entre 86 % e 108 % no material de referência. A repetitividade foi calculada pelo desvio padrão relativo (RSD), apresentando valores entre 0,2 % e 9,6 %. Os métodos validados foram aplicados para a determinação de vitaminas A, E, B1, C, niacina, B6 e ácido pantotênico em 10 amostras de suplementos vitamínicos. Ambos os métodos se mostraram adequados para a análise de vitaminas em suplementos e podem ser utilizados para o monitoramento e fiscalização destes produtos.

Palavras-chave: vitaminas, validação, suplementos vitamínicos, CLAE.

ABSTRACT

Two methodologies were developed for the determination of vitamins in supplements by high performance liquid chromatography (HPLC): One for the simultaneous determination of fat soluble vitamins (retinyl acetate, retinyl palmitate, α -tocopheryl acetate and β -carotene), and another for the simultaneous determination of water soluble vitamins (B1, C, nicotinamide, nicotinic acid, B6 and pantothenic acid) in multivitamin supplements. The methodologies were validated using certified reference material SRM 3280 from NIST and vitamin standards. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) ranged between 0.3 and 4.3 $\mu\text{g/mL}$ and between 0.5 and 14.0 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The repeatability was calculated by the relative standard deviation (RSD), with values between 0.2 % and 9.6 %. The recoveries of vitamin standards spiked in supplements ranged between 92 % and 109 %, and from reference material, between 86 % and 108 %. The validated methods were applied for determination of vitamins A, E, B1, C, niacin, B6 and pantothenic acid in 10 multivitamin supplements. Both methods are suitable for determination of vitamins in multivitamin supplements, and can be used for monitoring and surveillance of these products.

Keywords: vitamins, validation, vitamin supplements, HPLC.

INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de suplementos vitamínicos e minerais no Brasil é comparável aqueles dos Estados Unidos e Alemanha^{1,2}. Esta categoria de produto passou a ser isenta de registro no Ministério da Saúde a partir de 2010³, facilitando ainda mais a sua comercialização no mercado brasileiro. As informações sobre qualidade e segurança destes produtos são, na maioria das vezes, limitadas às informações constantes nos rótulos e, no entanto, o teor de vitaminas declarados na informação nutricional da rotulagem poderão ser confirmados somente após análise destes produtos por meio de metodologias analíticas validadas.

A determinação de vitaminas lipossolúveis em alimentos envolve, quase sempre, etapas de saponificação, extração com solvente orgânico e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência ou ultravioleta-visível (UV-Vis). A determinação de vitaminas hidrossolúveis foi realizada durante muitos anos por métodos microbiológicos e espectrofotométricos, e mais recentemente, também por CLAE^{4,5}. As técnicas cromatográficas modernas apresentam diversas vantagens tais como: redução no tempo de análise, utilização de menor quantidade de solventes, maior eficiência, além da possibilidade de quantificar várias vitaminas em uma mesma análise. A CLAE acoplada a detector de massas e a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE), apesar das vantagens apresentadas, são métodos de alto custo^{6,7,8}.

A análise de vitaminas exige cuidados especiais, principalmente devido a sensibilidade destes compostos à luz, oxigênio, temperatura e alterações de pH⁴. Em alimentos *in natura*, as vitaminas encontram-se em baixas concentrações, muitas vezes na presença de interferentes em matrizes complexas. Em suplementos, as vitaminas estão presentes em concentrações maiores, porém, há grande variação entre o teor de vitaminas adicionados nestes produtos, dificultando a extração e análise simultânea de alguns compostos⁹. As concentrações de vitamina B₁₂ e de vitamina C, por exemplo, encontram-se próximos de 2 µg e 45 mg, respectivamente em uma porção.

O tamanho da porção para análise é um fator importante a se considerar, já que algumas vitaminas são microencapsuladas com a finalidade de garantir sua estabilidade durante o período de armazenamento, e as partículas podem não estar homogeneamente distribuídas. As tecnologias como a nano e a microencapsulação estão rapidamente evoluindo, e ainda assim, nota-se a dificuldade da etapa de extração de algumas vitaminas¹⁰. O *National Institute of*

Standard and Technology (NIST) produziu recentemente um material de referência de multivitamínicos e multielementos¹¹ que serve de suporte para a validação de metodologias de análise destes produtos, permitindo aos laboratórios a implantação de metodologias confiáveis, favorecendo que a vigilância sanitária atue para oferecer produtos com maior garantia de qualidade aos consumidores.

Com a isenção da obrigatoriedade de registro sanitário, a fiscalização de suplementos vitamínicos torna-se necessária para assegurar a idoneidade dos mesmos. Assim, este trabalho teve como objetivo adequar e validar metodologias para determinação de vitaminas em suplementos vitamínicos, visando estabelecer métodos de fácil e rápida execução para a implantação na rotina, tanto em laboratórios de saúde pública quanto em laboratórios de controle de qualidade nas indústrias.

MATERIAL E MÉTODOS

Padrões, reagentes, material de referência certificado e amostras

Os padrões de acetato de retinol, acetato de α -tocoferol, β -caroteno, cloridrato de tiamina (B1), riboflavina (B2), cloridrato de piridoxina (B6), nicotinamida, ácido nicotínico e ácido pantotênico foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St Louis, EUA); o palmitato de retinol da Fluka (Buchs, Suíça) e o ácido ascórbico (C) da Supelco (Bellefonte, EUA). Foram utilizados os seguintes solventes grau cromatográfico: metanol da Carlo Erba (Milan, Itália) e acetonitrila, hexano e clorofórmio da J. T. Baker (Bakerbond, EUA). Trietilamina e BHT (butil hidroxi tolueno) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St Louis, EUA), HCl (ácido clorídrico) e ácido orto-fosfórico, da Merck (Darmstadt, Alemanha), e fosfato de sódio monobásico, da Calbiochem (San Diego, EUA). O material de referência SRM 3280 - *Multivitamin/Multielement Tablet* (5 frascos com 30 comprimidos cada), foi adquirido do NIST e as amostras de suplementos vitamínicos foram adquiridas no comércio da cidade de São Paulo.

A solução tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 3,0) foi preparada semanalmente, dissolvendo-se 6,9 g de fosfato de sódio monobásico em 1 L de água Milli-Q e o pH foi ajustado para $3,0 \pm 0,1$ com adição de ácido ortofosfórico 85 %. A solução foi colocada em banho ultrassônico por 10 min e filtrada em membranas de 0,45 μ m antes do uso.

Equipamentos

A pulverização das matrizes drágeas e comprimidos foi realizada em moinho vibratório, modelo MM400, marca Retsch Technology (Haan, Alemanha). Para os procedimentos de análise, utilizou-se balança analítica modelo XS205, marca Mettler Toledo (Schwerzenbach, Suíça); banho ultrassônico modelo Ultracleaner 1400, marca Unique (São Paulo, Brasil); centrífuga modelo 3-18K, marca Sigma (Osterode, Alemanha); concentrador de amostras modelo Centrivap, marca Labconco (Kansas City, EUA). A leitura das absorbâncias dos padrões de vitaminas e de β -caroteno foi realizada em espectrofotômetro UV/Visível modelo UV-X1650PC, marca Shimadzu (Kyoto, Japão) e o ajuste de pH da solução tampão foi realizado em pHmetro digital, modelo PG1800, marca Gehaka (São Paulo, Brasil). A água foi purificada pelo sistema Milli-Q, da Millipore (Bedford, EUA).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo LC-20AT, com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, forno de coluna CTO-20A e detector de arranjo de diodos PDA-20A, marca Shimadzu (Kyoto, Japão). Para ambos os métodos, foi utilizada coluna de fase reversa C18 Shim-Pack VP-ODS-2 (150 mm x 4,6 mm, partículas de 5 μ m), marca Shimadzu (Kyoto, Japão).

Preparo das amostras de suplementos vitamínicos

Um mínimo de dez unidades das amostras em drágeas ou comprimidos foram pesadas para o cálculo do peso médio real, e estas foram trituradas em moinho utilizando vasos de moagem de 50 mL, com frequência de 20 Hz durante 1 min. Para a determinação das vitaminas A e E e β -caroteno foi necessária uma etapa adicional: as amostras trituradas previamente, foram passadas em tamis de 100 Mesh, e o conteúdo retido no tamis foi pulverizado em vaso de moagem de 10 mL com frequência de 20 Hz durante 30 s, para que todo o pó atingisse uma granulometria menor que 150 μ m, ou seja, passasse pelo tamis de 100 Mesh.

As cápsulas gelatinosas duras foram abertas manualmente e o conteúdo (pó) de dez unidades foi homogeneizado em frascos de polipropileno. As cápsulas gelatinosas moles de matriz oleosa foram abertas com auxílio de estilete e o conteúdo de 10 unidades foi homogeneizado em tubos de polipropileno. Nestes dois tipos de cápsulas, o conteúdo foi completamente removido para a pesagem das cápsulas vazias. Determinou-se por diferença entre os pesos das cápsulas inteiras e das cápsulas vazias, o peso médio do conteúdo de 10

unidades. Em matrizes líquidas, os frascos foram agitados antes da tomada de amostra para garantir sua homogeneidade.

As definições das diferentes formas de apresentação dos suplementos vitamínicos e suas respectivas matrizes para análise estão apresentadas no material complementar 1.

Metodologia proposta para a determinação de vitaminas A e E e β -caroteno

O desenvolvimento da metodologia foi baseado no método descrito por Thomas et al¹² com modificações. As etapas de adequação do ensaio, que levaram a alterações no método original, bem como os resultados da validação do ensaio estão descritas no item resultados e discussões. A fase móvel foi constituída de metanol com 0,1 % de trietilamina : etanol (75 : 25, v/v), com fluxo de 1,0 mL/min, em modo isocrático, com forno de coluna a 35 °C. O volume de injeção foi de 20 μ L e a temperatura no injetor automático foi mantida a 15 °C para minimizar a degradação das vitaminas. O tempo da análise cromatográfica foi de 25 min.

Cerca de 250 mg da amostra pulverizada foram pesadas em tubo de polipropileno com tampa rosqueada com capacidade de 50 mL. Foi adicionado 1 mL de HCl 0,1 M aos tubos, os quais foram sonicados a 40 kHz em banho ultrassônico por 15 min. A extração dos analitos foi realizada em 3 etapas utilizando 10, 10 e 5 mL de hexano respectivamente para a primeira, segunda e terceira extrações. Após cada adição de hexano, os tubos foram homogeneizados em agitador tipo vórtex por 1 min, colocados em banho ultrassônico por 5 min, agitados novamente em agitador tipo vórtex por 30 s e centrifugados a 10.000 rpm por 15 min a 4 °C. Após cada centrifugação, os extratos foram transferidos para balões volumétricos âmbar de 25 mL com auxílio de micropipeta, e o volume final foi completado com hexano. Alíquotas de 3 mL do extrato hexânico foram transferidos para tubos de vidro de 10 mL e colocados em concentrador de amostras por 10 min a 40 °C para evaporação do solvente. Quando foi observado algum resíduo líquido no tubo, este foi completamente seco com auxílio de nitrogênio. As amostras foram ressuspensas em 2 mL de álcool etílico com BHT a 0,3 mg/mL, filtrados em membranas de 0,45 μ m (Millipore) para frascos tipo *vial* âmbar.

Para a análise dos suplementos com matriz oleosa, utilizou-se quantidade de amostra entre 150 e 400 mg, e para análise em matriz líquida, pipetou-se um volume entre 1 e 3 mL, dependendo da concentração de vitaminas declaradas na informação nutricional. A extração de vitaminas A e E e β -caroteno foi realizada seguindo o mesmo procedimento utilizado para as matrizes pulverizadas, excluindo-se a primeira etapa correspondente a adição de HCl 0,1 M com banho ultrassônico por 15 min.

Para a curva de calibração, os padrões de acetato e palmitato de retinol e acetato de α -tocoferol foram dissolvidos em álcool etílico e o padrão de β -caroteno foi dissolvido em hexano. As concentrações das soluções de estoque foram determinadas espectrofotometricamente pela Lei de Lambert-Beer, utilizando as seguintes absorvidades molares: 1560 dL/g.cm para acetato de retinol a 325 nm, 1000 dL/g.cm para palmitato de retinol a 325 nm, 43,6 dL/g.cm para acetato de α -tocoferol a 284 nm e 2590 dL/g.cm para β -caroteno a 450 nm^{12,13}.

As curvas de calibração foram construídas em 5 níveis nas seguintes faixas de concentração: 0,9 a 30,4 μ g/mL para acetato de retinol; 36,7 a 586,8 μ g/mL para acetato de α -tocoferol; 2,4 a 76,9 μ g/mL para palmitato de retinol e 3,1 a 51,6 μ g/mL para β -caroteno.

Nos suplementos vitamínicos, a vitamina A pode ser adicionada nas formas de acetato ou palmitato de retinol ou ainda como o β -caroteno, e os seus teores são expressos como μ g ER (equivalentes de retinol) por porção. A vitamina E é adicionada na forma de acetato de α -tocoferol e expressa como mg α -TE (equivalentes de α -tocoferol) por porção. Para a expressão dos resultados foram utilizados os fatores 0,872, 0,546 e 0,167 respectivamente para acetato de retinol, palmitato de retinol e β -caroteno e o fator 0,91 para o acetato de α -tocoferol^{14,15}. Uma porção corresponde à ingestão diária de suplemento recomendada pelo fabricante.

Teste de estabilidade

Foi realizada a determinação de acetato de α -tocoferol, acetato de retinol e β -caroteno em uma amostra comercial de suplemento vitamínico e mineral em comprimido para verificar a estabilidade dos analitos no extrato hexânico e no extrato final armazenado em frasco tipo *vial*, contendo 0,3 mg/mL de BHT em etanol. Os extratos contidos em *vials* foram analisados por CLAE no dia do preparo (Tzero) e após 24h, 72h, 7 dias e 15 dias de armazenamento em freezer a -18 °C. Além disso, três porções do extrato hexânico foram armazenados em tubos criogênicos de 4 mL em freezer a -18 °C, os quais foram preparados e analisados 24 h (1ª porção), 72 h (2ª porção) e 7 dias (3ª porção) após a extração.

Metodologia proposta para a determinação de vitaminas hidrossolúveis

A fase móvel foi constituída de metanol (A) e tampão fosfato de sódio 0,05 M (B), em modo de gradiente linear, iniciando com 98 % de A, passando para 40 % de A em 9 min,

retornando para a condição inicial em 15 min, e mantendo-se nesta proporção até 25 min para equilíbrio da fase móvel, com fluxo de 0,8 mL/min. O volume de injeção foi de 10 µL e as temperaturas no injetor automático e no forno de coluna foram mantidas a 15 °C e 26 °C, respectivamente. O ácido pantotênico foi detectado a 209 nm, a tiamina, vitamina C, nicotinamida e ácido nicotínico a 254 nm, riboflavina a 268 nm e a piridoxina a 283 nm.

Cerca de 350 mg da amostra pulverizada foram pesadas em tubo de polipropileno com tampa rosqueada com capacidade de 50 mL. Foram adicionados 35 mL de solução tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 3,0) aos tubos, os quais foram agitados em agitador tipo vórtex por 20 s, filtrados em papel de filtro quantitativo, e em seguida em membranas de 0,22 µm (Millipore) para frascos tipo *vial* âmbar. As análises cromatográficas foram realizadas imediatamente após o preparo.

Para análise em matriz oleosa, pesou-se uma quantidade de amostra entre 150 e 400 mg, adicionou-se 5 mL de clorofórmio e foram realizadas 3 extrações com 10 mL de tampão fosfato. A cada adição de tampão, os tubos foram agitados em agitador tipo vórtex por 20 s. Após a separação das fases, a fase aquosa foi transferida para frasco de polipropileno com auxílio de pipeta automática. Cerca de 2 mL de fase aquosa foi filtrada em filtros de 0,22 µm (Millipore) para frascos tipo *vial* âmbar e analisadas imediatamente por CLAE.

Em matriz líquida, pipetou-se um volume entre 1 e 3 mL, seguindo o mesmo procedimento utilizado para as matrizes pulverizadas.

Os padrões das vitaminas hidrossolúveis foram dissolvidos em tampão fosfato de sódio 0,05 M e as curvas de calibração foram construídas em 5 níveis nas seguintes faixas de concentração: 11,1 a 177,6 µg/mL para nicotinamida; 29,8 a 476,9 µg/mL para vitamina C; 3,8 a 60,4 µg/mL para tiamina; 3,7 a 59,3 µg/mL para piridoxina; 3,7 a 59,3 µg/mL para ácido pantotênico e 10,4 a 166,3 µg/mL para ácido nicotínico. Os resultados foram expressos em mg de vitamina por porção de suplemento.

Validação

As validações dos métodos foram realizadas de acordo com o documento de caráter orientativo da Coordenação Geral de Acreditação DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2011)¹⁶. Os seguintes parâmetros de desempenho foram determinados.

Seletividade: Para o estudo da seletividade, foram selecionadas amostras de suplementos vitamínicos e minerais com ausência do analito a ser estudado, os quais foram

utilizados como o branco da amostra. Para a avaliação da seletividade foram realizados os ensaios em dois grupos de amostras de teste, um com a matriz (branco da amostra) e outro sem a matriz (branco do ensaio), seguindo a metodologia proposta. As análises foram realizadas em seis replicatas independentes para cada grupo, com adição de um nível de concentração do padrão do analito.

O efeito da matriz suplementos vitamínicos e minerais foi verificado pelo teste F, para comprovar a homogeneidade das variâncias e pelo teste t, para a comparação das médias. Em cada grupo, foi verificada a existência de *outlier*, através do teste de Grubbs. Os seguintes critérios de aceitação foram utilizados: Se $G_{\text{calc}} < 1,887$ não há *outlier*; se $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$ e $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$ não há efeito de matriz; se $t_{\text{calc}} > t_{\text{tab}}$ e/ou $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ há necessidade da adição padrão.

Linearidade e Faixa de Trabalho: O estudo da linearidade foi realizado com 5 níveis de concentração. Os padrões foram preparados em triplicatas e os valores de suas áreas foram usados para a obtenção da equação de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Um estudo da linearidade foi estabelecido para o método por meio do coeficiente de regressão linear (r) da reta. O coeficiente de correlação quadrado (r^2) é normalmente mais utilizado porque fornece a ideia percentual de correlação dos pontos com a reta. Quanto mais próximo de 1 é o r^2 , melhor é a representação do modelo matemático expresso pela equação de reta. Para o conjunto de dados obtidos foi calculado o valor de r^2 e um valor maior que 0,995 foi requerido.

O método dos mínimos quadrados supõe que os resíduos têm a mesma variância. Na calibração isto significa que a dispersão das medidas é independente do valor da concentração. Esta condição de variância uniforme é chamada homocedasticidade. Para verificar se o sistema é homocedástico (variâncias iguais) ou heterocedástico (variâncias diferentes) foi aplicado o teste de Cochran, visando avaliar como é a variância ao longo da curva. Os valores dos resíduos foram lançados em gráfico e foi observada se a distribuição dos pontos era aleatória, livre de tendências.

Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ): Foram adicionadas pequenas concentrações dos analitos ao branco da amostra e utilizou-se como critério para determinação do limite de detecção, as concentrações que equivalassem a uma área de pico cerca de três vezes maiores que o ruído. Utilizando a fórmula $LD = LQ/3,3$, estabeleceu-se o LQ. A precisão e exatidão das áreas correspondentes ao LQ foram confirmadas, preparando

seis replicatas nestas concentrações, e quantificando conforme os métodos analíticos estabelecidos.

Exatidão: A exatidão foi avaliada pelo teste de recuperação dos padrões adicionados nas matrizes de suplementos vitamínicos. Foram preparadas em triplicatas, amostras de suplementos com adição de padrão em três níveis de concentração, que foram quantificadas conforme os métodos analíticos estabelecidos. Além disso, foi analisado o material de referência SRM 3280 *Multivitamin/Multielement tablet* em 6 replicatas.

Precisão: Para a repetitividade, foram utilizados os resultados obtidos no teste de recuperação de amostras fortificadas, calculando-se o desvio padrão para cada nível de concentração e o desvio padrão relativo (RSD).

Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. O nível de significância estabelecido para os testes estatísticos aplicados na validação das metodologias foi de $\alpha = 5\%$. Todas as análises dos dados foram realizadas pelo programa Microsoft® Excel, 2010.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Adequação da metodologia para determinação de vitaminas A e E e β -caroteno

Condições cromatográficas: Inicialmente estabeleceram-se as condições cromatográficas de separação e de detecção do acetato de retinol, palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno em CLAE utilizando detectores de arranjo de diodos e de fluorescência em série. Para tal foi utilizada uma coluna de fase reversa C18, Shim-Pack VP-ODS-2 (250 mm x 4,6 mm, partículas de 5 μ m, marca Shimadzu) e fase móvel metanol com 0,05 % de trietilamina : acetonitrila (96 : 4, v/v). Porém, nestas condições, a eluição do β -caroteno não ocorreu em 60 min, indicando necessidade de se utilizar uma fase móvel menos polar. A escolha dos solventes da fase móvel foi baseada no método descrito por Kand'ár et al¹⁷ composta de metanol e etanol (75 : 25, v/v). A corrida cromatográfica utilizando esta fase móvel durou 45 min. Como o objetivo do trabalho era desenvolver uma metodologia prática e rápida para implantação na rotina, havia a necessidade de se reduzir o tempo de corrida. Para isso, foi utilizada uma coluna de mesma composição, porém com comprimento de 150 mm,

tornando possível a eluição e separação de todos os compostos de interesse em 25 min. Nestas condições, o menor valor de R_s (resolução) observado foi de 5,7, atestando a qualidade da separação cromatográfica, já que R_s superior a 1,25 é considerado suficiente para fins quantitativos e acima de 1,5 indica separação completa¹⁸. Este método resultou na determinação simultânea de acetato de retinol, palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno.

Inicialmente foi utilizado o DAD para detecção do acetato e palmitato de retinol ($\lambda = 325$ nm) e do β -caroteno ($\lambda = 450$ nm), em série com o detector de fluorescência ($\lambda_{ex} = 280$ nm e $\lambda_{em} = 330$ nm) para detecção do acetato de α -tocoferol. A análise simultânea das vitaminas A e E normalmente é realizada utilizando-se estes dois detectores já que a intensidade de resposta dos tocoferóis no UV é relativamente menor quando comparado à intensidade de resposta dos retinóis. Porém, nos suplementos vitamínicos, a concentração de acetato de α -tocoferol encontrada é cerca de 10 a 15 vezes maior que a concentração de acetato de retinol. Assim, a curva de calibração foi construída levando-se em consideração estas proporções, possibilitando a quantificação de ambas utilizando somente o DAD.

Preparo de amostra e extração das vitaminas: No método proposto por Thomas et al¹², utilizaram-se 2 g de amostra e no mínimo 100 mL de solvente orgânico, e a etapa de extração das vitaminas foi realizada *overnight*, o que não se mostrou muito prático. Com o objetivo de otimizar a etapa de extração, foram realizadas tentativas de extração utilizando 0,2 a 0,3 g de amostra e reduzindo o volume de solvente para 25 mL. A fim de reduzir a quantidade de amostra foi necessária uma homogeneização adequada dos suplementos vitamínicos.

O pó obtido após trituração dos comprimidos no moinho vibratório, utilizando vasos de moagem de 50 mL, com frequência de 20 Hz durante 1 min apresentou-se visualmente homogêneo, porém, após análise, observou-se que a homogeneização não foi suficiente para um resultado satisfatório, em relação ao acetato de retinol, o qual apresentou coeficiente de variação acima de 20 % para análise em quadruplicata. Para melhorar a homogeneização, a amostra pulverizada foi passada em tamis de 100 mesh e o resíduo retido foi novamente triturado em vasos de moagem de 10 mL por 30 s até que todo o pó passasse pelo tamis de 100 mesh. Com esta etapa de homogeneização foi possível obter resultados com coeficientes de variação menores que 10 %. Além disso, foi realizado teste de extração das amostras utilizando somente o vórtex por 1 min após adição de hexano, ou o vórtex por 1 min seguido de ultrassom por 5 min e novamente o vórtex por 30 s. A eficiência da extração foi confirmada pela quantificação dos analitos extraídos do resíduo após as três extrações, ou

seja, realizando a quarta extração e verificando-se que os teores de vitaminas encontrados nesta última não foram significativas.

Os resultados do teste de estabilidade dos analitos durante a análise mostraram que, tanto o extrato hexânico quanto o extrato final no *vial*, podem ser armazenados em freezer a -18 °C, por um período de até 15 dias, período máximo avaliado neste estudo, sem diferenças significativas nas concentrações de acetato de α -tocoferol, acetato de retinol e β -caroteno extraídos de suplementos vitamínicos (Tabela 1). Estes resultados serão importantes quando houver impossibilidade de se realizar a análise completa em um único dia.

Tabela 1. Teores de acetato de α -tocoferol, acetato de retinol e β -caroteno em suplemento vitamínico durante armazenamento dos *vials* e dos extratos em freezer a -18 °C

	Tempo de armazenamento	Acetato de α -tocoferol (mg/porção)	Acetato de retinol (μ g/porção)	β -caroteno (μ g/porção)
<i>Vial</i>	Tzero	7,02 $\pm$ 0,23 ^a	286,21 $\pm$ 9,67 ^b	247,15 $\pm$ 7,49 ^c
	24h	6,98 $\pm$ 0,23 ^a	284,23 $\pm$ 9,51 ^b	246,51 $\pm$ 8,32 ^c
	72h	6,98 $\pm$ 0,23 ^a	283,61 $\pm$ 9,47 ^b	244,09 $\pm$ 8,43 ^c
	7dias	6,96 $\pm$ 0,22 ^a	276,25 $\pm$ 9,06 ^b	244,01 $\pm$ 7,83 ^c
	15dias	6,97 $\pm$ 0,24 ^a	274,74 $\pm$ 9,65 ^b	241,90 $\pm$ 6,80 ^c
Extrato	24h	6,82 $\pm$ 0,17 ^a	281,88 $\pm$ 11,06 ^b	235,55 $\pm$ 12,62 ^c
	72h	7,06 $\pm$ 0,21 ^a	288,22 $\pm$ 8,62 ^b	254,48 $\pm$ 3,42 ^c
	7dias	7,03 $\pm$ 0,22 ^a	290,17 $\pm$ 14,67 ^b	243,31 $\pm$ 11,51 ^c

*Médias (n=4) seguidas de letras iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente (p < 0,05) pela ANOVA.

Adequação da metodologia para determinação de vitaminas hidrossolúveis

Condições cromatográficas: Utilizou-se inicialmente as fases móveis tampão fosfato de sódio 0,05 M (A) e acetonitrila (B), em modo de gradiente, com fluxo de 1,0 mL/min. Foram testadas concentrações de acetonitrila entre 2 e 25 % nas condições iniciais, aumentando linearmente para 40 %, porém, não houve separação com boa resolução dos picos de piridoxina e nicotinamida. Ao substituir a acetonitrila pelo metanol, houve melhor separação dos compostos, sendo estabelecida a proporção de 2 % de metanol nas condições iniciais com fluxo de 0,8 mL/min, e apresentou ainda boa resolução para todos os picos cromatográficos ($R_s > 4,8$).

Preparo de amostra e extração das vitaminas: Utilizou-se 350 mg de amostra com 35 mL de tampão fosfato, combinando-se agitação em vórtex e banho ultrassônico, testando-se a segunda extração para certificar-se de que a extração única era suficiente. A agitação por

1 min em vórtex, com 5 min em banho ultrassônico, seguido de 30 s de agitação em vórtex e centrifugação a 10.000 rpm por 10 min a 4 °C (Método A), mostrou-se satisfatória para a extração e quantificação das vitaminas B1, C, niacina, B6, riboflavina e ácido pantotênico em material de referência certificado. O fluxograma deste método (A) de extração está representado no material complementar 2. As análises em material de referência foram realizadas com 6 repetições em 2 dois dias distintos. As 6 replicatas foram preparadas simultaneamente, assim, o tempo decorrido entre as injeções subsequentes foi de 25 min, tempo correspondente a uma análise. A média dos resultados para a vitamina C foi satisfatória, considerando a incerteza do valor certificado, porém, foi visível a sua degradação com o tempo (Figura 1). O preenchimento dos *vials* até a sua capacidade máxima para minimizar a ação do oxigênio, e o seu armazenamento em compartimento refrigerado do auto injetor, não foram suficientes para evitar a degradação da vitamina C.

Assim, verificou-se a necessidade de se realizar uma extração rápida, agitando-se o tubo com a amostra e a solução tampão fosfato somente em vórtex por 20 s. Para reduzir ainda mais o tempo de extração, optou-se por não centrifugar a amostra. A solução foi então filtrada primeiramente em filtro de papel quantitativo e em seguida em filtros de 0,22 µm e a análise cromatográfica foi realizada imediatamente após cada preparo. Desta forma, o tempo máximo a partir do início de preparo até a análise cromatográfica foi reduzido de 20 min para cerca de 5 min (Método B) (Material complementar 2). O material de referência foi também analisado por este método de extração em seis replicatas em dois dias distintos, e verificaram-se melhores resultados em relação à vitamina C (Figura 1). Com esta extração, a quantificação da riboflavina ficou prejudicada, provavelmente, porque esta vitamina tem baixa solubilidade em solução aquosa, e uma extração rápida não foi suficiente para a recuperação adequada desta vitamina. Porém, optou-se pelo método sem centrifugação para priorizar a análise de vitamina C, tendo em vista que esta vitamina é o componente mais abundante nas amostras de suplementos vitamínicos disponíveis no comércio. Esta extração se mostrou rápida e prática, apesar da necessidade de análise imediata no cromatógrafo após cada extração.

Figura 1. Concentrações de vitamina C determinadas em material de referência certificado SRM 3280 (Valor certificado = $42,2 \pm 3,7$ mg/g), pela extração realizada com centrifugação (Método A) e sem centrifugação com injeção imediata (Método B).

Ao analisar algumas amostras comerciais pelos dois métodos de extração (A e B), verificou-se que não havia um padrão para a velocidade de degradação da vitamina C. Ao comparar os teores de vitamina C analisados por ambos os métodos, observou-se porcentagens de degradação entre 18 e 83 % nos resultados obtidos pelo método A quando comparado com o resultado médio obtido pelo método B. O tempo decorrido após o início do preparo até a análise cromatográfica foi de 20 a 70 min no método A, enquanto no método B, todas as análises cromatográficas foram realizadas após cerca de 5 min do início do preparo (Tabela 2). A vitamina C é facilmente oxidada e esta reação pode ser catalisada pela presença de minerais, que estavam presentes nestas quatro amostras analisadas. As diferentes formas de adição de ferro (fumarato ferroso, ferro carbonila ou ferro quelato), a composição dos excipientes como os estabilizantes e os antioxidantes podem ter influenciado na velocidade de degradação da vitamina C nas amostras analisadas¹⁹.

Tabela 2. Concentrações de vitamina C (mg/porção) determinados por dois métodos de extração (A: com centrifugação; B: sem centrifugação), em amostras comerciais, e porcentagens de degradação com o tempo decorrido entre o início do preparo até a análise em CLAE

Método	Tempo (min)	Amostra 1	Deg (%) [*]	Amostra 2	Deg (%) [*]	Amostra 3	Deg (%) [*]	Amostra 4	Deg (%) [*]
A	20	33,8	18	29,8	39	11,9	61	25,4	33
	45	33,2	20	28,9	41	9,7	68	21,1	44
	70	26,2	36	28,3	42	5,2	83	18,2	52
B	5	41,1		48,7		30,4		38,6	
		41,9		50,1		32,1		37,7	
		40,9		48,8		30,1		37,2	

*Deg (%): Porcentagem de degradação da vitamina C em relação ao teor médio obtido pelo método B.

Validação das metodologias

Seletividade: Os ensaios para avaliação da seletividade mostraram que não há *outlier* entre as replicatas, ou seja, $G_{\text{calc}} < 1,887$, e que não há efeito de matriz, pois $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$ e $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$ para todos os analitos, logo a adição de padrão não foi necessária, podendo ser utilizada a curva de calibração preparada sem a matriz (Material complementar 3).

Como os resultados mostraram que a matriz não interfere na análise, os estudos de linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão foram baseados na curva de calibração sem a matriz.

Linearidade e faixa de trabalho: De um modo geral, um coeficiente de correlação quadrado igual ou superior a 0,995 é utilizado para indicar métodos lineares, portanto, adotou-se este critério. Considerando os resultados obtidos, conclui-se que os coeficientes de correlação quadrado apresentam valores superiores a 0,995, logo, a faixa de trabalho é linear nos intervalos apresentados na tabela 3.

No teste de Cochran, o valor de C_{calc} foi menor que de C_{tab} (Tabela 3) para todos os analitos, logo, a curva de calibração apresenta comportamento homocedástico, ou seja, possui variâncias semelhantes ao longo da faixa de trabalho (Material complementar 4). Além disso, os gráficos de resíduos das curvas analíticas de calibração mostraram uma distribuição aleatória, livre de tendências, mostrando que o modelo matemático utilizado para obtenção da equação de reta é adequado.

LD e LQ: Os valores dos limites de detecção e de quantificação estão apresentados na tabela 1. Os valores de áreas obtidos para o limite de quantificação possuem precisão e

exatidão adequados. O desvio padrão relativo entre as repetições apresentou um valor inferior a 10 %, indicando que as medições das áreas dos padrões no LQ possuem precisão adequadas, ou seja, são repetitivas. A exatidão foi avaliada pela linearidade da resposta deste padrão com o primeiro ponto da curva de calibração, onde concentração e área aumentam na mesma proporção.

Os limites de detecção e quantificação não são críticos para esta metodologia, pois os teores normalmente encontrados destas vitaminas em suplementos permitem a obtenção de extratos relativamente concentrados e as curvas de calibração foram determinadas levando-se em consideração estes teores.

Tabela 3. Valores de r^2 obtidos das curvas de calibração nas faixas de trabalho apresentadas, valores de C_{tab} e C_{calc} obtidos pelo teste de Cochran, LD e LQ dos analitos.

Analito	Faixa de trabalho ($\mu\text{g/mL}$)	r^2	C tab/ C calc	LD* ($\mu\text{g/mL}$)	LQ* ($\mu\text{g/mL}$)
Acetato de retinol	0,9 a 30,4	0,99999	0,684/0,666	0,1	0,5
Acetato de α -tocoferol	36,7 a 586,8	0,99997	0,684/0,467	3,0	9,9
Palmitato de retinol	2,4 a 76,9	0,99994	0,684/0,571	0,3	1,0
β -caroteno	3,1 a 51,6	0,99808	0,684/0,534	0,3	1,0
Ácido pantotênico	21,4 a 342,8	0,99996	0,684/0,560	4,3	14,0
B1	3,8 a 60,4	0,99986	0,684/0,623	0,9	3,0
Nicotinamida	11,1 a 177,6	0,99995	0,684/0,602	2,5	8,1
Ácido nicotínico	10,4 a 166,2	0,99992	0,684/0,584	2,4	7,9
Vitamina C	29,8 a 476,9	0,99987	0,684/0,560	3,6	12,0
B6	3,7 a 59,3	0,99999	0,684/0,510	0,9	3,0

* (n = 3)

Exatidão: Os resultados dos ensaios de recuperação dos padrões de vitaminas e β -caroteno adicionados nas matrizes drágeas, comprimidos e cápsulas (pó), cápsulas gelatinosas (matriz oleosa) e nas matrizes líquidas estão listados na Tabela 4. De acordo com o guia de validação de métodos químicos da AOAC, os valores aceitáveis de recuperação para o nível de concentração do acetato de α -tocoferol, ácido pantotênico, nicotinamida, ácido nicotínico e vitamina C situam-se entre 90 e 108 % e para os demais analitos, entre 85 e 110 %²⁰. A recuperação do padrão de β -caroteno em amostras líquidas apresentou valores entre 80 e 130 %. No entanto, foi verificado que este parâmetro seria desnecessário, já que não foram encontradas amostras líquidas contendo β -caroteno como fonte de vitamina A.

Na análise do material de referência, verificou-se menor recuperação dos analitos quando comparado com a análise em amostras fortificadas, porém, estes resultados também se

mostraram satisfatórios, considerando a incerteza dos valores certificados. A exatidão dos resultados das análises no material de referência foi também confirmada pelo cálculo do Z-Score, os quais apresentaram valores inferiores a 2, mostrando que a média das replicatas é estatisticamente equivalente ao valor de propriedade certificado (Tabela 5).

Os ensaios de recuperação em amostras fortificadas foram importantes para comprovar que não houve degradação significativa das vitaminas e do β -caroteno durante a extração, e as análises no material de referência demonstraram que a extração das vitaminas e do β -caroteno de uma matriz complexa foi efetiva, assegurando que o método apresenta recuperação adequada para todos os analitos.

Precisão: Os desvios padrão relativos variaram entre 0,2 e 9,6 % (Tabela 4), concluindo-se que os métodos atendem ao critério de repetitividade estabelecido em toda a faixa de trabalho, apresentando valores de RSD inferiores a 10 %.

Tabela 4. Resultados dos ensaios de recuperação dos padrões de vitaminas e de β -caroteno adicionados em suplementos vitamínicos após extração e análise por CLAE-DAD

Analito	Pó			Oleosas			Líquidas		
	Adicionada*	Rec (%)**	RSD (%)***	Adicionada*	Rec (%)**	RSD (%)***	Adicionada*	Rec (%)**	RSD (%)***
Acetato de retinol	2,0	99,5 $\pm$ 5,6	5,6	2,3	96,5 $\pm$ 4,1	4,2	2,3	102,0 $\pm$ 4,2	3,7
	7,0	94,6 $\pm$ 1,7	1,8	14,3	97,2 $\pm$ 3,5	3,6	14,2	102,7 $\pm$ 2,3	0,2
	24,9	95,1 $\pm$ 0,7	0,8	27,4	97,7 $\pm$ 3,4	3,5	27,3	101,6 $\pm$ 3,6	1,6
Palmitato de retinol	1,2	94,7 $\pm$ 0,8	0,9	2,9	92,0 $\pm$ 1,8	1,9	14,4	96,0 $\pm$ 4,4	4,5
	19,5	96,3 $\pm$ 1,1	1,1	12,8	97,3 $\pm$ 3,0	3,1	48,0	100,7 $\pm$ 4,1	4,9
	78,1	104,1 $\pm$ 1,8	1,7	25,7	97,3 $\pm$ 1,1	1,1	96,0	96,1 $\pm$ 5,7	5,1
Acetato de α -tocoferol	36,5	98,5 $\pm$ 0,8	0,8	41,5	99,8 $\pm$ 6,6	6,6	35,6	98,9 $\pm$ 3,7	3,3
	73,1	100,2 $\pm$ 1,1	1,2	207,5	100,3 $\pm$ 5,5	5,5	178,1	101,5 $\pm$ 0,6	0,5
	219,3	101,5 $\pm$ 1,4	1,4	373,5	99,1 $\pm$ 4,4	4,4	356,3	101,1 $\pm$ 0,5	0,4
β -caroteno	4,1	100,4 $\pm$ 1	9,6	4,4	99,6 $\pm$ 8,0	8,0	-	-	-
	15,4	95,0 $\pm$ 5,8	9,9	27,6	108,1 $\pm$ 3,4	3,1	-	-	-
	36,6	101,9 $\pm$ 8,1	6,1	55,3	106,2 $\pm$ 5,2	4,9	-	-	-
Ácido pantotênico	25,1	92,9 $\pm$ 0,9	1,0	27,8	99,7 $\pm$ 4,0	4,0	24,2	103,4 $\pm$ 4,7	4,5
	100,3	95,3 $\pm$ 0,3	0,3	111,0	97,2 $\pm$ 1,7	1,8	96,9	97,2 $\pm$ 1,1	1,1
	200,7	94,1 $\pm$ 0,8	0,8	222,0	99,4 $\pm$ 1,3	1,4	193,8	98,1 $\pm$ 0,9	0,9
B1	5,1	105,7 $\pm$ 2,7	2,5	6,0	98,5 $\pm$ 1,7	1,7	5,1	95,7 $\pm$ 1,0	1,1
	20,6	105,7 $\pm$ 1,3	1,2	24,2	109,2 $\pm$ 3,6	3,3	20,3	103,2 $\pm$ 3,7	3,6
	41,1	104,4 $\pm$ 2,6	2,5	48,3	105,8 $\pm$ 1,0	0,9	40,7	103,2 $\pm$ 2,1	2,1
Nicotinamida	14,3	101,0 $\pm$ 3,3	3,2	17,3	94,9 $\pm$ 3,6	3,7	14,2	103,9 $\pm$ 2,7	2,6
	57,1	102,4 $\pm$ 0,9	0,8	69,1	105,0 $\pm$ 2,5	2,4	56,7	97,5 $\pm$ 3,6	3,7
	114,3	102,3 $\pm$ 1,2	1,2	138,2	99,1 $\pm$ 0,6	0,6	113,3	101,8 $\pm$ 0,4	0,4
Ácido nicotínico	14,2	95,8 $\pm$ 2,1	2,2	16,2	102,5 $\pm$ 1,4	1,4	14,3	93,6 $\pm$ 1,6	1,7
	56,7	99,0 $\pm$ 0,2	0,2	64,9	103,4 $\pm$ 3,0	2,9	57,0	98,4 $\pm$ 0,2	0,2
	113,3	97,4 $\pm$ 1,2	1,2	129,8	99,8 $\pm$ 0,7	0,7	114,1	103,0 $\pm$ 0,9	0,8
Vitamina C	44,8	98,7 $\pm$ 3,4	3,5	54,4	96,2 $\pm$ 4,7	4,8	44,9	97,1 $\pm$ 2,2	2,2
	134,3	100,5 $\pm$ 4,2	4,2	163,3	103,1 $\pm$ 2,0	1,9	134,8	98,5 $\pm$ 1,8	1,8
	310,6	99,8 $\pm$ 0,5	0,5	326,6	102,9 $\pm$ 1,3	1,3	269,6	101,5 $\pm$ 3,1	3,0
B6	5,1	100,5 $\pm$ 1,6	1,6	5,9	99,6 $\pm$ 1,8	1,8	5,1	97,3 $\pm$ 0,9	0,9
	20,6	94,4 $\pm$ 0,4	0,4	23,4	102,0 $\pm$ 2,3	2,3	20,3	96,9 $\pm$ 0,3	0,3
	41,1	92,7 $\pm$ 0,7	0,8	46,8	96,9 $\pm$ 0,5	0,5	40,6	99,8 $\pm$ 0,5	0,5

*Concentração do padrão de vitamina ($\mu\text{g/mL}$) adicionado na amostra; **Porcentagem de recuperação: Média $\pm$ Desvio Padrão ($n = 3$); *** Desvio Padrão Relativo: $n=3$; (-) Parâmetro não avaliado

Tabela 5. Valores de referência, incerteza expandida (U), recuperação (%) e Z-score das análises em material de referência SRM 3280

Analito	Valor de Referência	Incerteza do MRC	Valor analisado*	Recuperação*	Z-Score
Retinol (µg/g)	446	46	425,6 ± 12,8	95,9 ± 2,9	0,7986
α-Tocoferol (mg/g)	21,4	3,5	18,3 ± 0,5	85,6 ± 2,3	1,6197
β-caroteno (µg/g)	420	100	394,3 ± 34,1	91,7 ± 8,1	0,8551
Ácido pantotênico (mg/g)	7,3	0,96	7,9 ± 0,04	107,7 ± 0,5	1,8843
B1 (mg/g)	1,06	0,12	1,15 ± 0,03	108,3 ± 2,8	1,6728
Nicotinamida (mg/g)	14,1	0,23	14,2 ± 0,3	100,5 ± 2,3	0,7865
Vitamina C (mg/g)	42,2	3,7	41,7 ± 0,3	98,7 ± 0,7	0,4629
B6 (mg/g)	1,81	0,17	1,94 ± 0,1	107,0 ± 3,2	1,3778

MRC: Material de Referência Certificado; *Média ± Desvio Padrão (n = 6).

Aplicação dos métodos validados em amostras comerciais

Foram analisadas 10 amostras de suplementos vitamínicos comerciais, incluindo as matrizes drágeas, comprimidos, cápsulas gelatinosas duras e moles e soluções, de acordo com os métodos analíticos validados. Os picos cromatográficos foram identificados pelo tempo de retenção e confirmados pela comparação dos espectros de absorção das amostras com os dos padrões de cada vitamina. Ao comparar os teores de vitaminas analisados em amostras comerciais com os valores declarados na informação nutricional da rotulagem, observaram-se discrepâncias até 64 % superiores e 89 % inferiores (Tabela 6). Dentre as vitaminas analisadas, os teores de vitamina B6 apresentaram maior nível de conformidade, onde a variação máxima entre os teores analisados e declarados foi de 20 %, tanto inferior quanto superior. As amostras em drágeas apresentaram teores analisados abaixo do valor declarado em quase todas as vitaminas, enquanto as amostras em comprimidos apresentaram teores próximos ou superiores aos declarados para a maioria das vitaminas. A sobredosagem de micronutrientes é permitida pela legislação para garantir os teores declarados até o prazo final de validade²¹. Este fato pode justificar os teores acima do valor declarado em algumas amostras, porém, foram observadas amostras com teores abaixo dos valores declarados, principalmente para a vitamina A.

Tabela 6. Conteúdo de vitaminas obtidos na análise e declarados em suplementos vitamínicos comerciais

Amostras		Vitamina A (µgRE/porção)	≠ (%)	Vitamina E (mg α-TE/porção)	≠ (%)	Vitamina C (mg/porção)	≠ (%)	B1 (mg/porção)	≠ (%)	B6 (mg/porção)	≠ (%)	Ácido pantotênico (mg/porção)	≠ (%)	Nicotinamida (mg/porção)	≠ (%)
A - drágea	va	113,9 ± 0,5	-81	ND	-	39,0 ± 0,3	-13	0,9 ± 0,02	-18	0,5 ± 0,01	0	2,3 ± 0,01	-54	11,9 ± 0,2	-8
	vd	600		nd		45		1,1		0,5		5		13	
B - drágea	va	66,2 ± 4,8	-89	ND	-	33,7 ± 0,2	-25	0,8 ± 0,03	-27	0,4 ± 0,01	-20	1,6 ± 0,05	-68	11,8 ± 0,1	-9
	vd	600		nd		45		1,1		0,5		5		13	
C – caps gel dura	va	107,8 ± 11,1	-82	7,8 ± 0,8	-22	42,4 ± 1,8	-6	1,2 ± 0,1	0	1,3 ± 0,01	0	5,3 ± 0,4	6	15,9 ± 0,3	-1
	vd	600		10		45		1,2		1,3		5		16	
D - comprimido	va	561,4 ± 11,4	40	9,6 ± 0,2	43	40,2 ± 1,7	-11	1,2 ± 0,04	0	1,4 ± 0,007	8	6,0 ± 0,1	20	14,0 ± 0,1	-13
	vd	400		6,7		45		1,2		1,3		5		16	
E - comprimido	va	705,2 ± 39,3	18	16,4 ± 0,7	64	45,7 ± 4,2	2	1,3 ± 0,08	8	1,3 ± 0,1	0	5,4 ± 0,5	8	14,6 ± 1,4	-9
	vd	600		10		45		1,2		1,3		5		16	
F - cáps gel mole	va	358,8 ± 8,7	-10	9,0 ± 0,3	34	45,9 ± 0,9	2	1,4 ± 0,03	17	1,29 ± 0,01	-1	4,9 ± 0,1	-2	6,9 ± 0,1	-57
	vd	400		6,7		45		1,2		1,3		5		16	
G - cáps gel mole	va	109,9 ± 5,5	-82	3,4 ± 0,1	-66	55,4 ± 0,9	23	1,6 ± 0,03	33	1,1 ± 0,08	-15	6,6 ± 0,2	32	ND	-
	vd	600		10		45		1,2		1,3		5		nd	
H – caps gel mole	va	579,7 ± 25,7	-3	8,3 ± 0,1	-17	43,2 ± 1,4	-4	ND	-	1,5 ± 0,03	20	5,4 ± 0,1	8	20,9 ± 0,8	31
	vd	600		10		45		nd		1,25		5		16	
I - solução	va	206,4 ± 9,8	-8	2,3 ± 0,1	-8	20,5 ± 0,1	-32	0,6 ± 0,04	0	0,5 ± 0,001	-17	3,2 ± 0,1	7	8,9 ± 0,02	11
	vd	225		2,5		30		0,6		0,6		3		8	
J - solução	va	170,4 ± 7,0	-15	ND	-	34,5 ± 0,8	15	ND	-	ND	-	ND	-	ND	-
	vd	200		nd		30		nd		nd		nd		nd	

va: valor obtido na análise (média ± dp, n=3); vd: valor declarado na informação nutricional; ≠ (%): porcentagem de diferença do valor analisado em relação ao valor declarado; ND: não detectado; nd: não declarado; porção: quantidade de suplemento/dia indicado pelo fabricante.

CONCLUSÃO

A análise simultânea de acetato e palmitato de retinol e de β -caroteno se mostrou vantajosa, já que em muitas amostras de suplementos, o fabricante não declara qual é a fonte de vitamina A. Apesar da necessidade de uma extração rápida para a correta quantificação da vitamina C, ainda foi possível quantificar simultaneamente outras quatro vitaminas hidrossolúveis, normalmente presentes nos suplementos vitamínicos.

Os métodos propostos para análise de vitaminas A, E, B1, C, niacina, B6 e ácido pantotênico se mostraram adequados para diferentes matrizes de suplementos vitamínicos, podendo ser implantado na rotina de análise, tanto em laboratórios privados, para seu controle de qualidade, quanto em órgãos fiscalizadores, para monitoramento destes produtos.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo nº 2013/23006-4).

REFERÊNCIAS

1. Alves SCR, Navarro F. O uso de suplementos alimentares por frequentadores de academias de Potim-SP. Rev Bras Nutr Esportiva. 2010;4(20):139-46.
2. Fayh APT, Silva CV, Jesus FRD, Costa GK. Consumo de suplementos nutricionais por frequentadores de academias da cidade de Porto Alegre. Rev Bras Ciênc Esporte [Internet]. 2013;35(1):27-37. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbce/v35n1/a04v35n1>. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-32892013000100004>
3. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 27, de 6 de agosto de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Diário Oficial da União 2010; 9 ago.

4. Blake CJ. Status of methodology for the determination of fat-soluble vitamins in foods, dietary supplements, and vitamin premixes. *J AOAC Intern.* 2007;90(4):897-910.
5. Blake CJ. Analytical procedures for water-soluble vitamins in foods and dietary supplements: a review. *Anal Bioanal Chem* (2007) 389:63-76. DOI: 10.1007/s00216-007-1309-9.
6. Citová I, Havlíková L, Urbánek L, Solichová D, Nováková I, Solich P. Comparison of a novel ultra-performance liquid chromatographic method for determination of retinol and α -tocoferol in human serum with conventional HPLC using monolithic and particulate columns. *Anal Bioanal Chem.* 2007;388(3):675-81. DOI: 10.1007/s00216-007-1237-8.
7. Maldaner L, Jardim ICSF. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. *Quím Nova.* 2009;32(1):214-22. DOI: 10.1590/S0100-40422009000100036.
8. Klimczak I, Gliszczyńska-Świgło A. Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C. *Food Chem.* 2015;175:100-5. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.11.104.
9. Pei Chen P, Wolf WR. LC/UV/MS-MRM for the simultaneous determination of water-soluble vitamins in multi-vitamin dietary supplements. *Anal Bioanal Chem.* 2007;387:2441-8. DOI: 10.1007/s00216-006-0615-y.
10. Wilson N, Shah N.P. Review Paper: Microencapsulation of Vitamins. *ASEAN Food Journal.* 2007;14(1):1-14.
11. NIST. National Institute of Standards and Technology. Standard Reference Material. [Acesso 2015 out 08]. Disponível em: [https://www-s.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=3280]
12. Thomas JB, Sharpless KE, Yen JH, Rimmer CA. Determination of fat-soluble vitamins and carotenoids in standard reference material 3280 multivitamin/multielement tablets by liquid chromatography with absorbance detection. *J AOAC Int.* 2011;94(3):815-22.
13. AOAC-Association of Oficial Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18 ed. Gaithersburg, 2005.
14. USP-The United States Pharmacopeia. 32nd. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2009.
15. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Aprova o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. *Diário Oficial da União* 2005; 23 set.

16. INMETRO-Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE-008-Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rev 04. Coordenação Geral de Acreditação, 2011.
17. Kand'ár R, Novotná P, Drábková P. Determination of retinol, α -tocopherol, lycopene, and β -carotene in human plasma using HPLC with UV-Vis detection: Application to a clinical study. J Chem [Internet]. 2013; Article ID 460242, 7 p. Disponível em: [<http://dx.doi.org/10.1155/2013/460242>] DOI: 10.1155/2013/460242.
18. Collins HC, Braga GL, Bonato OS. Fundamentos de Cromatografia. Campinas. Editora da Unicamp, 2006.
19. Stesková A, Morochovicová M, Lesková E. Vitamin C degradation during storage of fortified foods. J Food Nutr Res. 2006;45(2):55-61.
20. AOAC-Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, 2002. [Acesso 2015 mar 02]. Disponível em: [http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf].
21. Ministério da Saúde. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de suplementos vitamínicos e ou de minerais. Diário Oficial da União 1998; 15 jan.

MATERIAL 1. Definições e ilustrações das formas de apresentação dos suplementos vitamínicos e suas respectivas matrizes para análise.

Formas de apresentação (definição)	Ilustração	Matriz para análise
<p>Comprimido</p> <p>Forma farmacêutica sólida contendo uma dose única de um ou mais princípios ativos, com ou sem excipientes, obtida pela compressão de volumes uniformes de partículas. Pode ser de uma ampla variedade de tamanhos, formatos, apresentar marcações na superfície e ser revestido ou não.</p>		<p>Pó</p>
<p>Drágea</p> <p>São comprimidos revestidos com camadas constituídas por misturas de substâncias diversas, como resinas naturais ou sintéticas, gomas, gelatina, materiais inativos e insolúveis, açúcares, plastificantes, polióis, ceras, corantes autorizados e, às vezes, aromatizantes e princípios ativos.</p>
<p>Cápsula gelatinosa dura</p> <p>Consiste de duas seções cilíndricas pré-fabricadas (corpo e tampa) que se encaixam e cujas extremidades são arredondadas. É tipicamente preenchida com princípio(s) ativo(s) e excipientes na forma sólida. Normalmente é formada de gelatina, mas pode também ser de outras substâncias.</p>

Formas de apresentação (definição)	Ilustração	Matriz para análise
<p>Cápsula gelatinosa mole</p> <p>Cápsula constituída de um invólucro de gelatina, de vários formatos, mais maleável que as cápsulas duras. Normalmente são preenchidas com conteúdos líquidos ou semi-sólidos, mas podem ser preenchidas também com pós e outros sólidos secos.</p>		<p>Oleosa</p>
<p>Solução oral</p> <p>Forma farmacêutica líquida límpida e homogênea, que contém um ou mais princípios ativos dissolvidos em um solvente adequado ou numa mistura de solventes miscíveis.</p>		<p>Líquida</p>
<p>Suspensão oral</p> <p>Forma farmacêutica líquida que contém partículas sólidas dispersas em um veículo líquido, no qual as partículas não são solúveis.</p>

Brasil. Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos, 1ª Edição / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011.

MATERIAL 2. Fluxogramas dos métodos de extração das vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis em suplementos.

* Massa da amostra: Cerca de 250 mg para matriz em pó; cerca de 350 mg para matriz oleosa e entre 2,0 e 5,0 mL para matrizes líquidas.

Fluxograma 1. Extração das vitaminas A e E e β -caroteno.

MÉTODO A **MÉTODO B**

(Métodos validados)

** Massa da amostra: Cerca de 350 mg para matriz em pó; entre 150 e 400 mg para matriz oleosa e entre 1,0 e 3,0 mL para matriz líquida.

Fluxograma 2. Método A: Extração das vitaminas hidrossolúveis com centrifugação.

Fluxograma 3. Método B: Extração das vitaminas hidrossolúveis sem centrifugação, com injeção imediata em CLAE.

MATERIAL 3. Curvas analíticas de calibração e gráficos de resíduos das vitaminas e do β -caroteno.

Figura 1. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos do acetato de retinol

Figura 2. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos do acetato de α -tocoferol.

Figura 3. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos do palmitato de retinol

Figura 4. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos do β -caroteno.

Figura 5. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da vitamina C.

Figura 6. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da piridoxina

Figura 7. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da tiamina

Figura 8. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da nicotinamida

Figura 9. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da ácido nicotínico

Figura 10. Curva analítica de calibração e gráfico de resíduos da ácido pantotênico

MATERIAL 4. Resultados do estudo de seletividade.➤ **Acetato de retinol**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	9,49 ug/mL	9,45 ug/mL
Desvio padrão	0,118	0,111
Variância	0,014	0,012

- $F_{\text{calc}} = 0,881$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 0,634$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Acetato de α -tocoferol**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	31,90 $\mu\text{g/mL}$	33,40 $\mu\text{g/mL}$
Desvio padrão	1,907	2,154
Variância	3,636	4,640

- $F_{\text{calc}} = 1,276$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 1,264$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Palmitato de retinol**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	22,92 $\mu\text{g/mL}$	23,19 $\mu\text{g/mL}$
Desvio padrão	0,296	0,206
Variância	0,088	0,042

- $F_{\text{calc}} = 0,485$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 1,837$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **β-caroteno**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	15,21 µg/mL	15,62 µg/mL
Desvio padrão	0,12	0,11
Variância	0,014	0,012

- $F_{\text{calc}} = 1,65$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 1,98$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Tiamina**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	22,10 µg/mL	22,15 µg/mL
Desvio padrão	0,42	0,17
Variância	0,17	0,03

- $F_{\text{calc}} = 0,165$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 0,269$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Ácido Nicotínico**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	57,55 µg/mL	56,36 µg/mL
Desvio padrão	0,81	1,48
Variância	0,67	2,18

- $F_{\text{calc}} = 3,27$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 1,72$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Nicotinamida**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	59,38 µg/mL	58,84 µg/mL
Desvio padrão	0,31	0,51
Variância	0,09	0,26

- $F_{\text{calc}} = 2,76$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 2,20$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Piridoxina**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	19,43 µg/mL	19,61 µg/mL
Desvio padrão	0,13	0,15
Variância	0,016	0,023

- $F_{\text{calc}} = 1,43$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 2,18$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Ácido Pantotênico**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	93,68 µg/mL	93,32 µg/mL
Desvio padrão	0,61	1,17
Variância	0,37	1,39

- $F_{\text{calc}} = 3,75$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 0,66$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

➤ **Vitamina C**

	Analito sem matriz	Analito com matriz
Média	86,29 µg/mL	86,38 µg/mL
Desvio padrão	0,63	1,39
Variância	0,40	1,93

- $F_{\text{calc}} = 4,80$
- $F_{\text{tab}(95\%)} = 5,05$
- $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}(95\%)}$, ou seja, as variâncias são estatisticamente iguais
- $T_{\text{calc}} = 0,15$
- $T_{\text{tab}(95\%)} = 2,228$
- $t_{\text{calc}} < t_{\text{tab}}$: ou seja, não há diferença entre as médias

MATERIAL 5. Cromatogramas das vitaminas lipossolúveis

Figura 1. Cromatograma obtido por CLAE-DAD dos padrões de vitaminas e de β -caroteno em etanol com BHT. Picos cromatográficos: (1) acetato de retinol (7,6 $\mu\text{g/mL}$), (2) acetato de α -tocoferol (73,3 $\mu\text{g/mL}$), (3) palmitato de retinol (15,2 $\mu\text{g/mL}$) e (4) β -caroteno (13,3 $\mu\text{g/mL}$). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5 μm); Fase móvel: metanol com 0,01 % trietilamina:etanol (75:25 v/v); fluxo de 1,0 mL/min em modo isocrático.

Figura 2. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas e de β -caroteno extraídos de material de referência SRM 3280, em etanol com BHT. Picos cromatográficos: (1) acetato de retinol (6,2 $\mu\text{g/mL}$), (2) acetato de α -tocoferol (319,3 $\mu\text{g/mL}$), (3) β -caroteno (6,5 $\mu\text{g/mL}$). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5 μm); Fase móvel: metanol com 0,01 % trietilamina:etanol (75:25 v/v); fluxo de 1,0 mL/min em modo isocrático.

Figura 3. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas e de β -caroteno extraídos de amostra comercial em comprimido (matriz em pó), em etanol com BHT. Picos cromatográficos: (1) acetato de retinol (3,4 $\mu\text{g/mL}$), (2) acetato de α -tocoferol (84,2 $\mu\text{g/mL}$), (3) β -caroteno (20,6 $\mu\text{g/mL}$). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5 μm); Fase móvel: metanol com 0,01 % trietilamina:etanol (75:25 v/v); fluxo de 1,0 mL/min em modo isocrático.

Figura 4. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas extraídas de amostra comercial líquida, em etanol com BHT. Picos cromatográficos: (1) acetato de α -tocoferol (99,4 $\mu\text{g/mL}$), (2) palmitato de retinol (19,0 $\mu\text{g/mL}$). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5 μm); Fase móvel: metanol com 0,01 % trietilamina:etanol (75:25 v/v); fluxo de 1,0 mL/min em modo isocrático.

MATERIAL 6. Cromatogramas das vitaminas hidrossolúveis

Figura 1. Cromatograma obtido por CLAE-DAD dos padrões de vitaminas hidrossolúveis em tampão fosfato 0,05 M pH 3,0. Picos cromatográficos: (1) B1 (60,2 µg/mL), (2) Vitamina C (339,8 µg/mL), (3) Ácido nicotínico (102 µg/mL) (4) Nicotinamida (120,0 µg/mL), (5) B6 (33,4 µg/mL), (6) Ácido pantotênico (46,5 µg/mL), (7) B2 (3,5 µg/mL). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5 µm); Fase móvel: Tampão fosfato 0,05 M pH 3,0 : metanol (98:2 v/v, inicial); fluxo de 0,8 mL/min em modo de gradiente.

Figura 2. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas hidrossolúveis extraídas de material de referência SRM 3280, em tampão fosfato 0,05 M pH 3,0. Picos cromatográficos: (1) B1 (11,4 µg/mL), (2) Vitamina C (416,9 µg/mL), (3) Nicotinamida (143,5 µg/mL), (4) B6 (16,0 µg/mL), (5) Ácido pantotênico (79,0 µg/mL), (6) B2 (6,4 µg/mL). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150x4,6mm, 5 µm); Fase móvel: Tampão fosfato pH 3,0 : metanol (98:2 v/v, inicial); fluxo de 0,8 mL/min em modo de gradiente.

Figura 3. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas hidrossolúveis extraídas de amostra comercial em cápsula gelatinosa mole (matriz oleosa), em tampão fosfato 0,05 M pH 3,0. Picos cromatográficos: (1) B1 (8,3 µg/mL), (2) Vitamina C (315,1 µg/mL), (3) Nicotinamida (25,4 µg/mL), (4) B6 (6,6 µg/mL), (5) Ácido pantotênico (27,2 µg/mL), (6) B2 (7,9 µg/mL). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150 mm x 4,6 mm, 5µm); Fase móvel: Tampão fosfato pH 3,0 : metanol (98:2 v/v, inicial); fluxo de 0,8 mL/min em modo de gradiente.

Figura 4. Cromatograma obtido por CLAE-DAD das vitaminas hidrossolúveis extraídas de amostra comercial em comprimido (matriz em pó), em tampão fosfato 0,05 M pH 3,0. Picos cromatográficos: (1) B1 (4,3 µg/mL), (2) Vitamina C (143,4 µg/mL), (3) Ácido Nicotínico (52,5 µg/mL), (4) B6 (7,3 µg/mL), (5) Ácido pantotênico (19,4 µg/mL), (6) B2 (6,4 µg/mL). Condições cromatográficas: Coluna Shimpack (150x4,6mm, 5µm); Fase móvel: Tampão fosfato pH 3,0 : metanol (98:2 v/v, inicial); fluxo de 0,8 mL/min em modo de gradiente.

5.3 TERCEIRO ARTIGO

O terceiro artigo descreve os resultados das análises de vitaminas antioxidantes em suplementos vitamínicos.

O conteúdo de vitaminas antioxidantes declarado nos rótulos de suplementos comerciais é fidedigno?

Does antioxidant vitamins labels complies with the actual contents of these substances in commercial supplements?

RESUMO

Introdução: Em decorrência das mudanças no padrão alimentar da população, suplementos vitamínicos estão se tornando importantes fontes de vitaminas e portanto, o consumo destes produtos é muito difundido em países como os Estados Unidos e a Alemanha. As informações sobre os rótulos devem refletir com precisão a quantidade de cada substância ativa presente em suplementos e, para fins de vigilância e de proteção dos consumidores, métodos que assegurem a qualidade destes produtos são essenciais. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi determinar a conformidade entre os níveis reais de vitaminas A, C e E, determinados por análise laboratorial com os declarados nos rótulos dos suplementos vitamínicos comercializados em São Paulo, Brasil. **Métodos:** Um total de 57 amostras de suplementos vitamínicos em comprimidos, cápsulas duras, cápsulas gelatinosas moles e soluções foram avaliadas quanto ao teor de vitaminas antioxidantes. A quantificação das vitaminas A, E e β -caroteno foi realizada simultaneamente por CLAE-DAD, e a vitamina C foi determinada em titulador automático com eletrodo de anel de platina para titulação de oxirredução. A validação das metodologias foi realizada utilizando padrões de vitaminas e material de referência SRM 3280 do *National Institute of Standards and Technology* (NIST), de acordo com a Conferência Internacional de Harmonização (ICH). **Resultados:** Do total de amostras analisadas, 59 % e 35 % apresentaram, respectivamente, menores conteúdos de vitaminas A e E (< 20 % do valor declarado). Por outro lado, o teor de vitamina E, foi superior ao valor declarado (> 20 %) em 20 % das amostras analisadas. Quanto ao conteúdo de vitamina C, 60 % das amostras estavam de acordo com os valores declarados. **Conclusão:** Medidas de controle e ações de fiscalização devem ser implementadas no Brasil para garantir que os consumidores tenham acesso a informações mais seguras e confiáveis em suplementos vitamínicos.

Palavras-chave: Vitaminas, suplementos, antioxidante, rotulagem.

ABSTRACT

Background: As a result of changes in dietary patterns of the population, vitamin supplements are becoming important sources of vitamins and therefore, consumption of vitamin and mineral products is widespread in countries such as the United States and Germany. Information on the labels must accurately reflect the amount of each active substance present in supplements and, for surveillance and consumer protection purposes, methods for assuring the quality of these products are essential. **Objective:** The objective of this work was to determine the compliance between the actual levels of vitamins A, C and E, determined by laboratory analysis with those declared on the labels of vitamin supplements commercialized in São Paulo, Brazil. **Methods:** A total of 57 samples of vitamin supplements in pills, capsules, tablets, soft gel capsules and solutions were evaluated for content of antioxidant vitamins. The quantification of vitamins A, E and β -carotene were performed simultaneously by HPLC-DAD, and vitamin C was determined by an automatic titrator with platinum ring sensor electrode for redox titration. Validation of the methodologies were performed using vitamins standards and the reference material SRM 3280 from National Institute of Standards and Technologies (NIST), according to International Conference on Harmonization (ICH). **Results:** Out of total samples analyzed, 59 % and 35 % had, respectively, lower contents of vitamin A and E (< 20 % of the declared value). On the other hand, vitamin E content in 20 % of the analysed samples was above the declared value (> 20 %). Regarding vitamin C content, 60 % of the samples were in agreement with the declared values. **Conclusion:** Control measures and enforcement actions must be implemented in Brazil to ensure that consumers have access to safer and reliable information in vitamin supplements.

Keywords: Vitamins, supplements, antioxidant, label.

INTRODUÇÃO

Vitaminas são micronutrientes essenciais dado desempenharem diversas funções vitais e específicas nas células e nos tecidos do organismo. Sua importância nutricional e de prevenir doenças decorrentes de sua deficiência já é conhecida há cerca de um século, porém, nos últimos anos, as pesquisas têm centrado em outros papéis que estes micronutrientes desempenham na manutenção da saúde, especificamente na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas como doenças coronarianas, câncer e diabetes (Teleki et al., 2013). Muitas destas investigações têm como foco os alimentos que contêm vitaminas C e E e β -caroteno, precursor da vitamina A, reconhecidos por apresentarem atividade antioxidante, exercendo importante função de defesa do organismo contra os radicais livres (Ryan et al., 2010; Lobo et al., 2010). O apelo para a ingestão de vitaminas antioxidantes são inúmeros (a redução do stress oxidativo e, conseqüentemente, do risco de câncer de mama e do colo de útero, e de doenças cardiovasculares) e tem sido constantemente propagados por diversos meios de comunicação (Mangge et al., 2014; Pantavos et al., 2015; Ozben, 2015).

O consumo de suplementos à base de vitaminas e minerais é amplamente difundido em países como os Estados Unidos e Alemanha (Bailey, 2012; Schwab et al., 2014). Embora informações sobre a extensão e frequência de consumo de suplementos no Brasil sejam raras, elas sugerem que o consumo destes suplementos é comparável aquele dos Estados Unidos (Hirschbruch et al., 2008; Fayh et al., 2013).

De acordo com o Codex Alimentarius (Codex, 2005), *suplementos de vitaminas e minerais são fontes de nutrientes na forma concentrada, isolados ou em combinação, comercializados em cápsulas, comprimidos, pós, soluções, etc, formulados para serem ingeridos em pequenas quantidades, diferindo de alimentos convencionais e cujo propósito seja suplementar a ingestão de vitaminas e/ou minerais na dieta normal*. Esta norma do Codex estabelece que o teor mínimo de vitaminas e minerais em suplementos na porção diária sugerida pelo fabricante deve ser de, no mínimo, 15 % da Ingestão diária recomendada (IDR), e que a quantidade máxima deve ser estabelecida segundo critérios como níveis seguros de vitaminas e minerais estabelecidos por avaliações de risco baseados em dados científicos, e ingestão diária de vitaminas e minerais de outras fontes da alimentação. A legislação brasileira segue os parâmetros do Codex em relação ao teor mínimo de nutrientes exigidos na formulação, porém, estabelece que o teor máximo não deve ultrapassar o limite de 100 % da IDR (Brasil, 1998).

O apelo comercial dos suplementos vitamínicos com evidências de retardar o envelhecimento, combater o estresse, prevenir doenças e melhorar a saúde, induzem os consumidores a buscarem e consumirem estes produtos sem qualquer orientação. As informações de rótulos de suplementos devem ser acuradas e, para fins de fiscalização, métodos analíticos que assegurem a qualidade destes produtos são essenciais. Para evitar que o consumidor seja lesado é imprescindível que o produto contenha ao menos a quantidade de micronutriente próxima ao valor declarado na rotulagem, pois além da importância nutricional, o custo para quem consome estes produtos é alto.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar os teores de vitaminas antioxidantes em suplementos vitamínicos e confrontar os valores analisados com os valores declarados na informação nutricional da rotulagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram avaliadas 57 amostras de suplementos vitamínicos de diferentes marcas em comprimidos, drágeas, cápsulas gelatinosas duras e moles, suspensões e soluções, adquiridas em farmácias/drogarias de grande porte na cidade de São Paulo, Brasil.

Com o intuito de se obter uma amostragem representativa em relação aos produtos comercializados, foram utilizados os seguintes critérios para a escolha das amostras: diferentes matrizes e composições, produtos nacionais e importados, amostras produzidas por empresas multinacionais e nacionais de grande e pequeno porte.

Padrões e reagentes

Padrões de acetato de DL- α -tocoferol, β -caroteno sintético, palmitato de retinol, acetato de retinol e ácido L-ascórbico foram obtidos da Sigma-Aldrich; o material de referência certificado SRM 3280 - Multivitamin/Multielement Tablet, foi obtido do NIST, reagentes grau analítico ácido clorídrico (HCl), iodato de potássio (KIO₃) e iodeto de potássio (KI) da Synth, butil hidroxi tolueno (BHT) e trietilamina da Sigma-Aldrich, ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido metafosfórico da Merck; reagentes grau cromatográfico hexano e etanol da J.T. Baker e metanol da Carlo Erba.

Determinação de acetato de retinol, palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno.

Preparo dos padrões: Os padrões de acetato de retinol, palmitato de retinol e acetato de α -tocoferol foram dissolvidos em etanol e o de β -caroteno em hexano. As concentrações de vitaminas e de β -caroteno foram confirmadas espectrofotometricamente através da Lei de Lambert Beer, usando as seguintes absorvidades molares: 1560 dL/g.cm para acetato de retinol a 325 nm, 43,6 dL/g.cm para acetato de α -tocoferol a 284 nm, 1000 dL/g.cm para palmitato de retinol a 325 nm e 2590 dL/g.cm para β -caroteno a 450 nm (Thomas et al, 2011; AOAC, 2012).

Extração das vitaminas: Cerca de 250 mg da amostra pulverizada em moinho vibratório (modelo MM400, marca Retsch) foram pesados em tubos de polipropileno com tampa rosqueada com capacidade de 50 mL, utilizando balança analítica (modelo XS205, marca Mettler Toledo). Foi adicionado 1 mL de HCl 0,1 M aos tubos, os quais foram sonicados em banho ultrassônico (modelo Ultracleaner 1400, marca Unique) a 40 KHz por 20 min. A extração dos analitos foi realizada em 3 etapas utilizando 10, 10 e 5 mL de hexano respectivamente para a primeira, segunda e terceira extrações. Após cada adição de hexano, os tubos foram agitados em vórtex por 1 min, colocados em banho de ultrassom por 5 min, agitados novamente em vórtex por 30 s e centrifugados a 10.000 rpm por 15 min a 4 °C (centrífuga modelo 3-18K, marca Sigma). Após cada centrifugação, os extratos foram transferidos para balão volumétrico âmbar de 25 mL com auxílio de funil, e o volume final dos balões foi completado com hexano. Após agitação dos balões, alíquotas de 3 mL foram transferidos para tubos de vidro de 10 mL e colocados em concentrador de amostras (modelo Centrivap, marca Labconco) por 10 min a 40 °C para evaporação do solvente. As amostras foram ressuspensas em 2 mL de álcool etílico contendo 0,3 mg/mL de BHT, filtrados em membranas de 0,45 μ m (Millipore) para vials âmbar e as análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para a análise dos suplementos com matriz oleosa, utilizou-se quantidade de amostra entre 150 e 400 mg, e para análise em matriz líquida, pipetou-se um volume entre 1 e 3 mL, dependendo da concentração de vitaminas declaradas na informação nutricional. A extração de vitaminas A e E e β -caroteno foi realizada seguindo o mesmo procedimento utilizado para as matrizes pulverizadas, excluindo-se a primeira etapa correspondente a adição de HCl 0,1 M com banho ultrassônico por 15 min.

Análise cromatográfica: As amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo LC-20AT, com injetor automático SIL-20AC, controlador CBM-20A, forno de coluna CTO-20A, acoplado a um detector de arranjo de diodos PDA-20A, marca Shimadzu. A separação dos compostos foi realizada utilizando coluna Shim-Pack VP-ODS-2 (150 mm x 4,6 mm, partículas de 5 μ m), marca Shimadzu, em temperatura de 35 °C. A fase móvel foi constituída por metanol com 0,1 % trietilamina : etanol (75 : 25, v/v) em modo isocrático com fluxo de 1,0 mL/min e volume o de injeção foi de 20 μ L. A vitamina A foi expressa em μ g equivalentes de retinol por porção, utilizando os fatores 0,872, 0,546 e 0,167 respectivamente para acetato de retinol, palmitato de retinol e β -caroteno e a vitamina E foi expressa em mg α -TE por porção utilizando o fator 0,91 para o acetato de α -tocoferol (USP, 2009). Uma porção é referente à ingestão diária de suplemento recomendada pelo fabricante.

Determinação de ácido ascórbico

A determinação de vitamina C foi realizada por titulação iodométrica (IAL, 2008), metodologia adaptada em titulador potenciométrico automático (modelo Titrand 901, marca Metrohm Penslab) com eletrodo de anel de platina controlado pelo software Tiamo®.

Foram pesadas entre 200 e 600 mg de amostras pulverizadas em béquer de 150 mL. Para as matrizes oleosas, pesou-se uma quantidade de amostra entre 150 e 500 mg em tubos de polipropileno de 50 mL. Foram adicionados aos tubos 5 mL de ácido metafosfórico 5 % e 5 mL de hexano, os quais foram agitados durante 1 min em agitador tipo vórtex. Uma alíquota da fase aquosa foi pipetada em béquer de 150 mL para a titulação. Em amostras líquidas, pipetou-se um volume entre 2 e 5 mL em béquer de 150 mL.

Aos béqueres foram adicionados 10 mL de solução de H_2SO_4 a 20 %, cerca de 90 mL de água destilada e 1 mL de solução de KI a 10 %. Após 30 s de homogeneização com agitador magnético, a amostra foi titulada com solução de KIO_3 0,002 M em titulador automático. Cada mL da solução de KIO_3 utilizada na titulação equivale a 0,8806 mg de ácido ascórbico; este dado foi inserido no método e os resultados, calculados pelo software Tiamo®, foram expressos em mg de vitamina C por porção.

Validação das metodologias

A validação das metodologias foi realizada de acordo com o guia da Conferência Internacional de Harmonização (ICH) avaliando os seguintes parâmetros: linearidade,

precisão intradia (repetibilidade) e interdia (precisão intermediária), exatidão, limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ). A linearidade foi verificada pelos coeficientes de correlação (R^2) das curvas de calibração preparadas em triplicata em 5 níveis de concentração. A precisão intermediária foi avaliada pelo desvio padrão relativo (RSD %) das análises em 6 replicatas no material de referência SRM 3280 em dois dias distintos. Para o palmitato de retinol, foram realizadas análises em triplicata em três níveis de concentração dos padrões adicionados nas amostras, em dois dias distintos. A repetibilidade foi avaliada pelo RSD % dos ensaios de recuperação. A exatidão foi avaliada pela recuperação dos padrões adicionados nas matrizes em pó, oleosas e líquidas em três níveis de concentração. Além disso, foi analisado o material de referência SRM 3280 em 6 replicatas, calculando-se o Z-score. Para a determinação do LD foram adicionadas pequenas concentrações dos analitos ao branco da amostra e estabeleceu-se como o LD, as concentrações que equivalassem a uma área de pico cerca de três vezes maiores que o ruído. Utilizando a fórmula $LD = LQ/3,3$, estabeleceu-se o LQ.

RESULTADOS

Validação

Os resultados da validação do método cromatográfico para determinação de acetato e palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno e do método titulométrico para determinação de vitamina C estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de validação dos métodos cromatográfico e titulométrico para determinação de vitaminas em suplementos

	Acetato de retinol	Palmitato de retinol	Acetato de α -tocoferol	β -caroteno	Vitamina C
Faixa de conc*	0,9 - 30,4	2,4 - 76,9	36,7 - 586,8	3,1 - 51,6	3,0 - 40,0
Linearidade (R^2)	0,99999	0,99994	0,99997	0,99808	0,99999
Exatidão					
Rec padrão (%)	95 $\pm$ 2 - 103 $\pm$ 2	92 $\pm$ 2 - 104 $\pm$ 2	98 $\pm$ 1 - 102 $\pm$ 1	95 $\pm$ 6 - 108 $\pm$ 3	98 $\pm$ 1 - 104 $\pm$ 2
MRC (VR)*	444 $\pm$ 46	-	21,4 $\pm$ 3,5	420 $\pm$ 100	42,2 $\pm$ 3,7
MRC (VA)*	426 $\pm$ 13	-	19,3 $\pm$ 1,1	394 $\pm$ 34	42,1 $\pm$ 0,5
Z-Score	0,7986	-	1,6197	0,8551	0,1353
Precisão (RSD%)					
Intraday	0,2 - 5,6	0,9 - 5,1	0,4 - 6,6	3,1 - 9,8	0,4 - 3,3
Interday	0,3 - 6,5	0,9 - 5,2	2,5 - 6,9	3,5 - 9,8	0,6 - 3,9
LOD*	0,1	0,3	3,0	0,3	1,0
LOQ*	0,5	0,9	9,9	0,9	3,0

*Faixas de concentração em $\mu\text{g/mL}$ para acetato de retinol, palmitato de retinol, acetato de α -tocoferol e β -caroteno, mg para vitamina C; VR: Valor de referência certificado; VA: Valor analisado; (-): ausência do composto.

A linearidade foi comprovada pelos coeficientes de determinação (R^2) das curvas de calibração próximos de 1. Os resultados dos ensaios de recuperação nas matrizes em pó, oleosas e líquidas variaram entre 92 % e 104 %, indicando exatidão adequada para a faixa de concentração testada. Além disso, os resultados das análises no material de referência SRM 3280 também se mostraram satisfatórios, com valores de Z-score menores que 2. Verificou-se que os métodos atendem ao critério de repetibilidade e precisão intermediária estabelecidos em toda a faixa de trabalho, apresentando RSD inferiores a 10 %. Para a determinação de vitamina C, verificou-se que uma concentração próxima de 1 mg de vitamina C foi detectada pela metodologia proposta, porém, observou-se desvio padrão relativo ($n = 6$) maior que 10 %. Considerando a fórmula $LD = LQ/3,3$, analisou-se uma solução com concentração de 3 mg de vitamina C, os quais apresentaram RSD igual a 1,4 % ($n = 6$). Estabeleceu-se desta forma, a concentração de 3 mg como o limite de quantificação do método e como primeiro ponto da curva de calibração.

Determinação de vitaminas A, E e C

Das 57 amostras analisadas, observaram-se concentrações de vitamina A abaixo do valor declarado com prevalências acima de 50 % tanto para as matrizes em pó quanto para as oleosas. Entre as amostras líquidas que declaravam conteúdo de vitamina A, esta não foi detectada em um suplemento vitamínico infantil (Tabelas 2 e 3).

Em relação ao teor de vitamina E analisado nas matrizes em pó e oleosa, respectivamente 39 % e 40 % das amostras apresentaram valores abaixo do valor declarado. Observou-se ainda que 40 % das amostras com matriz oleosa apresentaram sobredosagem de vitamina E acima dos 20 % permitidos pela legislação brasileira (Tabelas 2 e 3).

Os resultados de vitamina C nas matrizes em pó e oleosas apresentaram respectivamente 73 % e 62 % de conformidade em relação aos valores declarados no rótulo, representando os maiores índices de conformidade em comparação às vitaminas A e E. Nas matrizes líquidas, essa porcentagem foi inferior, com 44 % de conformidade. Com exceção de duas amostras, todas declaravam conteúdo de vitamina C, porém, em uma delas, o composto não foi detectado. O produto em questão era um suplemento à base de vitamina C e do complexo B, declarava em sua informação nutricional 36 mg de vitamina C na porção de 10 mL e estava com prazo de um mês para o seu vencimento no momento da análise. Foi adquirido um novo lote do mesmo produto, com prazo para o vencimento de seis meses, e confirmou-se novamente a ausência de vitamina C (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Teor de vitaminas A ($\mu\text{g}/\text{porção}$), E ($\text{mg}/\text{porção}$) e C ($\text{mg}/\text{porção}$) em suplementos vitamínicos na forma de comprimidos, drágeas e cápsulas duras, confrontados com os valores declarados na informação nutricional

Amostra	Vitamina A			Vitamina E			Vitamina C		
	VD *	VA **	% ***	VD *	VA **	% ***	VD *	VA **	% ***
1	594	151,9	- 74	10	2,3	- 77	45	54,2	20
2	600	968,2	68	10	18,1	81	45	56,1	24
3	600	496,1	- 17	10	6,1	- 40	45	47,2	5
4	400	413,3	3	6,7	7,0	4	45	46,1	2,5
5	600	174,07	- 71	7	3,2	- 54	45	33,0	- 27
6	400	289,9	- 27	6,7	5,9	- 41	45	49,9	11
7	600	400,6	- 33	10	2,5	- 75	45	50,5	12
8	600	351,2	- 41	10	11,8	18	45	45,8	2
9	400	48,9	- 88	6,7	4,1	- 39	45	44,3	- 2
10	600	219,3	- 63	10	10,4	4	45	60,6	35
11	600	331,1	- 45	10	7,9	- 45	45	31,7	- 30
12	nd	ND	-	nd	ND	-	45	45,4	1
13	400	44,3	- 89	6,7	3,6	- 47	45	45,7	2
14	400	473,9	18	6,7	8,5	27	45	44,8	0
15	300	230,0	- 23	7,5	6,1	- 19	22,5	19,5	- 14
16	600	90,0	- 85	10	14,7	47	45	45,7	2
17	600	298,3	- 50	10	11,2	12	45	39,9	- 11
18	500	698,8	40	6,7	9,4	40	45	45,3	1
19	600	158,0	- 74	nd	ND	-	45	44,7	- 1
20	nd	ND	-	nd	ND	-	45	44,2	- 2
21	600	252,7	- 58	10	5,5	- 44	45	46,7	4
22	nd	ND	-	nd	ND	-	45	45,5	1
23	nd	ND	-	nd	ND	-	30	41,4	38
24	600	188,1	- 69	nd	ND	-	45	43,1	- 4
25	600	228,8	- 62	nd	ND	-	45	43,7	- 3
26	600	105,9	- 82	10	7,4	- 26	45	45,3	0
27	600	117,5	- 80	nd	ND	-	45	40,4	- 10
28	600	289,9	- 52	10	13,8	38	45	41,0	- 9
29	600	284,7	- 52	10	7,3	- 27	45	28,8	- 36
30	600	200,2	- 67	10	5,2	- 48	45	45,4	0
31	420	53,2	- 87	7	1,4	- 80	32	43,6	36
32	nd	ND	-	nd	ND	-	45	36,0	- 20
33	nd	ND	-	10,0	8,9	- 11	45	55,8	24

Amostras 1 a 23: comprimidos; Amostras 24 a 27: drágeas; Amostras 28 a 33: cápsulas duras;

*VD: Valor declarado; **VA: Valor analisado (média, $n = 3$; $CV \leq 9,2, 8,5$ e $4,1$ respectivamente para as vitaminas A, E e C);

***%: Conformidade do teor analisado em relação ao valor declarado; nd: não declarado; ND: não detectado.

Tabela 3. Teor de vitaminas A (µg/porção), E (mg/porção) e C (mg/porção) em suplementos vitamínicos na forma de cápsulas gelatinosas moles, suspensões e soluções confrontados com os valores declarados na informação nutricional

Amostra	Vitamina A			Vitamina E			Vitamina C		
	VD *	VA**	%***	VD*	VA**	%***	VD*	VA **	%***
34	400	382,1	- 4	6,7	9,3 4	39	45	61,4	36
35	600	568,3	- 5	10	14,1	41	45	47,1	4,8
36	600	677,2	13	10	12,7	27	45	28,1	- 37
37	600	450,4	- 25	10	7,54	-25	45	17,9	- 38
38	600	688,6	15	10	12,6	26	45	35,7	- 20
39	600	1020,9	61	10	10,6	0	45	44,2	2
40	600	89,8	- 85	10	4,5	-54	45	35,7	- 20
41	600	157,7	- 74	10	13,6	36	45	43,7	- 3
42	800	1120,7	40	10	14,8	48	55	49,5	- 10
43	600	12,7	- 98	5	3,5	-30	11	6,2	- 44
44	600	16,0	- 97	nd	ND	-	45	49,0	9
45	600	20,9	- 96	5	1,4	-72	11,25	5,4	- 52
46	400	128,2	- 67	6,7	5,1	-23	nd	ND	-
47	nd	ND	-	10	8,5	-15	nd	ND	-
48	600	176,3	- 71	10	5,6	-44	45	54,1	20
49	200	212,2	6	nd	ND	-	25	32,0	28
50	200	212,0	6	nd	ND	-	30	34,5	15
51	nd	ND	-	nd	ND	-	30	34,7	16
52	225	201,4	- 10	nd	ND	-	15	11,4	- 24
53	105,5	22,5	- 79	0,84	0,7	-18	4,5	4,2	- 7
54	350	ND	- 100	nd	ND	-	25	12,7	27
55	140	22,8	- 83	nd	ND	-	10	7,8	- 22
56	225	129,0	- 43	2,5	1,3	-46	15	12,1	- 19
57	nd	ND	-	nd	ND	-	36	ND	- 100

Amostras 34 a 48: cápsulas gelatinosas moles; Amostras 49 a 55: suspensões; Amostras 56 e 57: soluções;

*VD: Valor declarado; **VA: Valor analisado (média, n = 3; CV ≤ 6,8, 7,0 e 4,3 respectivamente para as vitaminas A, E e C);

***%: Conformidade do teor analisado em relação ao valor declarado; nd: não declarado; ND: não detectado.

DISCUSSÃO

A vitamina A em suplementos pode ser adicionada nas formas de acetato ou palmitato de retinol ou como β -caroteno, seu precursor, porém, em 30 % das amostras o fabricante informava a presença de vitamina A na lista de ingredientes, sem especificar a sua forma química. Nas matrizes em pó, houve prevalência de acetato de retinol e nas matrizes oleosas e líquidas, o palmitato de retinol foi a forma mais encontrada. O β -caroteno não foi encontrado nas matrizes líquidas, enquanto nas amostras em pó e oleosas sua prevalência foi de 20 %. As formas esterificadas como o acetato e o palmitato tornam a vitamina A mais estável, característica importante para sua incorporação nos suplementos onde normalmente muitos outros ingredientes estão presentes na formulação. O β -caroteno, além de atuar como precursor da vitamina A, apresenta potente ação antioxidante por possuir longa cadeia com duplas ligações conjugadas. Alguns estudos indicam que, em determinados indivíduos, a conversão do β -caroteno para vitamina A não é suficiente para produzir níveis adequados deste nutriente no organismo. Neste aspecto, torna-se interessante o suplemento conter uma combinação de fontes de vitamina A, como foi observado em três amostras de suplementos, os quais apresentaram acetato de retinol e β -caroteno, com proporções de β -caroteno variando entre 34 % até 72 %. Desta forma, pode-se garantir a suplementação de vitamina A com o acetato de retinol e de β -caroteno como fonte de antioxidantes e ou como fonte de vitamina A (Van Loo-Bowman et al., 2014).

As maiores porcentagens de sobredosagens de vitamina A (40 %, 61 % e 68 %) foram observadas em amostras contendo β -caroteno como fonte desta vitamina. Esta sobredosagem pode ter sido intencional considerando a instabilidade do β -caroteno ou ainda porque existem diferentes fatores de conversão do β -caroteno para vitamina A. As recomendações atuais para os fatores de conversão de β -caroteno para equivalentes de retinol numa dieta mista são de 6:1 segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization* (FAO/WHO) e de 12:1 segundo o *Institute of Medicine* (IOM). Este fator depende da matriz alimentar, da condição nutricional e idade do indivíduo, do polimorfismo de genes e da variabilidade genética entre diferentes grupos étnicos. Algumas pesquisas questionam este fator que pode variar entre 9:1 até 28:1 numa dieta contendo vegetais diversos, porém há necessidade de mais estudos sobre a variação genética e fatores relacionados à dieta da população que podem interferir na biodisponibilidade do β -caroteno (Haskell, 2012; Van Loo-Bouwman et al., 2014). No presente trabalho, foi considerado o

fator 6:1, de acordo com Brasil (2005) que segue as diretrizes da FAO em relação à necessidade de ingestão da vitamina A.

A deficiência de vitamina A é uma das principais deficiências nutricionais em países subdesenvolvidos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2015), aproximadamente 190 milhões de crianças menores de cinco anos apresentam deficiência de vitamina A, portanto, a suplementação desta vitamina pode ser necessária para determinadas populações. A amostra na qual não se detectou a vitamina A declarava em sua informação nutricional, 350 µg em uma porção de 5 mL, teor próximo a 80 % do valor diário de referência para uma criança. Considerado a necessidade de suplementação, a não ingestão da vitamina em níveis esperados seria extremamente prejudicial à saúde.

Em relação à vitamina E, dentre as nove amostras líquidas avaliadas, apenas duas declaravam seu teor na composição. A maioria das amostras líquidas apresentava apelo para o público infantil, com a denominação de venda seguida da palavra *Kids*, ou com ilustrações induzindo o seu consumo por crianças, além disso, as informações nutricionais nestes produtos apresentavam os valores diários de referência para diferentes faixas etárias das crianças. A prevalência de deficiência de outros micronutrientes como as vitaminas A e D são mais reportadas que a deficiência de vitamina E, justificando eventualmente a ausência da vitamina E nestes produtos (Hilger et al., 2014; Palacios e Gonzales, 2014; Konstantyner et al., 2014). Embora dados sobre ingestão de vitamina E em países subdesenvolvidos sejam limitados, estudos sugerem que um baixo estado nutricional e alta prevalência de fatores estressores como a malária e AIDS, predis põem a população à deficiência. Os dados indicam ainda que as crianças e os idosos são mais vulneráveis ao risco de deficiência, porém, a deficiência severa de vitamina E é rara e normalmente está associada a presença de uma patologia como a síndrome de má absorção intestinal, defeitos genéticos e algumas doenças hematológicas. De acordo com Bailey (2013), as principais razões para os adultos consumirem suplementos são para manter e ou melhorar a saúde. Como a vitamina E possui potente ação antioxidante, muitos buscam a suplementação com esta vitamina para esse fim, independente do risco de apresentar deficiência ou da necessidade de suplementação.

O grau de estabilidade das vitaminas depende da matriz e da forma química em que estas se apresentam. Nos suplementos, a vitamina E é adicionada como acetato de α -tocoferol, sua forma esterificada, quimicamente mais estável quando comparado ao α -tocoferol livre. Porém, estudos demonstraram 18 % e 33 % de degradação da vitamina E em fórmulas infantis enriquecidos com acetato de α -tocoferol, em armazenamento durante 18 meses a 25 °C e

40 °C, respectivamente (Chávez-Servín et al., 2008). Estudos sobre a estabilidade das vitaminas em suplementos vitamínicos são escassas na literatura, porém, a indústria deve dispor de tais estudos para se estabelecer o prazo de validade destes produtos e justificar a sobredosagem, quando necessária.

Tanto a vitamina A como a vitamina E são compostos lipossolúveis, portanto, para sua incorporação em uma matriz sólida como comprimidos e cápsulas duras, é necessária uma microencapsulação para permitir sua incorporação no mix de vitaminas. O processo de microencapsulação consiste em criar uma barreira para evitar reações químicas e ou permitir a liberação controlada dos ingredientes. As partículas encapsulantes podem ser constituídas de polissacarídeos, proteínas, lipídeos ou ceras (Wilson e Shah, 2007). Por este motivo, para a extração de vitaminas lipossolúveis da matriz em pó, há uma etapa com adição de solução ácida e banho ultrassônico.

A vitamina C é o componente mais abundante nos suplementos vitamínicos, tanto em relação ao teor presente nas amostras (até 45 mg por porção) quanto pelo fato de que a maioria dos suplementos multivitamínicos apresentam vitamina C em sua composição.

A vitamina C tem baixa estabilidade e se oxida rapidamente em soluções aquosas, sendo a temperatura e o pH descritos por diversos autores como os principais fatores que influenciam a sua degradação (West et al., 2013; Sapei e Hwa, 2014; Van Bree et al., 2012). Foram observados ainda que sucos de frutas armazenados em frascos de vidro preservaram mais a vitamina C em comparação aos sucos armazenados em embalagens de polímeros como polietileno e poliestireno, devido à alta permeabilidade destes materiais ao oxigênio. Assim, em alimentos líquidos, o tipo de embalagem também tem impacto na estabilidade da vitamina C, já que sua degradação é fortemente influenciada pela concentração de oxigênio dissolvido (Dhuique-Mayer et al., 2007, Ayhan et al., 2001). Todas as amostras líquidas avaliadas estavam acondicionadas em embalagem plástica, porém, a degradação da vitamina C não pode ser uma justificativa para os baixos teores encontrados em alguns suplementos, já que é permitida a sobredosagem de nutrientes para garantir o teor especificado na rotulagem até o prazo final da validade.

Considerando a baixa estabilidade da vitamina C, seria justificável encontrar alta porcentagem de amostras com concentrações acima do valor declarado, principalmente entre as líquidas, porém foram observadas sobredosagens nas matrizes em pó, oleosas e líquidas. Entre os suplementos analisados no presente trabalho, as maiores sobredosagens foram observadas em uma amostra em comprimido, que apresentou 68 % e 81 % acima dos valores

declarados de vitaminas A e E respectivamente. Em relação à vitamina C, a maior sobredosagem foi observada em um comprimido, com 38 % do teor acima do valor declarado.

Normalmente, os valores declarados na porção diária de vitaminas A, E e C são respectivamente 600 µg, 10 mg e 45 mg, que correspondem a 100 % da IDR. Este limite superior é estabelecido no Brasil (Brasil, 1998), porém, as normas americanas e europeias estabelecem os níveis máximos de vitaminas e minerais em suplementos baseados em níveis de segurança como o limite superior tolerável de ingestão (UL) e o nível de efeito adverso não observado (NOAEL). O IOM dos Estados Unidos determinou as recomendações de nutrientes e estabeleceu o UL devido ao crescimento da prática de fortificação de alimentos e do uso de suplementos alimentares. O UL é o valor mais alto de ingestão diária continuada de um nutriente que aparentemente não oferece nenhum efeito adverso à saúde em quase todos os indivíduos de uma população geral, e foram calculados dividindo-se os valores de NOAEL por um fator de segurança (Vieth, 2005). Os valores de UL estabelecidos para as vitaminas A, E e C são respectivamente 1700 µg, 600 mg e 1200 mg para adultos (IOM, 2001). Considerando estes valores, as sobredosagens encontradas nos produtos avaliados parecem não representar riscos à saúde da população. No entanto, a ingestão concomitante com outros suplementos ou alimentos enriquecidos pode fazer com que os níveis de ingestão diária ultrapassem a UL, principalmente para a vitamina A.

Entre as amostras importadas, foram verificadas cinco de origem americana, três do Canadá, uma da França e uma da Argentina. A maioria das amostras, representando 82 % do total, eram fabricadas no Brasil. A amostra que apresentou as maiores sobredosagens de vitaminas A e E era importada da Argentina; neste caso isolado, supõe-se que ao ser exportado para o Brasil como suplemento, a empresa importadora apenas rotulou este produto como suplemento vitamínico e mineral e o comercializou sem a verificação da real concentração de micronutrientes presentes. Foram também observadas entre as amostras importadas, teores de vitaminas A, E e C abaixo dos valores declarados, respectivamente em cinco, duas e uma amostra.

Do total de amostras analisadas, doze não apresentaram concentrações de nenhuma das três vitaminas abaixo do valor declarado, e dentre estas, nove eram fabricadas por empresas farmacêuticas multinacionais classificadas entre as dez maiores do setor (Forbes, 2015). Acredita-se que as empresas farmacêuticas estão habituadas a realizar testes de estabilidade para fármacos, praticando a sobredosagem quando necessária, havendo ainda, maior conhecimento e cautela na produção de suplementos vitamínicos.

Suplementos multivitamínicos avaliados no Canadá mostraram valores de vitamina E até 87 % abaixo do declarado no rótulo; na Alemanha, foram avaliados 10 suplementos nutricionais em relação ao teor de vitaminas A e E e observaram-se resultados entre 34 % e 245 % divergentes aos valores declarados no rótulo. Na China, 11 suplementos multivitamínicos analisados em relação ao teor de vitaminas hidrossolúveis mostraram valores diferentes dos declarados nos rótulos para a maioria das amostras, alegando-se uma falta de controle de qualidade pelos fabricantes após a produção para a certificação das reais concentrações de nutrientes presentes nos produtos. O *National Institute of Health* (NIH), *Office of Dietary Supplements do United States Department of Agriculture* (USDA), avaliou 109 amostras de multivitamínicos para adultos, 64 amostras infantis e 71 amostras formuladas para gestantes, e os resultados compõem o *Dietary Supplement Ingredient Database* (DSID), base de dados que fornecem informações sobre suplementos alimentares nos Estados Unidos. De acordo com o *Food and Drug Administration* (FDA, 2014), os ingredientes adicionados em suplementos devem conter 100 % do teor declarado no rótulo, com exceção do desvio atribuído ao método analítico. Os produtos indicados para gestantes apresentaram a maior porcentagem de amostras com teor de nutrientes abaixo de 10 % do valor declarado no rótulo, representando 25 % do total, enquanto as amostras destinadas ao público infantil apresentaram a maior porcentagem de produtos com teor de nutrientes acima de 10 % do valor declarado, representando 67 % do total (Nimalaratne et al., 2014; Chen et al., 2006; Breithaupt e Kraut, 2006; Gusev et al., 2015).

Análises de vitaminas hidrossolúveis em fórmulas farmacêuticas comercializadas na Índia mostraram concordâncias entre o teor analisado e o declarado na rotulagem. As concentrações de vitamina D avaliadas em 14 produtos entre suplementos e medicamentos comercializados na Nova Zelândia indicaram seus teores em suplementos variando entre 8 % e 201 % dos valores declarados no rótulo, enquanto nos medicamentos, essa divergência foi muito inferior, entre 90 % e 97 %. A comercialização de medicamentos, tanto na Índia como na Nova Zelândia, assim como no Brasil, possui um controle mais rigoroso, necessitando de licença das autoridades reguladoras antes de serem expostos à venda (Patil e Srivastava, 2013; FSSAI, 2011; Garg et al., 2013). Conforme se observa na maioria dos países, os suplementos não necessitam de avaliação e regulamentação rigorosa antes de sua comercialização, podendo ser este o motivo de se observar nestes produtos, grande variação entre os valores declarados e os analisados. No Brasil não há dados de análise de vitaminas em medicamentos à base de vitaminas, porém, acredita-se que por serem de registro obrigatório, possam

apresentar resultados em maior conformidade com a legislação em relação aos teores de vitaminas.

No geral, a literatura indica discrepâncias entre as concentrações de vitaminas determinadas em laboratório e os declarados no rótulo em suplementos contendo vitaminas, o que é um problema de saúde pública e econômico. Os resultados obtidos neste estudo são ainda mais preocupantes, pois foram observados desde teor “não detectado” de vitaminas até valores 81 % superiores aos declarados no rótulo (Figura 1). A legislação brasileira permite uma tolerância de 20 % de diferença entre o teor de nutrientes declarados na informação nutricional da rotulagem e o real (Brasil, 1998). Considerando essa tolerância, verificou-se que, do total de amostras analisadas, 66 % apresentaram teor de uma ou mais vitaminas abaixo dos valores declarados e 30 % apresentaram teor de vitaminas acima do valor declarado de forma não conforme com a legislação.

Divergências entre o teor real de micronutrientes e aquele declarado no rótulo podem prejudicar os estudos de estimativas de ingestão de nutrientes pela população, já que estes estudos utilizam inquérito alimentar, baseados em estimativas de consumo. No Brasil, o primeiro Inquérito Nacional de Alimentação (INA), realizado na V Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mostrou que os micronutrientes que apresentaram maiores prevalências de ingestão inadequada nos adultos e na população idosa foram as vitaminas A, D e E e os minerais cálcio, sódio e magnésio (Fisberg, 2013). Não há menção sobre o consumo de suplementos no INA, porém, considerando o expressivo aumento de consumo destes produtos pela população brasileira, pode ser necessário incluir dados sobre ingestão de nutrientes pelo consumo de suplementos em inquéritos futuros. As vitaminas A e E que sistematicamente estavam superestimadas nos rótulos, estão entre os nutrientes com maior prevalência de inadequação pela população brasileira (IBGE). A suplementação da ingestão com suplementos vitamínicos pode não ser eficaz dado o menor teor de vitaminas A e E presentes em grande parte dos produtos analisados com relação ao previsto no rótulo.

A pesquisa conduzida pelo *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) nos Estados Unidos concluiu que os usuários de suplementos tiveram maior ingestão de nutrientes, principalmente das vitaminas A, E e D em comparação aos não usuários, os quais apresentaram alta prevalência de ingestão inadequada de magnésio, fósforo, e vitaminas A, C e E. A suplementação contribui para a redução destas inadequações, porém,

aumentou a probabilidade de ingestão de micronutrientes como o ferro, zinco, cobre, selênio, ácido fólico e vitaminas A e C acima do UL (Bailey et al, 2012).

No inquérito *Canadian Community Health Survey* (CCHS), foram comparadas a prevalência de inadequação de micronutrientes entre consumidores e não consumidores de suplementos multivitamínicos e não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos para a maioria dos nutrientes. Porém, com a suplementação da dieta, 10 % dos usuários apresentaram ingestão de vitaminas A, C, niacina, ácido fólico, zinco e magnésio acima do UL (Shakur et al, 2012). Nos Estados Unidos e no Canadá, os limites máximos de micronutrientes em suplementos são estabelecidos com base no UL. Observa-se que o consumo de suplementos pode contribuir para reduzir a inadequação de micronutrientes, mas ao mesmo tempo, representam riscos à saúde pela ingestão acima dos limites toleráveis ao organismo. Os riscos e benefícios do consumo de suplementos vitamínicos podem ser diferentes em cada país, dependendo dos hábitos alimentares da população. Além disso, cada país estabelece a regulamentação dos suplementos vitamínicos, os critérios de fiscalização e de segurança, assim como os limites máximos e mínimos permitidos.

A suplementação da dieta com suplementos vitamínicos pode contribuir para reduzir a prevalência de inadequação destes micronutrientes, porém, os valores declarados nos rótulos devem ser compatíveis com os reais níveis presentes nos produtos. A veracidade das informações nos rótulos contribuirá para a manutenção da saúde da população, pois cada indivíduo poderá ingerir a quantidade de micronutrientes em níveis próximos às recomendações de ingestão.

Tendo em vista as não conformidades observadas, é evidente a carência de controle e de ações de fiscalização. Tais medidas irão colaborar para garantir o direito do consumidor de adquirir produtos mais seguros e contendo informações confiáveis.

Figura 1. Porcentagem de variação relativa das amostras analisadas em relação ao rótulo, quanto aos teores de vitaminas A, E e C.

REFERÊNCIAS

- Ayhan Z, Yeom H, Zhang QH, Min D B. (2001). Flavor, color and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *J. Agric. Food Chem*, 2001, 49, 669–674
- Bailey RL, Fulgoni VL, Keast DR, Dwyer JT. Examination of vitamin intakes among US adults by dietary supplement use. *J Acad Nutr Diet*. 2012; 112(5):657-63. Doi: 10.1016/j.jand.2012.01.026.
- Bailey, RL, Fulgoni VL, Keast DR, Lentino CV, Dwyer JT. Do Dietary Supplements Improve Micronutrient Sufficiency in Children and Adolescents? *J Pediatr*. 2012; 161(5):837–42. Doi:10.1016/j.jpeds.2012.05.009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 32, de 13 de Janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. *Diário Oficial da União, Brasília*.
- BRASIL. Resolução RDC n° 269, de 22 de setembro de 2005. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico sobre Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. *Diário Oficial da União, Brasília*.
- Breithaupt DE, Kraut S. Simultaneous determination of the vitamins A, E, their esters and coenzyme Q10 in multivitamin dietary supplements using an RP-C30 phase. *Eur Food Res Technol*. 2006;222:643-9. DOI: 10.1007/s00217-005-0195-7.
- Chávez-Servín JL, Castellote AI, Rivero M, López-Sabater MC. Analysis of vitamins A, E and C, iron and selenium contents in infant milk-based powdered formula during shelf-life. *Food Chem*. 2008;107:1187-97. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.048.
- Chen Z, Bo Chen B, Yao S. High-performance liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry for simultaneous determination of taurine and 10 water-soluble vitamins in multivitamin tablets. *Anal Chim Acta*. 2006;569:169–75.
- Codex Alimentarius. International Food Standards [homepage na internet]. FAO/WHO (atualizado em 05 out 2015). Disponível em <http://www.codexalimentarius.org/> (acesso em 25 out 2015).
- Dhuique-Mayer C, Tbatou M, Carail M, Caris-Veyrat C, Dornier M, Amiot M J. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice. Kinetics and newly formed compounds. *J Agr Food Chem*. 2007;55:4209–16.
- Europeu, Parlamento. Conselho, Diretiva n. o 2002/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 10 de Junho. *Jornal Oficial das Comunidades Europeia*. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex:32002L0046>, 2002. (Acesso em 10 out 15).
- FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7th Joint FAO/OMS Expert Consultation. Bangkok, Thailand, 2001. 286p.

Fayh APT, Silva CV, Jesus FRD, Costa GK. Consumo de suplementos nutricionais por frequentadores de academias da cidade de Porto Alegre. *Rev Bras Ciênc Esporte*. 2013;35(1):27-37.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. Dietary Supplement Labeling Guide: Chapter IV. Nutrition Labeling. (Atualizado em 12/12/2014). Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/DietarySupplements/ucm070597.htm> (Acesso em 10 out 15).

FDA. U.S. Food and Drug Administration. US Department of Health & Human Service [atualizado em 13 jan 2014. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/dietarysupplements/consumerinformation/ucm191930.htm> (acesso em 05 ago 2015)

Forbes. <http://www.forbes.com/sites/liyanchen/2015/06/04/2015-global-2000-the-worlds-largest-drug-and-biotech-companies/> (Acesso em 02 out 15).

FSSAI. Food Safety and Standards Authority of India. Disponível em: <http://www.fssai.gov.in/GazettedNotifications.aspx#regulations2011> (Acesso em 17 out 15).

Garg S, Sabri D, Kanji J, Rakkar PS, Lee Y, Naidoo N, Svirskis D. Evaluation of vitamin D medicines and dietary supplements and the physicochemical analysis of selected formulations. *J Nutr Health Aging*. 2013;17(2):158-61.

Gusev P, Andrews K, Palachuvattil J, Savarala S, Han F, Pehrsson P, Douglass L, Dwyer J, Betz J, Saldanha L, Costello R, Bailey R. Analytical content of multivitamin/mineral (MVM) products manufactured for different consumer categories. *FASEB J*. 2015;29(S1):586.6.

Haskell MJ. The challenge to reach nutritional adequacy for vitamin A: β -carotene bioavailability and conversion - evidence in humans. *Am J Clin Nutr*. 2012; 96(S):1193–203.

Hilger J , Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, Pierroz DD , Weber P, Hoffmann K. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr*. 2014;111:23–45.

Hirschbruch MD, Fisberg M, Mochizuki L. Consumo de suplementos por jovens frequentadores de academias de ginástica em São Paulo. *Rev Bras Med Esporte* [internet]. 2008;14(6):539-43. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922008000600013>.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium, and carotenoids. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

International Conference on Harmonization (ICH). Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B, 1996.

Konstantyner T, Warkentin S, de Aguiar Carrazedo Taddei JA. Prevalence and determinants of vitamin A deficiency among Brazilian children under 2 years of age from the 2006 National Demographic Health Survey. *Food Nutr Bull*. 2014;35(4):422-30.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010;4(8):118-26. Doi: 10.4103/0973-7847.70902.

Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2014;6(6):462-77. Doi: 10.4330/wjc.v6.i6.462.

Nimalaratne C, Sun C, Wu J, Curtis JM, Schieber A. Quantification of selected fat soluble vitamins and carotenoids in infant formula and dietary supplements using fast liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Res Int.* 2014;66:69–77.

Ozben T. Antioxidant Supplementation on Cancer Risk and During Cancer Therapy: An Update. *Cur Top Med Chem.* 2015;15(2):170-8.

Palacios C, Gonzales L. Review: Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144(A):138–45.

Pantavos A, Ruiter R, Feskens EF, de Keyser CE, Hofman A, Stricker BH, Franco OH, Kieft-de Jong JC. Total dietary antioxidant capacity, individual antioxidant intake and breast cancer risk: The Rotterdam study. *Int J Cancer.* 2015;136(9):2178-86. Doi: 10.1002/ijc.29249.

Patil SS, Srivastava AK. Development and validation of a liquid chromatography method for the simultaneous determination of eight water-soluble vitamins in multivitamin formulations and human urine. *J AOAC Int.* 2013; 96(6):1273-80.

Regina Mara Fisberg RM, Marchioni DML, Castro MA, Verly Junior E, Araújo MC, Bezerra IN, Pereira RA, Sichieri. Ingestão inadequada de nutrientes na população de idosos do Brasil: Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. *Rev Saúde Pública.* 2013;47(1):222-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102013000700008>.

Ryan MJ, Dudash HJ, Docherty M, Geronilla KB, Baker BA, Haff GG, Gutlip RG, Alway SE. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp Gerontol.* 2010;45:882-95.

Sapei L, Hwa L. Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chem.* 2014;9:62–8. Doi:10.1016/j.proche.2014.05.008.

Schwab S, Heier M, Schneider A, Fischer B, Huth C, Peters A, Thorand B. The use of dietary supplements among older persons in southern Germany – Results from the Kora-Age Study. *J Nutr Health Aging.* 2014;18(5):510-9.

Shakur YA, Tarasuk Y, Corey P, Deborah L. A Comparison of Micronutrient Inadequacy and Risk of High Micronutrient Intakes among Vitamin and Mineral Supplement Users and Nonusers in Canada. *J Nutr.* 2012;1:534-40. Doi:10.3945/jn.111.149450.

Teleki A, Hitzfeld A, Eggersdorfer M. 100 years of vitamins: The science of formulation is the key to functionality. *KONA Powder Part J.* 2013;30:144-63. Doi: 10.14356/kona.2013015.

Van Bree I, Baetens JM, Samapundo S, Devlieghere F, Laleman R, Vandekinderen I, Nosedá B, Xhaferi A, De Baets B, De Meulenaer B. Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chem.* 2012;134(1):207-14.

Van Loo-Bouwman CA, Naber THJ, Schaafsma G. A review of vitamin A equivalency of β -carotene in various food matrices for human consumption. *Br J Nutr.* 2014;111:2153–66.

Vieth R. Critique of the Considerations for Establishing the Tolerable Upper Intake Level for Vitamin D: Critical Need for Revision Upwards. *J Nutr.* 2006;136(4):1117-22.

West ME, Mauer LJ. Color and Chemical Stability of a Variety of Anthocyanins and Ascorbic Acid in Solution and Powder Forms. *J Agric Food Chem.* 2013;61(17):4169–79.

WHO. World Health Organization. Nutrition. Micronutrient Deficiency. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/topics/vad/en/> (Acesso em 18 out 15).

Wilson N, Shah N.P. Review Paper: Microencapsulation of Vitamins. *ASEAN Food J.* 2007;14(1):1-14.

MATERIAL 1. Características das amostras de suplementos

Amostra	Origem	Composição* Vitaminas/Minerais	Apresentação da embalagem
1	Rio Grande do Sul - Brasil	13/7	Blíster
2	Pilar - Argentina	13/10	Frasco plástico opaco
3	São Paulo - Brasil	11/8	Frasco plástico opaco
4	Saint Lauren - Canadá	13/13	Frasco plástico opaco
5	São Paulo - Brasil	13/11	Frasco plástico opaco
6	São Paulo - Brasil	13/10	Frasco plástico opaco
7	São Paulo - Brasil	11/9	Blíster
8	São Paulo - Brasil	10/2	Frasco plástico opaco
9	Flórida - EUA	13/11	Frasco plástico opaco
10	Nova Iorque - EUA	13/10	Frasco plástico opaco
11	New Jersey - EUA	12/10	Frasco plástico opaco
12	Minas Gerais - Brasil	9/0	Frasco plástico opaco
13	São Paulo - Brasil	13/10	Frasco plástico opaco
14	Saint Lauren - Canadá	13/10	Frasco plástico opaco
15	São Paulo - Brasil	13/9	Frasco plástico opaco
16	New Jersey - EUA	12/10	Blíster
17	New Jersey - EUA	12/9	Blíster
18	Saint Lauren - Canadá	13/10	Frasco plástico opaco
19	Goiás - Brasil	10/3	Frasco plástico opaco
20	Goiás - Brasil	1/0	Frasco plástico opaco
21	São Paulo - Brasil	3/3	Blíster
22	São Paulo - Brasil	1/0	Frasco plástico opaco
23	São Paulo - Brasil	1/0	Frasco plástico opaco
24	Minas gerais - Brasil	9/3	Frasco plástico opaco
25	Minas gerais - Brasil	10/3	Frasco plástico opaco
26	Minas gerais - Brasil	11/4	Frasco plástico opaco
27	Minas gerais - Brasil	9/3	Frasco plástico opaco
28	Rio Grande do Sul - Brasil	12/7	Blíster
29	Santa Catarina - Brasil	13/12	Frasco plástico opaco
30	Rio Grande do Sul - Brasil	13/7	Frasco plástico opaco
31	Paraná - Brasil	3/4	Blíster
32	Rio Grande do Sul - Brasil	1/0	Frasco plástico transparente
33	Paris - França	8/4	Blíster

Amostras 1 a 23: comprimidos; Amostras 24 a 27: drágeas; Amostras 28 a 33: cápsulas duras.

*Quantidade dos diferentes micronutrientes declarados na composição da amostra, exceto excipientes.

Amostra	Origem	Composição* Vitaminas/Minerais	Apresentação da embalagem
34	São Paulo - Brasil	13/10	Frasco plástico opaco
35	São Paulo - Brasil	13/12	Frasco plástico opaco
36	São Paulo - Brasil	13/10	Frasco plástico opaco
37	São Paulo - Brasil	11/4	Frasco plástico opaco
38	São Paulo - Brasil	3/2	Frasco plástico opaco
39	São Paulo - Brasil	8/2	Frasco plástico opaco
40	Paraná - Brasil	11/5	Blíster
41	Rio Grande do Sul - Brasil	12/5	Blíster
42	São Paulo - Brasil	9/4	Blíster
43	São Paulo - Brasil	13/8	Frasco plástico opaco
44	São Paulo - Brasil	10/3	Frasco plástico opaco
45	São Paulo - Brasil	13/7	Frasco plástico opaco
46	São Paulo - Brasil	3/1	Frasco plástico opaco
47	São Paulo - Brasil	1/0	Frasco plástico opaco
48	Rio Grande do Sul - Brasil	13/10	Blíster
49	São Paulo - Brasil	3/0	Frasco de vidro âmbar
50	São Paulo - Brasil	4/2	Frasco de vidro âmbar
51	São Paulo - Brasil	2/2	Frasco de vidro âmbar
52	São Paulo - Brasil	10/5	Frasco de vidro âmbar
53	São Paulo - Brasil	10/1	Frasco plástico âmbar
54	Minas gerais - Brasil	9/0	Frasco plástico âmbar
55	Minas Gerais - Brasil	9/0	Frasco plástico âmbar
56	São Paulo - Brasil	11/1	Frasco plástico âmbar
57	São Paulo - Brasil	7/0	Blíster

Amostras 34 a 48: cápsulas gelatinosas moles; Amostras 49 a 55: suspensões; Amostras 56 e 57: soluções.

*Quantidade dos diferentes micronutrientes da composição, exceto excipientes.

MATERIAL 2. Relatório da determinação de vitamina C em Material de Referência realizado em titulador potenciométrico

ID da licença 6953864
 Nome do cliente BQSNEFGM01
 Usuário Lucile

Program version tiamo 2.2 - B1

2014-11-05 11:47:19 UTC-2

Results report

Determination

Method Vitamina C em suplementos
 Method saving date 2014-11-04 10:27:29 UTC-2
 Method version 7
 Method state original
 Determination start 2014-11-05 11:44:47 UTC-2
 Determination state original
 Determination version 1
 Run number 8
 User (full name) Lucile T. A. Matsumoto
 User (short name) Lucile

Sample data

Número da amostra SRM_3280_I

Pontos de Equivalência (EPs)

DET U Titulação Dinâmica U.1

EP1 2,4 mV 11,5446 mL
 GP -2,4 mV 11,5872 mL

Resultados

Vitamina C 42,10 mg/op
 Res01 10,17 mg de vitamina C

Titulação Dinâmica U.1 - DET U

MATERIAL 3. Figura representativa em porcentagem, dos resultados das análises de vitaminas A, E e C nas matrizes em pó, oleosas e líquidas

Figura 2. Classificação das amostras de suplementos vitamínicos de acordo com o teor analisado de vitaminas em relação aos valores declarados nos rótulos; Barras em branco: porcentagem de amostras que apresentaram teor abaixo de 20 %; barras cinza claras: porcentagem das amostras que apresentaram teor dentro da faixa de tolerância de 20 %; barras cinza escuras: porcentagem de amostras que apresentaram teor acima de 20 %; barras pretas: porcentagem de amostras com a vitamina em questão não declarada e não detectada.

5.2 QUARTO ARTIGO

O quarto artigo descreve os resultados dos ensaios de estabilidade das vitaminas antioxidantes em suplementos vitamínicos.

Estabilidade das vitaminas antioxidantes em suplementos vitamínicos do comércio da cidade de São Paulo

Stability of antioxidant vitamins in vitamin supplements commercialized in Sao Paulo city

RESUMO

A estabilidade das vitaminas A, E e C foi avaliada em doze marcas de suplementos vitamínicos durante 12 meses de armazenamento e foram verificadas as variações nas concentrações destas vitaminas para três diferentes lotes de cinco marcas. As vitaminas A e E foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência e a de vitamina C, por titulação potenciométrica. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz e as determinações de vitaminas A, E e C foram realizadas ao adquirir as amostras (Tempo 0) e a cada 6 meses até completar 12 meses de armazenamento. Após 6 meses de armazenamento, ocorreu degradação das vitaminas A e E cujo teor diminuiu em 42 % e 65 % das amostras, respectivamente. Após 12 meses de armazenamento, apenas uma amostra não apresentou degradação significativa de vitaminas A e E em relação aos valores obtidos no início do estudo. A vitamina C não sofreu degradação significativa em 50 % das amostras após 6 meses de armazenamento, porém, após 12 meses, 92 % apresentaram perdas significativas. A maior porcentagem (66 %) de degradação foi observada para a vitamina A em uma amostra em cápsula dura após 12 meses de armazenamento. Em relação aos diferentes lotes e marcas de suplementos analisados, não foram observadas variações significativas nas concentrações de vitaminas A, E e C, respectivamente em 2, 3 e 1 amostra, e a variação nas concentrações das vitaminas entre dois lotes foi mais frequente que entre os três lotes da mesma marca. A sobredosagem de vitaminas em suplementos parece ser necessária, porém a quantidade adicional irá depender de cada amostra.

Palavras-chaves: Vitaminas, estabilidade, suplementos.

ABSTRACT

The stability of vitamins A, E and C were determined in 12 brands of vitamin supplements during storage period of 12 months and the variation in levels of these vitamins across three different batches of five brands were verified. The determination of vitamins A and E were carried out by high performance liquid chromatography and vitamin C, by potentiometric titration. The samples of stability study were kept at room temperature and protected from light. The determinations were performed in the first semester of expiration date and then every six months until 12 months of storage. After 6 months of storage, the contents of vitamins A and E showed significant decrease respectively for 42 % and 65 % of the samples. After 12 months of storage, only one sample showed no significant decrease in vitamins A and E content in relation to the contents analyzed at the beginning of the study. The content of vitamin C showed no significant decrease in 50 % of samples after 6 months of storage, but after 12 months, 92 % had significant losses in their contents. The highest percentage (66 %) of degradation was observed for vitamin A in a hard capsule sample after 12 months of storage. The analysis of different batches and brands showed no significant variations in levels of vitamins A, E and C respectively for 2, 3 and 1 sample, and the variation in the vitamin content between two batches was more frequent than in three batches for the same brand. The over fortification of vitamin supplements seem to be required, but the additional amount will depend on each sample.

Keywords: Vitamins, stability, supplements.

INTRODUÇÃO

Suplementos vitamínicos e ou de minerais são definidos como *alimentos que servem para complementar 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. 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).

Como em qualquer produto alimentício, nos rótulos de suplementos deve constar o prazo de validade até a qual a eficácia do produto é garantida pelo fabricante (Brasil, 1998). O prazo de validade em alimentos é regulamentado pela Resolução RDC nº 259/2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde (ANVISA/MS) e as regras adotadas nesta resolução estão amparadas nas recomendações do CODEX Alimentarius (Codex, 1991) e harmonizadas com o Mercado Comum do Sul (Mercosul, 2002).

É necessário conhecer a estabilidade das vitaminas que compõem o suplemento para avaliar o seu período de vida útil e assegurar que os níveis de vitaminas sejam compatíveis com os declarados no rótulo até o final do prazo de validade, atendendo as necessidades do consumidor. Um suplemento multivitamínico pode conter até 13 vitaminas, porém, algumas vitaminas são mais estáveis em relação às outras e a taxa de degradação sob condições específicas pode variar de uma vitamina para outra (IADSA, 2014).

Diversos fatores físicos e químicos podem afetar a estabilidade das vitaminas; os principais são temperatura, umidade, presença de oxigênio, luz, pH, agentes oxidantes e redutores, presença de íons metálicos e de outros ingredientes na matriz, ou a combinação de vários destes fatores (IADSA, 2014).

A Portaria nº 32/1998 da Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (SVS/MS) permite a sobredosagem de vitaminas e ou minerais nos suplementos para garantir a dosagem especificada na rotulagem até o prazo final de validade, desde que justificada tecnologicamente (Brasil, 1998). Não se sabe, porém, se as vitaminas se mantêm estáveis nestas matrizes durante o armazenamento ou se os fabricantes praticam a sobredosagem caso haja degradação, já que não existem na literatura, estudos sobre a estabilidade das vitaminas em suplementos vitamínicos comercializados no Brasil.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a estabilidade das vitaminas A, E e C durante 12 meses de armazenamento e verificar a variação dos teores destas vitaminas entre diferentes lotes em diferentes marcas de suplementos vitamínicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Para o estudo da estabilidade foram adquiridas doze marcas de suplementos vitamínicos comerciais entre comprimidos, cápsula dura, drágeas, cápsulas gelatinosas moles e suspensões no primeiro semestre do prazo de validade. Os critérios para a escolha foram:

- Diferentes matrizes: Comprimido, drágea, cápsula dura, cápsula gelatinosa (matriz oleosa) e solução;
- Diferentes fontes de vitamina A: Amostras contendo β -caroteno, acetato de retinol e palmitato de retinol;
- Amostras com resultados preliminares de teores de vitaminas acima dos valores declarados, abaixo dos valores declarados e próximos aos valores declarados no rótulo;
- Amostras nacionais e importadas.

Cada marca de suplemento foi identificada sequencialmente como amostra 1 a 12 e foram adquiridas três embalagens do mesmo lote para cada marca.

Para verificar a variação entre os lotes, foram adquiridos três lotes diferentes de cinco marcas de suplementos vitamínicos. Cada uma das marcas foi identificada por letras maiúsculas A, B, C, D e E e cada lote foi identificado por algarismos romanos I, II e III.

Reagentes

Idem aos descritos no item “Material e Métodos” do artigo 3.

Ensaio de estabilidade

As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz e a embalagem foi aberta no momento da análise. As determinações de vitaminas A, E e C foram realizadas ao adquirir as amostras (Tempo 0) e a cada 6 meses até completar 12 meses de armazenamento, de acordo com o quadro a seguir:

Prazo de validade	1º semestre	2º semestre	3º semestre
Tempo de armazenamento no laboratório	0 (Tempo 0)	6 meses (Tempo 6)	12 meses (Tempo 12)
Período avaliado		12 meses de armazenamento	

Determinação de vitaminas A, E e β -caroteno

Idem aos descritos no item “Material e Métodos” do artigo 3.

Determinação de vitamina C

Idem aos descritos no item “Material e Métodos” do artigo 3.

Análise estatística

Empregou-se análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas por Tukey e a análise de correlação foi realizada pelo teste de Pearson, utilizando o programa Microsoft Office Excel (2010) e o software Action (Estatcamp, 2014). O nível de significância foi de 5 % para todas as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estabilidade das vitaminas A, E e C

Entre as doze amostras selecionadas para o estudo, uma (amostra 3) não declarava vitamina A na composição (Tabela 1).

TABELA 1

As concentrações de vitamina A no Tempo 0 e após o armazenamento de 6 meses (tempo 6) não apresentaram diferenças significativas em 64 % das amostras; nas demais foram verificadas porcentagens de degradações entre 14,9 e 34,4 %.

Após 12 meses de armazenamento apenas uma amostra não apresentou degradação significativa nos níveis de vitamina A em relação ao valor determinado no tempo zero e a maior perda (66%) foi observada em um suplemento na forma de cápsula dura.

Ao verificar o teor de vitamina A declarado na informação nutricional, observaram-se cinco amostras com teor entre 47 e 81 % abaixo dos valores declarados no rótulo já no T0.

Após 12 meses de armazenamento, uma amostra apresentou 89 % do valor de vitamina A abaixo do declarado.

Três amostras (1, 2 e 9) apresentaram conteúdo de vitamina A acima do valor declarado no tempo zero e após 12 meses de armazenamento foram observadas degradações significativas, aproximando-se dos valores declarados no rótulo.

As fontes de vitamina A quantificadas nos suplementos foram o β -caroteno e/ou o acetato de retinol ou o palmitato de retinol, e a unidade utilizada foi μg equivalentes de retinol (ER) por porção. As três amostras contendo β -caroteno apresentaram conteúdo de vitamina A acima dos valores declarados no tempo zero, e mesmo após degradação de até 40 % após 12 meses de armazenamento, ainda mantiveram concentração entre 3 e 22 % superiores, próxima aos valores declarados. Nestes casos, provavelmente, o fabricante praticou a sobredosagem, prevendo a degradação da vitamina.

Foram observadas, para as duas amostras líquidas analisadas, o palmitato de retinol com teor inicial de vitamina A acima do declarado, dentro da tolerância de 20 % prevista na legislação. Porém, após 12 meses de armazenamento, uma delas degradou 57 % o que corresponde a 54 % a menos do valor declarado. A outra amostra líquida sofreu 20 % de perda e mesmo após 12 meses de armazenamento, seu teor permaneceu dentro da faixa de tolerância de 20 %. Verificou-se desta forma, que amostras de mesma matriz e mesma fonte de vitamina A podem apresentar diferentes taxas de degradação, provavelmente decorrentes da formulação do produto. Uma das amostras incluía, como excipiente, reguladores de acidez que podem prejudicar ou favorecer a estabilidade de vitaminas dependendo do pH do meio. A presença de minerais e de ingredientes higroscópicos como o sorbitol e o glicerol também exercem influência na estabilidade das vitaminas, (IADSA, 2014).

A estabilidade da vitamina E foi avaliada em oito amostras dado que as demais não a incluíam na composição. Os resultados das análises de vitamina E durante o armazenamento estão apresentados na tabela 2.

TABELA 2

Não foram observadas degradações significativas da vitamina E em três amostras após 6 meses de armazenamento, enquanto nas demais, a perda variou entre 8,1 e 32,3 %. Após 12 meses, observou-se variação negativa entre 8,7 e 58,8 % enquanto em um suplemento na forma de cápsula dura (amostra 4) não foi observada variação significativa durante todo o período de armazenamento. A maior porcentagem de degradação tanto aos 6 meses quanto

aos 12 meses de armazenamento foi verificada para um suplemento na forma de suspensão (amostra 11).

Três amostras continham teor de vitamina E acima dos valores declarados no rótulo, o que permaneceu inalterado após 12 meses de armazenamento apesar da degradação significativa observada. A amostra 1 continha 60 % do teor acima do declarado sofreu degradação de 11 % após 6 meses e 20 % após 12 meses. Considerando uma perda de 10 % a cada semestre, em data próximo ao vencimento (7 meses), esta amostra ainda estaria com um teor próximo ao valor declarado. No entanto, a velocidade de degradação não é igual e constante para todas as amostras. O suplemento líquido (amostra 11), por exemplo, apresentou 32 % de degradação com 6 meses e quase o dobro deste valor após 12 meses de armazenamento. Assim, o teor de vitamina E no tempo zero apresentava-se 36 % acima do teor declarado, porém, com 12 meses de armazenamento observou-se teor 44 % abaixo do valor declarado. Para as demais amostras não foram observadas taxas de degradação proporcionais com 6 meses e com 12 meses de armazenamento.

A tabela 3 mostra os resultados das determinações de vitamina C durante o armazenamento das amostras. Observou-se, para esta vitamina, menor porcentagem de degradação em relação às vitaminas A e E.

TABELA 3

Não ocorreu degradação significativa da vitamina C em 50 % das amostras com 6 meses de armazenamento, porém, após 12 meses, apenas uma amostra manteve a quantidade deste nutriente inalterada. Embora os suplementos sólidos tendem a ser mais estáveis que os líquidos, a maior degradação da vitamina C foi observada em uma amostra em drágea (19%).

Em relação aos valores declarados na rotulagem, apenas uma amostra apresentou valor fora da tolerância no T0 sendo este acima do declarado, o que se manteve após 12 meses de armazenamento.

De acordo com Ottaway (2008), comprimidos de multivitamínicos armazenados em embalagem plástica durante 6 meses a 25 °C e 75 % de umidade, apresentaram perdas de 44 % e 23 % de vitaminas A e C, respectivamente. No presente estudo, observou-se da mesma forma, que a porcentagem de degradação da vitamina C foi em geral, inferior à da vitamina A, embora a vitamina C seja uma das vitaminas mais sensíveis à degradação, por ser facilmente oxidada (Ball, 2006).

Não existem outros dados sobre a degradação de vitaminas em suplementos vitamínicos comerciais na literatura, porém, estudos com outros produtos também demonstraram perdas no teor de vitaminas durante o armazenamento. Em leites enriquecidos armazenados a 37 °C por 9 meses observou-se redução de 67 % no teor de vitamina A e 34 % no teor de vitamina E; amostras de premix armazenadas a 25 ° C durante 12 meses ao abrigo da luz apresentaram decréscimos em torno de 55 % das vitaminas A e E; perdas de até 68 %, 37 % e 75 % respectivamente, para as vitaminas C, E e β -caroteno foram observadas em amostras de pólen apícola, após 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente e expostos à luz; e até mesmo em armazenamento a – 60 °C durante 12 meses verificou-se redução de 13,7 a 26 % no teor de vitamina C em amostras de vegetais (Haro-Vicente et al., 2013; Tavcar-Kalcher e Vengust, 2007; Melo e Almeida-Muradian, 2010; Phillips et al, 2010).

Não foi observado um padrão para a velocidade de degradação das vitaminas nos suplementos analisados neste estudo. De acordo com as recomendações para a vida-de-prateleira de suplementos do International Alliance of Dietary/Food Supplement Associations (IADSA), a forma de apresentação do suplemento pode afetar significativamente a estabilidade dos compostos. Em suplementos na forma líquida, por exemplo, as moléculas estão livres para reagirem entre si; já as moléculas em um suplemento sólido serão menos propensas a reagirem quimicamente umas com as outras. Além disso, o tipo de revestimento seja na forma de cápsula dura, cápsula gelatinosa mole ou comprimidos revestidos, representa uma barreira de proteção para fatores que afetam a estabilidade como a umidade, luz e oxigênio. No presente estudo, foram analisadas matrizes em pó (comprimidos, drágeas e cápsula dura), matrizes oleosas (cápsulas gelatinosas moles) e matrizes líquidas (suspensões) e foram observadas degradações das vitaminas nas três diferentes matrizes (Figura 1).

FIGURA 1

O tipo de microencapsulação e o tamanho das partículas dos compostos também podem afetar a estabilidade, especialmente para as moléculas que são sensíveis à luz, umidade e oxigênio. Partículas menores apresentam maior superfície exposta ao ambiente, enquanto partículas maiores possuem menor área de superfície, sendo mais estáveis (IADSA, 2014).

Algumas características da embalagem como sua espessura, grau de permeabilidade aos vapores e à umidade, uso de dessecantes no seu interior e atmosfera de gás inerte como o nitrogênio no interior do recipiente de armazenamento também podem interferir na

estabilidade das vitaminas (IADSA, 2014). As amostras avaliadas estavam contidas em frascos plásticos compostos por polietileno de alta densidade ou em embalagens tipo blíster.

A maioria das vitaminas não apresentou taxas de degradação proporcionais com 6 meses e 12 meses de armazenamento, não sendo possível prever a concentração no final do prazo de validade. Foram verificadas amostras com sobredosagens durante a estocagem por 6 meses e 12 meses que, ainda sofrendo degradação significativa, mantiveram-se em conformidade com o declarado no rótulo. Este comportamento, no entanto, não foi observado para todas as amostras analisadas. Em relação às vitaminas A e E, cerca de 40 % das amostras avaliadas apresentaram níveis abaixo do declarado já nos primeiros seis meses de estocagem, indicando a falta de controle destes produtos.

Após 12 meses de armazenamento a maior parte das amostras apresentou teor abaixo do valor declarado em relação à vitamina A e níveis muito próximos aos declarados de vitamina C. Após este período todas as amostras apresentavam ainda, prazo entre 7 e 10 meses para o vencimento, com exceção de uma amostra líquida (amostra 12) que estava a um mês da data de vencimento. Considerando as degradações observadas, verificou-se a necessidade de sobredosagem das vitaminas avaliadas nos suplementos, pois provavelmente haverá ainda degradação das vitaminas até o prazo final de validade destes produtos.

Análises em diferentes lotes

As determinações de vitaminas A, E e C em diferentes lotes e marcas de suplementos vitamínicos estão representados na figura 2.

Em relação às vitaminas A, E e C, respectivamente duas, três e uma amostra não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os três lotes avaliados.

FIGURA 2

Em cada lote analisado constava um prazo de validade distinto (Tabela 4), portanto, foi verificada a correlação entre os valores de vitaminas determinados e o tempo restante em meses para o vencimento da amostra no momento da análise. Pelo teste de Pearson, verificaram-se correlações acima de 0,90 apenas para a vitamina A nas amostras A e D e para a vitamina E na amostra D (Tabela 5).

TABELA 4

TABELA 5

Esperava-se encontrar correlações nestes parâmetros, já que os resultados do estudo de estabilidade mostraram degradação significativa das vitaminas com o armazenamento. No entanto, a baixa correlação observada para a maioria das amostras indica que as variações observadas podem ser decorrentes de outros fatores como o processamento, a falta de padronização ou mesmo problemas de homogeneização dos compostos no suplemento.

Em geral, observou-se para a maioria das vitaminas analisadas que, independente da variação observada entre os lotes, quando o primeiro lote avaliado apresentou níveis dentro da tolerância de 20 % dos valores declarados, os demais lotes também apresentaram níveis dentro desta faixa. O mesmo comportamento foi observado para as amostras com teor acima e abaixo dos valores declarados (Figura 2). Em algumas amostras observou-se sobredosagens de vitaminas e em outras, não se encontrou nem mesmo a quantidade mínima declarada.

CONCLUSÃO

Com 12 meses de armazenamento houve degradação significativa das vitaminas A, E e C em aproximadamente 90 % das amostras avaliadas neste estudo. A sobredosagem de vitaminas é necessária para manter os teores declarados durante o armazenamento, porém, a quantidade adicional de vitamina a ser incluída no suplemento irá depender de cada amostra, pois além da matriz, diversos fatores relacionados aos compostos e à embalagem também podem influenciar na estabilidade das vitaminas.

Diferentes lotes de suplementos podem ou não apresentar variações no conteúdo das vitaminas estudadas, e estas variações parecem não estar relacionadas apenas com o tempo restante para o vencimento das amostras. Os três diferentes lotes da mesma marca estariam em conformidade ou não com a legislação, considerando a tolerância de 20 % entre os valores analisados e os declarados de vitaminas. Assim, nas amostras avaliadas, as diferenças nos teores de vitaminas observadas entre os lotes parecem não ser significativas para fins de fiscalização, porém, há necessidade de se avaliar um maior número de amostras para resultados mais conclusivos em relação à variação no teor de vitaminas entre os lotes.

Tabela 1. Análise de vitamina A (μg ER/porção) durante armazenamento das amostras.

Amostra	Tempo (meses)	Vitamina A	D (%)	Valor declarado (Fonte de vit A)	C (%)
1 (comprimido)	0	$550,5 \pm 21,2^a$	-	400	37,6
	6	$557,6 \pm 15,1^a$	0	(Acetato de retinol e β -caroteno)	39,4
	12	$489,8 \pm 15,7^b$	12,1		22,4
2 (comprimido)	0	$883,1 \pm 10,6^a$	-	600	47,1
	6	$810,6 \pm 51,0^a$	8,2	$(\beta$ -caroteno)	35,1
	12	$694,6 \pm 58,5^b$	21,3		15,7
4 (cápsula dura)	0	$316,5 \pm 2,3^a$	-	600	-47,2
	6	$213,3 \pm 7,0^b$	32,6	(Acetato de retinol)	-64,4
	12	$107,8 \pm 11,1^c$	65,9		-82,0
5 (drágea)	0	$147,2 \pm 0,9^a$	-	600	-75,5
	6	$153,6 \pm 0,2^a$	0	(Acetato de retinol)	-74,4
	12	$114,2 \pm 0,6^b$	22,4		-81,0
6 (drágea)	0	$124,0 \pm 4,6^a$	-	600	-79,3
	6	$81,3 \pm 2,7^b$	34,4	(Acetato de retinol)	-86,4
	12	$66,2 \pm 4,8^c$	46,6		-89,0
7 (caps gel)	0	$358,9 \pm 8,8^a$	-	400	-10,3
	6	$337,1 \pm 16,5^a$	6,1	(Palmitato de retinol)	-15,7
	12	$364,5 \pm 27,8^a$	0		-8,9
8 (caps gel)	0	$109,1 \pm 8,5^a$	-	600	-81,8
	6	$109,9 \pm 5,5^a$	0	(Palmitato de retinol)	-81,7
	12	$79,1 \pm 2,2^b$	27,5		-86,8
9 (caps gel)	0	$966,2 \pm 30,1^a$	-	600	61,0
	6	$956,2 \pm 16,2^a$	1,0	$(\beta$ -caroteno)	59,4
	12	$579,7 \pm 25,8^b$	40,0		3,4
10 (caps gel)	0	$187,3 \pm 1,8^a$	-	600	-68,8
	6	$187,3 \pm 2,7^a$	0	(Acetato de retinol)	-68,8
	12	$173,2 \pm 3,5^b$	7,5		-71,1
11 (suspensão)	0	$242,6 \pm 2,5^a$	-	225	7,8
	6	$206,4 \pm 9,8^b$	14,9	(Palmitato de retinol)	-8,3
	12	$103,8 \pm 5,3^c$	57,2		-53,9
12 (suspensão)	0	$212,9 \pm 13,9^a$	-	200	6,4
	6	$170,4 \pm 7,0^b$	20,0	(Palmitato de retinol)	-14,8
	12	$167,8 \pm 6,6^b$	21,2		-16,1

Valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna e na mesma amostra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$); D (%): Porcentagem de degradação em relação ao teor analisado no tempo zero; C (%): Porcentagem dos teores de vitaminas acima ou abaixo dos valores declarados no rótulo.

Tabela 2. Análise de vitamina E (mg α -TE/porção) durante armazenamento das amostras.

Amostra	Tempo (meses)	Vitamina E	D (%)	Valor declarado	C (%)
1 (comprimido)	0	10,7 $\pm$ 0,5 ^a	-	6,7	59,7
	6	9,5 $\pm$ 0,1 ^b	11,2		41,8
	12	8,6 $\pm$ 0,1 ^c	19,6		28,4
2 (comprimido)	0	16,1 $\pm$ 0,3 ^a	-	10	61,0
	6	15,2 $\pm$ 0,4 ^b	5,6		52,0
	12	14,7 $\pm$ 0,4 ^b	8,7		47,0
4 (cápsula dura)	0	7,8 $\pm$ 0,8 ^a	-	10	-22,0
	6	6,9 $\pm$ 0,6 ^a	11,5		-31,0
	12	6,7 $\pm$ 0,1 ^a	14,1		-33,0
7 (caps gel)	0	9,6 $\pm$ 0,7 ^{ab}	-	6,7	43,3
	6	10,8 $\pm$ 0,7 ^a	0		61,2
	12	9,0 $\pm$ 0,3 ^b	6,2		34,3
8 (caps gel)	0	4,3 $\pm$ 0,3 ^a	-	10	-57,0
	6	3,4 $\pm$ 0,4 ^b	20,9		-66,0
	12	3,5 $\pm$ 0,1 ^b	18,6		-65,0
9 (caps gel)	0	10,9 $\pm$ 0,2 ^a	-	10	9,0
	6	11,2 $\pm$ 0,3 ^a	0		12,0
	12	8,3 $\pm$ 0,0 ^b	23,8		-17,0
10 (caps gel)	0	6,2 $\pm$ 0,2 ^a	-	10	-38,0
	6	5,7 $\pm$ 0,1 ^b	8,1		-43,0
	12	5,6 $\pm$ 0,0 ^b	9,7		-44,0
11 (suspensão)	0	3,4 $\pm$ 0,0 ^a	-	2,5	36,0
	6	2,3 $\pm$ 0,1 ^b	32,3		-8,0
	12	1,4 $\pm$ 0,0 ^c	58,8		-44,0

Valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão (n = 3). Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna e na mesma amostra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p > 0,05); D (%): Porcentagem de degradação em relação ao teor analisado no tempo zero; C (%): Porcentagem dos teores de vitaminas acima ou abaixo dos valores declarados no rótulo.

Tabela 3. Análise de vitamina C (mg/porção) durante armazenamento das amostras.

Amostra	Tempo (meses)	Vitamina C	D (%)	Valor declarado	C (%)
1 (comprimido)	0	49,0 ± 1,6 ^a	-	45	8,9
	6	44,8 ± 0,2 ^b	8,6		-0,4
	12	46,5 ± 1,1 ^{ab}	5,10		3,3
2 (comprimido)	0	51,7 ± 0,3 ^a	-	45	14,9
	6	52,7 ± 0,8 ^a	0		17,1
	12	47,8 ± 0,7 ^b	7,5		6,2
3 (comprimido)	0	49,6 ± 0,5 ^a	-	45	10,2
	6	49,6 ± 0,4 ^a	0		10,2
	12	41,4 ± 0,7 ^b	16,5		-8,0
4 (cápsula dura)	0	44,4 ± 1,4 ^a	-	45	1,3
	6	44,7 ± 2,0 ^a	0		-0,6
	12	46,2 ± 1,2 ^a	0		2,7
5 (drágea)	0	46,0 ± 0,4 ^a	-	45	2,2
	6	40,5 ± 0,4 ^b	11,9		-10,0
	12	39,5 ± 1,4 ^b	14,1		-12,2
6 (drágea)	0	40,5 ± 0,3 ^a	-	45	-10,0
	6	37,5 ± 0,5 ^b	7,4		-16,7
	12	32,9 ± 0,5 ^c	18,8		-26,9
7 (caps gel)	0	68,7 ± 1,1 ^a	-	45	52,7
	6	65,8 ± 1,6 ^a	4,2		46,2
	12	56,9 ± 1,8 ^b	17,2		26,4
8 (caps gel)	0	54,4 ± 2,8 ^a	-	45	20,9
	6	46,9 ± 1,6 ^b	13,8		4,2
	12	45,0 ± 0,8 ^b	17,3		0
9 (caps gel)	0	46,1 ± 0,4 ^a	-	45	2,4
	6	48,1 ± 1,4 ^a	0		6,9
	12	43,3 ± 1,2 ^b	6,1		-3,8
10 (caps gel)	0	53,8 ± 1,5 ^a	-	45	19,6
	6	49,1 ± 1,2 ^b	8,7		9,1
	12	46,9 ± 0,2 ^b	12,8		4,2
11 (suspensão)	0	12,1 ± 0,2 ^a	-	15	-19,3
	6	11,2 ± 0,2 ^b	7,4		-25,3
	12	10,9 ± 0,4 ^b	9,9		-27,3
12 (suspensão)	0	34,4 ± 0,4 ^a	-	30	14,7
	6	34,2 ± 0,4 ^a	0,6		14,0
	12	31,9 ± 1,2 ^b	7,3		6,3

Valores são expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna e na mesma amostra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p > 0,05); D (%): Porcentagem de degradação em relação ao teor analisado no tempo zero; C (%): Porcentagem dos teores de vitaminas acima ou abaixo dos valores declarados no rótulo.

Figura 1. Resultados da estabilidade das vitaminas A ($\times 10 \mu\text{g ER/porção}$), E ($\text{mg } \alpha\text{-TE/porção}$) e C (mg/porção) em amostras em pó, oleosas e líquidas. Barra de erros indica desvio padrão da média ($n = 3$). Letras iguais sobre as barras em cada vitamina indicam que não houve diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Figura 2. Concentrações de vitaminas A, E e C (barras coloridas) analisados em 3 diferentes lotes (I, II e III) em 5 marcas (A, B, C, D e E) de suplementos vitamínicos em relação aos valores declarados no rótulo, considerando a tolerância de 20 % (barras cinza-claras: limite inferior, barras cinza-escuras: limite superior); Barra de erros indica desvio padrão da média ($n = 3$); Letras iguais sobre as barras na mesma amostra indicam que não houve diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Tabela 4. Número de meses restantes para o vencimento das amostras no momento da análise.

Lotes	Amostras				
	A	B	C	D	E
I	11	20	14	8	15
II	10	23	11	5	19
III	11	17	15	12	9

Tabela 5. Valores de correlação* entre os meses restantes para o vencimento no momento da análise com os resultados dos teores de vitaminas determinados nas amostras.

Vitaminas	Amostras				
	A	B	C	D	E
A	0,78	0,90	0,58	0,96	0,31
E	-0,25	0,56	-	0,97	-0,43
C	-0,65	-0,68	0,14	0,26	0,78

*Coeficientes de correlação linear de Pearson ao nível de 5 % de probabilidade.

REFERÊNCIAS

- Ball GFM. Vitamins In Foods: Analysis, Bioavailability, and Stability. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2006. 785p.
- Berry-Ottaway P. The stability of vitamins in fortified foods and supplements. In: Berry-Ottaway P. Food fortification and supplementation, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge. 2008;144-8.
- BRASIL. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de suplementos vitamínicos e ou de minerais. Diário Oficial da União, Brasília.
- BRASIL. Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. Diário Oficial da União, Brasília.
- Equipe Estatcamp (2014). Software Action. Estatcamp- Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos - SP, Brasil. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br/>.
- FAO/WHO. Codex Alimentarius - Codex General Standard for the Labelling of Prepackaged Foods. Codex Stan 1-1985 (Rev. 1-1991). Disponível em <http://www.fao.org/docrep/005/y2770e/y2770e02.htm> (acesso em 16 out 2015).
- Haro-Vicente JF, Frontela-Saseta C, Romero F, Ros G. Changes in content of vitamins A and E in growing-up milk throughout its shelf life. Int J Dairy Technol. 2012;65:1-6.
- IADSA. International Alliance of Dietary/Food Supplement Associations. Shelf-life recommendations for supplements. Guidelines for manufacturer. The Bubblegate Company Limited. Brussels, Belgium. 2014.
- Melo ILP, Almeida-Muradian LB. Stability of antioxidants vitamins in bee pollens samples. Quím Nova. 2010;33(3):514-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000300004>
- MERCOSUL/GMC/RES. N° 21/02 Regulamento técnico Mercosul para rotulagem de alimentos embalados.
- Phillips KM, Council-Troche M, McGinty RC, Rasor AS, Tarrago-Trani MT. Stability of vitamin C in fruit and vegetable homogenates stored at different temperatures. J Food Comp Anal. 2016;45:147-62. Doi: 10.1016/j.jfca.2015.09.008.
- Tavcar-Kalcher G; Vengust A. Stability of vitamins in premixes. Anim Feed Sci Technol. 2007;132(1-2):148-54.

5.2 QUINTO ARTIGO

O quinto artigo refere-se à avaliação da rotulagem dos suplementos vitamínicos e minerais em relação às legislações vigentes no país.

Avaliação da rotulagem dos suplementos vitamínicos e minerais comercializados na cidade de São Paulo

Evaluation of commercial vitamin and mineral supplement labels commercialized in Sao Paulo

RESUMO

As informações presentes nos rótulos de suplementos contribuem para a orientação do consumidor sobre a escolha do produto mais adequado às suas necessidades. Por outro lado, se os rótulos não apresentarem informações e esclarecimentos de forma apropriada, podem afetar negativamente a saúde dos consumidores. O presente trabalho teve como objetivo analisar a rotulagem de 57 amostras de suplementos vitamínicos comercializados na cidade de São Paulo, de acordo com as legislações vigentes no Brasil. Foi utilizando um *check list* composto pelos principais itens relacionados à rotulagem destes produtos para avaliação da sua conformidade. As principais irregularidades observadas foram a presença de frases ou expressões induzindo o consumidor a engano (26 %), a denominação de venda de forma incorreta (17 %) e a declaração de componentes ativos não autorizados para suplementos de vitaminas (3,5 %). Os resultados evidenciam a necessidade de intensificar as ações de fiscalização, identificando e sanando as possíveis irregularidades, com vistas a garantir ao consumidor a oportunidade de escolha do suplemento baseado em informações confiáveis.

Palavras-chave: Suplementos, vitaminas, rotulagem, legislação sobre alimentos.

ABSTRACT

The information provided in supplements labels contribute to consumer guidance on choosing the most suitable product for your needs. On the other hand, if labels do not submit information and clarification properly, may adversely affect the health of consumers. This study aimed to analyze the labeling of 57 samples of vitamin supplements marketed in the São Paulo city, according to the current Brazilian legislation. A check list consisting of the main items related to the labeling of these products was used to assess compliance of labels. The main irregularities observed were the presence of phrases or expressions inducing the consumer to mistake (26 %), the incorrect description name (17 %) and statement of active components not authorized to vitamin supplements (3.5 %). The results highlight the need to step up enforcement actions, identifying and remedying possible irregularities, in order to guarantee consumers the opportunity to choose the supplement based on reliable information.

Keywords: supplements, vitamins, labeling, food legislation.

INTRODUÇÃO

Rotulagem é toda inscrição, legenda, imagem ou toda matéria descritiva ou gráfica, escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo ou litografada ou colada sobre a embalagem do alimento (Brasil, 2002). As informações fornecidas por meio da rotulagem contemplam um direito assegurado pelo Código de Defesa do Consumidor, o qual determina que a informação sobre produtos deve ser clara e com especificação correta de quantidade, composição e qualidade, bem como sobre os riscos que possam apresentar (Brasil, 1990).

Os suplementos vitamínicos e ou de minerais são classificados como alimentos e, portanto, estes devem atender às exigências descritas nas legislações de rotulagem de alimentos além daquelas estabelecidas no próprio regulamento técnico sobre suplementos (Brasil, 1998a). As principais legislações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA/MS) referentes à rotulagem de alimentos industrializados no Brasil são a RDC nº 259/02, que aprova o regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados; a RDC nº 360/03, que aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados; a RDC nº 359/03, que trata da definição e estabelecimento de medidas e porções dos alimentos; a RDC nº 269/2005, que estabelece os valores de ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais e a RDC nº 54/2012, que aprova o regulamento técnico sobre a informação nutricional complementar. Os rótulos de suplementos devem ainda apresentar a informação sobre a presença de glúten, em atendimento à Lei nº 10674/2003, como medida preventiva e de controle da doença celíaca.

As informações apresentadas nos rótulos dos suplementos são extremamente necessárias para informar e orientar o consumidor de forma quantitativa e qualitativa, apresentar as orientações de consumo quando necessário, e também auxiliar na escolha do produto mais adequado para suas necessidades. Deste modo, é fundamental que informações fidedignas sejam divulgadas de forma clara e, que não induzam a erro ou mencionem falsas vantagens associadas ao consumo de suplementos.

A rotulagem nutricional é definida como toda a descrição destinada a informar o consumidor sobre as propriedades nutricionais de um alimento, compreendendo a declaração de valor energético e os principais nutrientes (Brasil, 2003a). No entanto, é necessário que estas informações sejam compreendidas por todos aqueles que as utilizam. Portanto, tanto a indústria deve esclarecer o consumidor sobre os benefícios do consumo de seus produtos como também o consumidor necessita ser claramente informado sobre o que vai ser consumido.

Considerando a importância da rotulagem para a orientação do consumidor, esse trabalho teve como objetivo avaliar a adequação da rotulagem dos suplementos vitamínicos e minerais comercializados na cidade de São Paulo, Brasil frente às legislações vigentes no país, principalmente em relação à presença das informações obrigatórias de rotulagem e da informação nutricional, bem como a presença de matéria descritiva ou gráfica que induzem o consumidor a engano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 57 amostras de suplementos vitamínicos de diferentes marcas em comprimidos, drágeas, cápsulas gelatinosas duras e moles, suspensões e soluções, adquiridas no comércio da cidade de São Paulo, Brasil. A verificação da conformidade e não conformidade da rotulagem foi realizada com base nas seguintes legislações vigentes no país:

- Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990;
- Lei nº 10674, de 16 de maio de 2003;
- Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002, da ANVISA/MS;
- Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, da ANVISA/MS;
- Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, da ANVISA/MS;
- Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005, da ANVISA/MS;
- Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012, da ANVISA/MS;
- Portaria SVS/MS nº 32, de 13 de janeiro de 1998.

Foi elaborado um *check list* com os principais itens relacionados à rotulagem, os quais foram verificados em cada embalagem:

- ✓ Denominação de venda: De acordo com a legislação deve constar no painel principal um dos seguintes termos: "*Suplemento Vitamínico*", "*Suplemento de Vitamina....*", "*Suplemento Mineral*", "*Suplemento de Vitamina(s) e Mineral(is)*", "*Suplemento Vitamínico-Mineral*", ou "*Suplemento à base de ...*" seguido da especificação da(s) vitamina(s) ou mineral(is) presentes.
- ✓ Lista de ingredientes: A lista de ingredientes deve constar em ordem decrescente da respectiva proporção.
- ✓ Composição: Todos os produtos devem conter no mínimo 25 % e no máximo 100 % da IDR para cada nutriente na porção diária indicada pelo fabricante. Sua formulação pode

ser uma associação de vitaminas com minerais; vitaminas isoladas ou associadas entre si; minerais isolados ou associados entre si; ou produtos fontes naturais de vitaminas ou minerais, legalmente regulamentados por padrão de identidade e qualidade (PIQ) conforme legislação pertinente.

- ✓ Conteúdo líquido: Deve ser claramente expresso, de acordo com regulamentos específicos.
- ✓ Identificação de origem: Devem constar o nome (razão social) do fabricante ou produtor ou fracionador ou titular (proprietário) da marca; endereço completo; país de origem e município.
- ✓ Identificação de lote: Todo rótulo deve ter impresso, gravado ou marcado de qualquer outro modo, uma indicação em código ou linguagem clara, que permita identificar o lote a que pertence o alimento, de forma que seja visível, legível e indelével.
- ✓ Prazo de validade: Deve ser declarado por meio de uma das seguintes expressões: "consumir antes de...", "válido até...", "validade...", "val:...", "vence...", "vencimento...", "vto:...", "venc:....", "consumir preferencialmente antes de...".
- ✓ Frase de advertência: Deve contar a seguinte frase em destaque e em negrito: "Consumir este produto conforme a recomendação de Ingestão Diária constante da embalagem".
- ✓ Frase de orientação: Deve constar a seguinte frase em destaque e em negrito: "Gestantes, nutrizes e crianças até 3 (três) nos, somente devem consumir este produto sob orientação de nutricionistas ou médico".
- ✓ Cuidados de conservação: Devem constar cuidados de conservação e armazenamento, antes e depois de abrir a embalagem, quando for o caso.
- ✓ Uso de expressões: É proibida toda e qualquer expressão que se refira ao uso do suplemento para prevenir, aliviar, tratar uma enfermidade ou alteração do estado fisiológico. São permitidas somente informações sobre as funções normais cientificamente comprovadas das vitaminas e minerais, descrevendo o papel fisiológico desses nutrientes no desenvolvimento, ou em função do organismo.
- ✓ Rotulagem nutricional: Os rótulos dos Suplementos devem observar a legislação para alimentos, no que couber, como no caso da informação nutricional.
- ✓ Informação sobre presença de glúten: Todos os alimentos industrializados deverão conter em seu rótulo e bula, obrigatoriamente, as inscrições "contém Glúten" ou "não contém Glúten", conforme o caso.

- ✓ Aditivos permitidos: É permitido o uso dos aditivos, coadjuvantes de tecnologia excipientes constantes na legislação de alimentos e outros reconhecidos pela Farmacopéias e Compêndios oficialmente aceitos, desde que justificadas as necessidades tecnológicas e observados seus limites de segurança, quando os houver.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as amostras avaliadas foi identificado pelo menos um item não conforme com a legislação em 47 % dos rótulos e em 9 %, foram observados dois ou mais itens irregulares (Figura 1).

Figura 1. Principais irregularidades verificadas em rótulos de suplementos vitamínicos e suas respectivas quantidades entre as 57 amostras analisadas.

Foram observadas irregularidades em relação à denominação de venda em dez amostras. Duas delas apresentaram a denominação de venda no painel lateral, uma amostra apresentou a denominação como suplemento nutricional composto por vitaminas e minerais, e quatro amostras estavam denominadas como multivitamínicos e multiminerais. Ainda, três amostras apresentaram a denominação de venda como polivitamínicos, porém esta é a

denominação utilizada para medicamentos à base de vitaminas (Brasil, 2009). Apesar de possuírem formas de apresentação e aparência semelhantes, os suplementos e os medicamentos à base de vitaminas são categorias distintas entre si, que apresentam diferenças nos níveis de micronutrientes contidos em sua composição. A denominação de venda incorreta dos suplementos vitamínicos pode induzir o consumidor a engano, causando dificuldade em se distinguir um produto de outro.

Todas as amostras avaliadas apresentaram lista de ingredientes em ordem lógica, de acordo com o esperado em suplementos, no entanto, somente com uma análise físico-química completa seria possível certificar que a lista de ingredientes corresponde à realidade da ordem postulada na mesma. Nas matrizes oleosas, o primeiro componente declarado foi o veículo, sendo o óleo de soja o veículo mais comum. Em suplementos sólidos contendo vitaminas e minerais, o primeiro ingrediente declarado foi o cálcio, na forma de carbonato ou fosfato de cálcio, provavelmente por ser este o micronutriente com maior valor de IDR (1000 mg).

Em relação à composição dos suplementos vitamínicos, uma amostra com a denominação de suplemento de vitamina C era composta por polpa de camu camu desidratada. A regulamentação para a comercialização de cápsulas à base de polpa de frutas deve ser melhor esclarecida, pois verificou-se atualmente no comércio, grande número de produtos denominados suplementos vitamínicos, compostos por polpas de frutas como por exemplo a *gojiberry*, *cranberry* e *blueberry*. Ao serem comercializados como suplementos vitamínicos, passam a ser isentos de registro no MS, facilitando a sua comercialização. No entanto, as cápsulas com polpas das referidas frutas deveriam ser comercializadas como “Novo alimento”, atendendo aos requisitos da Resolução nº 16/1999 da ANVISA/MS, que os classifica como *alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no país, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que entretanto venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos utilizados na dieta regular*. E podem ainda ser alimentos em formas de apresentação não convencionais, tais como cápsulas, comprimidos, tabletes e similares. Exemplos de frutas comercializadas na forma de cápsula, constantes na lista de novos alimentos aprovados são o abacaxi, o açaí e a acerola.

A declaração de componentes ativos não permitidos em suplementos vitamínicos foi observada em duas amostras. Um deles apresentou guaraná na lista de ingredientes, porém, tal componente é classificado como medicamento fitoterápico e, portanto deve ser registrado no Ministério da Saúde antes de sua comercialização (Brasil, 2010a). Supõe-se da mesma forma ao observado para as cápsulas com polpas de frutas, que a empresa classificou o produto

como suplemento vitamínico para iniciar a sua comercialização sem a necessidade de registro prévio, como forma de burlar a lei. No painel principal deste produto constava a expressão “mais energia do guaraná”, enfatizando ainda a ação energética do guaraná com a imagem de um atleta. Outra amostra apresentou cafeína na lista de ingredientes, juntamente com as vitaminas e os minerais e era denominada de suplemento vitamínico e mineral. Suplemento de cafeína é o produto destinado a aumentar a resistência aeróbia em exercícios físicos de longa duração e pertence à categoria de alimentos para atleta, porém, neste tipo de suplemento não é permitida a adição de nutrientes (Brasil, 2010b). O produto em questão apresentava o nome comercial muito semelhante à palavra anti-celulite, portanto, sugere-se que o uso desta combinação de cafeína com vitaminas seja uma estratégia de marketing para induzir o consumidor a acreditar que seu consumo possa trazer algum benefício no tratamento da celulite. Há relatos científicos da ação da cafeína na redução da celulite, porém estas evidências foram observadas quando a cafeína foi empregada para uso tópico (Byun et al, 2015).

O conteúdo líquido em amostras sólidas estava apresentado pela quantidade de unidades de suplemento contido na embalagem, e em amostras líquidas, o conteúdo líquido total do frasco estava declarado em mililitros. Em uma amostra de suplemento de vitamina C, havia a indicação “500 mg” no painel principal, sem especificar o que significava este valor. Na informação nutricional, verificou-se que este valor era referente ao peso da cápsula, porém, da forma como estava apresentada, pode sugerir um produto com 500 mg de vitamina C, levando o consumidor a engano. Seria mais esclarecedor se houvesse a indicação de que o valor se referia ao peso da cápsula, como foi verificado em outras amostras.

Em todas as embalagens foram observados o nome (razão social) do fabricante, produtor, fracionador ou titular (proprietário) da marca, endereço completo, país de origem e município e número de registro ou código de identificação do estabelecimento fabricante junto ao órgão competente (CNPJ). Nos produtos importados foram também verificados o nome ou razão social e endereço do importador, conforme estabelece a legislação (Brasil, 2002).

Todos os produtos apresentaram identificação de lote e prazo de validade de forma visível e legível. A maioria dos suplementos avaliados apresentou prazo de validade de 24 meses. Em 7 % das amostras não foi observada a data de fabricação, porém, esta informação não é obrigatória (Brasil, 2002).

Em relação às frases obrigatórias de advertência e de orientação, não foram observadas tais frases em uma amostra de suplemento vitamínico e mineral, porém, contavam outras: *“Este produto não substitui uma alimentação equilibrada e seu consumo deve ser orientado por nutricionista ou médico”* e *“Este produto não deve ser consumido por crianças, gestantes, idosos e portadores de enfermidades”*, os quais se referem às frases obrigatórias em rótulos de alimentos para atleta (Brasil, 2010b). Em outras duas amostras, a frase de advertência não estava em destaque e nem em negrito, porém, localizava-se em lugar visível, logo abaixo da informação nutricional.

A exposição à luz, ao calor e à umidade influencia a estabilidade das vitaminas, portanto, ressalta-se a importância de orientar o consumidor sobre os cuidados de armazenamento no rótulo do produto. Na maioria das amostras constava a orientação para armazenar o produto ao abrigo da luz (sol, luz solar, incidência de raios solares) (63 %); manter em local fresco (abaixo de 30 °C, 15-30 °C, temperatura ambiente) (91 %); e proteger da umidade (local seco) (85 %). A orientação sobre o prazo para consumo após aberto foi verificada em apenas 9 % das amostras; estas indicavam o prazo entre 30 e 90 dias para o seu consumo.

Apesar de a legislação de suplementos proibir o uso de expressões que se refiram ao seu uso para prevenir, aliviar, tratar uma enfermidade ou alteração do estado fisiológico, esta mesma legislação permite o uso de expressões que definam as funções normais, cientificamente comprovadas das vitaminas e minerais, descrevendo o papel fisiológico desses nutrientes no desenvolvimento, ou em função do organismo (Brasil, 1998). Este item da legislação deveria ser melhor esclarecido, constando no próprio regulamento, uma lista com as frases e expressões permitidas nos rótulos.

Em 22 rótulos foram verificadas frases e expressões, as quais estão transcritas no quadro 1. Seguem algumas delas consideradas irregulares de acordo com as legislações: “Não engorda”, “Mais energia para o seu dia a dia”, “Revigorante”, “Combate o stress”, “Nutrição completa na dose certa”, “Indicado para combater a queda de cabelo, dar volume, crescimento e brilho”.

A inclusão dessas informações nos rótulos faz com que o produto aparente ter melhor qualidade quando comparado a outros similares, gerando ao consumidor, expectativas equivocadas em relação às suas reais propriedades, podendo até mesmo trazer prejuízos à sua saúde. Verificou-se ainda em algumas amostras, imagens que podem induzir o consumidor a formar uma falsa ideia sobre os reais efeitos e/ou propriedades do produto.

Quadro 1. Transcrição das frases e expressões descritas em rótulos de suplementos

Denominação de venda	Expressões
Suplemento vitamínico e mineral	Não engorda , mais ânimo e mais vitalidade para o seu dia.
Suplemento de vitaminas e minerais	Zero açúcar. Sua fórmula exclusiva foi desenvolvida para suprir as necessidades diárias destes nutrientes que, por não serem produzidos pelo organismo, são considerados essenciais e devem ser obtidos de fontes externas.
Suplemento de vitaminas e minerais	Ajuda a prevenir a deficiência de vitaminas e minerais. Auxilia na manutenção de um ritmo de vida equilibrado. É próprio para situações que exijam grande dispêndio de energia.
Suplemento vitamínico	Não contém açúcar. Não engorda. Ajuda a prevenir as deficiências de vitaminas.
Suplemento vitamínico e mineral	Não engorda
Suplemento de vitaminas e minerais	Zero caloria
Suplemento vitamínico e mineral	Zero açúcar. Não engorda.
Suplemento de vitaminas e minerais	Especialmente formulado para homens. Energia. Ação antioxidante. Imunidade. Saúde muscular
Suplemento vitamínico-mineral	Mais energia para o seu dia a dia. Combate o stress. Não engorda.
Suplemento vitamínico-mineral	Mais energia para o seu dia a dia. Fórmula balanceada. Não engorda.
Suplemento vitamínico-mineral	Mais energia para o seu dia a dia. Substâncias antioxidantes
Suplemento vitamínico-mineral	Combate o stress. Não engorda. Supre as carências nutricionais.
Suplemento vitamínico-mineral	Não aumenta o apetite. Livre de calorias.
Suplemento vitamínico + minerais	Revigorante. Antioxidante. Não engorda.
Suplemento vitamínico e mineral	Celluli Solution e a uma imagem associada
Suplemento de zinco, selênio, molibdênio, ferro, vitaminas C, E, B6, biotina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico e ácido fólico	A fórmula original fornece nutrientes essenciais às células do bulbo capilar, entre os quais o ferro. A biotina, o selênio e o zinco contribuem para a manutenção dos cabelos saudáveis. As vitaminas B6, B9 e o molibdênio contribuem para a realização completa da síntese dos aminoácidos de enxofre, essenciais para a queratina. Contém ainda um eficaz complexo antioxidante (riboflavina, vitaminas C e E, selênio e zinco), que ajudam a proteger as células contra o stress oxidativo.

Suplemento vitamínico e mineral	Nutrição completa na dose certa
Suplemento vitamínico e mineral	Cuidado diário para corpo e mente saudáveis
Suplemento de vitaminas e minerais	Hair & nail solution e uma imagem associada
Polivitamínico capilar	Indicado para combater a queda de cabelo, dar volume, crescimento e brilho.
Multivitamínico e multimineral	Supre as carências nutricionais do organismo. Antioxidante. Não engorda.
Suplemento vitamínico	Pessoas que exercem esforço físico excepcional ou em condições ambientais especiais, as vitaminas são essenciais no complemento de uma alimentação equilibrada.

Negrito: Expressões proibidas de acordo com a legislação.

Dois suplementos apresentavam imagens induzindo o seu consumo para melhorar a pele, unhas e cabelos, e trazia referências de artigos científicos sobre estes efeitos das vitaminas, porém, não se sabe se nas doses de micronutrientes encontradas em suplementos (máximo 100 % da IDR), este efeito possa ser comprovado.

A informação nutricional deve ser expressa por porção, e em percentual de valor diário (% VD). A RDC nº 360/2003 (Brasil, 2003a) tornou obrigatória a rotulagem nutricional, que estabelece, dentre outras especificações, a declaração obrigatória nos rótulos de alimentos industrializados de: valor energético, teor de carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras *trans*, fibra alimentar e sódio (Brasil, 2003a). Entre as amostras analisadas, mais de 50 % declaravam valor de 100 % da IDR de vitaminas, e o restante, valores dentro do intervalo especificado, entre 25 e 100 % da IDR. Desta forma, não foi observada nenhuma inconformidade na descrição da informação nutricional, porém, os reais valores de vitaminas poderão ser confirmados somente por meio de análises com métodos analíticos validados.

Em cinco amostras foram observadas expressões relacionadas à ausência de açúcar ou de calorias tais como “zero açúcar”, “não contém açúcar”, “zero caloria”, e “livre de calorias”. De acordo com a RDC nº 54/2012 (Brasil, 2012), a ausência de calorias e de açúcar pode ser expressa como informação nutricional complementar na rotulagem do produto, desde que seus valores em uma porção sejam inferiores a 4 kcal e 0,5 g, respectivamente. Apenas as amostras em drágeas apresentaram açúcar na composição, porém, como os demais produtos, seu conteúdo foi declarado como insignificante na informação nutricional, provavelmente porque em uma porção de suplemento, a quantidade presente é inferior a 0,5 g.

A informação sobre a presença ou não de glúten não foi observada em duas amostras líquidas.

É permitido o uso dos aditivos, coadjuvantes de tecnologia excipientes constantes na legislação de alimentos e outros reconhecidos por Farmacopeias e Compêndios oficialmente aceitos, desde que justificadas as necessidades tecnológicas e observados os seus limites de segurança. A garantia de que os excipientes adicionados estejam abaixo dos limites de segurança poderá ser verificada somente após análise laboratorial, no entanto, em relação aos componentes declarados na lista de ingredientes, todos eram permitidos.

Observou-se em 70 % das amostras, a declaração de corantes artificiais na lista de ingredientes. Embora todos eles fossem permitidos em alimentos pela legislação, questiona-se o seu uso excessivo. Os corantes artificiais declarados com maior frequência foram o amarelo crepúsculo, azul brilhante, vermelho 40, vermelho eritrosina e o dióxido de titânio, verificando-se a combinação de 2 até 5 corantes em 54 % das amostras avaliadas. Uma amostra de suplemento infantil declarava presença de corantes artificiais vermelho eritrosina e azul indigotina. No restante das amostras indicadas para o público infantil (7), não havia declaração de corantes artificiais na lista de ingredientes, representando um aspecto positivo, já que as crianças são mais suscetíveis a desenvolver reações alérgicas a este tipo de aditivo (Masone e Chanforant, 2015).

A coloração dos alimentos influencia a escolha pelos consumidores, fato que justifica o uso de corantes nos mais diversos tipos de produtos alimentícios (Jantathai et al., 2013). No caso dos suplementos, os quais necessitam ser protegidos da luz e, portanto, armazenados normalmente em embalagens opacas, não se permite a visualização do seu conteúdo no momento da escolha pelo consumidor. Não haveria desta forma, uma justificativa plausível para a adição de corantes em suplementos de vitaminas e minerais. Ademais, a ingestão de corantes em excesso pode representar riscos à saúde, portanto, seu uso deveria ser mais restrito e melhor controlado (Masone e Chanforant, 2015).

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que muitos fabricantes comercializam seus produtos sem seguir as normas exigidas na legislação. Algumas irregularidades podem ser decorrentes da falta de conhecimento da legislação, e outras, da tentativa de burlar a lei, evitando o registro do produto no MS ou ainda, para utilizar estratégias de marketing visando atrair os

consumidores. Estas constatações evidenciam a necessidade de intensificar as ações de fiscalização, identificando e sanando as possíveis irregularidades, com vistas a garantir ao consumidor a oportunidade de escolha do suplemento baseado em informações confiáveis.

REFERÊNCIAS

Brasil (1990). Código de Defesa do Consumidor. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Diário Oficial da União, Brasília, 12/09/90.

Brasil (1998a). Ministério da Saúde. Portaria nº 32, de 13 de Janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (1999a). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para registro de Alimentos e/ou Novos Ingredientes. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2002). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2003a). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2003b). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2005). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2009). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 71, de 22 de dezembro de 2009. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes para a Rotulagem de medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2010a). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2010b). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 18, de 27 de abril de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atleta. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2010c). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 27, de 6 de agosto de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Dispõe sobre as categorias de alimentos e

embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2012). Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico sobre a Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2014). Ministério da Saúde. Instrução Normativa nº 2, de 13 de maio de 2014. Publica a “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado” e a “Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado”. Diário Oficial da União, Brasília.

Byun SY, Kwon SH, Heo SH, Shim JS, Du MH, Na JI. Efficacy of slimming cream containing 3.5% water-soluble caffeine and xanthenes for the treatment of cellulite: Clinical study and literature review. *Ann Dermatol.* 2015;27(3):243-9. <http://dx.doi.org/10.5021/ad.2015.27.3.243>.

Jantathai S, Danner L, Joechl M, Dürschmid K. Gazing behavior, choice and color of food: Does gazing behavior predict choice? *Food Res Int.* 2013;54(2):1621-6.

Masone D, Chanforant C. Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: A computational point of view. *Comput Biol Chem.* 2015;56:152-8. Doi:10.1016/j.compbiolchem.2015.04.006.

6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

As metodologias analíticas validadas se mostraram adequadas para a análise de vitaminas em suplementos e podem ser utilizadas para o monitoramento e fiscalização destes produtos.

Os resultados das determinações de vitaminas antioxidantes em suplementos indicaram que a maioria das amostras apresenta discrepâncias entre os teores de vitaminas obtidos na análise e os declarados na informação nutricional da rotulagem, principalmente em relação às vitaminas A e E. A maior porcentagem de inconformidades foi encontrada para a vitamina A, enquanto a vitamina C apresentou os maiores índices de conformidade em relação aos teores declarados no rótulo.

A maioria das amostras apresentou degradação significativa das vitaminas A, E e C com 12 meses de armazenamento, mostrando a necessidade de sobredosagem destas vitaminas para manterem os valores declarados no rótulo durante o armazenamento.

A comercialização das amostras com teores de vitaminas abaixo dos valores declarados será prejudicial aos indivíduos que realmente necessitam de suplementação, pois estes produtos não proporcionarão os níveis esperados de vitaminas ao organismo.

A venda de produtos em desacordo com a legislação em relação ao teor de vitaminas presentes representa grave lesão ao consumidor, que está investindo recursos buscando melhorar a saúde, sem obter os benefícios esperados.

Além do risco de não ingerir o nutriente necessário ao organismo ou o risco da ingestão excessiva, o consumo de produtos com teores de nutrientes discrepantes aos valores declarados no rótulo, dificultam a correta estimativa da ingestão de nutrientes pela população.

Algumas irregularidades verificadas na rotulagem dos suplementos vitamínicos podem ser decorrentes da falta de conhecimento da legislação pelos fabricantes, ou mesmo uma tentativa de obter vantagens comerciais e também para adotar estratégias de marketing, visando atrair os consumidores.

Os dados de análise de vitaminas em suplementos vitamínicos comercializados no Brasil são inéditos e servirão de importante alerta para o Ministério da Saúde, sobre a obrigatoriedade de registro prévio e principalmente, sobre a necessidade urgente de efetiva fiscalização destes produtos pelas autoridades sanitárias.

7 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

AOAC-Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18 ed. Gaithersburg, 2012.

Blake CJ. Status of methodology for the determination of fat-soluble vitamins in foods, dietary supplements, and vitamin premixes. J AOAC Intern. 2007;90(4):897-910.

Brasil (1998a). Ministério da Saúde. Portaria n° 32, de 13 de Janeiro de 1998. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2005). Ministério da Saúde. Resolução RDC n° 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Diário Oficial da União, Brasília.

Brasil (2010c). Ministério da Saúde. Resolução RDC n° 27, de 6 de agosto de 2010. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Diário Oficial da União, Brasília.

Catania SC, Barros CR, Ferreira SR. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. Arq Bras Endocrinol Metab. 2009;53(5):550-9.

Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. Química de alimentos de Fennema. 4° ed. Editora Artmed, Porto Alegre. 2010; 900p.

Eggersdorfer, M., Laudert, D., Létinois, U., McClymont, T., Medlock, J., Netscher, T. and Bonrath, W. (2012), One Hundred Years of Vitamins—A Success Story of the Natural Sciences. Angew. Chem. Int. Ed., 51: 12960–12990. doi:10.1002/anie.201205886

Euromonitor International. Sports nutrition in Brazil. <http://www.euromonitor.com/sportsnutrition-in-brazil/report> (acessado em 19/out/2015).

Europeu, Parlamento. Conselho, Diretiva n. o 2002/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 10 de Junho. Jornal Oficial das Comunidades Europeia. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex:32002L0046>, 2002. (Acesso em 10 out 15).

FAO/OMS. Human Vitamin and Mineral Requirements. In: Report 7th Joint FAO/OMS Expert Consultation. Bangkok, Thailand, 2001. 286p.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. US Department of Health & Human Service [atualizado em 13 jan 2014. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/dietarysupplements/consumerinformation/ucm191930.htm> (acesso em 05 ago 2015)

Haro-Vicente JF, Frontela-Saseta C, Romero-Braquehais F, Berruezo GR. Changes in content of vitamins A and E in growing-up milk throughout its shelf life. *Int J Dairy Technol.* 2013;66:31-6.

IOM. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. National Academic Press, Washington D.C., 1999-2001.

Mahan LK, Escott-Stump S. Krause-Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 12. ed. São Paulo:Elsevier, 2010.

National Institutes of Health State-of-the-Science Panel. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference Statement: multivitamin/mineral supplements and chronic disease prevention. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:257S–64S

Ryan MJ, Dudash HJ, Docherty M, Geronilla KB, Baker BA, Haff GG, Gutlip RG, Always SE. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp Gerontol.* 2010;45:882-95.

Spínola V, Mendes B, Câmara JS, Castilho PC. Effect of time and temperature on vitamin C stability in horticultural extracts-UHPLC-PDA vs iodometric titration as analytical methods. *Food Sci Technol.* 2013;50:489-95.

USP-The United States Pharmacopeia. 32nd. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2009.

CURRÍCULO LATTES DA ALUNA

Lucile Tiemi Abe-Matsumoto

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/7152563096376943>

Última atualização do currículo em 27/04/2016

Possui graduação em Farmácia-Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2001), mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2007) e Doutorado em Ciências pela Universidade de São Paulo (2016). Atualmente é Pesquisador Científico do Instituto Adolfo Lutz. Tem experiência na área de alimentos, com ênfase em análises físico-químicas, atuando principalmente nos seguintes temas: Vitaminas, validação de métodos, CLAE, capacidade antioxidante e compostos bioativos. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Lucile Tiemi Abe-Matsumoto
Nome em citações bibliográficas	ABE, L. T.; ABE-MATSUMOTO, L.T.; ABE, LUCILE T.; LUCILE TIEMI ABE-MATSUMOTO

Endereço

Endereço Profissional	Instituto Adolfo Lutz, Centro de Alimentos - Núcleo de Química, Física e Sensorial. Avenida Doutor Arnaldo, 355 Cerqueira César 01246000 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30682939 Fax: (11) 30883041 URL da Homepage: www.ial.sp.gov.br
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2012 - 2016	Doutorado em Ciências (Programa Nutrição em Saúde Pública). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Determinação de vitaminas antioxidantes em suplementos e avaliação da rotulagem nutricional, Ano de obtenção: 2016. Orientador: Deborah Helena Markowicz Bastos. Palavras-chave: vitaminas; antioxidantes; estabilidade; suplementos vitamínicos; Legislação.
2005 - 2007	Mestrado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Ácido elágico em alimentos regionais brasileiros, Ano de Obtenção: 2008. Orientador: Franco Maria Lajolo. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Palavras-chave: ácido elágico; capacidade antioxidante; compostos bioativos; flavonóides; jabuticaba.
1997 - 2001	Graduação em Farmácia e Bioquímica. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

CURRÍCULO LATTES DA ORIENTADORA

Deborah Helena Markowicz Bastos

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2 - CA AL - Ciência e Tecnologia de Alimentos

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/2399624390092442>

Última atualização do currículo em 02/05/2016

Graduada em Engenharia Agrônômica pela Universidade de São Paulo (1982), mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (1989) e doutorado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas (1996). Atualmente é Professor Associado da Universidade de São Paulo (obteve o título de Livre-Docente em dezembro de 2007). É docente colaborador do Mestrado Erasmus Mundus- FIPDes. É editor associado do periódico *Molecules* desde 2007. É editor associado da *Nutrire* desde 2013. Atua como revisor de vários periódicos da área e como Assessor Científico de várias Instituições de fomento à pesquisa (FAPESP, FAPEMAT, CNPq). Tem experiência na área de Alimentos e Nutrição, com ênfase em Composição de Alimentos, atuando principalmente nos seguintes temas: análise e composição de alimentos, alimentos funcionais e compostos bioativos. Tem desenvolvido ações junto à FAO para a avaliação dos indicadores da biodiversidade da dieta. É assessora do Ministério do Meio Ambiente para o desenvolvimento do projeto internacional "Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade para a Alimentação, Nutrição e Bem Estar Humano". Participou da Diretoria da SBCTA (Diretor de Divulgação) em 2013. Foi convidada para compor a força tarefa da IUNS – IUNS Task Force on Traditional, Indigenous and Cultural Food and Nutrition (2013-2017) **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Deborah Helena Markowicz Bastos
Nome em citações bibliográficas	Bastos, D.H.M.; Markowicz Bastos, D.H.; Bastos, D.M.; Bastos, Deborah H. Markowicz; DEBORAH HELENA MARKOWICZ BASTOS

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição, Av. Dr. Arnaldo, 715 Cerqueira César 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617855 Ramal: 244 Fax: (11) 30626748
-----------------------	---

Formação acadêmica/titulação

1993 - 1996	Doutorado em Engenharia de Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Brasil. Título: Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja, Ano de obtenção: 1996. Orientador: Maria Regina Bueno Franco. Palavras-chave: mel; compostos voláteis; sabor; cromatografia gasosa de alta eficiência; análise sensorial. Grande área: Ciências Agrárias Setores de atividade: Fabricação de Produtos Farmacêuticos; Fabricação de Produtos Químicos.
1984 - 1989	Mestrado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Extrusão termoplástica de pulmão bovino, Ano de Obtenção: 1989. Orientador: José Alfredo Gomes Arêas. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. Palavras-chave: extrusão termoplástica; subproduto; pulmão; bovino. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Ciência de Alimentos. Setores de atividade: Fabricação de Produtos Farmacêuticos.
1989 - 1990	Especialização em Génie Alimentaire. Université Des Sciences Et Techniques Du Languedoc, USTL, França. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
1979 - 1982	Graduação em Engenharia Agrônômica. Universidade de São Paulo, USP, Brasil.