INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES INORGÂNICOS EM SUPLEMENTOS
NUTRICIONAIS PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM
NÊUTRONS**

ROGÉRIO ALVES DE SOUSA REIS

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

**Orientadora:
Dra. Mitiko Saiki**

**São Paulo
2006**

AGRADECIMENTOS

À Dra. Mitiko Saiki, pela orientação cuidadosa, paciência e pela confiança em mim depositada.

À Dra. Marina Beatriz Agostini Vasconcellos, Chefe do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica do IPEN, pelo apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

À Dra. Ivone Mulako Sato, pelas valiosas sugestões para a elaboração deste trabalho.

À Dra. Maria José Aguirre Armelin (Tata), pela sua contribuição no esclarecimento de dúvidas e pela amizade.

Ao IPEN/CNEN-SP, pela oportunidade concedida para realizar este trabalho no Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica.

Aos demais integrantes do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica do IPEN, Drs. Casimiro, Ana, Déborah e Vera pela convivência durante a realização deste trabalho.

A Regina, Irene, Edson Moreira, Edson Alves e Ricardo, pela amizade, convivência e auxílio na elaboração deste trabalho.

Aos amigos Osmã, Celina, Kelly, Meire, Andreza, Luciana, Marília, Alessandra, Marco e Vinícius pela convivência e alegria.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho.

Ao CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, Nilton (*in memoriam*) e Nair

A todos de minha família

Com todo amor e carinho

CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES INORGÂNICOS EM SUPLEMENTOS NUTRICIONAIS PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Rogério Alves de Sousa Reis

RESUMO

O controle da composição dos elementos presentes nos suplementos nutricionais é de grande importância devido ao crescente consumo e a comercialização de diversos tipos e marcas destes produtos. A determinação da quantidade de elementos nos suplementos torna – se necessária para comparar com os valores declarados nos seus rótulos. Neste trabalho, a ativação com nêutrons foi aplicada à análise de 11 amostras de suplementos, adquiridos em farmácias e em lojas de produtos naturais. As amostras, adquiridas nas formas de cápsulas ou comprimidos foram moídas para se obter as na forma de pó homogêneo. As amostras e os padrões sintéticos dos elementos foram irradiados no reator nuclear de pesquisas IEA-R1. Irradiações de 8 h sob um fluxo de nêutrons térmicos de $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ foram realizadas para a determinação dos elementos Ca, Co, Cr, Fe, Se e Zn e para a determinação dos elementos As, Cu, Fe, K, Na as amostras foram irradiadas por 1 h sob fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $1 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. As medidas das atividades gama induzidas foram realizadas usando um detector de Ge hiperpuro acoplado a um espectrometro de raios gama. Os resultados das quantidades obtidas nas amostras de suplementos foram em geral, concordantes com os valores apresentados nos seus respectivos rótulos. Elementos tóxicos como As, Cd, Hg e Sb não foram detectados em nenhuma das amostras. Para o controle da qualidade dos resultados analíticos com relação à exatidão e precisão foram analisados os materiais certificados de referência NIST 1400 Bone Ash e NIST 1633b Coal Fly Ash ambos da National Institute of Standards and Technology (NIST). Os resultados obtidos nestes materiais de referência apresentaram uma boa precisão e exatidão e os valores de Z score ou diferença padronizada obtidos das análises, foram menores que 2 indicando que os resultados obtidos

são satisfatórios e estão dentro da faixa dos valores dos certificados a um nível de confiança de 95%.

CHARACTERIZATION OF INORGANIC COMPONENTS IN NUTRITIONAL SUPPLEMENTS BY NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

Rogério Alves de Sousa Reis

ABSTRACT

The control of element composition in nutritional supplements is of great interest due to increasingly high consumption and a large diversity and brands of these products offered in market. Therefore, there is the necessity to evaluate the element contents in the supplements and to compare with those values declared on the labels. In this study neutron activation analysis (NAA) was applied to evaluate the element composition of 11 commercial nutritional supplement brands bought in natural product drugstores and pharmacies. These samples acquired in capsule or tablet forms were ground to a homogeneous powder. The samples were irradiated together with the elemental standards in the IEA-R1 nuclear research reactor. Irradiations of 8 h under a thermal neutron flux of $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ were carried out for Ca, Co, Cr, Fe, Se and Zn determinations. For Cu, K and Na determinations thermal neutron flux of $1 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was used and, the exposure time was 1h. The induced gamma activities were measured using a hyperpure Ge detector coupled to a gamma ray spectrometer. The obtained results compared with the values of the labels of nutritional supplements presented good agreement for most of the elements. Toxic elements such as As, Cd, Hg and Sb were not detected in the samples. For quality control of the analytical data, certified reference materials NIST 1400 Bone Ash and NIST 1633b Coal Fly Ash provided by the National Institute of Standards and Technology were also analysed. Accuracy and precision of these results were evaluated. The obtained Z score values were lower than 2 indicating that the data are within the ranges of certified values at 95% confidence level.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Uso de suplementos nutricionais e minerais	1
1.2 Metodologia analítica aplicadas à análise elementar de suplementos nutricionais	5
1.3 Revisão bibliográfica sobre a utilização de suplementos nutricionais	7
1.4 Considerações sobre a importância dos minerais à saúde	10
1.5 Os elementos químicos como agentes antioxidantes	16
1.6 Objetivo	17
 2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS	 19
2.1 Princípio do método de análise por ativação neutrônica	19
2.2 Cálculo da concentração de elementos pelo método absoluto	24
2.2.1 Cálculo da concentração de elementos pelo método comparativo	25
2.3 Aplicações da análise por ativação neutrônica (NAA)	28
2.4 Vantagens do método de análise por ativação neutrônica	29
2.5 Desvantagens do método de análise por ativação neutrônica	29
 3. PARTE EXPERIMENTAL	 30
3.1 Amostras de suplementos nutricionais	30
3.1.1 Preparação das amostras de suplementos	32
3.1.2 Determinações das percentagens de umidade das amostras de suplementos	32
3.2 Materiais certificados de referência	33
3.3 Preparação de padrões sintéticos dos elementos	34
3.4 Procedimento para análise pelo método de ativação com nêutrons	36
3.4.1 Montagem das amostras e padrões para irradiação no reator	36
3.4.2 Medições das atividades gama das amostras e padrões irradiados	38
3.7 Avaliação de limites de detecção e de quantificação de elementos em amostras de suplementos nutricionais	41

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Análise dos materiais certificados de referência	43
4.2 Análise dos suplementos nutricionais	46
4.3 Comparação entre os resultados obtidos e os valores dos rótulos dos suplementos	49
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1. INTRODUÇÃO

1.1 Uso de suplementos nutricionais ou minerais

Nos últimos anos, com o crescente número de marcas e tipos de suplementos vitamínicos e minerais no mercado, o controle da qualidade destes produtos torna-se um assunto de grande interesse para examinar a composição elementar destes produtos às entidades governamentais responsáveis pela saúde das populações (SAIKI & NARDI 2001).

As vitaminas e os suplementos minerais são consumidos extensamente pela população, principalmente por idosos (CHANDRA, 2004), indivíduos na fase de amamentação, gestantes e por atletas (NEWHOUSE & FINSTAD, 2000). Desta maneira o uso de suplementos minerais tem ganho importância cada vez maior, não apenas para suprir as deficiências nutricionais como para otimizar as vias metabólicas que estes minerais estão envolvidos.

Os estudos sobre os efeitos dos suplementos à saúde humana tornaram-se portanto assunto de diversas pesquisas e conferências no campo da nutrição e medicina. Segundo HARMAN (1993), o conhecimento de que as vitaminas e os minerais proporcionam saúde as pessoas e retardam o processo de envelhecimento, ao combater o excesso de radicais livres no organismo é cada vez mais difundido. A relação entre o excesso de radicais livres e o tratamento de patologias, pode estar relacionada ao grande número de vendas destes produtos.

No entanto, as conclusões dos pesquisadores sobre a utilização ou não destes produtos, são ainda bastante divergentes. Apesar do fato da grande maioria das pesquisas realizadas neste campo, recomendarem o uso de suplementos nutricionais salientando os benefícios da ingestão controlada de nutrientes no tratamento e prevenção de doenças crônicas, há ainda muitos pontos que devem ser melhor investigados para avaliar os efeitos da complementação nutricional na forma de suplemento no organismo (WILDISH, 2004).

De acordo com a opinião de nutricionistas, os indivíduos saudáveis que tem uma dieta adequada não necessitam de nutrientes adicionais na forma de suplementos (PIETRUSKA & BRZOWSKA, 1999). O mesmo fato é salientado por LUKASKI (2004) que relata a ineficiência dos suplementos nutricionais e vitamínicos em pessoas com uma alimentação balanceada e adequada, uma vez que os indivíduos quando se alimentam corretamente, já adquirem os nutrientes necessários para um bom desempenho do organismo; porém o autor aborda sobre a importância de minerais como cromo, ferro, magnésio e zinco no organismo humano.

Por outro lado, segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2000), uma em cada cinco pessoas no mundo não consome alimentos com nutrientes considerados adequados para uma vida saudável, o que aumenta ainda mais a necessidade de reposição nutricional.

A necessidade de prevenção na nutrição é evidente. Para se ter uma idéia das dimensões do problema ligado à má nutrição WILSON & TEMPLE (2003) estimaram que o custo anual para tratamentos de quatro doenças relacionadas à má nutrição tais como: doenças do coração; câncer; derrame cerebral e diabetes tipo 2 excede US\$ 70 bilhões apenas nos Estados Unidos.

A melhoria das condições nutricionais de uma população depende de um amplo programa de desenvolvimento político, econômico e social. Como alternativa, para minimizar essa problemática, os programas de suplementação alimentar aparecem, enquanto não são solucionados os diversos fatores socioeconômicos que ocasionam a desnutrição (BOAVENTURA et al., 2003).

Embora à parte da população que não possui uma dieta alimentar adequada e em tratamento médico justifique o grande crescimento no consumo de suplementos nutricionais, verifica-se que indivíduos pertencentes a estes grupos não são os únicos a utilizarem estas fontes de reposição nutricional.

NACHTIGAL et al. (2005) relatam que um outro fator diretamente ligado ao grande consumo de suplementos nutricionais é a obesidade, a qual em um curto tempo se

tornou uma doença quase epidêmica, fato este observado tanto em adultos, quanto em crianças e adolescentes. Estes pesquisadores investigaram o uso de suplementos nutricionais em indivíduos de 45 a 57 anos de idade durante 10 anos, e concluíram que indivíduos que faziam uso deste tipo de produto tinham menor ganho de massa corpórea.

Entre crianças, a obesidade está sob estado de alerta, uma vez que nas últimas décadas a incidência de crianças obesas cresceu consideravelmente chegando a índices dramáticos. As causas da obesidade são diversificadas, sendo a má alimentação uma das principais e este fato tem levado os adolescentes a consumirem cada vez mais suplementos nutricionais.

BELL et al. (2004), verificaram que em uma população de 333 jovens canadenses com idades entre 13 e 19 anos, 42 % faziam uso de suplementos multivitamínicos e minerais, mesmo sem terem conhecimento dos reais efeitos destes produtos no organismo. A obtenção deste resultado evidencia o crescente consumo de suplementos entre jovens.

Fatos semelhantes foram também observados por KIM et al. (2001) na Coreia, quando estes pesquisadores, realizando um levantamento sobre o uso de suplementos nutricionais em 972 jovens, com idades entre 13 e 18 anos, verificaram que aproximadamente de 36% dos jovens faziam uso de suplementos, sendo que a maioria dos usuários eram estudantes do sexo feminino, moradores de comunidades rurais e principalmente os pertencentes às classes economicamente mais privilegiadas.

Segundo CHANDRA (2004), os idosos são os mais necessitados de reposição mineral e vitamínica, o que justifica o elevado consumo de produtos para reposição nutricional para indivíduos desta faixa etária. Com o avanço da idade há um declínio progressivo e inevitável na resposta do sistema imunológico retardando assim a cura de algumas doenças ou infecções. Esta demora na resposta do organismo pode estar associada às baixas concentrações de minerais traço no organismo o que pode também favorecer o desenvolvimento de doenças crônicas.

Além dos problemas ligados à nutrição, o desejo de melhorar desempenho atlético é um outro fator que colabora para a expansão do uso de suplementos nutricionais. Como por exemplo, aumento do número de academias na cidade de São Paulo, apresentando correlação com o aumento da oferta de diferentes tipos de suplementos no mercado. Estes levantamentos são importantes, pois podem fornecer informações úteis para se avaliar, futuramente, a segurança e eficiência do consumo de suplementos nutricionais, bem como para embasar a aplicação de programas de educação nutricional (PEREIRA et al., 2003).

Em países desenvolvidos, o consumo de suplementos nutricionais também é grande entre diferentes grupos da sociedade. NESHEIM (1998), relata em um levantamento realizado em 1998, que o uso de suplementos nutricionais nos Estados Unidos atinge mais de 50 % da população deste país.

Segundo MEGUID & SHENKIN, (2003) a reposição ou complementação de nutrientes essenciais para manter um organismo saudável pode levar a população a adotar o uso de suplementos nutricionais como um hábito comum, e isto proporciona prosperidade às indústrias com a comercialização destes produtos e consequentemente ocasiona o crescimento dos investimentos nesta área, resultante da ampliação de seus lucros.

Devido a esta expansão de consumo, os suplementos nutricionais tornaram-se foco de estudos em diferentes áreas da ciência, visando avaliar os seus reais efeitos no organismo humano, bem como avaliar seu mercado consumidor além de estudar a composição elementar destes produtos.

Segundo nota do Conselho Nacional Antidopagem de Portugal (CNAD, 2004), a entrada no mercado, destes suplementos nutricionais ainda não passa por nenhum tipo de controle, ao contrario do que acontece habitualmente com os medicamentos que são comercializados isto é não existe uma legislação que obrigue o controle destes suplementos nutricionais, de forma que a sua qualidade possa ser mantida.

Face ao exposto e na fase atual em que os órgãos governamentais do Ministério da Saúde e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estão investindo maiores esforços no sentido de controlar e fiscalizar todos os produtos relacionados ao consumo humano, torna-se de grande interesse o desenvolvimento de metodologias confiáveis para a análise de suplementos nutricionais, uma vez que muitos destes suplementos minerais oferecidos ao público podem não apresentar a composição indicada nos rótulos.

Desta maneira as determinações de elementos químicos nestes produtos tem sido de grande interesse não só para a população e médicos mas também para as indústrias no controle da produção.

1.2 Metodologias analíticas aplicadas à análise elementar de suplementos nutricionais

Com relação às metodologias analíticas utilizadas na análise de suplementos nutricionais, verifica-se nos trabalhos publicados que diversos métodos têm sido utilizados. Dentre estes trabalhos tem-se o de OSHTRAKH et al. (2003) que utilizaram a técnica de espectroscopia de Mossbauer para avaliar o percentual de ferro em diversos produtos comerciais de vitaminas e suplementos dietéticos e também obtiveram resultados satisfatórios para a aplicação desta técnica na análise ferro nas mais diversas formas.

ABARCA et al. (2001) validaram o método de espectrometria de absorção atômica para a determinação de magnésio em multivitaminas. Os resultados obtidos foram reprodutíveis com desvios padrão relativos variando entre 0,2 e 0,5 %. Os autores concluíram que a metodologia analítica utilizada é ideal para a determinação de Mg em produtos farmacêuticos de multivitaminas por ser um processo prático para análise de rotina em um grande número de amostras.

LOZAK & FIJALEK, (1998 a) usando os métodos de voltametria e espectrometria de absorção atômica compararam os resultados obtidos nas análises de Se em preparados farmacêuticos.

Num outro trabalho LOZAK & FIJALEK, (1998 b) analisaram comprimidos e produtos nutricionais terapêuticos usando espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente, voltametria e espectrometria de absorção atômica e seus resultados indicaram uma boa precisão e exatidão para a determinação de selênio sem a necessidade de solar este elemento da matriz.

ADEYEYE et al. (2000) analisaram a composição elementar de diferentes matrizes nutricionais consumidas pela população nigeriana, pelo método de espectrometria por absorção atômica. Ao analisarem 35 tipos de alimentos, entre eles suplementos nutricionais, concluíram que a maior parte destes alimentos continham grandes quantidades de zinco.

SAIKI & NARDI (2001) utilizaram o método de análise por ativação com nêutrons para determinar os constituintes inorgânicos em diversos suplementos nutricionais comerciais, e seus resultados foram concordantes com os valores declarados nas bulas. Estes autores também detectaram a presença de elementos tóxicos como As e Sb, porem em baixas concentrações.

SOLTYK et al. (2003) aplicaram as técnicas de espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e a de espectrometria por absorção atômica (AAS), para determinar diversos elementos em cápsulas de multiminerais, multivitamínicos e em substâncias farmacêuticas. A vantagem da aplicação desta técnica de ICP-MS neste estudo foi a possibilidade de uma análise simultânea de diversos elementos de concentrações variadas na amostra e com resultados apresentando desvios padrão relativos abaixo de 5,4 % .

HIGHT et al. (1993) utilizaram os métodos de voltametria extrativa anódica, espectroscopia de emissão atômica com fonte de plasma acoplado indutivamente, análise instrumental por ativação com nêutrons, análise por ativação pela medida de gama pronto e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, para analisar 42 suplementos nutricionais. Seus resultados mostraram que alguns dos suplementos apresentam

quantidades de Co, Cu, Mn, Pb, Fe e Zn acima dos níveis aceitos geralmente como seguros pelas organizações nutricionais nacionais e internacionais.

ZUCCHI et al. (2002) utilizando a técnica de espectrometria de fluorescência de raios X determinaram os elementos Fe, Ni, Cu e Zn em compostos farmacêuticos comerciais e verificaram que os valores de limites de detecção destes elementos por esta técnica variam de 13,03 a 22,57 $\mu\text{g. L}^{-1}$.

Conforme a revisão bibliográfica realizada sobre os métodos aplicados na determinação de constituintes inorgânicos em suplementos minerais, verifica-se que diversas técnicas tais como a espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente, de fluorescência de raios X, de absorção atômica, voltametria e análise por ativação com nêutrons têm sido utilizadas.

A análise por ativação com nêutrons a ser utilizada neste trabalho, é um dos métodos bastante viável na determinação de elementos presentes em suplementos minerais, por ser uma técnica multi - elementar.

1.3 Revisão bibliográfica sobre a utilização de suplementos nutricionais

Relativamente aos trabalhos sobre o uso de suplementos nutricionais destaca-se o trabalho de SLEEPER & KENNEDY (2003) que avaliaram o efeito da utilização de suplementos nutricionais no tratamento de hepatites agudas, e verificaram a possível relação existente entre o uso de suplementos e o desenvolvimento da hepatite aguda, revelando um efeito adverso do produto. Porém, estes pesquisadores relatam que a falta de informações sobre as suas formulações e processo de manufatura destes suplementos impossibilita a identificação dos componentes que poderiam estar associados a estes efeitos hepáticos.

MILLEN et al. (2004) que no período de 1987 a 2004 avaliaram a tendência do consumo de alguns suplementos minerais e vitamínicos, pela população de diferentes faixas etárias nos Estados Unidos e verificaram que o uso destes produtos tem aumentado em todas as idades, sendo este consumo mais elevado em indivíduos do sexo feminino com idades acima de 65 anos. Ao término deste período de estudo estes pesquisadores

evidenciaram a necessidade de uma avaliação contínua destes produtos na dieta dos consumidores para o conhecimento dos seus efeitos.

GROPPER et al.(2003) avaliaram o efeito da suplementação do elemento ferro em idosos normais e anêmicos com a finalidade de avaliar o efeito da suplementação deste mineral na concentração de peróxido de hidrogênio e na proteína carboníla no organismo dos seres vivos. Após este período de estudo os pesquisadores não evidenciaram nenhuma relação do ferro com os danos no plasma dos idosos.

COLLINS et al. (2004) avaliando o efeito do uso de suplementos nutricionais no tratamento de feridas e funções cognitivas em idosos observaram consideráveis melhoras com o uso de alimentações suplementadas. Sobre os possíveis efeitos adversos do uso de suplementos nutricionais, os autores salientam a necessidade de um período maior de estudo.

ROUSSEL et al. (2003) estudando sobre o efeito do Zn no tratamento de diabetes Mellitus verificaram o potencial efeito benéfico desta suplementação, devido ao fato de o Zn ser um agente antioxidante importante que age sobre o estresse oxidativo.

STEYER et al.(2003) verificaram a relação existente entre a redução da densidade do colesterol no sistema circulatório e o uso de suplementos nutricionais, bem como a importância destes produtos na prevenção e tratamento de doenças coronárias uma vez que a hipercolesteromia é um fator de risco no desenvolvimento de doenças cardíacas.

MAUGHAN et al. (2004) relatam que entre atletas indiferentemente do tipo de esporte praticado, o uso de complementos nutricionais é ainda maior. Com a finalidade de melhorar o seu rendimento nas competições muitos acabam fazendo uso de suplementos nutricionais, muitas vezes de modo inadequado. Além do freqüente consumo, a dosagem destes produtos tem sido com aumento gradativo ou desnecessário. Outro problema evidenciado é aquele de que em competições oficiais, os atletas podem ter o risco do doping uma vez que na maioria das vezes, os componentes presentes nestes suplementos são desconhecidos pelos atletas.

Por outro lado, sabe-se que em estudos realizados recentemente nos Estados Unidos, foi demonstrado que o uso controlado de multiminerais e multivitamínicos entre as americanas tem conduzido à redução de riscos a doenças cardíacas, câncer de colo, câncer de mama e alcoolismo. Os resultados obtidos nas avaliações da prevenção e controle de infecções foram bastante satisfatórios, com um percentual de redução de casos de aproximadamente 50% (JASTI et al., 2003).

CZEIZEL & PUHÓ, (2005) em uma avaliação realizada em uma população da Hungria, entre os anos 1980 e 1996 sobre os efeitos dos suplementos nutricionais contendo ácido fólico e ferro, verificaram que ambos os componentes possuem efeito preventivo contra a doença da síndrome de Down. Estes pesquisadores demonstraram que o ácido fólico e o ferro podem ter efeito preventivo desta doença durante o primeiro mês de gestação.

Segundo CHENG et al. (2001), inúmeros estudos mostram os efeitos benéficos do uso de suplementos nutricionais nas funções normais do organismo humano, principalmente pela sua ação antioxidante de evitar a formação de radicais livres. Os danos causados pelos radicais livres no organismo o torna suscetível às inúmeras doenças como diabetes, câncer e doenças cardiovasculares. Porém, estes pesquisadores alertam para a necessidade de se avaliar o efeito global da suplementação de multinutrientes nos sistemas de defesa dos antioxidantes.

Também a suplementação com multivitamínicos e multiminerais tem sido utilizada, como um meio de melhorar os efeitos de apetite e crescimento em crianças. DOSSA et al. (2002) estudaram estes efeitos em crianças com problemas de crescimento, utilizando o suplemento VITALIA porém estes pesquisadores não verificaram melhora em ambos problemas.

JAIN (2002) realizando um estudo em uma população de idosos com infecções respiratórias, verificaram que o uso de suplementos nutricionais contendo vitaminas e elementos traço provoca a redução do número de dias de uso de antibiótico em aproximadamente 50%. Este autor sugere a utilização de suplementos nutricionais para indivíduos acima de 50 anos de idade devido aos efeitos benéficos destes produtos.

CHANDRA (2001), efetuando exames cognitivos como o teste de memória entre idosos, verificou melhor desempenho entre idosos que faziam uso de suplementos nutricionais, o que faz sugerir o uso destes produtos para a melhoria da qualidade de vida.

HOENJET et al. (2004) salientam sobre os efeitos dos suplementos nutricionais de diferentes tipos, entre eles, o de selênio, para indivíduos portadores do câncer de próstata. O estudo realizado numa população de norte americanos e japoneses mostrou que a suplementação alimentar com selênio pode ser utilizado na prevenção deste câncer. Seus resultados mostraram uma redução no risco de avanço do câncer de 50 a 60 % e uma redução de 60% na incidência de contrair a doença.

Outro trabalho que demonstra um bom funcionamento do organismo humano após o uso de suplementos nutricionais é o de MACFIE et al. (2000) que avaliaram a aplicação destes produtos em pacientes hospitalizados na fase de recuperação cirúrgica. Foi verificado que o período de recuperação pós operatória para os pacientes que tinham a alimentação suplementada era menor que os demais e além disso estes pacientes estavam livres de complicações pós operatórias.

1.4 Considerações sobre a importância dos minerais à saúde humana

Os minerais são constituintes inorgânicos, amplamente distribuídos na natureza, e no organismo desempenham uma variedade de funções metabólicas que incluem sua ativação, regulação, transmissão e controle. Estes fatores tornam os suplementos minerais tão importantes quanto às vitaminas quando apresentam em quantidades adequadas, os macroelementos como cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio e em quantidades menores os microelementos, como por exemplo o ferro. Porém, BERGER (1995) salienta que os elementos que compõem os micro e macronutrientes devem ser consumidos em quantidades adequadas, para se evitar possíveis disfunções bioquímicas em situações patológicas.

Os minerais indispensáveis à nutrição são necessários em quantidades maiores que 100 mg/dia, são chamados de macronutrientes e são representados pelos elementos Ca,

P, K, S, Na, Cl e Mg. O organismo humano necessita destes macronutrientes em quantidades significativas para que ele possa desempenhar as suas funções com eficiência (LUKASKI, 2004).

Outros minerais, como o Fe, Zn, Mn, Cu e I, além daqueles dos quais se encontram apenas em quantidades traço no organismo são chamados de micronutrientes.

MUGGLI & HOFFMAM (1993) estudaram o papel dos micronutrientes antioxidantes na área da saúde e observaram a ação destes agentes em indivíduos portadores de doenças pulmonares (enfisema e câncer pulmonar), doenças cardíacas, doenças neurodegenerativas, arteriosclerose, entre outras.

A seguir são apresentadas as funções de alguns elementos químicos presentes no organismo humano. Dentre os macronutrientes tem-se

Cálcio

O Ca é um elemento essencial para a formação dos ossos e dentes em sua maior parte presente na forma de fosfato de cálcio. Este elemento está presente no organismo em grandes quantidades, superiores às de qualquer outro mineral (em torno de 1,5 a 2% do peso corporal). A ausência de Ca pode provocar perturbação na função condutora dos nervos e a contração muscular, além de provocar descalcificação óssea e fraturas freqüentes, cáries dentárias, atraso no crescimento, demora na coagulação sanguínea, nervosismo, irritabilidade, câibras e insônia. Entretanto, um potencial efeito adverso pode ocorrer quando o Ca é ingerido em altas concentrações. Isto é, ele pode reduzir a absorção de minerais traço como ferro, zinco e fósforo no organismo (LOBO & TRAMONTE, 2004).

Cloro

O elemento Cl é encontrado nos tecidos biológicos como íon cloreto, principalmente em combinação com o Na e K na forma de cloreto. O Cl constitui cerca de 3% do conteúdo total de minerais do corpo e participa, juntamente com o K e o Na, na

distribuição e equilíbrio normal da água, do equilíbrio osmótico e ácido- básico, bem como da conservação do tônus muscular normal. A carência do Cl provoca o desequilíbrio ácido-básico dos líquidos orgânicos, quando há, por exemplo, vômitos, diarreias ou sudorese intensa (BORSOI & VIGGIANO, 2003).

Fósforo

A pequena quantidade de P circulante no sangue (9 a 11mg por 100 ml) situa-se nos tecidos moles e tem uma importância vital para o metabolismo, auxiliando no controle cardíaco e na excitabilidade de músculos e nervos, além de participar da coagulação sangüínea e da manutenção do equilíbrio ácido-básico. O P está presente em todos os tecidos vivos sob a forma de fosfatos. Da totalidade deste elemento presente no organismo, 80% encontram-se nos ossos e nos dentes, sob a forma de fosfato de cálcio. Ao redor de 10% se encontram nos músculos e 1% no sistema nervoso. Este elemento além de contribuir na formação do esqueleto é constituinte essencial de todas as células. É também componente de vários sistemas enzimáticos, atuando no metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídeos. Sua carência altera o metabolismo celular (CARROL & SMIT, 1995).

Magnésio

O Mg é considerado um elemento coordenador e catalisador das vitaminas e minerais no organismo e participa em mais 300 ações catalisadoras vitais. McLEAN (1994) apresenta uma revisão sobre o uso amplo do Mg e do seu importante papel no tratamento de arritmia cardíaca. A falta deste elemento no organismo reduz a quantidade de Ca e K bem como causa apatia, náuseas, anorexia, distúrbios neuromusculares, retarda o crescimento e favorece a formação de cálculos renais.

Potássio

O K é um elemento essencial para manutenção do equilíbrio ácido-básico do organismo, bem como da pressão osmótica e da irritabilidade dos nervos e músculos. Este

elemento se encontra no organismo em quantidade considerável (cerca de 5% do conteúdo total de minerais do corpo), principalmente no líquido do interior das células. O K é responsável pela manutenção do equilíbrio normal da água no organismo. Não é conhecida a deficiência de K em indivíduos saudáveis, entretanto, certos medicamentos, como os diuréticos e os hormônios do córtex supra-renal, podem acarretar perda desse elemento do organismo (BORSOI & VIGGIANO, 2003).

Sódio

O Na participa juntamente com o Cl e o K, na distribuição e equilíbrio normais da água, do equilíbrio osmótico e ácido-básico e na conservação do tônus muscular normal este elemento constitui aproximadamente 2% da totalidade de minerais presentes no organismo. Raramente são encontrados sinais de deficiência de Na em indivíduos normais, no entanto, as perdas através da pele aumentam significativamente quando há transpiração abundante pelo esforço físico em ambiente quente.

Micronutrientes

Cobalto

O Co é um elemento constituinte da cianocobalamina (vitamina B12), sendo essencial para a função normal de todas as células, particularmente às da medula óssea, sistema nervoso e gastrointestinal. A falta deste pode causar a anemia macrocítica ou perniciosa no entanto o excesso pode causar entre outras patologias a superprodução de eritrócitos, hiperplasia da medula óssea, reticulocitose e aumento do volume sanguíneo (BORSOI & VIGGIANO, 2003).

Crômio

Trata-se de um mineral estimulante da produção de insulina, tendo seu uso na suplementação alimentar de indivíduos diabéticos e praticantes de esportes que exigem maior queima de glicose. HAAS et al. (2003) avaliando o comportamento dos

micronutrientes no organismo verificaram que em quantidades adequadas a suplementação com crômio melhora a sensibilidade do organismo a insulina que auxilia no controle da doença diabetes. A carência de Cr está associada ao desenvolvimento de hiperglicemia (aumento do nível de glicose no sangue), distúrbios de crescimento, opacidade da córnea e aumento do colesterol.

Cobre

O elemento Cu é um elemenmicronutriente essencial no sistema imunológico dos seres humanos e de animais. Controla a atividade enzimática que estimula a formação dos tecidos conjuntivos, dos pigmentos que protegem a pele além deste elemento contribuir para a produção de hemoglobina (SCHMIDT, 1996).

Muitos estudos abordam sobre os efeitos danosos causados pela deficiência do Cu no sistema de proteção do corpo. A deficiência do Cu reduz a atividade do linfócito T e com esta deficiência o organismo pode facilmente ser contaminado com maior facilidade por microorganismos (RHEE et al., 2004). Sua deficiência também causa: anemia, osteoporose, transtornos neurológicos, alteração na síntese de colágeno e elastina e prejuízo ao sistema cardiovascular e pulmonar.

Ferro

O Fe é um elemento que desempenha uma série de funções, mas a principal delas é a de transportar o oxigênio e cedê-lo aos tecidos. Este elemento fixa o oxigênio e permite que o sangue venoso (sem oxigênio) se transforme em sangue arterial (rico em oxigênio), que transporta o oxigênio dos pulmões para todas as partes do organismo. O organismo poupa o Fe, depositando-o no fígado e no baço, e o usa quando precisa de mais glóbulos vermelhos. A falta ou deficiência do Fe impede a formação de um número suficiente de glóbulos vermelhos, levando à anemia de origem nutricional, chamada ferropriva. Na infância a deficiência de Fe pode causar tanto problemas no

desenvolvimento do sistema nervoso quanto no sistema locomotor (DIJKHUIZEN et al., 2001).

Selênio

Este elemento protege as células dos danos causados por substâncias oxidantes no sangue, reduz o risco a alguns tipos de câncer, mantém a elasticidade dos tecidos e potencializa o efeito da vitamina E (KAUTIAINEN et al., 2000). O Se está presente em quase todas as células, sendo mais abundante, principalmente nos rins, fígado, baço, pâncreas e testículos. Recentemente o micronutriente Se tem recebido muita atenção devido ao seu papel na prevenção de câncer. Um estudo conduzindo em duas universidades norte-americanas demonstrou que 200 µg de Se ingeridos diariamente resultam em 63% menos tumores da próstata e 58% menos cânceres colorretais, 46% menos processos malignos do pulmão e 39% menos mortes gerais por câncer.

O Se tem indicado ser um elemento promissor na prevenção do desenvolvimento do câncer de ovário, colo do útero, reto, bexiga, esôfago, pâncreas e fígado, bem como contra leucemia. Os estudos realizados em pacientes com câncer têm mostrado que os indivíduos com níveis de Se mais baixos no sangue desenvolveram mais tumores, apresentaram uma taxa maior de ocorrência da doença, risco mais elevado de disseminação do câncer e taxa global de sobrevivência menor do que aqueles com níveis elevados deste elemento (JANGHORBANI et al., 1999). O Se também protege contra o desenvolvimento de cataratas e degeneração macular, combate infecções virais, reduz a gravidade do herpes simples e herpes-zóster e ajuda a aliviar os sintomas do lúpus.

Zinco

O Zn é um elemento de grande importância nutricional, necessário no processo de reprodução celular sendo também responsável no desenvolvimento do sistema imunológico. Auxilia na cicatrização, conservação da pele e cabelo, permite o desenvolvimento da função sexual, ocorre normalmente em algumas enzimas e controla as suas atividades. Sabe-se que o Zn faz parte da estrutura de mais de 300 enzimas além de

atuar como catalisador, regulador e também como íon formador da estrutura das membranas biológicas relacionadas com a síntese protéica. Sua deficiência pode ocasionar alterações na próstata e senilidade (SANDHAYA & SUBRAMANIAN, 1998). Em crianças a ausência deste elemento pode causar o desenvolvimento de doenças de diferentes ordens sendo que algumas podem ser crônicas, além de também causar baixa resistência a infecções, afetar no crescimento podendo também causar a morte precoce (SALGUEIRO et al., 2002).

1.5 Os elementos químicos como agentes antioxidantes

Os suplementos nutricionais ou minerais são utilizados para complementar a dieta diária de um indivíduo e agem também como agentes antioxidante para deter os efeitos deletérios dos radicais livres.

Na química os radicais livres são definidos como átomos, íons ou moléculas com número ímpar de elétrons na sua camada de valência ou seja são espécies reativas que apresentam um elétron não pareado no orbital mais externo.

Apesar de várias moléculas se encaixarem no conceito químico de radical livre, as espécies reativas tóxicas do oxigênio são as principais relacionadas com os mecanismos de doenças.

Os principais radicais livres derivados de oxigênio são:

- Superóxido (O_2^-);
- Grupo hidroxil ($OH^\bullet$);
- Peróxido de hidrogênio (H_2O_2);
- Óxido nítrico ($NO^\bullet$).

A presença destes radicais livres no organismo pode levar à inativação ou destruição das enzimas, as perturbações funcionais das membranas celulares e alterações nas cadeias dos ácidos nucleicos. Estes fenômenos provocam um grande número de patologias em vários sistemas do organismo (respiratório, cardíaco, gástrico, cerebral, ocular entre outros) e também têm sido relacionados a neoplasia, processos reumáticos e

As pesquisas sobre radicais livres e as suas possíveis correlações com as doenças humanas se iniciaram na década de 50 e hoje os radicais livres em excesso no organismo são reconhecidos como degenerativos (HALLIWELL & GUTTERRIDGE, 1989).

Segundo CHEN et al. (2002) os radicais livres podem ter um papel importante no desenvolvimento de doenças como de coração, hipertensão, cerebrovascular, diabetes entre outras.

O organismo entretanto é capaz de desativar os radicais livres antes que eles exerçam seus efeitos danosos utilizando enzimas antioxidante. Os minerais fazem parte dessas enzimas e portanto a deficiência de certos elementos pode ocasionar a redução dos níveis destas enzimas, prejudicando a antioxição. Os antioxidantes nutricionais denominados de varredores de radicais livres (*free radical scavengers*) agem por meio de diferentes mecanismos nos diferentes compartimentos, a saber: (1) eles neutralizam diretamente os radicais livres; (2) eles reduzem as concentrações de peróxidos e reparam membranas oxidadas; (3) eles formam quelantes com o Fe para reduzir as espécies reativas de oxigênio.

Portanto no combate aos radicais livres não só a ingestão das vitaminas antioxidantes E, A, e C são importantes mas também a de minerais como Cu, Zn, Mn, e Se.

Desta maneira para se evitar o problema da formação de excesso de radicais livres, o uso de vitaminas e minerais começaram a ser prescritas por médicos da área ortomolecular após a avaliação clínica dos pacientes.

1.6 Objetivo

O objetivo da presente pesquisa foi aplicar o método de ativação com nêutrons (NAA) na determinação da composição elementar de suplementos nutricionais ou minerais para posterior comparação dos conteúdos dos elementos presentes com os valores declarados nos seus rótulos.

Para atingir este objetivo, inicialmente foi realizada a validação do método da análise por ativação com nêutrons (NAA) com relação a exatidão e precisão. Para isso foram realizadas as análises dos materiais certificados de referência.

Foram estabelecidos procedimentos para a preparação das amostras de suplementos para a análise bem como as condições para a NAA. Os procedimentos estabelecidos foram aplicados na análise de amostras de suplementos nutricionais de origem nacional e internacional adquiridos na cidade de São Paulo. Os elementos determinados nestes suplementos foram Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Na, Se, e Zn e uma vez obtidas as massas de cada elemento presente por comprimido ou cápsula de suplemento se realizou a comparação entre estes valores e os declarados nos rótulos.

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

2.1 Princípio do método de análise por ativação

Todos os materiais e produtos conhecidos pelo homem são obtidos de elementos químicos que são as pedras fundamentais de sua construção. O conhecimento dos conteúdos destes elementos são importantes no desenvolvimento de novas composições e também no desenvolvimento científico e tecnológico de todo um país nas mais diversificadas áreas. A determinação de elementos é necessária para ampliar os conhecimentos nos campos de desenvolvimento de novas tecnologias, no campo de estudo da nutrição, efeitos tóxicos, meio ambiente e muitos outros (AGUIAR, 2001).

Atualmente, um número diversificado de técnicas e equipamentos analíticos são disponibilizados para a execução da determinação de elementos presentes nos mais diferentes tipos de materiais, sendo a ativação com nêutrons (NAA) uma destas técnicas amplamente aplicadas na área de pesquisas, devido às suas inúmeras vantagens (BODE & VAN MEERTEN, 1999)

A análise por ativação com nêutrons foi introduzida por G. Hervesy e H. Levy em 1936. Estes pesquisadores conseguiram determinar elementos da família dos lantanídeos usando nêutrons provindos de uma fonte de nêutrons composta por rádio e berílio. A partir desta descoberta estes pesquisadores reconheceram o potencial do emprego de reações nucleares, seguida da medida da radioatividade induzida para determinação qualitativamente e quantitativamente os elementos presentes numa amostra (GLASCOCK, 1999). Esta técnica, no entanto, não foi muito utilizada até aos meados dos anos 50, quando se iniciou o desenvolvimento da tecnologia dos reatores nucleares de pesquisa, possibilitando as irradiações com altos fluxos de nêutrons.

Apesar da existência de várias maneiras de se obter um feixe de nêutrons tais como: aceleradores de partículas e fontes de radioisótopos, os reatores nucleares são considerados os mais adequados.

Embora estas fontes e geradores de nêutrons apresentem algumas vantagens, tais como, a de custo mais baixo, facilidade de transporte e possibilidade de desligamento quando em desuso, as suas aplicações principais se resumem à uma área mas restrita de amostras, tais como, por exemplo, na verificação de trincas em certos materiais e ou em análises industriais nas quais apenas a determinação dos elementos presentes em altas concentrações são requeridas.

O uso de reatores nucleares na análise por ativação se tornou a fonte de nêutrons mais utilizada para pesquisas por apresentarem algumas características bastante favoráveis, a saber:

- As secções de choque dos elementos para nêutrons são geralmente altas e as taxas de fluência de nêutrons dos reatores também são altas, permitindo a detecção de um grande número de elementos;
- Os nêutrons possuem um grande poder de penetração em um grande número de materiais e são produzidos em fluxos relativamente homogêneos, sendo assim, mesmos as análises de substâncias volumosas podem ser realizadas com êxito;
- A produção de calor devido às interações sofridas pela amostra é pequena;
- As irradiações podem ser realizadas como uma atividade paralela às principais atividades desenvolvidas em um reator nuclear de pesquisa.

Os nêutrons de reatores se distribuem em uma faixa ampla de energia e podem ser divididos em nêutrons térmicos com energia mais provável 0,025 eV, nêutrons epitérmicos com energias de 0,1 eV a 1,0 eV e nêutrons rápidos com energias maiores que 0,5 eV. Os nêutrons térmicos estão em equilíbrio com os átomos do moderador do reator e apresentam velocidade mais provável de 2200 ms^{-1} na maioria das posições de irradiação dos reatores, sendo que uma faixa de 90-95% dos nêutrons que interagem com as amostras

são térmicos e este fato representa a fonte de partículas ativadoras mais difundida na NAA (EHMANN & VANCE, 1981).

A NAA com nêutrons térmicos é mais amplamente utilizada, devida ao alto fluxo de nêutrons térmicos fornecidos pelos reatores nucleares e altas secções de choque para nêutrons térmicos exibidas por muitos nuclídeos estáveis (ALFASSI, 1990).

A NAA baseia – se na interação de um dado material com nêutrons, seguida da medição da radioatividade induzida. Em geral, a irradiação é realizada com nêutrons térmicos gerados em um reator nuclear e a radioatividade de cada radionuclídeo gerado é medida em um espectrômetro de raios gama. Trata-se de uma técnica analítica sensível possibilitando a obtenção de resultados analíticos com boa precisão e exatidão, sendo portanto, útil para análises multielementares quali e quantitativas em uma ampla faixa de concentrações e em amostras de interesse nos mais variados campos de aplicação (GREENBERG et al., 1984).

A NAA é um método analítico que se diferencia da maior parte dos métodos analíticos usuais, uma vez que ele se baseia em reações que ocorrem com núcleos atômicos e não com elétrons orbitais (BODE, 1996).

Uma reação nuclear do tipo (n, γ) produz o radionuclídeo de interesse para a realização de uma análise, e isto ocorre quando um feixe de partículas ativadoras (nêutrons) interage com o núcleo alvo (amostra), por meio de colisão inelástica, originando um núcleo composto de alta energia de excitação. A probabilidade de ocorrer a interação é medida pela secção de choque (σ). O núcleo composto formado pode perder sua energia por vários processos de desintegração que duram da ordem de 10^{-16} a 10^{-14} s, passando para uma configuração mais estável, por meio da emissão raios gama “prontos” e transformando-se em um núcleo radioativo. Esse núcleo radioativo emite raios gama e partículas betas, com uma meia vida característica, formando um núcleo estável. O núcleo radioativo emite raios gama de energias e meia vida características, podendo as meia vidas variar desde frações de segundos a milhares de anos.

Desta forma a NAA pode ser de duas categorias: análise por ativação com nêutrons de raios gama “prontos” (PGNAA), na qual a medição se dá durante a irradiação; e análise por ativação com nêutrons de raios gama “de decaimento”. Este último modelo é o mais comum e em geral, o termo NAA é empregado para este tipo de análise que é o utilizado neste trabalho. A PGNAA é menos sensível que a NAA e tem aplicação para elementos de elevada seção de choque para captura de nêutrons, elementos que decaem muito rapidamente para serem medidos por NAA e elementos que produzem apenas isótopos estáveis ou para elementos com intensidades de decaimento de raios gama fracas.

A Figura 2.1 ilustra a seqüência de eventos que ocorrem na interação de nêutrons com o núcleo alvo.

FIGURA 2.1. Esquema da seqüência de eventos da reação nuclear do tipo (n, γ) (IAEA,1990).

A formação de um núcleo radioativo pode ser representada pela seguinte reação nuclear:

onde Z é o número atômico do elemento, A é o número de massa e X é o elemento químico.

As medições das energias dos raios gama emitidos e meias vidas características, constituem as bases para a identificação dos radioisótopos formados e determinação dos elementos. A concentração do elemento na amostra é considerada diretamente proporcional à intensidade da radiação gama emitida.

A sensibilidade da análise por ativação depende fundamentalmente do fluxo de nêutrons a que a amostra é submetida, da abundância isotópica do núcleo alvo e da secção de choque, que representa a probabilidade de um nêutron interagir com o núcleo do elemento de interesse. Quanto mais altos forem os valores destes parâmetros, maior será a atividade do radioisótopo produzido. Outros parâmetros, como a meia vida do nuclídeo formado, as energias e o tipo das radiações emitidas por esses nuclídeos também afetam na sensibilidade do método.

A determinação qualitativa e quantitativa dos elementos é feita pela medição das energias dos raios gama dos radionuclídeos formados usando detectores de alta resolução, constituídos por cristais de Ge hiperpuro, acoplados a analisadores multicanais e eletrônica associada.

Os impulsos gerados na interação da radiação incidente com o cristal do detector de Ge são amplificados e coletados na memória de analisadores de altura de pulso, na forma de espectros de raios gama. Estes espectros são analisados usando programas de computação apropriados, que localizam os picos de raios gama, determinam as energias e as áreas sob os picos.

A relação entre a radiação emitida e aquela realmente detectada depende de algumas características dos instrumentos disponíveis para a realização das medições. Essas características se referem à eficiência do detector, ao arranjo geométrico para as medições ou contagens, dos efeitos de espalhamento e da absorção da radiação.

2.2 Cálculo da concentração de elemento pelo método absoluto

Quando uma amostra é irradiada sob um fluxo de nêutrons, a atividade induzida, em termos de taxas de contagem que pode ser medida num detector, é expressa pela equação geral da análise por ativação dada por (DE SOETE *et al.*, 1972):

$$A = \frac{z \phi \sigma N_{av} m f \left(1 - e^{\frac{-0,693 t_i}{t_{1/2}}} \right)}{M} \quad (2.2)$$

onde:

A = atividade medida (taxa de contagens), em contagens por segundo (cps);

z = eficiência do detector;

σ = secção de choque de ativação isotópica (cm^2);

ϕ = fluxo de nêutrons ($\text{n cm}^{-2} \text{s}^{-1}$);

N_{av} = número de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$);

m = massa do elemento irradiado;

f = abundância isotópica do nuclídeo alvo;

M = massa atômica do elemento irradiado;

t_i = tempo de irradiação;

$t_{1/2}$ = meia vida do radionuclídeo medido.

A massa do elemento em uma amostra pode ser calculada pela equação (2.2), aplicando-se o método de NAA absoluto, desde que todos os parâmetros (secção de choque, fluxo de nêutrons, tempo de irradiação, meia vida do radioisótopo formado) sejam conhecidos com uma boa exatidão. No entanto, os resultados analíticos obtidos podem apresentar erros de até 30% devido à dificuldade de obter valores exatos destes parâmetros e além da determinação da eficiência do sistema de detecção pode ser difícil e demorada. Como consequência, a NAA absoluta torna-se muitas vezes um método não muito

adequado para a determinação de elementos presentes nas amostras quando ocorrem por exemplo a variação de fluxo de nêutrons com o tempo.

Desta maneira emprega-se, freqüentemente, o método de análise comparativa, geralmente considerado como um método mais exato para quantificar as concentrações dos elementos numa amostra.

2.2.1 Cálculo da concentração de elemento pelo método comparativo

Neste método, uma quantidade conhecida do elemento que se quer determinar (padrão) é irradiada juntamente com a amostra, durante o mesmo tempo e sob o mesmo fluxo de nêutrons. Após a irradiação, amostras e padrões são medidos sob condições geométricas idênticas usando o mesmo sistema para espectrometria gama. O método comparativo elimina problemas das medidas dos parâmetros nucleares, como da eficiência do sistema de medição, e a equação para o cálculo da concentração pode ser feito por meio de uma relação mais simplificada (BODE, 1996).

Quando a amostra e o padrão do elemento a ser determinado são irradiados sob o mesmo fluxo de nêutrons e medidos numa mesma geometria, pode-se comparar as atividades induzidas na amostra e no padrão, de forma a determinar a concentração do elemento na amostra, uma vez que a radioatividade gama emitida por um radioisótopo é uma função de seu número de átomos alvo.

Escrevendo a relação (2.2), para um elemento da amostra e do padrão irradiados nas mesmas condições, tem-se para o tempo de decaimento $t = 0$ as relações:

$$A_a^0 = \frac{z \phi \sigma N_{av} m_a \left(1 - e^{\frac{-0,693 t_i}{t_{1/2}}} \right)}{M} \quad (2.3)$$

$$A_p^0 = \frac{z \phi \sigma N_{av} m_p \left(1 - e^{\frac{-0,693 t_i}{t_{1/2}}} \right)}{M} \quad (2.4)$$

onde os índices a e p referem-se aos dados da amostra e padrão respectivamente e A^0 se refere a atividade para um tempo de decaimento $t = 0$.

Dividindo membro a membro as relações (2.3) e (2.4) tem-se:

$$\frac{A_a^0}{A_p^0} = \frac{m_a}{m_p} \quad \text{ou} \quad m_a = \frac{A_a^0 m_p}{A_p^0} \quad (2.5)$$

Como na prática a amostra e padrão são medidos em diferentes tempos de decaimento uma vez que não há possibilidades de medi-los simultaneamente, em um mesmo equipamento, faz-se a correção das taxas de contagens para o mesmo tempo de decaimento, aplicando a relação da lei de decaimento radioativo (KELLER, 1988):

$$A = A_0 e^{-\lambda t} \quad (2.6)$$

onde:

A_0 é a taxa de contagem para o tempo de decaimento $t = 0$,

A é a atividade em termos de taxas de contagens para tempo de decaimento t ,

λ é a constante de decaimento do radionuclídeo; ($\lambda = 0,693/t_{1/2}$).

Escrevendo a relação (2.6) para o caso da amostra e padrão e substituindo na relação (2.5) tem-se a seguinte relação:

$$m_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_p} \quad (2.7)$$

onde t_a e t_p são tempo de decaimento da amostra e padrão, respectivamente;

A_a é a taxa de contagens da amostra para tempo de decaimento t_a ;

A_p é a taxa de contagens do padrão para tempo de decaimento t_p .

Chamando de C_a a concentração do elemento na amostra, tem-se a seguinte relação:

$$C_a = \frac{m_a}{M_a} \quad (2.8)$$

onde M_a é a massa total da amostra e m_a a massa do elemento na amostra.

Portanto, substituindo m_a da equação (2.8) na relação (2.7) tem-se a fórmula para cálculo da concentração do elemento na amostra dada por:

$$C_a = \frac{A_a \cdot m_p \cdot e^{\frac{0,693(t_a - t_p)}{t_{1/2}}}}{A_p \cdot M_a} \quad (2.9)$$

onde:

C_a = concentração do elemento na amostra;

m_p = massa do elemento no padrão;

t_a = tempo de decaimento da amostra;

t_p = tempo de decaimento do padrão;

A_a = taxa de contagens do radioisótopo para o tempo de decaimento t_a ;

A_p = taxa de contagens do radioisótopo para o tempo de decaimento t_p

A equação 2.9 é utilizada para o cálculo da concentração do elemento na amostra pelo método comparativo de NAA.

2.3 Aplicações da análise por ativação neutrônica (NAA)

Dentre as inúmeras aplicações da NAA destaca-se seu uso na certificação dos materiais de referência devido à qualidade dos resultados gerados no uso desta técnica. Na certificação de materiais de referência a NAA é muito aplicada pois trata-se de um método que pode ser utilizado tanto na certificação das concentrações dos elementos quanto na quantificação do grau de homogeneidade do material candidato a certificação. Isto é, pode ser usada na determinação da massa mínima necessária do material de referência para que os resultados de medição sejam reprodutíveis, levando-se em consideração as características de precisão da técnica empregada na análise do grau de homogeneidade (MOREIRA, 2002).

A NAA vem sendo aplicada nas análises de uma ampla variedade de matrizes de interesse nas áreas de meio ambiente, saúde, arqueologia, ciências forenses, de produtos industriais tais como ligas, catalisadores, cerâmicas e refratários, produtos eletrônicos, materiais de alta pureza, semicondutores e polímeros.

Além disso, a NAA possui características únicas que a situam como técnica de referência para outros métodos analíticos. Esta técnica apresenta alta especificidade, devido a sua detecção basear-se nas características individuais dos radionuclídeos formados possui sensibilidade para aplicação na análise de elementos menores e traço em diferentes tipos de matrizes fornecendo resultados comparáveis à aqueles obtidos por técnicas de espectrometria de absorção atômica, de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente e de fluorescência de raios X.

A utilização da técnica NAA como método de referência para validação de outras técnicas analíticas é considerada como método primário em alguns casos (GREENBERG et al. 2000).

2.4 Vantagens do método de análise por ativação neutrônica

Uma das principais vantagens do método instrumental de NAA é a possibilidade de utilizar massas pequenas de amostras, em geral entre 50 e 200 mg. O fato de não ser uma técnica destrutiva, não requerer uso de reagentes químicos para a dissolução das amostras analisadas e além disso apresenta alta especificidade uma vez que a identificação dos elementos baseia-se nas características individuais dos radionuclídeos formados na irradiação.

Os resultados analíticos da NAA apresentam alta exatidão e precisão bem como a técnica é de alta sensibilidade. A sensibilidade da NAA é alta para muitos elementos o que permite também a determinação de grande número de elementos. Por ser um método baseado nas propriedades nucleares dos elementos contidos nas amostras, os resultados independem da forma química do elemento.

2.5 Desvantagens do método de análise por ativação neutrônica

Como qualquer outra técnica analítica, existem desvantagens na aplicação NAA. A necessidade de uma fonte intensa de nêutrons limita a aplicação da técnica basicamente nas instituições que possuam acesso aos serviços de irradiação em reatores. Outra desvantagem é o tempo requerido para conclusão de uma análise. Este problema ocorre devido ao fato de que certos radionuclídeos interferentes apresentam tempos de meias vidas relativamente longos. Em muitos casos torna-se conveniente esperar que os radionuclídeos de meia vida curta decaiam antes da análise dos de meia vidas longas, evitando-se assim o problema de interferências espectrais. Trata-se de um método analítico caro uma vez que necessita de um reator nuclear. Há ainda a necessidade do analista manipular amostras radioativas, embora em baixas doses e isto requer monitoração por técnicos especializados, e também ocorre geração de lixo radioativo. Devido ao fato desta técnica basear-se em reações que ocorrem com núcleos atômicos, o método permite a quantificação dos elementos presentes numa dada amostra, porém não permite obter informações sobre a forma química em que eles se encontram na amostra. Contudo, estas dificuldades são superadas frente às inúmeras vantagens que o método apresenta.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo será apresentado o procedimento experimental utilizado para a determinação dos constituintes inorgânicos em amostras de suplementos nutricionais. Na primeira parte serão apresentadas as informações sobre os materiais analisados e em seguida os procedimentos experimentais de análise, e sobre a determinação de limite de detecção dos elementos.

3.1 Amostras de suplementos nutricionais

Neste trabalho foram estudadas 11 marcas diferentes de suplementos nutricionais nacionais e importados adquiridos em lojas de produtos naturais e em farmácias. A aquisição destes suplementos foi feita de forma aleatória, ou seja, sem levar em consideração a marca ou tipo de suplemento. Estes suplementos se encontravam nas formas de cápsulas ou de comprimidos como são ilustrados na Figura 3.1. Na Tabela 3.1 é apresentada a relação dos suplementos adquiridos para o desenvolvimento deste trabalho. Nesta Tabela são apresentados também, os códigos dados às amostras e uma breve descrição dos produtos em vez de fornecer o nome comercial do produto bem como do seu fornecedor.

Tabela 3.1. Amostras de suplementos nutricionais.

Código da amostra	Descrição do Suplemento
All	Multi-mineral contendo Ca, Cu, Fe e K
Cal	Multi-mineral a base de Ca, contendo Cu, Mg, Si e Zn
Caa	Suplemento nutricional a base de Ca
Cen	Polivitamínico e polimineral contendo Ca, Cu e Zn
MM	Multi-mineral contendo Ca, Cu, I, Mn, Se e Zn
Se	Suplemento nutricional de Se
Os	Polivitamínico e polimineral contendo Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn
Su	Polivitamínico e polimineral contendo Ca, Cr, Cu, Fe Mg, Mn, P e Zn
Up	Multi-mineral contendo Ca, K, Mg, e Na
Zh	Suplemento nutricional de Zn
Zl	Suplemento nutricional de Zn

FIGURA 3.1 – Foto das amostras de suplementos nutricionais.

3.1.1 Preparação das amostras de suplementos

Inicialmente foi obtida a massa média de cada comprimido ou do conteúdo de cada cápsula do suplemento. Para isso 6 amostras de comprimidos ou do conteúdo das cápsulas foram pesadas, individualmente, usando uma balança analítica da marca METTLER modelo H-16 com a precisão de $\pm 0,05$ mg. Para análise, estas amostras foram moídas manualmente, em um almofariz de ágata previamente lavado com ácido nítrico p.a. diluído e água purificada da marca MilliQ com a finalidade de se obter a amostra na forma de pó homogêneo. Estas amostras após a moagem foram colocadas em frascos de polietileno. Na Figura 3.2 estão a foto dos suplementos moídos nos frascos. Para evitar a absorção de umidade pelas amostras após o tratamento as amostras foram guardadas em um dessecador.

FIGURA 3.2 – Foto das amostras acondicionadas em frascos de polietileno após a moagem.

3.1.2 Determinações das percentagens de umidade das amostras de suplementos

Como as amostras durante o período de análise poderiam absorver umidade, mesmo mantidas em dessecador, foi feita a determinação do percentual de umidade de cada uma das amostras. Para determinar a percentagem de umidade, massas entre 200 e

250 mg de cada amostra na forma de pó foram pesados em pesafiltros e submetidos à secagem em uma estufa a 85°C por um período total de cerca de 24 horas quando se obteve uma massa constante. Na Tabela 3.2 são apresentados os valores das massas médias de cada comprimido ou do conteúdo de cada cápsula na base seca e úmida assim como os resultados de porcentagens de perda de massa obtidos nas secagens.

Tabela 3.2. Massa média de cada comprimido ou do conteúdo da cápsula, em g e os resultados das porcentagens de perda de massa na secagem.

Código da amostra	M $\pm$ DP (base úmida)	Perda de massa, %	M $\pm$ DP (base seca)
All	1,46 $\pm$ 0,02	1,50	1,43 $\pm$ 0,02
Cal	0,91 $\pm$ 0,02	7,85	0,84 $\pm$ 0,02
Caa	1,77 $\pm$ 0,11	1,33	175 $\pm$ 0,11
Cen	1,43 $\pm$ 0,01	2,00	1,40 $\pm$ 0,01
MM	1,04 $\pm$ 0,05	2,90	1,01 $\pm$ 0,05
Se	1,71 $\pm$ 0,03	3,25	1,65 $\pm$ 0,03
Os	0,619 $\pm$ 0,004	2,50	0,603 $\pm$ 0,004
Su	4,59 $\pm$ 0,03	4,77	4,37 $\pm$ 0,03
Up	1,87 $\pm$ 0,01	2,40	1,82 $\pm$ 0,01
Zh	0,44 $\pm$ 0,01	6,30	0,41 $\pm$ 0,02
Zl	1,49 $\pm$ 0,08	1,91	1,46 $\pm$ 0,08

M $\pm$ DP = massa média e desvio padrão de cada comprimido ou cápsula.

3.2 Materiais certificados de referência

Para avaliar a qualidade dos resultados obtidos com relação à exatidão e precisão, foram analisados os seguintes materiais certificados de referência NIST 1400 Bone Ash e o NIST 1633b Coal Fly Ash, ambos procedentes do *National Institute of*

Standards and Technology (NIST). Estes dois materiais certificados foram, escolhidos devido a similaridade dos elementos certificados neles com os que compõe as amostras estudadas neste trabalho. Não há ainda um material certificado de referência específico para uso no estudo da análise de suplementos nutricionais.

Para expressar os resultados das análises destes materiais na base seca foram determinadas às porcentagens de perda de peso na secagem. No caso do material de referência NIST 1400 Bone Ash a porcentagem de perda de peso foi determinada, fazendo-se a secagem de cerca de 200 mg do material a 105 °C, até se obter peso constante conforme recomendado no certificado de referência do material. A porcentagem de perda de peso obtida foi de 0,53 % e este valor foi utilizado no cálculo das concentrações dos elementos na base seca do material. No caso do material de referência NIST 1633b Coal Fly Ash, o certificado recomenda a determinação de sua porcentagem de perda de massa por meio da secagem de aproximadamente 200 mg à 85°C e para este material foi obtido um percentual de perda de 0,08%.

3.3 Preparação de padrões sintéticos dos elementos

Como no presente trabalho será aplicado o método comparativo de análise por ativação com nêutrons, foram preparados padrões sintéticos dos elementos, os quais foram irradiados junto com as amostras .

As soluções padrão de elementos certificadas utilizadas foram adquiridas da Spex Certiprep, USA. A partir destas soluções foram preparadas soluções mistas ou simples de elementos. Os padrões sintéticos foram preparados pipetando-se alíquotas entre 50 e 100 µL das soluções padrão simples ou multielementares, sobre tiras de papel de filtro Whatman nº 41 de dimensões 1,5 cm x 3,5 cm. O pipetador utilizado foi da marca Eppendorf e previamente foi realizada a verificação quanto a sua calibração. Estas tiras de papel de filtro foram colocadas, para secagem das soluções pipetadas, em um dessecador, à temperatura ambiente por um período de cerca de 48 horas. Após a secagem, estas tiras foram dobradas, com o auxílio de pinças de aço inoxidável e colocadas em invólucros de polietileno, de dimensões 1,0 cm x 2,0 cm aproximadamente. Estes invólucros foram

confeccionados utilizando folhas de polietileno transparente e incolor, as quais foram previamente lavadas com solução diluída de ácido nítrico e água purificada MilliQ. Na confecção dos invólucros foi utilizada uma seladora elétrica para plástico. O invólucro contendo o padrão foi vedado com o uso de um ferro elétrico para solda. Neste procedimento de confecção destes invólucros foram usadas folhas de celofane entre a folha de polietileno e a seladora ou ferro para solda, com a finalidade de evitar a contaminação do invólucro.

Os padrões dos elementos utilizados neste trabalho estão relacionados na Tabela 3.3 juntamente com as massas de cada um dos elementos.

Tabela 3.3. Massas dos elementos nos padrões sintéticos.

Código do padrão	Elemento	Massa em μg
As	As	50,0
Ca	Ca	501,70
Ca5	Ca	1000,2
Cu	Cu	50,025
Fe	Fe	499,5
Na5	Na	4999
K5	K	501,35
Se	Se	502,00
Padrão misto T	As	5,00
	Co	5,005
	Cr	25,05
	Cu	100,1
	Mn	99,76
	Mo	25,012
Zn	Zn	50,050

3.4 Procedimento para análise pelo método de ativação com nêutrons

3.4.1 Montagem das amostras e padrões para irradiação no reator

Massas entre 100 e 150 mg de cada amostra foram pesados em invólucros de polietileno e envoltos com folhas de alumínio. Os padrões sintéticos também foram envoltos com folhas de alumínio. Para garantir a irradiação das amostras e padrões sob um mesmo fluxo de nêutrons, este conjunto de amostras e padrões foram envoltos por uma

nova folha de alumínio e acondicionados em um dispositivo de alumínio para irradiação chamado de “coelho”.

As irradiações foram feitas no reator nuclear de pesquisa IEA-R1 em duas condições. Usando um fluxo de nêutrons térmicos de $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, as amostras e os padrões foram irradiados por um período de 8 horas visando a determinação dos elementos As, Ca, Co, Cr, Fe, Se e Zn cujos radioisótopos correspondentes apresentam meias vidas mais longas.

Para a determinação de elementos de meias vidas intermediárias, o tempo de irradiação utilizado foi de 1 hora e o fluxo de nêutrons térmicos de $1 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Esta condição de irradiação foi aplicada para a determinação dos elementos Cu, K e Na.

Para as medições das atividades gama induzida, as amostras e os padrões foram fixados sobre suportes de aço inoxidável chamados de “panelinhas”, com 3 cm de diâmetro, utilizando-se fita crepe conforme estão ilustrados na Figura 3.3.

FIGURA 3.3 – Foto do suporte de aço inoxidável (panelinhas) e pinças utilizadas na contagem e manuseio do material irradiado. 1 e 4 – pinças; 2 – fita adesiva crepe para a fixação das amostras no suporte e 3 – suporte de aço inoxidável.

3.4.2 Medições das atividades gama das amostras e padrões irradiados

As medições das atividades gama induzida das amostras e padrões foram feitas usando detector de Ge hiperpuro modelo GMX 20190 ligado a uma placa ACE8K da EG & G Ortec, a um microcomputador e sistema eletrônico associado conforme ilustram as Figuras de 4.4 e 4.5

FIGURA 4.4 – Foto do equipamento de detecção dentro da blindagem de chumbo.

FIGURA 4.5 - Foto do sistema instrumental de raios gama (micro computador para aquisição dos dados e blindagem de chumbo para o detector Ge).

A resolução do sistema utilizado foi de 1,0 keV para o fotopico de 121 keV do ^{57}Co e de 1,80 keV para o fotopico de 1332 keV do ^{60}Co . Antes de serem realizadas as medições foram feitos testes diários de verificação do funcionamento do sistema de contagem, utilizando uma fonte de $^{57}\text{Co} + ^{60}\text{Co}$.

As amostras e os padrões dos elementos das irradiações longas de oito horas foram medidos em dois diferentes tempos de decaimento a fim de determinar um grande número de elementos bem como para eliminar o problema de possíveis interferências espectrais. A primeira contagem foi feita após cerca de três dias de decaimento para a determinação dos elementos de meias vidas de até uma semana. O tempo de medição das amostras foi de aproximadamente 7 horas e o dos padrões foi de aproximadamente 2,5 horas. Nesta primeira contagem foram detectados os radioisótopos ^{76}As , ^{47}Ca , ^{59}Fe e ^{24}Na .

Na segunda medição, realizada após cerca de 7 dias de decaimento, foram medidos os radioisótopos de ^{60}Co , ^{51}Cr , ^{59}Fe , ^{75}Se e ^{65}Zn . Nesta segunda medição as amostras foram contadas por um período de aproximadamente 14 horas e os padrões de 2,5 horas.

Para a determinação de elementos cujos radioisótopos apresentam meias vidas intermediárias da irradiação de 1 h os tempos de medição das amostras foram de 3 e 7 h para a primeira e segunda contagem, respectivamente. Para os padrões dos elementos foram realizadas contagens de 1 h.

Os espectros gama obtidos das amostras e padrões foram gravados em disquetes e depois processados com o uso do programa de computação VISPECT2. Este programa nos fornece as energias dos picos e as taxas de contagens com os seus respectivos desvios padrão. A identificação dos radioisótopos formados foi feita pelas energias dos raios gama e tempos de meia vida. A Tabela 3.4 apresenta os radioisótopos utilizados neste trabalho bem como as respectivas energias dos raios gama e meias vidas. A concentração do elemento foi calculada utilizando a relação (2.9) e este cálculo foi feito usando o programa ESPECTRO desenvolvido no laboratório.

Tabela 3.4. Características dos radioisótopos utilizados neste trabalho (IAEA, 1990).

Elemento	Radioisótopo medido	Energia dos raios gama (keV)	Meia vida
As	^{76}As	559,10	26,32 h
Ca	^{47}Ca	159,38 e 1297,09	4,54 d
Co	^{60}Co	1173,27 e 1332,50	5,27 a
Cr	^{51}Cr	320,08	27,7 d
Cu	^{64}Cu	1345,77	12,7 h
Fe	^{59}Fe	1099,25 e 1291,60	44,5 d
K	^{42}K	1524,58	12,36 h
Na	^{24}Na	1368,60	14,96 h
Se	^{75}Se	264,66	119,77 d
Zn	^{65}Zn	1115,55	243,9 d

3.7 Avaliação de limites de detecção e de quantificação de elementos em amostras de suplementos nutricionais

O limite de detecção representa a habilidade de um procedimento em determinar com certa probabilidade a menor quantidade possível do analito e este valor é útil para se decidir se um dado método é aplicável ou não a um problema analítico particular. O limite de detecção (L_D) pode ser definido como a menor concentração de elemento que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob determinadas condições experimentais. O limite de quantificação (L_Q) é definido como a menor concentração do elemento, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas.

Utilizam-se tradicionalmente os conceitos desenvolvidos por CURRIE (1968) aplicados a NAA, ainda que o próprio Currie tenha destacado a grande dificuldade no emprego da definição de limites de detecção e quantificação (CURRIE, 1999). Em NAA as condições de irradiação, de decaimento e de medida bem como a situação de interferência, incluindo a radiação de fundo e o contínuo compton de energias de raios gama podem influenciar no valor do limite de detecção (IAEA, 1990). O L_D dos elementos, foram determinados aplicando-se a relação (3.1) segundo o critério de CURRIE (1968):

$$L_D = 2,71 + 4,65\sqrt{BG} \quad (3.1)$$

Onde BG se refere às contagens da radiação de fundo ou área sob o pico e o L_D é o valor de limite de detecção em termos de contagens.

Para avaliar o limite de detecção L_D , inicialmente calculou-se o valor da irradiação de fundo (BG) o qual foi obtido diretamente dos dados de saída emitido pelo programa VISPECT 2, para o fotopico do elemento de interesse. Quando o fotopico não foi

detectado, a medição da amostra foi realizada sobrepondo a esta o padrão do elemento de interesse de baixa atividade.

Tendo o valor de L_D e o valor do tempo total de contagem t_v , calculou-se a taxa de contagem (L) correspondente a massa mínima detectável, segundo a relação (3.3).

$$L = \frac{L_D}{t_v} \quad (3.3)$$

onde:

L – valor da taxa de contagens correspondente à massa mínima detectável;

t_v – tempo de medição da amostra.

Tendo o valor de L , utilizando a equação 2.9 foi calculada a concentração mínima detectável do elemento.

O L_Q é obtido sob as mesmas condições de obtenção do L_D , porém o modelo de cálculo utilizado na sua determinação é variável de acordo com a técnica analítica utilizada. O valor do L_Q dos elementos presentes nas amostras de suplemento analisadas, foi calculado usando a relação (3.4) (CURRIE, 1968):

$$L_Q = 50 \left\{ 1 + \sqrt{1 + \frac{BG}{12,5}} \right\} \quad (3.4)$$

Tendo o valor de L_Q e o valor do tempo total de contagem t_v , calculou-se L_q ou seja o valor de limite de quantificação em termos de taxas de contagens, usando a relação (3.5) dada por:

$$L_q = \frac{L_Q}{t_v} \quad (3.4)$$

Tendo o valor de L_q , o limite de quantificação correspondente a concentração mínima quantificável foi calculada usando a relação 2.9.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise dos materiais certificados de referência

Como foi dito nos Capítulos anteriores, para o controle de qualidade dos resultados analíticos com relação à exatidão e precisão foram analisados os materiais certificados de referência NIST 1400 Bone Ash e NIST 1633b Coal Fly Ash. Estes materiais de referência foram selecionados por apresentarem composição dos elementos semelhante a dos suplementos minerais analisados neste trabalho. Não são disponíveis para aquisição materiais de referência certificados específicos para serem usados no exame dos resultados de suplementos minerais.

Para verificar a precisão e a exatidão dos resultados foram calculados os parâmetros de desvio padrão, erro relativo e também os valores de Z score ou diferença padronizada para os elementos determinados e com os valores certificados nos materiais de referência analisados. O Z score ou índice Z leva em consideração a incerteza do valor certificado do material de referência e permite avaliar o desempenho do método analítico durante todo o processo sendo bastante empregado no gerenciamento de sistemas de qualidade (BODE & DIJK, 1997). O Z score foi calculado usando a relação (4.1) (BODE, 1996).

$$Z_i = \frac{C_i - C_{ref.i}}{\sqrt{\sigma_i^2 + \sigma_{ref.i}^2}} \quad (4.1)$$

Onde C_i é a concentração do elemento determinado; $C_{ref.i}$ = valor certificado do elemento; σ_i = desvio padrão do resultado obtido e $\sigma_{ref.i}$ = desvio padrão do valor certificado.

São apresentados na Tabela 4.1, os valores da média aritmética, desvio padrão relativo, erro relativo, valor certificado e o parâmetro Z score dos elementos Ca e Zn, no material certificado NIST 1400 Bone Ash.

Tabela 4.1. Concentrações de Ca e Zn no material NIST 1400 Bone Ash.

Elementos	Número de determinações	M $\pm$ DP	D.P.R, %	Erro Relativo, %	NIST, 1992 (*)	Z score
Ca, %	5	38,7 $\pm$ 0,4	0,9	1,4	38,18 $\pm$ 0,13	1,24
Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	5	178 $\pm$ 2	1,3	0,02	181 $\pm$ 3	-0,83

M $\pm$ DP = média aritmética e desvio padrão; D.P.R = desvio padrão relativo.

(*)- valor certificado

Como pode ser observado na Tabela 4.1 os resultados obtidos apresentam uma boa concordância com os valores certificados, com percentagens de erros relativos de 1,4 e 0,02 % respectivamente para Ca e Zn e uma boa precisão, com desvios padrão relativos inferiores a 1,3%. Os valores de Z score ou índice Z foram de -0,83 para Zn e 1,24 para Ca, indicando que os resultados obtidos foram satisfatórios.

Os resultados obtidos para o material certificado NIST 1633b Coal Fly Ash são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Concentrações de As, Ca, Co, Cr, Fe, K, Na e Zn no material NIST 1633b Coal Fly Ash.

Elementos	Número de determinações	M $\pm$ DP	D.P.R %	Erro Relativo %	NIST, 1993	Z score
As, $\mu\text{g g}^{-1}$	3	137 $\pm$ 2	1,5	0,4	136,2 $\pm$ 2,6	0,24
Ca, %	6	1,5 $\pm$ 0,1	5,5	1,3	1,51 $\pm$ 0,6	-0,05
Co, $\mu\text{g g}^{-1}$	6	46 $\pm$ 4	8,4	-	(50)*	-
Cr, $\mu\text{g g}^{-1}$	6	185 $\pm$ 15	7,9	6,6	198,2 $\pm$ 4,7	-0,84
Fe, %	5	7,9 $\pm$ 0,4	4,7	1,3	7,8 $\pm$ 0,2	0,5
K, %	5	2,0 $\pm$ 0,1	5,5	0,5	1,95 $\pm$ 0,03	0,5
Na, %	5	0,21 $\pm$ 0,03	13,5	4,5	0,201 $\pm$ 0,003	0,3
Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	5	187 $\pm$ 19	10	-	(210)*	-

* Dados entre parênteses são valores informativos

Os resultados das determinações de As, Ca, Cr, Fe, K e Na obtidos nas análises do material certificado de referência NIST 1633b Coal Fly Ash apresentados na Tabela 4.2 também indicam uma boa concordância com os valores certificados com percentagens de erros relativos variando de 0,4 a 6,6 %. Com relação à precisão, os resultados obtidos apresentaram desvios padrão relativos variando de 1,5 a 10 %. Para os elementos Co e Zn não foram calculados os valores de erro relativo e Z score, uma vez o material não está certificado para estes elementos. O elemento Cu certificado neste material de referência não foi detectado nas condições experimentais empregadas neste trabalho. No caso foi realizada a determinação do limite de detecção deste elemento tendo sido obtido o valor de 325 $\mu\text{g g}^{-1}$. O valor de Cu certificado no material NIST 1633 Coal Fly Ash é de 112,6 $\pm$ 2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Os valores de Z score obtidos nas análises dos dois materiais de referência certificados foram colocados no gráfico da Figura 4.1 para melhor visualização. Os valores de Z score obtidos $|Z| < 2$ indicam que os resultados obtidos estão dentro da faixa dos valores do certificado a nível de confiança de 95%.

FIGURA 4.1. Valores de Z score obtidos para As, Ca, Cr, K Fe, Na e Zn nos materiais de referência NIST 1400 Bone Ash e NIST 1633b Coal Fly Ash .

4.2 Análise dos suplementos nutricionais

As análises dos suplementos nutricionais foram executados conforme descrito na parte experimental (Capítulo 3) deste trabalho. No caso foram realizadas pelo menos três determinações de cada amostra e aos resultados obtidos foram calculadas as médias aritméticas e os desvios padrão. Foram analisadas onze amostras de suplementos nutricionais cujas características com relação a sua composição foram representadas na Tabela 3.1.

As concentrações médias dos elementos obtidas nos suplementos All, Caa, Cal, Cen e MM são apresentados na Tabela 4.3. Já para as amostras As, Se, Su, Up, Zh e Zl as suas concentrações médias dos elementos determinadas estão na Tabela 4.4.

Tabela 4.3. Concentração média dos elementos nos suplementos All, Caa, Cal, Cen e MM em $\mu\text{g g}^{-1}$.

Elementos	All	Caa	Cal	Cen	MM
Ca	116694 $\pm$ 13256* (3)**	349771 $\pm$ 29240 (3)	133999 $\pm$ 30676 (6)	118581 $\pm$ 11063 (5)	97327 $\pm$ 6679 (3)
Co	3,09 $\pm$ 0,17 (3)	-	19,9 $\pm$ 0,4 (4)	1,2 $\pm$ 0,4 (5)	2,3 $\pm$ 0,2 (3)
Cr	17,6 $\pm$ 2,0 (3)	-	4,6 $\pm$ 0,6 (4)	18,6 $\pm$ 4,4 (5)	186 $\pm$ 44 (3)
Cu	1363 $\pm$ 207 (3)	-	276 $\pm$ 31 (3)	1176 $\pm$ 314 (3)	1996 $\pm$ 166 (3)
Fe	12632 $\pm$ 3588 (3)	-	185 $\pm$ 12 (3)	11241 $\pm$ 1782 (4)	-
K	30210 $\pm$ 3715 (3)	-	330 $\pm$ 69 (3)	31223 $\pm$ 4805 (4)	34574 $\pm$ 553 (3)
Na	1049 $\pm$ 61 (3)	1914 $\pm$ 44 (3)	6344 $\pm$ 30 (3)	356 $\pm$ 24 (4)	1212 $\pm$ 9 (3)
Se	17,9 $\pm$ 4,8 (3)	-	-	18 $\pm$ 7 (3)	-
Zn	10562 $\pm$ 1790 (3)	-	2465 $\pm$ 51(4)	9712 $\pm$ 392 (4)	14943 $\pm$ 190 (3)

Tabela 4.3. Concentração média dos elementos nos suplementos Os, Se, Su, Up, Zh e Zl em $\mu\text{g g}^{-1}$. (Continuação)

Elementos	Os	Se	Su	UP	Zh	Zl
Ca	104524 $\pm$ 14846 (5)	17030 $\pm$ 612 (3)	10999 $\pm$ 792 (5)	27815 $\pm$ 2127 (3)	6081 $\pm$ 1084(6)	-
Co	22,8 $\pm$ 1,6 (5)	0,34 $\pm$ 0,01 (3)	2,11 $\pm$ 0,01 (5)	20 $\pm$ 1 (3)	-	-
Cr	89 $\pm$ 6 (5)	-	2,8 $\pm$ 0,5 (5)	50 $\pm$ 1 (3)	-	-
Cu	2054 $\pm$ 25 (5)	-	-	-	-	-
Fe	9096 $\pm$ 290 (5)	-	851 $\pm$ 21 (5)	8158 $\pm$ 326 (3)	-	-
K	4685 $\pm$ 355 (5)	-	-	3244 $\pm$ 508 (3)	-	-
Na	167 $\pm$ 12 (5)	5004 $\pm$ 22 (3)	75508 $\pm$ 5299 (5)	10052 $\pm$ 322 (3)	-	-
Se	-	84 $\pm$ 17 (3)	-	-	-	-
Zn	9048 $\pm$ 153 (5)	34 $\pm$ 7 (3)	656 $\pm$ 25 (5)	5,5 $\pm$ 0,9 (3)	125125 $\pm$ 2409 (6)	14250 $\pm$ 3541 (6)

* Média aritmética e desvio padrão; ** os números entre parênteses indicam o número de determinações;

- indica que o elemento não foi determinado.

Durante a análise dos resultados dos suplementos procurou-se também verificar a existência de algum elemento tóxico como arsênio, cádmio, mercúrio e antimônio, entretanto estes elementos não foram detectados nas amostras analisadas. Por outro lado em algumas amostras foram determinados elementos que não estão apresentados nos rótulos dos suplementos, o que permitiu acrescentar ao âmbito deste trabalho outros elementos além daqueles apresentados nos rótulos.

Relativamente à análise de suplementos a principal interferência foi causada pela alta atividade do ^{24}Na de 15,0 h de meia vida o que impediu a medida da energia de radioisótopos com atividades menos intensas. Para superar a interferência do ^{24}Na pode – se deixar decair essa atividade por alguns dias ou mesmo semanas. Entretanto para a análise de elementos cujos radioisótopos apresentam meias vidas intermediárias como é o caso do ^{64}Cu que apresenta meia vida de 12,7 horas, a espera do decaimento do ^{24}Na torna-se impraticável.

4.3 Comparação entre os resultados obtidos e os valores dos rótulos dos suplementos

Tendo obtidas as médias das concentrações dos elementos nos suplementos analisados, para efeito de comparação com os valores da bula ou rótulo foram calculadas as massas dos elementos por cada cápsula ou comprimido. Conhecendo a massa média do material em cada cápsula ou comprimido e tendo os resultados das concentrações médias foram calculadas as massas dos elementos em cada cápsula ou comprimido.

Nas Tabelas 4.5 e 4.6 estão os resultados obtidos das massas dos elementos juntamente com os valores apresentados nos rótulos para comparação.

Tabela 4.5. Massas dos elementos por cápsula ou comprimido dos suplementos nutricionais All, Caa, Cal, Cen e MM

e os valores apresentados em seus rótulos. Resultados em mg.

Elementos	All		Caa		Cal		Cen
	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho
Ca	167 ± 19	162	609 ± 51	600	112 ± 26	125	166 ± 16
Co	$0,0044 \pm 0,0002$	-	-	-	$0,017 \pm 0,003$	-	$0,0017 \pm 0,000$
Cr	$0,025 \pm 0,003$	0,025	-	-	$0,0038 \pm 0,0005$	-	$0,025 \pm 0,006$
Cu	$1,9 \pm 0,3$	2	-	-	$0,23 \pm 0,03$	0,25	$1,65 \pm 0,44$
Fe	18 ± 5	18	-	-	$0,15 \pm 0,02$	-	$15,7 \pm 2,6$
K	44 ± 6	40	$3,33 \pm 0,07$	-	$0,27 \pm 0,06$	-	44 ± 7
Na	$1,5 \pm 0,1$	-	-	-	$5,33 \pm 0,05$	-	$0,49 \pm 0,03$
Se	$0,025 \pm 0,007$	0,025	-	-	-	-	$0,025 \pm 0,001$
Zn	$15,1 \pm 2,5$	15	-	-	$2,07 \pm 0,06$	2	$13,6 \pm 1,9$

- indica que o elemento não foi determinado ou não apresentado na composição do rótulo ou bula.

Tabela 4.6. Massas dos elementos por cápsula ou comprimido dos suplementos nutricionais Os, Se, Su, Up, Zh e Zl e os valores indicados em seus rótulos em mg. Resultados em mg.

Elementos	Os		Se		Su		Up	
	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo
Ca	173 ± 25	165	$10,3 \pm 0,4$	-	48 ± 4	50	51 ± 4	-
Co	$0,037 \pm 0,003$	-	$0,0012 \pm 0,0001$	-	$0,0091 \pm 0,0004$	-	$0,036 \pm 0,002$	-
Cr	$0,146 \pm 0,009$	-	-	-	$0,012 \pm 0,02$	0,010	$0,091 \pm 0,002$	-
Cu	$3,39 \pm 0,04$	3,5	-	-	-	0,4	-	-
Fe	$15,0 \pm 0,5$	-	-	-	$3,71 \pm 0,09$	3,6	$14,9 \pm 0,6$	-
K	$7,7 \pm 0,6$	-	-	-	-	-	$5,9 \pm 0,9$	-
Na	$0,27 \pm 0,02$	-	$3,02 \pm 0,01$	-	329 ± 23	-	$18,3 \pm 6,0$	-
Se	-	-	51 ± 10	50	-	-	-	-
Zn	$14,9 \pm 0,3$	15	$0,020 \pm 0,003$	-	$2,9 \pm 0,1$	3	$0,010 \pm 0,001$	-

Como podem ser verificados nas Tabelas 4.5 e 4.6, os resultados obtidos apresentam em geral uma boa concordância com os valores declarados nos rótulos, as diferenças percentuais foram inferiores a 10% para a maioria dos elementos. Os elementos que apresentaram resultados menos concordantes foram Cu e Na nos suplementos Cen e Up, respectivamente. As diferenças percentuais para as massas obtidas e os valores rotulados foram de 17,5 % para o Cu e de 38,5 % para o Na.

Trabalhos sobre a determinação do conteúdo de suplementos nutricionais comparados aos valores dos rótulos também tem sido publicados. Entre eles tem-se o trabalho de VEATCH et al. (2005) que analisaram 15 amostras de suplemento nutricional de selênio de doze marcas diferentes pelo método de NAA e verificaram que as diferenças percentuais entre a massa do elemento determinada e os valores dos rótulos variavam entre 13,4 e 19,5%.

Pode-se verificar também a presença de Na em uma quantidade relativamente alta no suplemento Su, o que pode ter interferido diretamente na determinação do elemento Cu neste suplemento.

ZAREBA et al. (2001) analisaram a concentração de ferro em dois suplementos, Supradyn e Vitapil utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica e verificaram que as percentagens de erro variaram de 0,22 a 0,72%.

Para se ter uma idéia da sensibilidade do método foram determinados os valores dos limites de detecção e quantificação das concentrações de elementos As, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Na, Se e Zn nas amostras de suplementos nutricionais e estes resultados são apresentados nas Tabelas 4.7 e 4.8.

Tabela 4.7. Valores dos limites de detecção dos elementos na análise dos suplementos nutricionais. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$.

Amostra	As	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K	Na	Se	Zn
All	0,3	3917,2	0,9	2,9	166,4	59,1	109,8	1,3	3,8	3,7
Caa	0,4	510,6	3,1	53,4	98,8	80,2	50,3	1,2	6,5	3,4
Cal	1,5	2409,6	0,5	0,4	108,8	31,5	46,8	0,7	10,4	4,6
Cen	0,6	3710,3	0,5	4,8	91,6	43,6	35,8	0,8	6,5	2,4
MM	0,3	660,1	0,8	81,7	188,2	81,3	218,6	130,8	42,1	4,6
Os	1,2	2458,8	1,4	20,9	152,3	53,6	78,6	1,6	24,8	10,8
Se	0,3	1775,1	0,05	0,4	176,4	48,7	434,3	3,2	497,2	4,2
Su	8,9	2492,3	1,1	1,5	123,5	43,8	465,2	103,8	64,9	2,9
Up	4,1	2651,5	1,3	3,1	1682,1	38,4	596,1	12,1	3,4	0,9
Zh	3,3	1087,0	4,6	2,8	792,4	60,5	64,9	9,1	18,9	17,1
Zl	1,9	789,9	6,1	57,8	31,8	60,3	57,3	0,3	16,5	11,7

Tabela 4.8. Valores dos limites de quantificação dos elementos na análise dos suplementos nutricionais. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$.

Amostra	As	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K	Na	Se	Zn
All	0,9	12613,4	2,7	8,93	505,8	180,8	340,4	4,0	11,5	11,3
Caa	1,2	1542,0	9,4	164,5	297,4	246,2	151,9	3,7	19,9	10,5
Cal	4,6	7257,7	1,54	1,2	328,6	97,0	140,9	2,2	31,3	14,1
Cen	1,8	11205,1	1,5	14,8	282,1	133,4	108,8	2,4	19,7	7,4
MM	0,9	2033,1	2,5	251,6	572,1	247,9	662,4	397,6	127,1	14,2
Os	3,7	7474,7	4,2	64,4	469,1	163,5	238,9	4,9	74,9	32,9
Se	0,9	5378,5	0,1	1,2	532,7	149,0	139,4	9,7	1496,6	12,8
Su	27,4	7506,8	3,4	4,6	380,4	134,0	1400,2	321,8	195,9	8,7
Up	12,6	8034,0	3,9	9,4	5180,8	597,9	1830,0	36,9	10,5	2,7
Zh	10,2	3347,9	13,8	8,6	2440,5	187,5	197,9	36,9	57,1	52,1
Zl	5,8	2409,2	18,7	178,0	95,7	185,1	175,3	0,9	49,8	35,9

Os resultados da Tabela 4.7 e 4.8 comprovam a alta sensibilidade da técnica da NAA pra a maior parte dos elementos analisados, porém, para elementos como Ca, Cu, Fe e K a sensibilidade da técnica pode ser considerada adequada para o propósito do trabalho. Além disso, os resultados destas Tabelas mostram que os limite de detecção e de quantificação de um elemento dependem da composição da amostra. No caso dos suplementos nutricionais, estes apresentam composições elementares distintas e os valores dos limites obtidos foram diferentes dependendo da amostra.

Utilizando os valores das massas individuais de cada cápsula ou comprimido dos suplementos nutricionais na base seca dada na Tabela 3.2 e com os valores dos limites de detecção das concentrações dos elementos da Tabela 4.7 foram calculados os valores da massa mínima do elemento detectável em cada cápsula ou comprimido e estes resultados são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.8. Limites de detecção dos elementos em mg por cápsula ou comprimido.

Amostra	As	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K
All	0,0004	5,6	0,001	0,004	0,24	0,08	0,2
Caa	0,0007	0,9	0,005	0,09	0,2	0,14	0,09
Cal	0,001	2,0	0,0004	0,0003	0,09	0,03	0,04
Cen	0,0008	5,2	0,0007	0,007	0,1	0,06	0,05
MM	0,0003	0,6	0,0008	0,08	0,2	0,08	0,2
Os	0,0007	1,5	0,0008	0,01	0,09	0,03	0,05
Se	0,0005	3	0,00008	0,0006	0,3	0,08	0,7
Su	0,04	10,9	0,005	0,006	0,5	0,2	2
Up	0,0075	5	0,002	0,005	3	0,07	1,1
Zh	0,0013	0,45	0,002	0,001	0,3	0,025	0,03
Zl	0,003	1,15	0,009	0,08	0,05	0,09	0,08

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o presente trabalho atingiu os objetivos propostos, ou seja, de definir um procedimento experimental para determinação de elementos em suplementos nutricionais e fazer uma comparação entre os dados obtidos e os valores declarados nos seus rótulos.

A metodologia de ativação com nêutrons adotada neste trabalho foi bastante adequada para análise de matrizes de suplementos nutricionais devido principalmente a sua capacidade multielementar e por permitir a determinação de elementos para uma ampla faixa de concentrações sem a dissolução das amostras. Portanto o procedimento proposto neste trabalho poderá ser de grande valia para o estudo sistemático de elementos em suplementos nutricionais e principalmente no controle da sua qualidade. Os resultados de limites de detecção comprovaram a alta sensibilidade da técnica utilizada indicando a viabilidade do uso deste método devido a possibilidade de detecção de elementos presentes com baixas concentrações nos mais variados tipos de suplemento.

Além disso os resultados das análises de materiais certificados de referência indicaram uma boa exatidão e precisão.

Com relação aos resultados obtidos nos suplementos nutricionais pôde-se concluir que as amostras analisadas apresentaram quantidades da maioria dos componentes inorgânicos concordantes com os valores declarados nos seus rótulos. Quanto aos elementos determinados nos suplementos, o procedimento proposto permitiu a determinação de elementos presentes normalmente nestes suplementos e que apresentam importantes funções biológicas no organismo. Já os elementos considerados tóxicos como As, Cd e Hg não foram detectados nas amostras analisadas, donde pôde-se concluir que estes elementos se presentes nos materiais estudados estão em concentrações muito pequenas inferiores ao limite de detecção da NAA. Relativamente aos elementos determinados nos suplementos nutricionais,

convem salientar a alta concentração de sódio encontrado no suplemento Su. Portanto, para o consumo deste suplemento deverá ser feita avaliações sobre os seus efeitos colaterais ocasionados pelo alto teor de sódio.

Tabela 4.5. Massas dos elementos por cápsula ou comprimido dos suplementos nutricionais All, Caa, Cal, Cen e MM e os valores apresentados em seus rótulos. Resultados em mg.

Elementos	All		Caa		Cal		Cen		MM	
	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo
Ca	167 ± 19	162	609 ± 51	600	112 ± 26	125	166 ± 16	162	98 ± 7	100
Co	$0,0044 \pm 0,0002$	-*	-	-	$0,017 \pm 0,003$	-	$0,0017 \pm 0,0006$	-	$0,0023 \pm 0,0001$	-
Cr	$0,025 \pm 0,003$	0,025	-	-	$0,0038 \pm 0,0005$	-	$0,025 \pm 0,006$	0,025	$0,18 \pm 0,04$	-
Cu	$1,9 \pm 0,3$	2	-	-	$0,23 \pm 0,03$	0,25	$1,65 \pm 0,44$	2	$2,01 \pm 0,01$	2
Fe	18 ± 5	18	-	-	$0,15 \pm 0,02$	-	$15,7 \pm 2,6$	18	-	-
K	44 ± 6	40	$3,33 \pm 0,07$	-	$0,27 \pm 0,06$	-	44 ± 7	40	$34,9 \pm 0,5$	-
Na	$1,5 \pm 0,1$	-	-	-	$5,33 \pm 0,05$	-	$0,49 \pm 0,03$	-	$1,224 \pm 0,009$	-
Se	$0,025 \pm 0,007$	0,025	-	-	-	-	$0,025 \pm 0,001$	0,025	-	0,2
Zn	$15,1 \pm 2,5$	15	-	-	$2,07 \pm 0,06$	2	$13,6 \pm 1,9$	15	$15,1 \pm 0,2$	15

*- indica que o elemento não foi determinado ou não apresentado na composição do rótulo ou bula.

Tabela 4.6. Massas dos elementos por cápsula ou comprimido dos suplementos nutricionais Os, Se, Su, Up, Zh e Zl e os valores indicados em seus rótulos em mg. Resultados em mg.

Elementos	Os		Se		Su		Up		Zh		Zl	
	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo	Este trabalho	Rótulo
Ca	173 ± 25	165	$10,3 \pm 0,4$	-	48 ± 4	50	51 ± 4	47	-	-	-	-
Co	$0,037 \pm 0,003$	-	$0,0012 \pm 0,0001$	-	$0,0091 \pm 0,0004$	-	$0,036 \pm 0,002$	-	-	-	-	-
Cr	$0,146 \pm 0,009$	-	-	-	$0,012 \pm 0,02$	0,010	$0,091 \pm 0,002$	-	-	-	-	-
Cu	$3,39 \pm 0,04$	3,5	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
Fe	$15,0 \pm 0,5$	-	-	-	$3,71 \pm 0,09$	3,6	$14,9 \pm 0,6$	-	-	-	-	-
K	$7,7 \pm 0,6$	-	-	-	-	-	$5,9 \pm 0,9$	6	-	-	-	-
Na	$0,27 \pm 0,02$	-	$3,02 \pm 0,01$	-	329 ± 23	-	$18,3 \pm 6,0$	13	-	-	-	-
Se	-	-	51 ± 10	50	-	-	-	-	-	-	-	-
Zn	$14,9 \pm 0,3$	15	$0,020 \pm 0,003$	-	$2,9 \pm 0,1$	3	$0,010 \pm 0,001$	-	51 ± 3	50	21 ± 5	23

Tabela 4.9. Limites de detecção dos elementos em mg por cápsula ou comprimido.

Amostra	As	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	K	Na	Se	Zn
All	0,0004	5,6	0,001	0,004	0,24	0,08	0,2	0,002	0,005	0,005
Caa	0,0007	0,9	0,005	0,09	0,2	0,14	0,09	0,002	0,01	0,006
Cal	0,001	2,0	0,0004	0,0003	0,09	0,03	0,04	0,0006	0,009	0,004
Cen	0,0008	5,2	0,0007	0,007	0,1	0,06	0,05	0,001	0,01	0,003
MM	0,0003	0,6	0,0008	0,08	0,2	0,08	0,2	0,1	0,04	0,005
Os	0,0007	1,5	0,0008	0,01	0,09	0,03	0,05	0,001	0,015	0,006
Se	0,0005	3	0,00008	0,0006	0,3	0,08	0,7	0,005	0,8	0,007
Su	0,04	10,9	0,005	0,006	0,5	0,2	2	0,45	0,3	0,01
Up	0,0075	5	0,002	0,005	3	0,07	1,1	0,02	0,006	0,002
Zh	0,0013	0,45	0,002	0,001	0,3	0,025	0,03	0,004	0,008	0,007
Zl	0,003	1,15	0,009	0,08	0,05	0,09	0,08	0,0004	0,024	0,02

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ADEYEYE, E. I.; AROGUNDADE, L. A.; AKINTAYO, E. T.; AISIDA, O. A.; ALAO, P.A. Calcium, zinc and phytate interrelationships in some foods of major consumption in Nigeria. *Food Chemistry*, v. 71, p. 435-441, 2000.

ALFASSI, Z.B. *Activation Analysis*. Florida: CRC Press, 1990.

AGUIAR, A. R. *Aplicação do método de análise por ativação com nêutrons à determinação de elementos traço em unhas humanas*. Dissertação (Mestrado)-Instituto de Pesquisas energéticas e Nucleares, São Paulo. 2001.

BELL, A; DORSCH, K. D.; MCCREARY, D. R.; HOVEY, R. A look at nutritional supplement use in adolescents. *Journal of Adolescent Health*, n. 34, p.508-516, 2004.

BERGER, M, M. Role of trace elements and vitamins in perioperative nutrition *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, v. 14, n. 2, p. 82-94, 1995.

BO, S.; LEZO, A.; MENATO, G.; GALLO, M. A.; BARDELLI, C.; SIGNORILE, A.; BERUTTI, C.; MESSOBRIO, M.; PAGANO, G. F. Gestacional hyperglycemia, zinc, selenium, and antioxidant vitamins. *Nutrition*, v. 21, p. 186-191, 2005.

BOAVENTURA, G. T.; SILVA, R. H. L.; TOSTES, L.F.; AZEREDO, V. B. Ganho de peso, hemoglobina e hematócrito de ratos recebendo dieta de Quissamã, RJ, com ou sem suplemento alimentar alternativo. *Revista Nutrição*, v. 16, n. 3, p. 321-331, 2003.

BODE, P. *Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis*. Delft University of Technology, p. 1481, 1996.

BODE, P.; DIJK, P. Operation management of results in INAA utilizing a versatile system of control charts. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 215, n. 1, p. 87-94, 1997.

BODE, P.; VAN MEERTEN, T. G. *INAA Instrumental neutron activation analysis*. Delft: Interfaculty Reactor Institute of Delft University of Tecnology, 1999.

BORSOI, M. A.; VIGGIANO, C.E. *Nutrição e dietética – Noções básicas*, São Paulo, SP.. Senac, 8º Ed. p. 29-37. 2001.

CARROL, S.; SMITH, T., *Guia da Vida Saudável*, Rio de Janeiro, RJ, 1ª Ed.. Ed. Globo, p. 38-39, 1995.

CHANDRA, R. K. Impact of nutritional status and nutrient supplements on immune responses and incidence of infection in older individuals. *Ageing Research Reviews*, v. 3 n. 1, p. 91-104, 2004.

CHANDRA, R. K. Effect of vitamin and trace-element supplementation on cognitive function in elderly subjects. *Nutrition*, v. 17, n. 9, p. 709-712, 2001.

CHEN, J. H.; HAMM, L.; VATUMAN, V.; WHELTON, P.K. Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United States population. *Hypertension*, v. 40, p. 810-816. 2002.

CHENG, T.; ZHU, Z.; MASUDA, S.; MORCOS, N.C. Effects of multivitamin supplementation on antioxidant defense systems in healthy human beings. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12, n. 7, p. 388-395, 2001.

COLLINS, C. E.; KERSHAW, R. N.; BROCKINGTON, S. B. Effect of nutritional supplements on wound healing in home-nursed elderly: A randomized trial. *Nutrition*, v. 21, p. 147-155, 2004.

CNAD, CONSELHO NACIONAL ANTIDOPAGEM, *Informação para a comunicação social* Disponível em . Acesso em: www.cefd.pt/data/does/comunicadocnad/ncsz-2004.ro03marpdf, acessado 10 de setembro de 2004.

CURRIE, L. A. Limits for qualitative detection and quantitative determination. *Analytical Chemistry*, v.40, p. 586-593, 1968.

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

CZEIZEL, A. E.; PUHÓ, E. Maternal use nutritional supplements during the first month of pregnancy and decreased risk of Down`s syndrome: case control study. *Nutrition*, v. 21, n. 6, p. 698-704, 2005.

DE SOETE, D.; GIJBELS, R.; HOSTE, H. *Neutron activation analysis*, London, Wiley Interscience, 1972.

DIJKHUIZEN, M. A.; WIERINGA, F. T.; WEST, C. E. Effects of iron and zinc supplementation in Indonesian infants on micronutrient status and growth. *Journal of Nutrition*, v. 131, p. 2860-2865, 2001.

DOSSA, R. A. M.; ATEGBO, E. A. D.; VAN RAAIJ, J. M. A.; DE GRAAF C.; HAUTVAST, JGAJ. Effects of multivitamin – multimineral supplementation on appetite of stunted young Beninese children , *Appetite*, v. 39 n. 2, p. 111-117, 2002.

EHMANN, W. D.; VANCE, D. E. *Radiochemistry and nuclear methods of analysis*. v. 1, New York, NY: John Willey, 1991.

GLASCOCK, M. D. *An overview of neutron activation analysis*. 1999.

Disponível em: http://web.missouri.edu/~murrwww/naa_over.htr,
acesso em: 17 de agosto de 2003.

GROPPER, S. S.; KERR, S.; BARKSDALE, J. M. Non-anemic iron deficiency, oral iron supplementation, and oxidative damage in college-aged females. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 14, n. 7, p. 409-415, 2003.

GREENBERG, R. R. Accuracy in standards preparation for neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Articles, v.179, n.1, p.131-139,1984.

GREENBERG, R. R.; LINDSTROM, R. M.; SIMONS, D. S. Instrumental neutron activation analysis for certification of ion-implanted arsenic in silicon. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 245, p. 57-63, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. *Free radicals, ageing, and disease*, Clarendon Press – Oxford, v. 2, p. 416 – 493, 1989.

HARMAN, D. *Free radicals and age-related diasses in Free radicals in aging*, Cap. 9, p. 2005-222, CRC Press, 1993.

HAAS, M. J.; SAWAF, R.; HORANI, M. H.; GOBAL, F.; WONG, N. C. W.; MOORADIAN, A. D. Effect of chromium on apolipoprotein A-I Expression in hepG2 cells. *Nutrition*, v. 19, p. 353-357, 2003.

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

HOENJET, K. M. J. L. F.; DAGNELIE, P. C.; DECLARE, K. P. J.; WIJCKMANS, N. E. G. Effect of a nutritional supplement containing vitamin E, selenium, vitamin C and coenzyme Q 10 on serum PSA in patients with hormonally untreated carcionoma of the prostate: A randomised placebo-controlled study. *European Urology*. v. 47, p. 433-440, 2004.

IAEA. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory*, IAEA – TECDOC – 564. Vienna, 1990.

JASTI, S.; SIEGA-RIZ A. M.; BENTLEY, M. E. Dietary supplement use in the context of health disparities: Cultural, ethnic and demographic determinants of use. *Journal of Nutrition*, v. 133, n. 6, p. 2010-2013, 2003.

JAIN, A. L. Influence of vitamins and trace-elements on the incidence of respiratory infection in elderly. *Nutrition Research*.v. 22, n. 1-2, p. 85-87, 2002.

JANGHORBANI, M.; XIA, Y.; HÁ, P.; WHANGER, P. D.; BUTLER, J. A.; OLESIK, J. W.; GRUNWALD, E. Effect of dietary selenium restriction on selected parameters of selenium status in men with high life – long intake. *Journal of Nutritional and Biochemistry*, v. 10, p. 564-572, 1999.

KAUTIAINEN, A.; TORNQVIST, M.; OLSSON, U. Effects of selenium deficiency on the formation and detoxification of endogenous electrophiles in rats. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, v. 11, p. 425-430, 2000.

KELLER, C. *Radiochemistry*. Chichester, Ellis Horwood Limited, 1988.

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

LOBO, A. S.; TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. *Revista Nutrição*, v. 17, n. 1, p. 107-113, 2004.

LOZAK, A.; FIJALEK, Z. Determination of selenium in pharmaceutical preparations for parental administration by adsorptive stripping voltammetry and atomic absorption spectrometry. *Chemical Analysis* (Warsaw), v. 43, p. 1-7, 1998a.

LOZAK, A.; FIJALEK, Z. Determination of selenium in tablets and therapeutical nutritions. *Chemical Analysis*. (Warsaw), v. 43, p. 1003-1010. 1998b.

LUKASKI, H.C. Vitamin and mineral status: Effects on physsical performace, *Nutrition*. v.20, n. 7/8, p. 632-644, 2004.

MACFIE, J.; WOODEICK, N. P.; PALMER, M. D.; WALKER, A.; TOWNSEND, S.; MITCHELL, C. J. Oral dietary supplements in pre – and postoperative surgical patients: A prospective and randomized clinical trial. *Nutrition*, v. 16. p. 723-728, 2000.

MAUGHAN, R. J.; KING, D. S.; LEA, T. Dietary supplements, *Journal of Sports Sciences*, v. 22, n. 1, p. 95-113, 2004.

MCLEAN, R. M. Magnesium and its therapeutic uses: A review. *The American Journal of Medicine*, v. 96, p. 63-76, 1994.

MEGUID, M. M.; SHENKIN, A. Nutritional supplements and the quest to improve human performance, *Nutrition*, v. 19 nº11, p. 955-956, 2003.

MILLEN, A. E.; DOOD, K.W.; SUBAR, A. F. Use of vitamin, mineral, nonvitamin and nonmineral supplements in the United States: The 1987, 1992 and 2000 National Health Interview Survey Results. *Journal of American Dietetic Association*, v.104, n.6, p. 942 – 950, 2004.

MOREIRA, E. G. *Aplicação do método de análise por ativação com nêutrons ao estudo da composição química de materiais metálicos*. Dissertação(Mestrado)-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. 2002.

MUGGLI, R.; HOFFMAN, F. *Free radical tissue damage: the protective role of antioxidant nutrients*. In *Free radicals and antioxidants in nutrition*. Editors: F. Corongiu, S. Banni, M. A. Dess and C. Rice Evans, Richelieu Press, London, p. 189-204, 1993.

NACHTIGAL, M.C.; PATTERSON, R. E.; STRATTON, K. L.; ADANS, L. A.; SHATTUCK, A. L.; WHITE, E. Dietary supplements and weight control in a middle – age population. *Journal Alternative Complementary Medicine*, v. 11, n. 5, p. 909-915, 2005.

NESHEIM, M.C. Dietary supplements, *Nutrition*, v.14, n.9, p. 729-730, 1998.

NEWHOUSE, I. J.; FINSTAD, E. W. The effects of magnesium supplementation on exercise performance. *Clinical Journal Sports Medicinal.*, v.10, n. 3, p. 195-200, 2000.

NIST, NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, *Certificate of analysis. Standard reference material-1400 Bone Ash*, NIST, 1992.

NIST, NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, *Certificate of analysis. Standard reference material-1633 Coal Fly Ash*, NIST, 1993.

OPAS, Organização Pan-Americana de Saúde. 2000.

Disponível em: <http://www.opas.org.br/sistemas/fotos/nutricao.htm>
 acesso em: 15 de dezembro de 2005.

OSHTRAKH, M. I.; MILDER, O. B.; SEMIONKIN, V. A. Analysis of the iron state in iron containing vitamins and dietary supplements by Mossbauer spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 2003.

PEREIRA, R. F.; LAJOLO, F. M.; HIRSCHBRUCH, M. D. Consumo de suplementos por alunos de ginástica em São Paulo. *Revista Nutrição*, v. 16, n. 3, p. 265-272, 2003.

PIETRUSZKA, B.; BRZOZOWSKA, A. Vitamin and mineral supplement use among adults in central and Eastern Poland. *Nutritional Research*, v.19, n. 6, p. 817-926, 1999.

RHEE, Y. S.; BURNHAM, K.; STOECKER, B. J.; LUCAS, E. Effects of chromium and copper depletion on lymphocyte reactivity to mitogens in diabetes prone BHE / cdb rats. *Nutrition*, v. 20, p.274-279, 2004.

ROUSSEL, A.M.; KERKENI, A.; ZOUARI, N.; MAHJOB, S.; MATHEAU, J. M.; ANDERSON, R.A. Antioxidant effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 22, n. 4, p. 316-321, 2003.

SAIKI, M.; NARDI, D. T. Characterization of inorganic components in multimineral / mineral supplements. In : *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trace Elements in Human: New Perspectives*, 4 – 6 October 2001, Athens, Greece, 2001.

SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M. B.; LYSIONEK, A. E.; CARO, R. A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. R. The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition*, v. 18, p. 510-519, 2002.

SANDHYA, D.; SUBRAMANIAN, M. S. Radiometric determination of trace amounts of zinc using liquid scintillation counting, *Talanta*, v. 46, p. 921-926, 1998.

SCHMIDT, N. K. *Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente*. São Paulo, Ed. Santos, 1996.

SLEEPER, R. B. G.; KENNEDY, S. M. Adverse reaction to a dietary supplement in an elderly patient. *Annals of Pharmacotherapy*, v. 37, n. 1, p. 83 – 86, 2003.

SOLTYK, K.; LOZAK, A.; OSTAPCZUK, P.; FIJALEK, Z. Determination of chromium and selected elements in multimineral and multivitamin preparations and in pharmaceutical raw material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 32, p. 425-432, 2003.

STEYER, T. E.; KING, D. E.; MAINOUS, A.G.; GILBERT, G. Use of nutritional supplements for the prevention and treatment of hypercholesterolemia. *Nutrition*, v. 19, p. 415-418, 2003.

VEATCH, A. E. ; BROCKMAN, J. D.; SPATE, V. L.; ROBERTSON, J. D., MORRIS, J. S. Selenium and nutrition: the accuracy and variability of the selenium content in commercial supplements. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v. 264, n. 1, p. 33-38, 2005.

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

WILSON, T.; TEMPLE, N. Nutritional health: Strategies for disease prevention. *Nutrition*, v. 19, p. 199-202, 2003.

ZAREBA, S.; SZARWILO, K.; HOPKALA, H. Spectrophotometric determination of Fe (II) in pharmaceutical multivitamin preparations by azo-dye derivatives of heteroazopyrocatechine. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 73, p. 123-126, 1998.

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