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

**Avaliação de elementos essenciais e tóxicos em algas marinhas comestíveis e
em seus derivados usados na indústria alimentícia**

CAROLINE RODRIGUES ALBUQUERQUE

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Vera Akiko Maihara**

**São Paulo
2020**

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

**Avaliação de elementos essenciais e tóxicos em algas marinhas comestíveis e
em seus derivados usados na indústria alimentícia**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

CAROLINE RODRIGUES ALBUQUERQUE

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Vera Akiko Maihara**

**São Paulo
2020**

Fonte de Financiamento: CNPq

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

Como citar:

RODRIGUES, C. A. ***Avaliação de elementos essenciais e tóxicos em algas marinhas comestíveis e em seus derivados usados na indústria alimentícia***. 2020. 99 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rodrigues, Caroline Albuquerque
Avaliação de elementos essenciais e tóxicos em algas marinhas comestíveis e em seus derivados usados na indústria alimentícia / Caroline Albuquerque Rodrigues; orientadora Dra. Vera Akiko Maihara. -- São Paulo, 2020.
99 p.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2020.

1. Algas marinhas. 2. Elementos essenciais . 3. Elementos tóxicos. I. Maihara, Dra. Vera Akiko , orient. II. Título.

CAROLINE RODRIGUES ALBUQUERQUE

Avaliação de elementos essenciais e tóxicos em algas marinhas comestíveis e em seus derivados usados na indústria alimentícia

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

Trabalho aprovado. São Paulo 29 de Janeiro de 2020.

Dra. Vera Akiko Maihara
Orientadora

Dra. Fanly Fungyi Chowho
Convidada

Dra. Cátia Heloisa Rosignoli Saueia
Convidada

São Paulo
2020

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, e por sempre me guiar e proteger nessa trajetória.

Aos meus pais Divina e Antonio pelo apoio, e por sempre acreditarem em mim, mesmo quando eu mesma não acreditava, por nunca permitirem que eu desistisse, e por todo amor e dedicação que tem por mim.

Ao meu Irmão Padre Diogo pelas orações, pelo apoio e incentivos diários, também acreditando no meu potencial e não deixando que eu desistisse desse meu sonho, e por todo amor e carinho dedicados a mim.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares pela oportunidade concedida para a realização desse trabalho.

A Prof.Dra. Vera Akiko Maihara pela orientação, paciência conselhos, dedicação e confiança.

Ao Dr Paulo Sergio Cardoso da Silva pelos ensinamentos e disponibilidade, amizade. Uma pessoa que se tornou muito especial ao longo desse trabalho.

Ao Dr. Edson Gonçalves Moreira pelo carinho, amizade, e conhecimento sempre disponível em momentos que precisei.

A amiga e Irmã mestra, em breve Doutora, Carolina Yume Sawamura Theophilo por ser companheira para todos os momentos, por toda paciência e incentivos diários, pela ajuda com todas as minhas análises de (AAS), mas mais que isso pela amizade verdadeira dentro e fora do IPEN. A sua amizade e amor são indispensáveis.

Ao amigo Iberê por toda sua ajuda que foram fundamentais para a realização desse trabalho. E mais do que isso me ouviu por muitas madrugadas de desespero, sempre me confortando com uma palavra amiga, sempre me incentivando e acreditando no meu potencial, sua amizade e amor são indispensáveis.

Às amigas Pamela, Leticia, Alana por toda a paciência e palavras de incentivo e amor e entenderem minha ausência, amizades indispensáveis para mim.

Aos amigos do Centro do Reator de Pesquisa (CRPQ) do IPEN/CNEN-SP Nicole, Bruno, Renata, Rafaella, Jefferson Gabriel, Caio, Claudinha, Matheus, Stano, Osmar, e Levy, pela amizade, e convivência, apoio diário sempre que preciso e por todos os bons momentos que passamos juntos e shallow now.

E enfim, todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Agradeço ao programa de pós-graduação (Capes) e ao CNPq pela bolsa concedida.

AVALIAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E TÓXICOS EM ALGAS MARINHAS COMESTÍVEIS E EM SEUS DERIVADOS USADOS NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Caroline Rodrigues Albuquerque

RESUMO

Neste estudo, foram determinadas as concentrações dos elementos As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Pb e Zn pelas técnicas de Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA) e Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) em 24 amostras de algas marinhas comestíveis e derivados que foram adquiridas na cidade de São Paulo.

Foram analisadas as seguintes espécies de algas comestíveis: Nori (*Porphyra umbilicalis*); Hijiki (*Hijikia fusiforme*); Kombu (*Laminaria sp.*) e Wakame (*Undaria pinnatifida*) dos seguintes países: China, Estados Unidos, Japão e Coreia do Sul. Os derivados analisados foram Ágar, Carragenana e Alginato de sódio.

Os valores de ingestão dietética foram calculados baseados no consumo diário de 3,3 gramas de alga e mostraram-se abaixo dos valores de limite de tolerância para Cd e As. Para a maioria dos elementos essenciais, a alga não foi considerada uma boa fonte desses elementos, exceto para o I.

Os valores de ingestão dietética para o I ultrapassaram os valores de limites tolerável (UL) para as espécies *Hijikia fusiforme*, *Laminaria sp* e *Undaria pinnatifida*.

Em relação aos derivados das algas, foi possível concluir, que os mesmos não apresentam riscos para a saúde, em relação aos elementos tóxicos e potencialmente tóxicos, uma vez que apresentam baixas concentrações para a maioria dos elementos analisados.

EVALUATION OF ESSENTIAL AND TOXIC ELEMENTS IN EDIBLE SEAWEEDS AND THEIR DERIVATIVES USED IN THE FOOD INDUSTRY

Caroline Rodrigues Albuquerque

ABSTRACT

In this study, the concentration of the As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn were determined in 24 edible seaweed and 3 derivative samples by means of Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA) and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (AAS GF) techniques. The seaweed samples were acquired in different commercial points of São Paulo city

The following species of edible algae were analyzed: Nori (*Porphyra umbilicalis*); Hijiki (*Hijikia fusiforme*); Kombu (*Laminaria* sp.) and Wakame (*Undaria pinnatifida*) from the following countries: China, USA, Japan and South Korea. The seaweed derivatives analyzed were: Agar, carrageenan and sodium alginate.

The daily ingestion values were calculated considering a daily ingestion of 3.3 g of seaweed and the obtained results were under of tolerable values for Cd and As. For the most of essential elements, the seaweed samples analyzed were not considered as good sources of these essential elements, except for I.

The dietetic ingestion values for I exceeded the tolerable limits (UL) for *Hijikia fusiforme*, *Laminaria* sp and *Undaria pinnatifida* species.

In relations to Agar, a derivative of red seaweed, was possible to conclude that its consumption does not represent risks for health in relation to I and As, since these seaweeds presents low concentration of these elements.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3	ELEMENTOS ESSENCIAIS	21
3.1	Bromo	23
3.2	Cálcio.....	24
3.3	Cloro	24
3.4	Cobalto	24
3.5	Cobre.....	25
3.6	Cromo.....	25
3.7	Ferro.....	26
3.8	Iodo.....	26
3.9	Magnésio	27
3.10	Manganês.....	28
3.11	Potássio.....	28
3.12	Sódio	29
3.13	Zinco.....	29
4	ELEMENTOS TÓXICOS.....	31
4.1	Arsênio	31
4.1	Cádmio	32
4.2	Chumbo	33
5	OBJETIVOS	34
5.1	Objetivo geral.....	34
5.2	Objetivos específicos	34
6	METODOLOGIAS.....	35
6.1	Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA)	35
6.2	Espectrometria de Absorção Atômica	37

6.3	Limite de Detecção (Ld)	38
6.4	Tratamento estatístico	39
6.4.1	Análise de variância (ANOVA).....	39
6.4.2	Teste de Tukey.....	39
6.4.3	Correlação de Pearson.....	39
6.4.4	Análise de Agrupamento (AA)	39
6.4.5	Análise de Componentes Principais (PCA).....	40
7	PARTE EXPERIMENTAL	41
7.1	Aquisição e preparação de amostras	41
7.2	Determinação da umidade das amostras de algas.....	42
7.3	Materiais de referência certificados.....	42
7.4	Análise por ativação com nêutrons instrumental	42
7.4.1	Preparação das amostras para a irradiação	42
7.4.2	Preparação dos padrões sintéticos.....	43
7.4.3	Irradiação de curta duração das amostras e dos padrões (INAA).....	44
7.4.4	Irradiação de curta duração das amostras e padrão com nêutrons epitérmicos (ENAA)	44
7.4.5	Irradiações de longa duração (8 horas) das amostras, materiais de referência e dos padrões por INAA	45
7.4.6	Medidas das atividades induzidas	45
7.4.7	Validação do método analítico por INAA.	46
7.4.8	Validação do método analítico para determinação de lodo por ENAA. 49	
7.5	Determinação de Cd, Cu e Pb por Espectrometria de Absorção Atômica (GF AAS).....	51
7.5.1	Preparação das amostras para a determinação de Cd, Cu e Pb por Espectrometria de Absorção Atômica (GF AAS).....	51
7.5.2	Validação para a determinação de Cd, Cu e Pb por GF AAS	53

7.6	Limite de detecção dos elementos na análise de algas marinhas comestíveis e seus derivados.....	54
8	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
8.1	Concentração dos elementos nas amostras de algas marinhas comestíveis e seus derivados determinados por INAA de curta duração.	56
8.2	Resultados de concentrações de I nas amostras de algas para ENAA de curta duração	61
8.3	Resultado das concentrações dos elementos nas amostras de algas por INAA de longa duração	66
8.4	Resultados das concentrações de Cd, Cu e Pb por GF AAS em amostras de algas	70
8.5	Resultados das concentrações dos derivados de algas marinhas.	75
8.6	Cálculo da ingestão dietética das algas marinhas e seus derivados.	76
8.7	Tratamento estatístico	79
8.7.1	ANOVA e Teste de Tukey	79
8.7.2	Correlação de Pearson.....	80
8.7.3	Análise de Agrupamento	80
8.7.4	Análise de Componentes Principais (PCA) para as espécies de algas marinhas comestíveis.	83
9	Conclusão.....	86
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
	Apêndice A	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de recomendação da ingestão diária dos nutrientes	23
Tabela 3 - Dados dos padrões pipetados para INAA e ENAA.....	44
Tabela 4 - Dados nucleares dos radioisótopos identificados nas irradiações por INAA e ENAA.....	46
Tabela 5 - Resultados obtidos para o material de referência Mixed Polished Herbs (MPH-2) por INAA.....	47
Tabela 6 - Resultados obtidos para o material de referência IAEA- 413 Algae. ...	47
Tabela 7 - Resultados de concentração de I obtidos para os materiais de referência Whole Milk Powder (RM 8435) e Whole Egg Powder (RM 8415).....	50
Tabela 8 - Condições de temperatura, rampa de aquecimento e patamar para cada etapa de aquecimento do forno de grafite na análise por GF AAS para as determinações de Cd, Cu e Pb	52
Tabela 9 - Valores das concentrações e soluções utilizadas para construção da curva de calibração.....	52
Tabela 10 - Resultados de Cd, Cu e Pb para materiais de referência certificados por GF AAS.	53
Tabela 11 - Limites de detecção de elementos obtidos em algas marinhas e seus derivados por INAA e ENAA.	55
Tabela 12 - Resultados das concentrações e desvios padrão obtidos por INAA de curta duração (valores em peso seco).	57
Tabela 13 - Resultados de concentração de I nas amostras de algas por ENAA em base seca.	63
Tabela 14 - Resultados de concentrações e desvios padrão obtidos por INAA de longa duração na base seca.	67
Tabela 15 - Resultados obtidos para Cd, Cu, e Pb por GF AAS para as amostras de algas marinhas e derivados (base seca).....	72
Tabela 16 - Valores mínimos e máximos de ingestão diária do elemento para consumo de 3,3g com os valores de DRI.....	77
Tabela 17 - Teste ANOVA.	80
Tabela 18 - Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações dos elementos e origem em algas marinhas comestíveis.	82

Tabela 19 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia (resultados em µg/dia).....	97
Tabela 20 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia.	97
Tabela 21 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia (resultados em µg/dia).....	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amostras de algas preparadas para irradiação.....	42
Figura 2 - Padrões sintéticos preparados para irradiação.	43
Figura 3 – Valores de E_n -Score obtidos para o material de referência Mixed Polished Herbs.	48
Figura 4 - Valores de E_n -score obtidos para o material de referência IAEA-413 Algae.	49
Figura 5 - Valores de e E_n -score para o elemento Iodo nos materiais de referência Whole Milk Powder e Whole Egg Powder.	50
Figura 6 - Valores de E_n -score para os elementos Cd, Cu, Pb nos materiais de referência Mixed Polish Herbs (MPH-2), IAEA-413 Algae e Oyster Tissue.	54
Figura 7 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida	58
Figura 8 – Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie <i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki).	59
Figura 9 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie <i>Laminaria</i> sp (Kombu).	59
Figura 10 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame).	60
Figura 11 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para Ágar.	60
Figura 12 - Representação box plot da concentração do elemento I para Agar. ...	64
Figura 13 - Representação box plot da concentração do elemento I para Kombu.	64
Figura 14 - Representação box plot da concentração do elemento I para Hijiki. ...	65
Figura 15 - Representação box plot da concentração do elemento I para Wakame.	65
Figura 16 - Representação box plot da concentração do elemento I para Nori. ...	66
Figura 17 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie <i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori).	68
Figura 18 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie <i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki).	68

Figura 19 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie <i>Laminaria</i> sp (Kombu).	69
Figura 20- Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame).	69
Figura 21 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para Ágar.	70
Figura 22 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie <i>Porphyra Umbilicalis</i> (Nori)	73
Figura 23 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie <i>Hijikia fulsiforme</i> (Hijiki).	73
Figura 24 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd e Cu para a espécie <i>Laminaria</i> sp. (Kombu).	74
Figura 25 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame).	74
Figura 26 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para Agar.	75
Figura 27 - Dendograma.	83
Figura 28- Similaridade dos elementos em relação à origem e espécie.	84
Figura 29 - Similaridade das espécies.	85

1 INTRODUÇÃO

As algas marinhas são organismos de grande importância para o ecossistema, pois além de ser a base da cadeia alimentar marinha, produzem cerca de metade do oxigênio do planeta. São organismos autótrofos e fotossintetizantes, que se diferem das plantas vasculares por não formarem tecidos e nem órgãos ordenados, podem ser unicelulares (microalgas) ou pluricelulares (macroalgas) (VIDOTTI e ROLLEMBERG. 2004). São pertencentes ao Reino Plantae, no qual se encontram dois principais filos: Rhodophyta e Chlorophyta. Sendo o filo Ochrophyta pertencente ao Reino Chromista.

As espécies do filo Rhodophyta (algas vermelhas) são as mais utilizadas comercialmente para a alimentação humana e animal, para a extração do Ágar (fabricação de gomas, laxantes, meio de cultura para bactérias) e para a extração da Carragenana (uso em laticínios, embutidos, na fabricação de gelatinas e geleias, como espessante em sopas, molhos e como substituto não calórico do amido e gordura). As algas vermelhas são também aplicadas nas indústrias de tinta, têxtil, cosmética e farmacêutica (VIDOTTI e ROLLEMBERG. 2004). No filo Ochrophyta, se encontra a classe phaeophyceae (algas pardas), no qual as espécies são utilizadas na alimentação humana, em fertilizantes e como uma importante fonte de ácidos algínicos, utilizados na farmacologia em pomadas e suspensões. As algas verdes do filo Chlorophyta estão presentes na alimentação e algumas espécies são utilizadas como biorremediadoras e ainda possuem propriedades larvicidas (VIDOTTI e ROLLEMBERG. 2004).

As algas são excelentes fontes de minerais, podendo apresentar concentrações maiores em relação às plantas vasculares e aos animais terrestres (RUPÉREZ, 2002), pois absorvem substâncias inorgânicas do ambiente e as armazenam (JIMÉNEZ-ESCRIG e SANCHEZ- MUNIZ, 2000). As algas são também utilizadas como bioindicadoras de contaminação ambiental, por conta das suas características morfológicas e fisiológicas, pois possuem alta capacidade de absorver e armazenar determinados elementos potencialmente tóxicos (DAWCZYNSKI et al., 2007, ROCHA et al., 2009, e BESADA et al., 2009). As macroalgas e microalgas são também fontes de vitaminas, em particular as microalgas, apresentam altas concentrações de ácidos graxos de longas cadeias

poli-insaturadas de ômega-3 que reduzem o risco de arteriosclerose, doenças inflamatórias e do coração (KU *et al.*, 2013).

Tradicionalmente, há muitas décadas, as algas marinhas fazem parte da dieta da população asiática, como Japão, China e Coréia. Com o passar do tempo, principalmente com o processo de migração para os países do ocidente no início do século XX, houve uma grande influência da cultura oriental em diferentes países (MESKO *et al.*, 2014). No Brasil, não foi diferente, cada vez mais os costumes orientais vêm se destacando na realidade do país, principalmente para a gastronomia, que consequentemente proporcionou um aumento considerável de restaurantes orientais. Antigamente, a utilização era limitada ao uso industrial como matéria prima para extrair os alginatos das algas pardas e a carragenana das algas vermelhas (COFRADES *et al.*, 2010). Esses polissacarídeos têm sido amplamente utilizados pela indústria de alimentos como modificadores de textura devido à sua alta viscosidade e gelificação (JIMÉNEZ-ESCRIG e SANCHEZ- MUNIZ, 2000).

Em muitos países, as indústrias alimentícias empregam uma ampla gama de derivados de algas, que contêm altos teores de fibras, ácidos graxos, poli-insaturados, polissacarídeos, minerais, vitaminas e antioxidantes. As algas e os seus derivados também têm impacto econômico em vários setores, como na aquicultura, na indústria farmacêutica, biomedicina, medicina veterinária, indústria de cosméticos e na saúde pública (MARINHO-SORIANO *et al.*, 2006 e PINTO e FONSECA, 2016).

As algas apresentam alta capacidade de absorver e armazenar elementos inorgânicos essenciais e tóxicos do meio ambiente, como já citado anteriormente.

Os elementos essenciais são reconhecidos como fundamentais para as funções do corpo humano e são tradicionalmente divididos em macrominerais e microminerais ou elementos traço. Os minerais representam de 4 a 5 % do peso corpóreo, sendo 50% em Ca, 25% em P e cinco macrominerais essenciais (Mg, Na, K, Cl e S) e os outros 25% são onze microminerais e elementos traço (B, Co, Cr, Cu, F, Fe, I, Mn, Mo, Se e Zn) (GALLAGHER, 2008). Todo elemento essencial pode tornar-se tóxico se ingerido em quantidades elevadas; em alguns casos os valores entre a essencialidade e a toxicidade tem pequena diferença. Esses valores também regulam os níveis máximos de toxicidade dos elementos presentes no

organismo (GALLAGHER e LEE, 2008). Esses valores de referência são regulados pelo Instituto de Medicina dos Estados Unidos (IOM, 2006).

Dentre esses elementos essenciais destaca-se o iodo, elemento que é responsável por auxiliar no funcionamento correto da tireoide, equilibrando seus hormônios dentro do corpo, que são de grande importância para o funcionamento do metabolismo humano. Tanto a falta desse elemento como o seu consumo em excesso podem acarretar problemas na glândula tireoide como o hipotireoidismo e hipertireoidismo (MARKOU *et al.*, 2001). As algas marinhas são também ricas em I, especialmente as algas pardas que apresentam habilidade de acumular tal elemento da água do mar (TEAS *et al.*, 2004, SHIGENOBU, 2008).

As algas podem também apresentar altas concentrações de elementos tóxicos, como As, Cd, e Pb, pois possuem alta capacidade de acumular os metais presentes nas águas. As algas pardas, são conhecidas como acumuladora do elemento tóxico As (ROSE *et al.*, 2007).

A falta de elementos essenciais e o excesso de elementos tóxicos têm influência no funcionamento dos órgãos do corpo humano, podendo causar doenças crônicas, como distúrbios arteriais e cardiovasculares, hipertensão, diabetes e certos tipos de câncer (FRAGA, 2005; PRASHANTH *et al.*, 2015). As algas marinhas são consideradas boas fontes de elementos essenciais, podendo contribuir para as necessidades nutricionais, sendo assim benéfica para saúde humana.

Praticamente não há dados de consumo desse alimento pela população brasileira. Porém, como citado anteriormente, com a disseminação da culinária oriental, o consumo desses alimentos cresceu nos últimos anos no Brasil, assim como na Europa e nos EUA. Nesse sentido, é importante monitorar as algas comestíveis comercializadas na cidade de São Paulo em relação ao seu conteúdo de elementos essenciais e tóxicos, principalmente ao teor de I, visto que um consumo exagerado de alga pode levar a uma alta ingestão de iodo, podendo ocasionar danos à saúde.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Foi realizada uma revisão de trabalhos sobre a determinação de elementos macro, traço essencial e tóxico em algas marinhas comestíveis nos últimos anos, com o intuito de verificar como se encontra este campo de pesquisa.

No trabalho de RUPÉREZ (2002) foi estudado o teor dos minerais presentes em algas marinhas comestíveis: pardas das espécies (*Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida*) e vermelhas (*Chondrus crispus*, *Porphyra tenera*) pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados apresentados mostram que as concentrações dos principais macrominerais, como Na, K, Ca e Mg, e elementos traço essenciais Fe, Zn, Mn, Cu foram maiores que as concentrações encontradas em plantas comestíveis terrestres, mostrando que as algas podem ser utilizadas como suplemento alimentar para suprir as necessidades de alguns desses elementos.

VIDOTTI E ROLLEMBERG (2004) destacaram os aspectos mais importantes relacionados aos diferentes usos de algas, como por exemplo, o uso industrial como matéria prima para diversos tipos de produtos comestíveis, cosméticos e farmacêuticos. Os autores ainda destacam a importância ecológica das algas, por serem produtores primários sustentando a vida nos oceanos, o uso como biorremediadores e a sua importância ao longo da história, chamando a atenção para potencializar o uso de algas na pesquisa, por conta da sua alta aplicabilidade em diversas áreas.

DAWCZYNSKI *et al.* (2007) em seu trabalho, com o título “Importância nutricional e toxicológica de macro, traço e elementos ultra-traço em alimentos e produtos de algas de diferentes países orientais”, utilizaram as técnicas de ICP–AES, ICP–MS, HGAAS, e CVAAS, cujo objetivo foi verificar a contribuição dos elementos essenciais na dieta. Os resultados obtidos mostraram altas concentrações de iodo e arsênio total em algas pardas, alertando o consumidor que a ingestão exagerada dessas algas pode acarretar possíveis problemas à saúde.

BENKIDAD *et al.* (2011) em estudo sobre a presença de metais traço (Zn, Fe, Co, Cu, Ni, Mn, As e Cr) e dos radionuclídeos (^{210}Pb , U e ^{40}K) em macroalgas de águas costeiras marroquinas, utilizando a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) concluíram que os diferentes tipos de algas, sendo elas, verde, vermelha e parda, são capazes

de absorver e acumular esses metais. As algas pardas apresentaram as maiores concentrações em relação às algas verdes e vermelhas, mostrando a sua alta capacidade de acumular metais, por esse motivo é possível perceber a importância do uso de algas como biomonitorios ambientais.

Em um estudo sobre macroalgas marinhas comestíveis, MOTA *et al* (2014) procuraram levantar patentes e publicações científicas voltadas para a aplicação de macroalgas comestíveis na nutrição humana e animal. O estudo mostra a predominância de trabalhos científicos relacionados à área de alimentos referente à descoberta/comprovação de propriedades antioxidantes e da composição lipídica das macroalgas.

Como visto em vários estudos as algas são ricas em minerais e possui uma facilidade de absorver e armazenar alguns elementos mais do que outros, como As e I. No estudo de KHAN *et al.* (2015) os elementos potencialmente tóxicos, como As, Pb, Cd, Al e Hg foram determinados pela técnica de ICP MS em 5 espécies de alga (*Phorphyra tenera*, *Laminaria japônica*, *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiforme* e *Sargassum fulvellum*) da Coreia do Sul. Os resultados obtidos apresentaram concentrações de 4,49 µg/g para As total, valores menores quando comparados a outros estudos de algas da Coreia do Sul (1,72 - 9,46 µg/g), e os teores para Pb e Cd foram inferiores a 0,988 µg/g que significa que a contribuição tóxica foi muito baixa, assegurando que não há ameaça para os consumidores de algas comestíveis comercializadas na Coreia do Sul.

Outro estudo sobre minerais e elementos traços em algas marinhas foi realizado nas águas da ecorregião sub-antártica de Magallanes (Chile). ASTORGA *et al.* (2015) verificaram as concentrações de P, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn em três tipos diferentes de algas, sendo elas verde, vermelha e parda. As algas verdes tiveram a maior média de Mg e as algas pardas, como já visto em outros trabalhos, apresentaram a maior média para todos os elementos quando comparado com os outros dois tipos de alga. Esse estudo concluiu que o consumo de uma porção de 8 g de algas marinha, seja ela de algum dos três grupos de algas marrons, vermelhas e verdes, é uma boa fonte de Fe, Mg e Mn (> 25% da ingestão recomendada na dieta).

São poucos os estudos relacionados às concentrações de iodo em algas marinhas comestíveis no Brasil, mesmo sabendo que elas possuem altos teores de iodo.

NITSCHKE e STENGEL. (2015) realizaram uma pesquisa sobre um novo método de HPLC para a detecção de I aplicado em amostras de algas marinhas e produtos alimentares comerciais de algas marinhas, como Nori, Kombu e Wakame. Foram observadas que as algas vermelhas e pardas são boas fontes de I, pois apresentaram valores maiores em relação às algas verdes. Nesse sentido, para o consumo de algas marinhas é necessária uma reavaliação específica da espécie para níveis de ingestão desse elemento.

Em estudos mais recentes, é possível observar que a concentração de iodo pode variar de espécie para espécie de alga, sendo que os modos de preparo e de processamento podem afetar o teor de I nas algas. NITSCHKE e STENGEL (2016) realizaram trabalho sobre a quantificação da perda de I em algas comestíveis na Irlanda. Utilizaram algas verdes, vermelha e parda. As maiores concentrações para algas recém-colhidas foram para a espécie de alga parda, como já observado em outros estudos. O processo de desidratação das algas não afetou muito os níveis de iodo, porém ao serem reidratadas após fervura (20 min. em água deionizada) os níveis de I das três espécies diminuíram. Apesar de uma perda considerável, principalmente em algumas espécies, durante o processamento, todas as macroalgas ainda continham I entre 66 e 165 µg/g. Esses resultados indicam que as macroalgas cruas e processadas podem ser consideradas como uma rica fonte de I. Portanto, seu consumo pode influenciar a saúde e nutrição humana.

ROLEDA *et al.* (2018) realizaram uma investigação do conteúdo de iodo pela técnica de HPLC em três espécies de algas marinhas (algas pardas *Saccharina latissima* e *Alaria esculenta*, e a vermelha *Palmaria palmata*), do Atlântico Norte em produtos comercialmente importantes e comestíveis. Os resultados obtidos indicam que as três espécies estudadas são fontes ricas de iodo e atingem os níveis de ingestão diária recomendados para humanos saudáveis.

O levantamento bibliográfico demonstrou, com trabalhos recentes, que a determinação de elementos macro, traço essencial e tóxico em algas marinhas comestíveis é um assunto de grande interesse científico, assim como a avaliação dos níveis de Iodo, chamando a atenção para o consumo, uma vez que altas concentrações de I no organismo ou a falta podem levar a problemas na saúde.

3 ELEMENTOS ESSENCIAIS

O organismo humano necessita de nutrientes para os processos metabólicos, que são adquiridos principalmente através da ingestão de alimentos ricos em minerais, sendo esses divididos em macrominerais, microminerais ou elementos traço.

Os macrominerais são elementos que o organismo tem maior necessidade, cerca de 100 mg/dia, podendo se destacar o Ca, Cl, Fe, Mg, Na, K, P e S, como exemplo de macrominerais. Já os microminerais ou elementos traço são classificados como aqueles necessários em quantidades menores que 100 mg/dia, destacam-se os elementos Co, Cr, Cu, I, Mn, Mo, Se e Zn.,

Os elementos traço normalmente são expressos em concentrações da ordem de $\mu\text{g/g}$, exceto alguns que são expressos em $\mu\text{g/kg}$. Tendo em vista que tanto os macronutrientes como os micronutrientes grande parte desses elementos é obtida através da dieta alimentar, sendo assim, é cada vez mais importante o conhecimento dos seus teores nos alimentos bem como saber se as doses diárias recomendadas para uma nutrição equilibrada estão sendo atingidas (MONTEIRO, 2017).

Apesar de muitos elementos essenciais serem necessários para os animais em quantidades relativamente baixas para a realização de atividades fisiológicas específicas no organismo, em altas concentrações eles podem se tornar tóxicos. Portanto, um elemento essencial pode vir a ser um contaminante quando se encontra nos alimentos em concentrações acima do nutricionalmente aceitável (GOLDHABER, 2003).

Os valores de Ingestão Dietética Recomendada (DRI) são um conjunto de quatro valores de referência de ingestão de nutrientes, estabelecidos e utilizados para o planejamento e avaliação das dietas do indivíduo ou grupos de indivíduos saudáveis, segundo estágio de vida e gênero. Estes valores incorporam as recomendações dietéticas Recommended Dietary Allowance (RDA) e foram desenvolvidos para a população americana e canadense. Para sua formulação, foram formados Comitês de Especialistas pelo Food and Nutrition Board, pelo Institute of Medicine da National Academy of Sciences dos Estados Unidos e pelo Health Canadá (MARCHIONI *et al.*, 2004, IOM, 2006).

RDA é a quantidade do nutriente suficiente para atender à necessidade de aproximadamente 97% a 98% dos indivíduos saudáveis de um grupo em determinado estágio de vida e gênero. Além da adequação da quantidade indicada de nutrientes que deve ser ingerida por dia pela população, existe também uma regulamentação de um limite máximo que os nutrientes podem ser ingeridos diariamente, o Tolerable Upper Intake Level (UL). O UL é o mais alto nível de ingestão habitual do nutriente que provavelmente não coloca em risco a efeitos adversos para todos os indivíduos em um determinado estágio de vida e gênero. À medida que a ingestão aumenta acima do UL, aumenta o risco potencial de efeitos prejudiciais à saúde (MARCHIONI *et al.*, 2004). Os dados utilizados para RDA e UL estão apresentados na TABELA 1. Os dados de recomendação da ingestão dietética diária dos nutrientes referem-se aos valores para adultos de 19 a 70 anos de idade de ambos os sexos.

Abaixo estão descritos as funções, os efeitos no organismo humano e as fontes alimentares dos elementos essenciais estudados nesse trabalho.

Tabela 1 - *Valores de recomendação da ingestão diária dos nutrientes*

Elemento		Valor ^a
Ca	RDA	800 -1000 mg/dia
	UL	2500 mg/dia
Cl	RDA	1800-2300 mg/dia
	UL	3,6 g/dia
Co	RDA	5-40 µg/dia
	UL	-
Cr	RDA	20-35 µg/dia
	UL	-
Cu	RDA	700-900 µg/dia
	UL	5-10 mg/dia
Fe	RDA	5 - 18 mg/dia
	UL	45 mg/dia
I	RDA	150 µg/dia
	UL	900-1100 µg/dia
K	RDA	4700 mg/dia
	UL	-
Mg	RDA	255-350 mg/dia
	UL	350 mg/dia
Mn	RDA	1,8-2,3 µg/dia
	UL	11 µg/dia
Na	RDA	1200-1500 mg/dia
	UL	2300 mg/dia
Zn	RDA	6,8-9,4 mg/dia
	UL	40 mg/dia

^avalores recomendados para adultos de 19 a 70 anos de idade de ambos os sexos
 Fonte: autora da tese.

3.1 Bromo

Bromo não é considerado essencial, não há evidência de sua essencialidade para humanos, animais ou plantas (UNDERWOOD, 1977).

3.2 Cálcio

Cálcio é essencial para os seres humanos, pois sua principal função é a formação e manutenção do esqueleto. Possivelmente também atua na inibição da proliferação de algumas células cancerígenas (PEREIRA *et.al.*, 2009), realiza a manutenção das concentrações normais do plasma no fluido extracelular e auxilia no processo de coagulação do sangue. As principais fontes de cálcio são leite e vegetais de folha verde.

A deficiência de cálcio no organismo pode acarretar doenças como raquitismo e osteoporose e o seu excesso pode causar formação de pedras nos rins, hipercalcemia e insuficiência renal. As recomendações de ingestão de cálcio variam durante a vida do indivíduo, mas a infância é uma das fases com maior necessidade deste mineral, pois é a fase de crescimento e desenvolvimento dos ossos (COZZOLINO *et al.*, 2012).

3.3 Cloro

Cloro, juntamente com sódio e potássio, é responsável pela manutenção da pressão osmótica e equilíbrio hídrico. Na digestão sua presença é indispensável, pois é responsável pela formação do ácido clorídrico secretado no suco gástrico, essencial para manter a acidez do estômago e a ação de enzimas durante o processo digestivo (TRAMONTE *et al.*, 2012).

Os níveis de cloro indicados para atender as necessidades podem variar com o crescimento, com a intensidade da atividade física, com a temperatura, que aumentam as perdas pelo suor e em situações de diarreia e vômitos. A principal fonte alimentar de cloro é o sal de cozinha.

3.4 Cobalto

Este elemento é um componente da vitamina B12, vitamina necessária no metabolismo dos aminoácidos e dos ácidos nucleicos. A deficiência de cobalto pode levar a carência de vitamina B12, que causa atrofia e degeneração de neurônios e hipotireoidismo (MONTEIRO, 2017). A toxicidade pode levar a danos no pâncreas e no músculo cardíaco.

A ingestão recomendada é de 5 - 40µg/dia. As principais fontes de cobalto são as fontes da vitamina B12, tais como: peixes, ovos, fígado, leite, frutas, verduras e legumes (DONATI *et al.*, 2006).

3.5 Cobre

Cobre é um metal essencial para toda biota, pois em baixas concentrações é indispensável para o desenvolvimento de animais e plantas, porém em altas concentrações é potencialmente tóxico.

Possui funções específicas e são constituintes de enzimas com atividade de oxidação, como outros metais participa da regulação gênica e é essencial para utilização do ferro na formação da hemoglobina e na maturação de neutrófilos (PEDROZO, 2003).

A deficiência de cobre pelo organismo pode levar a uma anemia parecida com a do ferro, tais como fragilidade anormal dos ossos, danos neurológicos graves como encefalopatia, perda de elastina e aneurisma aórtico (PEDROSA *et al.*, 2012).

Cobre está amplamente distribuído nos alimentos, suas melhores fontes são: fígado, mexilhões, ostras, cereais integrais, nozes e chocolate. A intoxicação se dá por quantidades ingeridas na ordem em grama de sais de cobre, e os sintomas são salivação excessiva, náuseas vômitos, sangramento gastrointestinal e diarreia. A recomendação de ingestão adequada para adultos é 700-900 µg/dia e o limite máximo tolerável é de 5-10mg/dia (PEDROSA *et al.*, 2012).

3.6 Cromo

Elemento traço essencial para organismo, onde sua principal função é potencializar a função da insulina. Há evidências de que cromo pode desempenhar um papel importante na redução do risco de aterosclerose e doenças cardiovasculares, reduzindo o acúmulo de placas de gordura nas artérias e os níveis de colesterol total (SILVA *et al.*, 2012).

A deficiência desse elemento costuma ser observada em pacientes em nutrição parenteral total. Os problemas observados em pessoas com deficiência em cromo foram: hiperglicemia, tolerância à glicose e neuropatia. A toxicidade é algo bem variável, pois depende de seu estado de valência. Nos alimentos encontramos a forma trivalente que não apresenta efeitos adversos à saúde

(SILVA. *et. al.*, 2012). A ingestão adequada para adultos é de 20- 35 µg/dia, e as principais fontes de Cr são: carnes, ovos, trigo, brócolis, frango, óleos vegetais, açúcar não refinado, batata, maçã, banana, espinafre e óleos vegetais (SILVA *et. al.*, 2012; PEREIRA e MUNIZ, 2012).

3.7 Ferro

Considerado fundamental no crescimento e desenvolvimento humano, por desempenhar inúmeras funções importantes, ferro é o principal responsável pelo transporte de oxigênio no corpo e ainda auxilia nos processos para obtenção de energia, como a respiração celular (MONTEIRO, 2017).

A deficiência desse elemento pode levar ao desenvolvimento da anemia ferropriva que é a maior carência nutricional no mundo, segundo a OMS (WHO, 2001), pois provoca a diminuição da habilidade de transporte de oxigênio para os tecidos. A anemia ferropriva é uma patologia que apresenta maior risco para crianças, pois leva a anorexia, dificuldade de aprendizagem, desenvolvimento e problemas no sistema imunológico (BORTOLINI e VITOLO, 2010). Ferro é considerado indispensável para todas as fases da vida, porém para gestantes é necessária a suplementação de ferro para o bom desenvolvimento do feto (OLIVEIRA *et.al.*, 2017). Cerca de 30% a 50% de recém nascidos brasileiros sofrem de anemia ferropriva (WAYHS *et. al.*, 2012).

As principais fontes de ferro são carne vermelha, peixe, frango, vegetais e grãos (WAYHS *et. al.*, 2012).

3.8 Iodo

Iodo é um elemento traço essencial para o organismo, pois é o principal constituinte dos hormônios da tireoide. A glândula tireoide é responsável pelo crescimento celular, desenvolvimento cerebral e manutenção da temperatura corporal. Cerca de 99% de iodo disponível no corpo se concentram na glândula tireoide (JACOB e BRITO, 2015).

Na natureza o elemento iodo é encontrado principalmente em águas salgadas, já em água doce os teores são baixos. Os alimentos são as principais fontes de iodo para atender as necessidades do corpo, como frutos do mar, laticínios e o sal iodado (JACOB e BRITO, 2015).

Bócio é uma das principais desordens acarretadas pela deficiência de iodo, fora o hipotireoidismo e o cretinismo. Para suprir o déficit de iodo na dieta da população, principalmente em países subdesenvolvidos e carentes, foi realizada a suplementação de iodo na alimentação, como por exemplo, a iodação do sal de cozinha.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2007 estimou que 2 bilhões de indivíduos apresentavam consumo de iodo insuficiente, incluindo 1/3 de todas as crianças em idade escolar. Por outro lado, os programas de suplementação de iodo devem ser monitorados, para evitar a presença de doenças causadas pelo seu excesso como o hipertireoidismo (COZZOLINO *et al.*, 2012).

O baixo teor de iodo em mulheres grávidas pode comprometer o desenvolvimento cerebral, tanto do feto quanto do recém-nascido, pois os níveis de hormônios da tireoide da mãe ficam abaixo do normal. Nos alimentos as concentrações de iodo e a ingestão total na dieta diferem de uma região para outra, por conta das características geoquímicas, solo e condições culturais, que interferem na escolha dos alimentos (JACOB e BRITO, 2015).

Para atender as necessidades nutricionais foi proposta uma recomendação, para indivíduos em fase de crescimento e desenvolvimento durante a infância e adolescência, gestação, lactação e manutenção estrutural e funcional da tireoide na vida adulta. A ingestão de referência diária de iodo segundo DRI para adultos é de 100 a 150 µg/dia e o limite máximo tolerável (UL) é de 1100 µg/dia (IOM, 2006).

Estudos sobre iodo são cada vez mais importantes e necessários devido à sua grande importância para saúde pública, uma vez que existem várias patologias ligadas à deficiência e ao excesso no seu consumo.

3.9 Magnésio

Magnésio é um macromineral com grande importância para os processos fisiológicos do corpo, auxilia no sistema nervoso e na manutenção do ritmo cardíaco e pressão arterial, ajuda também na regulação dos níveis de açúcar no sangue (MAFRA e COZZOLINO, 2012). Este elemento pode ser usado para prevenir e controlar a hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes.

A deficiência de magnésio está ligada geralmente a um problema de absorção e/ou no aumento na excreção renal. Anorexia, náusea, vômito, letargia e fraqueza são sintomas comuns da falta de magnésio. Em atletas, após atividade física, são relatadas baixas concentrações de magnésio, isso pode estar associado a atividades intensas que levam a saída do mesmo da célula, então para atletas com níveis de treinos intensos, é necessário a suplementação, para maior desempenho nos exercícios (MAFRA e COZZOLINO, 2012).

As principais fontes alimentares de Mg são alimentos de origem animal e vegetal.

3.10 Manganês

Manganês é um mineral essencial para o metabolismo, pois está ligado à formação de tecidos e ossos; sua função está relacionada às enzimas. Mn fica localizado principalmente nas mitocôndrias.

A deficiência de Mn é mais comum no reino animal, onde os sinais apresentados em várias espécies de animais com deficiência foram prejuízo no crescimento e na função reprodutora e queda na tolerância à glicose. Por ser algo que acomete normalmente os animais, não é considerado um problema de saúde pública (SILVA. *et. al.*, 2012).

Sais de manganês não apresentam toxicidade por via oral, e o valor recomendado de Mn de acordo com a IOM para adultos é de 1,8g/dia para mulheres e 2,3g/dia para homens (IOM, 2006).

Nozes, folhas verdes, chá, carnes e derivados de leite são as melhores fontes de manganês.

3.11 Potássio

Potássio é um elemento essencial na manutenção da pressão arterial, por ser um facilitador da excreção renal do sódio, se tornando indispensável para o funcionamento normal celular. Pequenas alterações nas concentrações do potássio extracelular podem afetar a transmissão neural, contração muscular e o tônus muscular (TRAMONTE *et. al.*, 2012).

A deficiência grave de K é caracterizada pela hipocalemia, que traz arritmias cardíacas, fraqueza muscular e intolerância à lactose; já a deficiência

moderada é caracterizada pelo aumento da pressão sanguínea, sensibilidade ao sal. O consumo inadequado de potássio pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares e de acidente vascular cerebral (OLESEN *et. al.*, 2012). O excesso de K pode prejudicar a excreção normal do mesmo; essa dificuldade é característica de doenças como diabetes, insuficiência renal crônica e doença cardíaca grave.

A ingestão adequada é de 4,7g/dia de K de acordo com a IOM (IOM, 2006). As principais fontes de K são frutas como abacate, banana, frutas cítricas; vegetais verdes, leguminosas e grãos (GUERRA *et. al.*, 2012).

3.12 Sódio

Semelhante ao cloro, sódio é fundamental no equilíbrio hídrico, além de ser responsável por processos como transmitir impulsos nervosos e estimular a ação muscular.

O transporte ativo de substâncias por meio das membranas celulares depende da participação do sódio. Assim como cloro, sódio é consumido predominantemente como cloreto de sódio (TRAMONTE *et. al.*, 2012). O consumo em excesso de cloreto de sódio contribui diretamente para o aumento da pressão sanguínea.

A deficiência de Na é rara, pois a ingestão de sal é alta e constante, pois é usado como aditivo alimentar e também em alimentos processados. A forma mais consumida do sódio é o cloreto de sódio, muito utilizado como tempero no processo de cozimento dos alimentos. As necessidades diárias são baixas, a Ingestão Adequada (AI) de sódio é de 1,5 g/dia. Em diversos países a ingestão de sódio está acima das necessidades fisiológicas do corpo humano.

3.13 Zinco

Componente essencial para mais de 300 enzimas, é o segundo elemento traço mais abundante no corpo humano. Possui funções estruturais, enzimática e reguladora. Zn é um elemento necessário para a síntese proteica e divisão celular. Sabe-se que zinco encontra-se presente no metabolismo da vitamina A (MONTEIRO, 2017).

Como sinais de deficiência em zinco as manifestações mais comuns são: anorexia, alteração no paladar e no comportamento, problemas no sistema imunológico, retardo de crescimento e atraso na maturação sexual (YUYAMA *et al.*, 2012).

Muitos fatores podem levar a deficiência de zinco, mas o principal é o consumo inadequado. A dose diária recomendada de zinco para um adulto é cerca 6,8 a 9,4 mg/dia. As principais fontes alimentares são: ostras, camarão, carnes bovina, de frango e de peixe, legumes e tubérculos (YUYAMA *et al.*, 2012).

Zinco compete com cobre pela absorção intestinal, então altas concentrações de zinco levam à redução do cobre, gastrite, sudorese, febre, náuseas e vômitos.

4 ELEMENTOS TÓXICOS

Os elementos potencialmente tóxicos como As, Cd e Pb não apresentam essencialidade para os seres humanos. São encontrados em pequenas quantidades no sistema biológico e ainda possuem a capacidade de gerar danos à fauna e flora, devido à sua disposição na água e nos sedimentos por conta de atividades antrópicas e na maioria das vezes acaba se acumulando nos organismos. A atividade dos elementos potencialmente tóxicos depende da sua concentração no organismo e podem causar efeitos altamente prejudiciais à saúde humana (FRIBERG *et al*, 1986).

4.1 Arsênio

É um metaloide amplamente distribuído na crosta terrestre, a sua toxicidade é bem conhecida e vai depender de sua forma química, que são: arsênio inorgânico e arsênio orgânico, sendo o inorgânico mais tóxico. As fontes de contaminação abrangem rochas, solos, água e alimentos. Pode ser usado em alguns casos como medicação homeopática ou alopática (MONTEIRO, 2017).

Os problemas de saúde provocados pelo arsênio dependem da quantidade ingerida, frequência e tempo de absorção, sendo o seu consumo extremamente prejudicial à saúde humana (ANDRADE e ROCHA, 2016).

Na maioria dos alimentos a ocorrência dos teores de arsênio é extremamente baixa, porém importantes fontes alimentares de exposição são arroz, peixes e frutos do mar. Carnes de aves são também fontes desse elemento, por conta da sua alimentação rica em peixes, cereais e arroz. Esses alimentos tendem a bioacumular esse elemento (WHO, 1998).

Uma característica desse metaloide é seu caráter bioacumulativo. Quando em contato com o organismo humano ele se acumula nas mitocôndrias, gerando o comprometimento generalizado nas funções do metabolismo das proteínas (ANDRADE e ROCHA, 2016).

A toxicidade desse elemento vai depender da forma em que se encontra no organismo, se estiver na forma inorgânica, o arsênio não é excretado de modo rápido e tende a se acumular nos tecidos, se estiver na forma orgânica a excreção é mais rápida e aparentemente não é absorvido pelo organismo (WHO, 1998).

São sintomas de sua toxicidade: náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e alterações de pigmentação das unhas e da pele. O efeito carcinogênico de arsênio em seres humanos é bem conhecido e sabe-se que os compostos inorgânicos podem causar câncer de pele e de pulmão (WHO, 1998).

A Resolução nº42 de 29/08/2013 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu o limite máximo para o arsênio inorgânico de 0,1 mg/kg em gorduras, vegetais e hidrogenadas, gorduras e emulsões refinadas, bebidas alcoólicas, leite de fluido pronto para consumo. O limite máximo de 1 mg/kg foi estabelecido para peixe e produtos de peixe, ovos, produtos de ovos, chá, café, açúcares, cereais e produtos de cacau e derivados (BRASIL, 2013).

Não existe tratamento eficiente para a intoxicação crônica por arsênio. A única alternativa eficiente é a inativação de fontes poluidoras da água, alimentos e atmosfera (ANDRADE e ROCHA, 2016).

4.1 Cádmio

Cádmio é um metal encontrado naturalmente na crosta terrestre como um poluente, que acaba entrando no ambiente por meio de fontes agrícolas e industriais (FAO/WHO, 1999).

Os vegetais e cereais são geralmente conhecidos como as fontes mais significativas na dieta, pois Cd possui uma distribuição ampla no solo, mesmo que em pequenas quantidades acaba se movendo rapidamente para as plantas (COZZOLINO, 2012).

Esse elemento pode bioacumular em plantas aquáticas, invertebrados e peixes mamíferos. Para todo organismo humano esse metal é potencialmente tóxico. A exposição crônica ao cádmio por origem alimentar provoca disfunções principalmente dos túbulos renais. Cádmio é classificado como um agente causador de câncer em seres humanos com base em uma incidência elevada de câncer de pulmão e dados de mortalidade derivados de grupos ocupacionais com evidências de exposição elevada ao cádmio (FAO/WHO, 2011).

A ingestão máxima tolerável vai depender de áreas com ou sem atividade antrópica. A legislação brasileira (BRASIL, 2013) dispõe valores limites para Cd de 0,2 a 1 mg/kg, dependendo dos alimentos.

4.2 Chumbo

Chumbo não é um elemento essencial para a vida humana, mas, sobretudo é um elemento tóxico, comum na crosta terrestre. Encontra-se disponível por conta de emissões veiculares e de atividades industriais. A industrialização aumentou muito a exposição humana ao chumbo (gasolina aditivadas com Pb, baterias, indústrias de tintas e vernizes, componentes mecânicos e elétricos), tanto que no mundo industrializado os níveis definidos como normais deveriam em realidade ser considerados “anômalos” para a saúde humana (CORTECCI, 2000).

A ingestão de Pb se dá principalmente através dos alimentos e da água contaminados. A patologia mais frequente no caso de envenenamento por chumbo (saturnismo) é representada por desordens neurológicas muito graves, além de uma grande série de sintomas. Entre essas, a encefalopatia é particularmente perigosa nas crianças e pode levar a danos irreversíveis do cérebro. O saturnismo foi comum na antiga Roma, principalmente com os mais ricos, devido ao chumbo nos talheres, nos copos e nos aquedutos (CORTECCI, 2000). Em 1992, através da lei 9.832, ficou proibido o uso industrial de embalagens metálicas soldadas com liga de chumbo e estanho para acondicionamento de gênero alimentício, exceto para produtos secos e desidratados.

A Resolução nº42 de 29/08/2013 da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária estabelece Limites Máximos de Tolerância (LMT) para chumbo em alimentos. Esses valores variam de 0,05 a 2 mg/kg de alimento (BRASIL 2013). A ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) estabelecida de 25 µg/kg de peso corpóreo foi reavaliada e concluiu-se que não era possível estabelecer um novo valor de PTWI para Pb que pudesse ser considerável seguro para a saúde humana (FAO/WHO, 2011).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

O Objetivo desse trabalho foi a determinação de elementos essenciais como: Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, e Zn e tóxicos como: As, Cd e Pb presentes em amostras de algas marinhas comestíveis e seus derivados utilizados na indústria alimentícia pelas técnicas de Análise por Ativação com Nêutrons (INAA) e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS).

5.2 Objetivos específicos

- A partir dos resultados obtidos, fornecer subsídios para as doses diárias recomendadas para o consumo de algas marinhas.
- Comparar os resultados obtidos com os valores fornecidos pela Organização Mundial da Saúde e outros órgãos de saúde.
- Verificar se as concentrações de As, Cd e Pb encontradas estão abaixo do limite superior permitido pelas legislações nacional e internacional.
- Aplicar métodos estatísticos para verificar se há diferença entre as espécies em relação às concentrações dos elementos e aos países de origem.

6 METODOLOGIAS

6.1 Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA)

A Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA) é uma técnica não destrutiva e amplamente empregada na determinação de concentração multielementar em diversos tipos de matrizes (ALFASSI, 1990). A determinação da concentração dos elementos é realizada pelo método comparativo, para isso um padrão (com massa conhecida do elemento de interesse) e uma amostra (que se deseja determinar a concentração do elemento) são irradiados simultaneamente dentro de um mesmo dispositivo de irradiação em um reator nuclear.

Uma vez que amostras e padrões são irradiados simultaneamente, as atividades do elemento de interesse na amostra e no padrão podem ser calculadas utilizando a equação (1) e (2), respectivamente.

$$A_{0am} = \frac{N_0 \cdot \theta_x \cdot m_{am}}{M_x} \cdot (\sigma_{th}^x \cdot \phi_{th} + \sigma_{ep}^x \cdot \phi_{ep}) \cdot (1 - e^{-\lambda_y t_i}) \quad (1)$$

$$A_{0pa} = \frac{N_0 \cdot \theta_x \cdot m_{pa}}{M_x} \cdot (\sigma_{th}^x \cdot \phi_{th} + \sigma_{ep}^x \cdot \phi_{ep}) \cdot (1 - e^{-\lambda_y t_i}) \quad (2)$$

Onde N_0 : o número de Avogadro, os sub índices *am* e *pa* referem-se à amostra e ao padrão, respectivamente; *m*: massas da amostra e do padrão respectivamente, θ_x : a abundância isotópica do elemento X, M_x : é a massa atômica do elemento X; ϕ_{th} e ϕ_{ep} : os fluxos de nêutrons térmicos e epitérmicos; σ_{th}^x e σ_{ep}^x : as seções de choque para nêutrons térmicos e epitérmicos do elemento X respectivamente, λ : a constante de desintegração do elemento formado e t_{ir} : o tempo de irradiação.

O elemento de interesse é identificado por meio de transição gama característica, cujas taxas de contagens na amostra e padrão podem ser expressas por (DE SOETE *et al.*, 1972):

$$T_{0am} = \varepsilon \cdot I_\gamma \cdot A_{0am} \quad (3)$$

$$T_{0pa} = \varepsilon \cdot I_{\gamma} \cdot A_{0pa} \quad (4)$$

Onde ε refere-se à eficiência de detecção transição gama utilizada e I_{γ} é a intensidade da transição gama.

Na prática, a geometria utilizada na aquisição de dados é a mesma tanto para a amostra quanto para o padrão, portanto, dividindo-se a equação (3) pela (4) chega-se à seguinte relação.

$$m_{am} = \frac{T_{0am} \cdot m_{pa}}{T_{0pa}} \quad (5)$$

Por fim, dividindo ambos os lados da equação (5) pela massa total da amostra irradiada, e aplicando uma correção para o tempo de decaimento, visto que amostra e padrão não podem ser medidos ao mesmo tempo, chega-se à equação básica da Análise por Ativação Neutrônica que fornece o valor de concentração do elemento de interesse na amostra:

$$C_{am} = \frac{T_{am} \cdot m_{pa} \cdot e^{\lambda_X(t_{dam}-t_{dpa})}}{T_{pa} \cdot M_{am}} \quad (6)$$

Onde t_{dam} e t_{dpa} são os tempos transcorridos entre o fim da irradiação e início da aquisição de dados para a amostra e padrão, respectivamente.

Para uma análise instrumental completa, as amostras podem ser irradiadas em diversos tempos: irradiações de curta duração são empregadas para a determinação de radioisótopos de meia-vida curta de segundos a alguns minutos; irradiações de longa duração são empregadas para radioisótopos de meia vida de dias a anos, cujas irradiações podem variar entre a 16 horas.

Para a determinação de I foi empregada a metodologia de Análise por Ativação Epitérmica (ENAA), onde é possível reduzir a interferência das atividades de ^{24}Na , ^{38}Cl , e de outros radionuclídeos, normalmente presentes em altas concentrações em algas. Nessa técnica as amostras e o padrão de I são irradiados dentro de capsulas de Cd. O elemento Cd possui alta seção de choque para captura de nêutrons térmicos, e conseqüentemente os radionuclídeos interferentes são menos ativados por possuírem valores de seção de choque baixos para nêutrons epitérmicos.

6.2 Espectrometria de Absorção Atômica

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica analítica usada para a determinação quantitativa de elementos químicos, empregando a absorção de radiação óptica de átomos livres no estado gasoso (WELZ E SPERLING, 1999).

Nessa técnica a fonte externa de radiação incide sobre o vapor do analito, se a fonte de radiação externa for de frequência (comprimento de onda) apropriada, poderá ser absorvida pelos átomos do analito e promovê-los a estados excitados. Após alguns nanos segundos, os átomos retornam para o seu estado fundamental transferindo seu excesso de energia para os outros átomos ou moléculas no meio. A fonte de radiação mais útil para a espectroscopia de absorção atômica é a lâmpada de cátodo oco (PARRY, 1992).

A quantidade de energia absorvida é proporcional à concentração dos elementos na amostra; essa proporcionalidade é obtida através de curvas de calibração construídas com padrões dos elementos de interesse com quantidades conhecidas.

A lei de Lambert- Beer permite relacionar a concentração de átomos no estado fundamental com a absorção, tem-se então a relação (7).

$$A = \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = A_m \cdot L \cdot C \quad (7)$$

Onde: A : absorvância; I_0 : intensidade da radiação emitida pela fonte de luz; I : intensidade da radiação transmitida (não absorvida); A_m : coeficiente de absorvidade molar do meio; L : espessura da célula de absorção; C : concentração de átomos no estado fundamental.

Teoricamente, a absorção atômica deveria seguir a lei de Lambert-Beer com a absorvância sendo diretamente proporcional à concentração, porém na prática, desvios na linearidade são encontrados frequentemente, então é necessário realizar uma análise de absorção atômica sem que tenha sido

determinado se esta relação linear existe ou não. Então, periodicamente, uma curva de calibração que cubra o intervalo das concentrações encontradas nas amostras deve ser preparada (SKOOG *et al.*, 2007).

Na espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS), a atomização ocorre em um tubo cilíndrico de grafite aberto em duas extremidades e contém um orifício central para a introdução da amostra (SKOOG *et al.*, 2007). Nesse estudo foram determinados os elementos Cu, Pb e Cd por GF AAS.

6.3 Limite de Detecção (L_D)

O limite de detecção é a menor quantidade do analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada (INMETRO, 2010). O cálculo do L_D é importante para verificar se a técnica analítica atende as necessidades da medição. Para calcular os valores de L_D dos elementos em INAA, utilizou-se o critério de CURRIE (1999), segundo a Equação 8:

$$L_D = 3,29 \frac{\sqrt{BG}}{LT} \quad (8)$$

Onde: BG taxa de contagem da radiação de fundo e LT tempo de contagem.

Os valores de BG foram obtidos na saída de dados do processamento dos espectros de raios gama das amostras irradiadas. Uma vez obtidos os dados de L_D em taxa de contagem, as concentrações foram calculadas utilizando o método comparativo. Os valores de L_D dos elementos determinados por GF AAS, foram calculados a partir da Equação 9.

$$LD = \frac{3 \sigma_0}{a} \quad (9)$$

Onde: σ_0 : desvio padrão de dez determinações do branco analítico e a : coeficiente angular da curva analítica de calibração.

6.4 Tratamento estatístico

6.4.1 Análise de variância (ANOVA)

Para verificar se houve diferenças significativas na composição elementar das algas marinhas e seus derivados, foram realizadas análises de variância (ANOVA) multivariadas. Antes da aplicação da ANOVA, foram aplicados testes de normalidade, teste de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade.

ANOVA compara médias de diferentes populações para verificar se elas são estatisticamente iguais ou não, o que permite a comparação de vários grupos de dados de uma vez só (MILONE, 2004). É uma análise estatística que possibilita verificar hipóteses sobre as médias de populações e concluir se as diferenças amostrais são significativas ou não.

6.4.2 Teste de Tukey

A análise de variância (ANOVA) determina se há diferença entre as médias das populações, no entanto, ela não especifica quais grupos são diferentes. Dessa maneira, quando há diferença significativa entre as médias das populações, pode-se aplicar um teste post-hoc para avaliar como diferem esses grupos. O teste de Tukey (TUKEY, 1949) é um teste que consiste em comparações múltiplas, na qual as médias são comparadas em pares para todas as possibilidades.

6.4.3 Correlação de Pearson

Para o estudo da correlação existente entre os elementos determinados em algas marinhas e seus derivados foi calculada a matriz de correlação de Pearson.

O coeficiente de correlação de Pearson (r) é uma medida de associação linear entre variáveis. Este coeficiente varia entre -1 e 1, sendo que quanto maior a qualidade da associação linear, mais fortemente correlacionada estão as variáveis (FIGUEREDO e SILVA, 2009).

6.4.4 Análise de Agrupamento (AA)

Para a interpretação dos resultados das análises das algas marinhas e seus derivados, com relação aos elementos determinados (variáveis) e com relação

às regiões de origem (objetos), os resultados das concentrações nas amostras foram normalizados e submetidos ao tratamento de análise de agrupamento (ou análise de Cluster).

A análise de agrupamento é uma técnica exploratória multivariada que permite reconhecer padrões de comportamento entre amostras ou entre variáveis. A finalidade principal da AA é reunir amostras (ou variáveis) de tal modo que aquelas pertencentes a um mesmo grupo sejam mais parecidas entre si do que com os objetos dos outros grupos (RAMOS e FERREIRA, 2015).

A análise dos resultados foi feita por meio do software de cálculos estatísticos STATISTICA 6.0.

6.4.5 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada aos resultados das concentrações de elementos presentes nas algas marinhas e seus derivados de modo a verificar quais variáveis são responsáveis pela separação ou formação dos grupos na análise de cluster. Para isto foi utilizado o software STATISTICA 6.0. A PCA é um método estatístico multivariado de transformação de dados que permite transformar um conjunto de variáveis iniciais, correlacionadas entre si, em um outro conjunto de variáveis não correlacionadas que são as chamadas componentes principais, que resultam das combinações lineares dos conjuntos iniciais (VICINI e SOUZA, 2005). A escolha do critério para composição das componentes principais que melhor explicam a variabilidade dos resultados obtidos foi o critério de Kaiser (ou a regra do eigenvalue) que sugere extrair apenas as componentes com valor de eigenvalue acima de um. Isso porque se o fator apresenta baixo eigenvalue, ele está contribuindo pouco para explicar a variância das variáveis originais (FIGUEIREDO FILHO e SILVA, 2010).

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Aquisição e preparação de amostras

As amostras de algas marinhas comestíveis e seus derivados foram adquiridas em supermercados e centros comerciais da cidade de São Paulo. Na TABELA 2 são apresentadas as diferentes espécies de alga, países de origem e as quantidades de amostras de cada procedência, analisadas no presente trabalho. As algas *Porphyra umbilicalis* (Nori) pertence ao filo Rhodophyta, *Hijikia fusiforme* (Hijiki), *Undaria pinnatifida* (Wakame) e *Laminaria sp* (Kombu) são pertencentes ao filo Ochrophyta, classe Phaeophyceae.

Tabela 2 - Espécies de algas e derivados, países de origem e quantidades adquiridas.

Algas marinhas e Derivados	Origem	Número de amostras
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China	1
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	Coreia	2
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	Japão	2
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	EUA	1
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão	2
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	China	2
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Coreia	1
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	China	3
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	Coreia	2
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Coreia	1
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Japão	2
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	China	2
Ágar	Brasil	3
Alginato De Sódio	China	1
Carragenana	Brasil	1

Fonte: autora da dissertação.

As amostras foram trituradas e homogeneizadas utilizando um liquidificador doméstico adaptado com lâmina de titânio e para algumas amostras foi necessário utilizar um almofariz de ágata.

7.2 Determinação da umidade das amostras de algas

Para a determinação da umidade nas amostras de algas, foram pesado cerca de 1 g de amostra em pesa filtro (previamente levado a peso constante) e deixado em estufa a 850C por 24 horas.

7.3 Materiais de referência certificados

A utilização de materiais de referência certificado é necessária, pois é através da análise desses materiais que é possível obter o controle de qualidade da técnica utilizada e, a partir dos resultados, validar as metodologias empregadas no presente estudo.

7.4 Análise por ativação com nêutrons instrumental

7.4.1 Preparação das amostras para a irradiação

Para as irradiações de curta duração (20s) foram pesados cerca de 50 mg das amostras de algas e dos materiais de referência certificados: Mixed Polished Herbs (MPH-2), IAEA-413 Algae, Whole Milk Powder (NIST RM 8435) e Whole Egg Powder (NIST RM 8415). As alíquotas foram pesadas em uma balança analítica (SHIMATZU) em invólucros de plástico, previamente desmineralizados com água deionizada e com ácido nítrico PA, diluído. As alíquotas utilizadas para as irradiações de longa duração pesavam cerca de 200 mg. A Figura 1 apresenta as alíquotas de amostras de algas preparadas para irradiação.

Figura 1 - Amostras de algas preparadas para irradiação

Fonte: autora da dissertação.

7.4.2 Preparação dos padrões sintéticos

A partir das soluções padrão certificadas da Spex CertiPrep USA, foram preparadas soluções padrão diluídas, simples ou multielementares, dos elementos de interesse As, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Fe, I, K, Mg, Mn, I, Na, Zn. As soluções padrão diluídas foram então pipetadas em tiras de papel filtro Whatman nº 40 com dimensões aproximadas de 1,8 cm x 6,0 cm. Em seguida, as tiras foram colocadas em um dessecador para secagem à temperatura ambiente por um período de 24 horas.

Após a secagem, as tiras foram dobradas e inseridas em invólucros de polietileno previamente desmineralizados. A Figura 2 apresenta os padrões sintéticos preparados para irradiação e na Tabela 3 são apresentadas as concentrações das soluções estoques e as quantidades pipetadas para cada elemento, para preparação dos padrões.

Figura 2 - Padrões sintéticos preparados para irradiação.

Fonte: autora da dissertação.

Tabela 3 - Dados dos padrões pipetados para INAA e ENAA.

Código do Padrão	Elemento	Concentração da solução original, mg/L	Solução diluída mg/L	Volume pipetado, µL	Massa no Padrão
As	As	1003 ± 2	9,988±0,027	25	2490 ng
Br	Br	999 ± 3	0,499±0,007	25	1,22 µg
Cl	Cl	10000 ± 100	ND	25	249,2 µg
Fe	Fe	10008 ± 30	ND	50	493,8 µg
	Ca	10012 ± 50		100	992,9 µg
	Zn	1003 ± 2		25	24,6 µg
I	I	34,4 ± 0,3	0,14 ± 0,02	50	6,8 µg
Mg	Mg	9997 ± 50	ND	100	997,9 µg
Na	Na	9994 ± 50	507,2 ± 0,5	25	12,6 µg
	Mn	1004 ± 2	202,5 ± 0,6		5,04 µg
	K	10018 ± 50	ND		1000,04 µg
Se	Cr	995 ± 6	101,0 ± 0,9	25	2,53 µg
	Se	996 ± 3	100,2 ± 1,2		2,51 µg
	Co	990 ± 3	99,6 ± 0,8	-	2,51 µg

ND. Solução não diluída.

Fonte: autora da dissertação.

7.4.3 Irradiação de curta duração das amostras e dos padrões (INAA)

As amostras de algas, derivados e materiais de referência certificados e os padrões foram irradiados por vinte segundos em fluxos da ordem de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no sistema pneumático do reator de pesquisa nuclear IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP. Os dados foram coletados com dois tempos de decaimentos distintos. Após 300 segundos, foram identificados os radioisótopos: ^{27}Mg , e ^{38}Cl e após cerca de 1h de decaimento das amostras e padrões foram detectados os elementos ^{42}K , ^{24}Na e ^{56}Mn .

7.4.4 Irradiação de curta duração das amostras e padrão com nêutrons epitérmicos (ENAA)

As irradiações epitérmicas foram realizadas para minimizar a ativação do Na pelos nêutrons térmicos, visto que o Cd possui alta seção de choque para

captura de nêutrons térmicos, sendo na ordem de 20600 barns (MUGHABGHAB, 2003).

Para as irradiações epitérmicas, as amostras de algas, materiais de referência e padrão de lodo foram colocados juntos em uma cápsula de Cd e irradiados por trinta segundos em fluxos da ordem de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no sistema pneumático do IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP. Após tempos de decaimento de cerca de 600 segundos, foi identificado o radioisótopo ^{128}I .

7.4.5 Irradiações de longa duração (8 horas) das amostras, materiais de referência e dos padrões por INAA

As amostras de algas, derivados, materiais de referência certificados e os padrões pipetados foram irradiados por 8 horas em fluxos da ordem de $4,5 \text{ a } 5,0 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no reator de pesquisa nuclear IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP. Após tempos de decaimento que variaram de 5 a 15 dias foram identificados os seguintes radioisótopos: ^{76}As , ^{82}Br , ^{46}Ca , ^{60}Co , ^{51}Cr , ^{59}Fe , ^{65}Zn .

7.4.6 Medidas das atividades induzidas

As medições das atividades dos radioisótopos produzidos nas irradiações das amostras e nos padrões foram feitas em espectrômetro de raios gama de germânio hiperpuro (HPGe) modelo GX3018, da Canberra com resolução de 1,64 keV para o fotopico de 1332,5 keV do ^{60}Co . A análise dos espectros foi realizada pelo programa GENIE 2000, que fornece as energias da radiação gama dos radioisótopos de interesse e as respectivas taxas de contagens. Por meio dessas análises, as concentrações dos elementos foram calculadas a partir da comparação das taxas de contagens dos picos referentes ao elemento nos padrões e nas amostras.

Os parâmetros nucleares dos radioisótopos identificados nas irradiações de curta e longa duração se encontram na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados nucleares dos radioisótopos identificados nas irradiações por INAA e ENAA.

Elemento	Radioisótopo	Energia (keV)*	Meia-Vida*
As	⁷⁶ As	559,10	26,32 h
Br	⁸² Br	554 e 776	35,3 h
Ca	⁴⁷ Ca	1297,09	4,54 d
Cl	³⁸ Cl	1642,69	37,24 min
Co	⁶⁰ Co	1173 e 1332	5,72 a
Cr	⁵¹ Cr	320	27,7 d
Fe	⁵⁹ Fe	1099 e 1291	44,5 d
I	¹²⁸ I	443 e 526	25 min
K	⁴² K	1524,58	12,36 h
Mg	²⁷ Mg	844 e 1014	9,46 min
Mn	⁵⁶ Mn	847 e 1811	2,58 h
Na	²⁴ Na	1368,68	14,96 h
Zn	⁶⁵ Zn	1115,6	243 d

*Retirado da referência IAEA TEC-DOC-564, 1990

Fonte: autora da dissertação.

7.4.7 Validação do método analítico por INAA.

A validação do método aplicado foi verificada por meio de análise de materiais de referência certificados, sendo eles Mixed Polish Herb (MPH-2 do Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT) e o material de referência IAEA-413 Algae). Os resultados mostraram erros relativos menores que 13% e desvios padrão relativos abaixo de 10%, como pode ser verificado nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Resultados obtidos para o material de referência Mixed Polished Herbs (MPH-2) por INAA.

ELEMENTO	Média ± DP ^a	DEP REL%	ER %	VALOR CERTIFICADO
As µg/kg	215 ± 26	12	13	191 ± 23
Br mg/kg	7,71 ± 0,84	11	0,03	7,71 ± 0,61
Ca mg/kg	12122 ± 1101	9,1	12	10800 ± 700
Cl %	2586 ± 148	5,7	8,9	2840 ± 200
Co mg/kg	233 ± 14	6,0	11	210 ± 25
Cr mg/kg	1,79 ± 0,27	15	6,0	1,69 ± 0,13
Fe mg/kg	504 ± 52	10	-	432 ^b
K %	1,89 ± 0,18	9,5	8,0	1,91 ± 0,12
Mg mg/kg	0,313 ± 0,026	8,3	6,3	0,292 ± 0,018
Mn mg/kg	183 ± 20	11	4,1	191 ± 12
Na %	0,0428 ± 0,0021	4,9	-	0,035 ^b
Zn mg/kg	35 ± 3	8,6	4,5	33,5 ± 2,1

a: média e desvio padrão de 5 determinações b: valor informativo; DP =Desvio padrão, DEP REL= desvio padrão relativo, ER=erro relativo

Fonte: autora da dissertação.

Tabela 6 - Resultados obtidos para o material de referência IAEA- 413 Algae.

ELEMENTOS	VALOR OBTIDO M ^a ± DP (mg/kg)	DEP REL (%)	ER (%)	VALOR CERTIFICADO (mg/kg)
As	113,7 ± 8,1	7,1	10	127 ± 6,6
Br	1,89 ± 0,16	8,6	-	-
Ca	3162 ± 240	7,5	0,6	3143 ± 112
Co	4,06 ± 0,17	4,1	4,3	4,24 ± 0,25
Cr	333 ± 22	6,6	12	377 ± 14
Fe	1305 ± 47	3,6	4,8	1370 ± 39
K	9609 ± 1146	12	10	10740 ± 270
Mg	4044 ± 637	15,7	0,3	4058 ± 117
Mn	150 ± 7,1	4,7	5,1	158 ± 3,4
Na	329 ± 38	11,6	12,2	375 ± 20
Zn	161,5 ± 9,6	5,9	4,4	169 ± 3,3

a: média e desvio padrão de 5 determinações

Fonte: autora da dissertação.

Para validar o método em relação à sua exatidão foram utilizados os valores de concentração determinados pelas análises dos materiais de referência

e foram comparados com os valores dos seus respectivos certificados pelo método de E_n -score (KONIECZKA e NAMIESNIK, 2009) utilizando a equação (7).

$$E_n = \frac{x_{lab} - x_{ref}}{\sqrt{u_{lab}^2 + u_{ref}^2}} \quad (10)$$

Onde x_{lab} e x_{ref} : valores de concentração determinados no laboratório e o valor do certificado, respectivamente; e u_{lab} e u_{ref} : incertezas obtidas pelo analista e a incerteza fornecida no certificado, respectivamente. Os valores de E_n -score entre -1 e 1 são considerados como sendo satisfatórios (KONIECZKA E NAMIESNIK, 2009). Nas Figuras 3 e 4 são apresentados os valores de E_n -Score obtidos para o material de referência Mixed Polished Herbs e do material da AIEA 413 Algae, respectivamente.

Figura 3 – Valores de E_n -Score obtidos para o material de referência Mixed Polished Herbs.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 4 - Valores de En-score obtidos para o material de referência IAEA-413 Algae.

Fonte: autora da dissertação.

Os valores de E_n -score apresentados nas Figuras 3 e 4 para os dois materiais de referência ficaram entre -1 e 1 para a maioria dos elementos para o material Mixed Polish Herb, ou seja, valores tidos como exatos segundo KONIECZKA e NAMIESNIK (2009). Para alguns elementos no material Algae, os valores de E_n -score ficaram entre -2 e 2, cujos valores podem ser considerados como aceitáveis dentro de um nível de confiança de 95 %.

7.4.8 Validação do método analítico para determinação de Iodo por ENAA.

Para esse estudo foram utilizados os materiais de referência certificados do NIST: Whole milk (NIST RM 8435) e Whole egg powder (NIST RM 8415). Esses materiais foram escolhidos pois apresentam valores certificados para o iodo que é um dos elementos alvo desse estudo. Os resultados mostraram erros relativos menores que 9% e desvios padrão relativos abaixo de 12%, como pode ser verificado na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados de concentração de I obtidos para os materiais de referência Whole Milk Powder (RM 8435) e Whole Egg Powder (RM 8415).

Materiais de referência	Valor Obtido ($M \pm DP$) ^a mg/kg	DP Rel%	ER%	Valor Certificado (mg/kg)
WHOLE MILK POWDER	2,50 $\pm$ 0,16	6,4	8,7	2,3 $\pm$ 0,4
WHOLE EGG POWDER	2,08 $\pm$ 0,24	11,5	5,6	1,97 $\pm$ 0,50

a = média aritmética e o desvio padrão de 3 determinações.

Fonte: Autora da dissertação.

Na Figura 5 são apresentados os valores de E_n -score para o elemento Iodo nos materiais de referência Whole Milk Powder e Whole Egg Powder.

Figura 5 - Valores de e En-score para o elemento Iodo nos materiais de referência Whole Milk Powder e Whole Egg Powder.

Fonte: autora da dissertação.

Os valores de E_n -score obtidos para o lodo nos materiais de referência apresentados foram menores do que 1; que são valores tidos como confiáveis segundo KONIECZKA e NAMIESNIK (2009).

7.5 Determinação de Cd, Cu e Pb por Espectrometria de Absorção Atômica (GF AAS)

7.5.1 Preparação das amostras para a determinação de Cd, Cu e Pb por Espectrometria de Absorção Atômica (GF AAS)

Cerca de 0,300 g de algas, derivados e os materiais de referência certificados foram pesados em tubos compostos de perfluoroalcoxi-fluorcarbono (Xpress – MARS6/CEM). Após pesagem, foram adicionados 10 mL de HNO₃ PA, 1mL de peróxido de hidrogênio e 1mL de ácido fluorídrico concentrado. Os tubos foram deixados em repouso durante a noite. No dia seguinte, os tubos foram levados ao forno micro-ondas (MARS-6/CEM) e as amostras foram digeridas usando o programa *Food*, que já vem instalado no forno microondas, com uma potência de 1030 a 1800 W com temperatura de 210° C e tempo de duração de 25 minutos. Após o total resfriamento, as amostras são avolumadas para 25 mL com água MILLIQ (ultra pura) e levadas para o espectrômetro de AAS, modelo ANALYST 800 da Perkin Elmer. Também foi preparado um branco analítico, que consiste em uma solução preparada da mesma forma que o procedimento de digestão da amostra, com a diferença de que não foi utilizada amostra para dissolução.

O forno de grafite do equipamento de GF AAS utilizado passa por várias etapas de aquecimento eletrotérmico as quais correspondem a uma etapa do procedimento operacional. Estas etapas e suas correspondentes temperaturas são apresentadas na Tabela 8, juntamente com as suas taxas de aquecimento (rampa de aquecimento) e tempo de duração de cada etapa (patamar).

A leitura da absorbância da amostra ocorre na etapa de atomização e após isto, o forno passa pelos processos de limpeza e secagem. Os parâmetros apresentados na Tabela 8 foram os utilizados nas determinações de Cd, Cu e Pb.

Tabela 8 - Condições de temperatura, rampa de aquecimento e patamar para cada etapa de aquecimento do forno de grafite na análise por GF AAS para as determinações de Cd, Cu e Pb

Etapa	Temperatura (°C)			Rampa de aquecimento (°C s ⁻¹)	Patamar (s)
	Cd	Cu	Pb		
Secagem 1	110	110	110	1	250
Secagem 2	130	130	130	15	250
Pirolise	500	1200	850	10	250
Atomização	1500	200	1600	0	0
Limpeza	2450	2450	2450	1	250

Fonte: autora da dissertação.

Para a construções das curvas de calibração, foram utilizadas soluções de Cd, Cu e Pb previamente preparadas a partir de soluções padrão certificadas da marca Spex CertiPrep USA. Utilizando HNO₃ (0,3%) como diluente, o auto amostrador do equipamento de GF AAS realiza sucessivas diluições das soluções para a determinação de suas respectivas absorbâncias. Na Tabela 9 são apresentados os valores de concentrações das soluções utilizadas para a construção das curvas de calibração, bem como os valores de coeficientes angulares (slope), linear (intercept) e de determinação (R²) obtidos a partir do ajuste linear das curvas obtidas.

Tabela 9 - Valores das concentrações e soluções utilizadas para construção da curva de calibração.

Solução Padrão	Cd (µg L)	Cu (µg L)	Pb (µg L)
Branco da calibração	0	0	0
1	1,395	40,50	6,109
2	2,790	81,00	12,217
3	4,184	121,51	18,326
4	5,579	162,02	24,434
5	6,974	202,52	30,543
Coeficiente angular (Slope)	0,07616	0,00308	0,00072
Coeficiente linear (Intercept)	0,00830	0,04303	0,00013
Coeficiente (R ²)	0,999327	0,988812	0,990552

Fonte: autora da dissertação.

7.5.2 Validação para a determinação de Cd, Cu e Pb por GF AAS

Para a validação da metodologia, os resultados obtidos por GF AAS dos os seguintes materiais de referência certificados, Mixed Polish Herb (MPH-2 do Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT)), material de referência IAEA-413 Algae e Oyster Tissue NIST 1566b SRM, são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Resultados de Cd, Cu e Pb para materiais de referência certificados por GF AAS.

Materiais de Referência	Elemento	Média ± DP^a mg/kg	DPR %	Er	Valor Certificado, mg/kg
MPH-2	Cd	0,206 ± 0,016	7,8	3,5	0,199 ± 0,015
	Cu	6,88 ± 0,48	6,9	11	7,77 ± 0,53
	Pb	1,71 ± 0,09	5,7	21	2,16 ± 0,23
IAEA-413 Algae	Cd	211,9 ± 3,5	3,9	3,9	204 ± 8,5
	Cu	13,6 ± 2,9	21	22	11,1 ± 0,5
	Pb	206,0 ± 4,5	2,2	15	242 ± 7
Oyster Tissue - 1566b	Cd	2,32 ± 0,17	7,2	6,5	2,48 ± 0,08
	Cu	60,0 ± 4,3	16	16	71,6 ± 1,6
	Pb	0,330 ± 0,03	8,4	6,5	0,308 ± 0,009

a: média e desvio padrão de 3 determinações

Fonte: autora da dissertação.

Os resultados mostraram erros relativos menores que 17%, exceto para Pb no MPH-2 e Cu em IAEA-413 Algae. Em relação aos desvios padrão relativos, os resultados mostraram-se satisfatórios (aproximadamente 10%) para os materiais analisados, exceto para Cu em IAEA-413 Algae e Oyster Tissue, no qual os desvios padrão relativos foram de 21% e 16%, pois para o material IAEA-413 Algae o valor obtido ficou acima do valor certificado. Como esse material apresenta uma alta concentração de Cu, foram necessárias diversas diluições para a determinação desse elemento, o que provavelmente provocou o erro maior nas leituras.

No gráfico da Figura 6 são apresentados os valores de E_n -score para os elementos determinados por AAS. Os resultados mostram boa exatidão para os elementos determinados, com exceção das medidas de Pb para o material de

referência IAEA-413, em que a concentração determinada ficou inferior ao valor fornecido pelo certificado.

Figura 6 - Valores de En-score para os elementos Cd, Cu, Pb nos materiais de referência Mixed Polish Herbs (MPH-2), IAEA-413 Algae e Oyster Tissue.

Fonte: autor da dissertação.

7.6 Limite de detecção dos elementos na análise de algas marinhas comestíveis e seus derivados.

Os resultados dos limites de detecção (L_D) dos resultados das concentrações dos elementos analisados pelas técnicas de ENAA e INAA em amostras de Nori, Hijiki, Kombu, Wakame e seus derivados Agar, Alginato de Sódio e Carragenana são apresentados na Tabela 11. Os valores de L_D foram inferiores às concentrações obtidas, indicando que o procedimento do método aplicado é adequado para a determinação destes elementos.

Os valores do limite de detecção para INAA e ENAA dependem da matriz, das condições de irradiação e contagem.

Tabela 11 - Limites de detecção de elementos obtidos em algas marinhas e seus derivados por INAA e ENAA.

Elementos	Ágar LD	Hijiki LD	Kombu LD	Nori LD	Wakame LD	Alginato de sódio LD	Carragenana LD
As, µg/kg	27	56	479	139	257	140	87
Br, mg/kg	0,03	0,35	0,36	0,18	0,13	1524	0,09
Ca, mg/kg	0,03	220	7980	256	259	1357	748
Cl %	0,0015	0,0080	0,0257	0,0088	0,0262	0,0053	0,0180
Co, µg/kg	1,52	2,80	2,35	3,34	2,46	1,19	2,19
Cr, µg/kg	0,02	0,19	0,06	0,05	0,07	0,02	0,04
Fe, mg/kg	1,27	3,67	1,46	2,20	1,84	0,75	1,10
I, mg/kg	0,55	2,86	7,73	3,54	3,07	1,41	1,07
K %	0,0101	0,0650	0,0775	0,0585	0,1788	0,0530	0,0927
Mg %	0,0036	0,0100	0,1130	0,0212	0,0620	0,0511	0,2102
Mn µg/kg	0,05	0,31	0,33	0,22	1,00	0,27	0,39
Na %	0,0002	0,0015	0,0016	0,0010	0,0044	0,0013	0,0017
Zn, mg/kg	0,06	0,11	0,08	0,11	0,11	0,04	0,07

Fonte: autora da dissertação.

Os valores de limite de detecção para Cd, Cu e Pb, determinados por Espectrometria de Absorção Atômica, nas amostras de algas marinhas foram de 1,2 ng/kg, 154 ng/kg e 20 ng/kg, respectivamente. No método de GF AAS os limites de detecção são calculados na leitura (10 vezes) do branco analítico.

8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.1 Concentração dos elementos nas amostras de algas marinhas comestíveis e seus derivados determinados por INAA de curta duração.

Vinte e uma amostras pertencentes a quatro espécies de algas comestíveis e cinco amostras de derivados foram analisadas pela INAA de curta duração. A Tabela 12 apresenta os valores de concentração dos elementos essenciais obtidos pela média aritmética de medidas em duplicadas. Todos os resultados apresentados estão relacionados ao peso seco (ps) das amostras.

Tabela 12 - Resultados das concentrações e desvios padrão obtidos por INAA de curta duração (valores em peso seco).

Espécie	Origem	Mn mg/kg*	Cl %*	K%*	Mg%*	Na%*	Na/K
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China	30±3 ^a	0,756±0,086 ^a	1,69±0,29 ^a	0,382±0,020 ^a	1,02±0,12 ^a	0,60
	Coréia I	36±3 ^{a,b}	0,537±0,034 ^{a,b}	1,78±0,22 ^b	0,296±0,011 ^b	0,747±0,074 ^{a,b}	0,42
	Coréia II	30±3 ^{a,b}	0,964±0,206 ^c	1,95±0,28 ^{a,b,c}	0,319±0,003 ^{a,c}	0,761±0,074 ^{a,b,c}	0,39
	Japão I	14,6±0,8 ^c	1,29±0,0,09 ^d	2,84±0,24 ^d	0,340±0,026 ^{a,d}	0,516±0,021 ^d	0,18
	Japão II	393±10 ^d	2,22±0,06 ^e	2,78±0,13 ^d	4,48±0,14 ^f	0,638±0,019 ^{b,c,d,e}	0,23
	EUA	35±3 ^{a,b,e}	0,984±0,066 ^{b,f}	2,11±0,32 ^{a,b,c,f}	0,439±0,053 ^{a,b,c,g}	0,817±0,057 ^{b,c,d,f}	0,39
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão I	23,3±1,8 ^a	0,896±0,083 ^a	3,89±0,22 ^a	0,756±0,080 ^a	1,02±0,07 ^a	0,26
	Japão II	32,9±3,3 ^b	0,484±0,032 ^{a,b}	3,11±0,15 ^b	0,663±0,049 ^a	0,812±0,046 ^b	0,26
	China I	27,5±0,9 ^{a,b,c}	2,05±0,22 ^c	1,50±0,09 ^c	0,662±0,087 ^a	1,44±0,07 ^c	0,96
	China II	38,0±7,7 ^{b,d}	1,85±0,04 ^{c,d}	5,96±0,31 ^d	0,704±0,052 ^a	1,63±0,06 ^d	0,27
	Coréia	20,3±1,6 ^{a,c,e}	0,614±0,061 ^{a,b,e}	3,89±0,53 ^{a,e}	0,533±0,069 ^a	1,13±0,02 ^{a,e}	0,29
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Japão I	5,28±0,52 ^a	11,4±1,1 ^a	4,90±5,95 ^a	0,974±0,121 ^a	4,3±0,4 ^a	0,88
	Japão II	3,57±0,11 ^b	10,7±2,3 ^a	7,66±0,07 ^a	0,909±0,048 ^{a,b}	2,8±0,2 ^b	0,37
	China I	2,27±0,07 ^c	6,88±0,12 ^a	13,6±0,1 ^a	0,342±0,034 ^c	2,40±0,05 ^{b,c}	0,18
	China II	-	-	-	-	-	-
	Coréia	2,5±0,2 ^{c,d}	10,16±0,48 ^a	9,6±0,9 ^a	0,572±0,004 ^d	2,60±0,25 ^{b,c,e}	0,27
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	Coréia	15,1±2,0 ^a	10,3±1,6 ^a	0,326±0,008 ^a	0,935±0,086 ^a	7,60±0,03 ^a	23,31
	Coréia II	2,09±0,21 ^{a,b}	7,7±0,8 ^b	0,279±0,029 ^{a,b}	1,03±0,065 ^a	6,38±0,34 ^b	22,87
	China I	15,1±2,0 ^{a,b,c}	13,5±1,7 ^c	0,523±0,057 ^{a,c}	0,438±0,004 ^a	9,56±0,21 ^c	18,28
	China II	9,83±0,75 ^{a,b,c,d}	2,32±0,03 ^{c,d}	0,359±0,008 ^{b,d}	0,983±0,075 ^a	1,56±0,16 ^c	4,35
	China III	184±12 ^e	0,430±0,029 ^e	1,09±0,01 ^e	0,630±0,014 ^a	9,98±0,07 ^d	9,16
<i>Agar</i>	Brasil	5,68±0,86 ^a	0,091±0,001 ^a	0,028±0,003 ^a	0,015±0,001 ^a	0,039±0,003 ^a	1,39
	Brasil	4,81±0,56 ^{a,b}	0,099±0,001 ^{a,b}	0,034±0,002 ^{a,b}	0,0150±0,0001 ^a	0,048±0,002 ^{a,b}	1,41
	Brasil	57,4±7,8 ^c	0,089±0,004 ^{a,c}	0,472±0,072 ^c	0,019±0,004 ^a	0,471±0,052 ^c	1,00
<i>Alginato</i>	China	0,543±0,002	0,195±0,020	0,035±0,001	>LD	4,67±0,21	133,43
<i>Carragenana</i>	Brasil	9,93±0,46	12±1	16±3	1,40±0,04	1,50±0,14	0,09

* média e desvio padrão de 3 determinações. Letras iguais são consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05.

Fonte: autora da dissertação

Utilizando os valores de concentração obtidos dos elementos Cl, K, Mg, Mn e Na nas amostras foi realizada a análise de dispersão dos valores das

concentrações desses elementos em relação aos países de origem para cada espécie, que são apresentados nos box plots das Figuras 7 até 11.

Figura 7 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie *Porphyra Umbilicalis* (Nori).

Fonte: autora da dissertação

Figura 8 – Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie *Hijikia fusiforme* (Hijiki).

Fonte: autora da dissertação

Figura 9 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie *Laminaria sp* (Kombu).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 10 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para a espécie *Undaria pinnatifida* (Wakame).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 11 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida curta para Agar.

Fonte: autora da dissertação.

Pode-se observar grande variabilidade entre as espécies de algas marinhas em relação ao conteúdo de Cl, K, Mg, Mn e Na. A maior variabilidade foi encontrada para Mn na espécie *Undaria pinnatifida* (Wakame) em diferentes países, corroborando com COFRADES *et al.* (2010), que sugere que as concentrações dos elementos nas algas marinhas são fortemente dependentes da espécie e das condições ambientais. No entanto, a espécie *Hijikia fusiforme* (Hijiki) em algas de diferentes países apresentou níveis semelhantes dos elementos Mg, Mn e Na.

O teor de cloro das algas marinhas variou de 0,537% de peso seco na espécie *Porphyra umbilicalis* (Nori- Coréia) a 2,22 % em *Porphyra umbilicalis* (Nori-Japão). HOU e YAN (1998) observaram que as concentrações de Cl em algas marinhas também são altamente variáveis e para as mesmas espécies de algas. A maior variação foi observada na espécie *Undaria pinnatifida* (Wakame).

As amostras de *Porphyra umbilicalis* apresentaram as maiores concentrações de Mn, de 14,5 a 393 mg/kg peso seco (ps). As concentrações de Mg nas algas variaram do intervalo de 0,296 a 1,03 mg/kg ps.

A maior concentração de Na foi observada em *Undaria pinnatifida* (1,56-9,98,5%), cerca de 10 vezes maior que *Porphyra umbilicalis* (0,516 a 1,02% ps) e *Hijikia fusiforme* (0,812 a 1,63% ps). Resultado semelhante foi obtido por Dawczynski *et al.* (2007), em contraste, *Undaria pinnatifida* apresentou as menores concentrações de K (0,279 a 1,09% ps).

Segundo DAWCZYNSKI *et al.* (2007), o consumo de alimentos com alto quociente da relação Na/K pode causar hipertensão. Neste estudo, a relação Na/K é baixa, cerca de 0,18 - 0,92 para *Porphyra umbilicalis*, *Hijikia fusiforme* e *Laminaria sp.* Por outro lado, a relação Na/K foi alta para *Undaria pinnatifida*, cerca de 20 vezes maior que as outras algas analisadas (4,35-22,87).

8.2 Resultados de concentrações de I nas amostras de algas para ENAA de curta duração

Vinte e uma amostras de quatro espécies de algas marinhas comestíveis e três derivados foram analisadas por ENAA de curta duração.

A Tabela 13 apresenta os resultados médios para o I nas algas, obtidas em duplicadas. Todos os resultados apresentados estão relacionados ao peso seco das amostras.

As dispersões dos valores das concentrações do I em relação aos países de origem para cada espécie são apresentadas nos box plots das Figuras 12 a 16.

Esses resultados, assim como os anteriores, mostraram variabilidade entre as espécies em relação à concentração de determinados elementos. Os valores de desvio padrão relativo (DP%) variaram de 0,9 a 20%, sendo que, para todas as amostras de *Undaria pinnatifida* (Wakame) os DP% foram os mais altos, devido provavelmente às altas concentrações de Na. Como esperado, as algas pardas apresentaram concentrações mais elevadas, pois de acordo com a literatura é o grupo que apresenta maior afinidade para este elemento. No estudo de NAGATAKI em 2008, as algas da espécie *Laminaria* sp (Kombu) apresentaram teores de 0,3% de I (ps) e *Undaria* sp (Wakame) apresentou teores de 0,02–0,03%(ps), já para a alga vermelha *Porphyra* (Nori) o resultado foi <0,01%(ps).

FUKUSHIKA E CHATT (2012) também obtiveram altas concentrações de I em algas pardas, sendo elas: *Undaria pinnatifida* (Wakame) e *Hijikia fulsiforme* (Hijiki). Hijiki apresentou o teor de I de 514 ± 5.9 mg/kg e Wakame 156 ± 2.6 mg/kg.

Neste trabalho foi possível observar essa mesma tendência de maiores concentrações de I em algas pardas em relação às algas vermelhas. *Porphyra umbilicalis* apresentou teor mais alto de $114,09 \pm 0,02$ mg/kg ps, já *Laminaria* sp (Kombu) apresentou 9962 ± 121 mg/kg os. *Hijikia fulsiforme* (Hijiki) também apresentou altos teores de I, 1494 ± 252 mg/kg (ps) em relação a *Undaria pinnatifida* (Wakame) de 566 ± 109 mg/kg (ps).

Tabela 13 - Resultados de concentração de I nas amostras de algas por ENAA em base seca.

Espécie	Origem	I mg/kg Média ± DP*	DP rel (%)
<i>Porphyra umbicatus</i> (Nori)	China	44 ± 9 ^a	20
	Coreia	33 ± 4 ^{a, b}	12
	Japão	76,9 ± 12,0 ^c	15
	EUA	54,5 ± 9,6 ^{e, c}	17
	Coreia	33,4 ± 2,4 ^{a, b}	7
	Japão	114,09 ± 0,02 ^d	1,0
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão	734,6 ± 11,8 ^a	1,6
	China	1974 ± 94 ^b	4,8
	Coreia	1364 ± 13 ^{c, d}	0,9
	Japão	836 ± 9 ^a	1,1
	China	1494 ± 252 ^{b, d}	17
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Coreia	9962 ± 121 ^a	1,2
	Japão	6810 ± 435 ^b	6,4
	China	2826 ± 301 ^c	8,4
	Japão	4761 ± 195 ^d	4,1
	China	2591 ± 28 ^c	11,1
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	China	126 ± 12 ^a	9,7
	Coreia	398 ± 66 ^{a, b, c, d}	16,5
	China	468 ± 80 ^{b, c, d}	17,1
	China	267 ± 45 ^{b, c}	16,8
	Coreia	566 ± 109 ^d	19,3
Agar	Brasil	8,29 ± 0,08 ^a	0,94
	Brasil	10,6 ± 2,3 ^{a, b}	21,3
	Brasil	4,03 ± 0,73 ^{a, c}	18,1
Alginato	China	3,93 ± 0,93	23,7
Carragenana	Brasil	25,6 ± 3,2	12,8

média e desvio padrão de 3 determinações. letras iguais são consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05.

Fonte: autora da dissertação

Figura 12 - Representação box plot da concentração do elemento I para *Agar*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 13 - Representação box plot da concentração do elemento I para *Kombu*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 14 - Representação box plot da concentração do elemento I para *Hijiki*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 15 - Representação box plot da concentração do elemento I para *Wakame*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 16 - Representação box plot da concentração do elemento I para *Nori*.

Fonte: autora da dissertação

8.3 Resultado das concentrações dos elementos nas amostras de algas por INAA de longa duração

Vinte e uma amostras de quatro espécies diferentes de algas comestíveis e três amostras de derivados de algas marinhas comestíveis foram analisadas por INAA de longa duração. Na Tabela 14 são apresentados os resultados médios para os elementos essenciais nas algas, obtidas a partir de determinações em triplicatas. Todos os resultados apresentados estão relacionados ao peso seco das amostras.

As dispersões dos valores das concentrações dos elementos em relação aos países de origem para cada espécie são apresentadas nos boxplots das Figuras 17 até 21.

Foi possível observar a grande variabilidade entre as espécies de algas marinhas em relação ao seu conteúdo. *Porphyra*, em relação aos elementos As e Ca, apresentou baixas concentrações em relação às espécies *Hijikia fusiforme* e *Laminaria sp.* No entanto, a espécie *Porphyra umbilicalis* apresentou níveis maiores de Co em relação às outras espécies analisadas. *Hijikia fusiforme* apresentou as maiores concentrações para todos os outros elementos, porém, chama a atenção

os altos teores de As, que é considerado tóxico. Foi possível verificar também, dentro dessa mesma espécie, que o fator origem não interfere, pois apresentam níveis semelhantes dos elementos As e Ca.

Tabela 14 - Resultados de concentrações e desvios padrão obtidos por INAA de longa duração na base seca.

Espécie	Origem	As (µg/kg) *	Br (mg/kg)*	Ca (mg/kg)*	Co (µg/kg)*	Cr (µg/kg)*	Fe (mg/kg)*	Zn (mg/kg)*
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China	21,5±2,6 ^{a,b,c,e}	55±6 ^a	2159±184 ^a	0,199±0,030 ^a	0,581±0,084 ^a	202±28 ^a	26,0±0,4 ^a
	Coréia I	18,5±1,7 ^{a,d}	37±3 ^{a,b}	1817±333 ^b	0,154±0,003 ^b	0,299±0,164 ^a	206±25 ^b	28±3 ^b
	Coréia II	26,7±0,3 ^{b,e,f}	53±2 ^a	2736±56 ^c	0,229±0,030 ^c	0,0014±0,0003 ^a	213±20 ^c	33±5 ^c
	Japão I	13,1±1,3	155±9	2320±261 ^{a,d}	0,106±0,057 ^d	0,304±0,144 ^a	49±3 ^{abcd}	26±4 ^{c,d}
	Japão II	21,6±1,1 ^{c,d,e,g}	320±41	5669±293 ^e	0,139±0,018 ^e	0,0016±0,0002 ^b	393±46 ^{a,b,c,d}	124±0,5 ^{a,b,c,e}
	EUA	18,6±1,1 ^{e,f,g}	89±3 ^b	3118±320 ^{c,e}	0,258±0,082 ^f	0,292±0,058 ^a	201±21 ^d	27±2 ^{a,e}
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão I	69±8 ^a	192±3 ^a	14636±899 ^a	0,103±0,037 ^a	0,276±0,150 ^a	58±4 ^a	38±2 ^a
	Japão II	86±3 ^{a,b}	138±10 ^b	16531±224 ^{a,b}	0,444±0,027 ^b	4,7±1,3 ^b	997±106 ^b	65±7 ^b
	China I	75±6 ^{b,c}	165±3 ^{b,c}	15326±2444 ^{a,b,c}	0,427±0,023 ^{b,c}	2,52±0,44 ^c	870±134 ^b	16±2 ^c
	China II	78 ±11 ^{a,b,c,d}	130±2 ^{b,c,d}	12659±791 ^{a,b,c,d}	0,239±0,015 ^d	4,63±0,39 ^{b,d}	468±2 ^d	24±1 ^{c,d}
	Coréia	145±6 ^e	181±23 ^{a,e}	19363±1222 ^{b,e}	0,398±0,027 ^{b,d}	1,51±0,20 ^e	541±53 ^e	26±2 ^{a,b,c,d,e}
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Japão I	56,7±4,6 ^a	189±6 ^a	9902±6196 ^a	0,085±0,005 ^a	0,123±0,003 [#]	37±3 ^a	19±2 ^a
	Japão II	60,5±2,8 ^{a,b}	138±10 ^{a,b}	10089±200 ^a	0,118±0,009 ^b	2,7±0,4	64±10 ^b	21±2 ^{a,b}
	China I	81,3±7,2 ^c	158±14 ^{b,c}	6879±428 ^a	0,052±0,005 ^c	0,16±0,02	40,7±0,7 ^{b,c}	11±1 ^c
	China II	129 ±5 ^d	131±2 ^d	5461±452 ^a	0,018±0,007 ^d	0,116±0,009	59,5±0,6 ^d	25±3 ^{b,d}
	Coréia	56,7±0,6 ^{a,b,e}	175±24 ^{b,e}	13316±1217 ^a	0,059±0,002 ^{c,e}	0,196±0,089 [#]	58±3 ^{b,d,e}	58±18 ^e
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	Coréia	80,2±3,0 ^a	195±11 ^a	14659±627 ^a	0,392±0,102 ^a	1,91±0,04 ^a	562±23 ^a	33±1 ^a
	Coréia II	47,8±4,7 ^b	341±23 ^b	9927±383 ^b	0,119±0,006 ^b	0,67±0,22 ^b	135±3 ^b	41±3 ^{a,b}
	China I	30,0±2,0 ^c	166±11 ^c	6374±751 ^c	0,212±0,014 ^{b,c}	0,637±0,041 ^{b,c}	248±14 ^c	38±5 ^{b,c}
	China II	40,2±4,9 ^{b,c,d}	382±18 ^{b,d}	13018±777 ^d	0,189±0,006 ^{c,d}	0,855±0,066 ^{b,c,d}	256±24 ^c	73±3 ^{a,c,d}
	China III	38,4±1,8 ^{c,d,e}	115±2 ^{b,c,d}	9448±315 ^{b,e}	0,178±0,026 ^{c,d,e}	0,823±0,036 ^{b,d,e}	198±9 ^d	76±4 ^{d,e}
<i>Agar</i>	Brasil	169±25 ^a	6,6±0,2 ^a	808±27 ^a	0,082±0,005 ^a	0,86±0,11 ^a	157±7 ^a	4,4±0,1 ^a
	Brasil	190±5 ^a	10±1 ^b	837±23 ^a	0,066±0,001 ^a	0,90±0,26 ^a	106±10 ^b	4,2±0,4 ^a
	Brasil	157±9 ^a	7,2±0,1 ^c	2241±127 ^b	0,343±0,011 ^b	0,54±0,10 ^b	42±3 ^c	2,9±0,1 ^b
<i>Alginato</i>	China	211±15	6,71±0,15	938±62	0,076±0,001	0,45±0,01	18±2	2,1±0,2
<i>Carragenana</i>	Brasil	921±116	145±16	28233±795	1,07±0,11	2,93±0,17	134±4	8,2±0,7

* média e desvio padrão de 3 determinações. letras iguais são consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05. #resultados em mg/kg.
Fonte: autora da dissertação

Figura 17 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie *Porphyra umbilicalis* (*Nori*).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 18 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie *Hijikia fusiforme* (*Hijiki*).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 19 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie *Laminaria sp (Kombu)*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 20- Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para a espécie *Undaria pinnatifida (Wakame)*.

Fonte: autora da dissertação.

Figura 21 - Representação box plot da concentração dos elementos de meia vida longa para *Agar*.

Fonte: autora da dissertação.

8.4 Resultados das concentrações de Cd, Cu e Pb por GF AAS em amostras de algas

Os resultados mostraram que há uma diferença de concentração dos elementos entre as espécies de algas e os diferentes locais de origem, como apresenta a Tabela 15.

As dispersões dos valores das concentrações dos elementos em relação aos países de origem para cada espécie são apresentadas nos boxplots das Figuras 21 até 25.

A espécie *Porphyra umbilicalis* (Nori) apresentou a maior variação na concentração de Cd, cujos valores foram de 0,112 mg/kg a 2,072 mg/kg. BESADA *et al* (2009) obtiveram as mais altas concentrações de Cd em *Undaria pinnatifida* (Wakame) de 0,267 a 4,82 mg/kg.

Para Cu foram verificadas as maiores concentrações em *Porphyra umbilicalis* (6,099 mg/kg a 14,2 mg/kg) e *Hijikia Fulsiforme* (7,26 mg/kg a 16,7 mg/kg). RUBIO *et al* (2017) analisaram algas vermelhas e pardas e verificaram

que as algas vermelhas possuem altos teores de Cu ($2,20 \pm 0,03$ mg/kg) em relação às pardas ($0,94 \pm 0,37$ mg/kg). Porém, no presente estudo, foi observado que na *Hijikia fulsiforme*, espécie de alga parda, o comportamento foi diferente, uma vez que este grupo apresentou as maiores concentrações de Cu.

Em relação ao Pb, o grupo que apresentou a maior concentração desse elemento foi a amostra Japão II da espécie *Hijikia fusiforme* (Hijiki) de 1,390 mg/kg. As concentrações de Pb para *Porphyra umbilicalis* (Nori) apresentaram uma grande variação, dentro da mesma espécie, com concentrações que variaram de 0,080 mg/kg a 0,545mg/kg.

As concentrações de Pb para as amostras de *Laminaria sp* ficaram abaixo do limite de detecção. RUBIO *et al* (2017) determinaram teores de Pb de 0,05 mg/kg para algas pardas e de 0,11 mg/kg para algas vermelhas.

Levando em consideração que qualquer valor de Pb é considerado tóxico para o organismo, o consumo dessa alga deve ser moderado.

Tabela 15 - Resultados obtidos para Cd, Cu, e Pb por GF AAS para as amostras de algas marinhas e derivados (base seca).

Espécie	Origem	Elementos (mg/kg)		
		Cd	Cu	Pb
		Média ± DP*	Média ± DP*	Média ± DP*
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China I	1,739 ± 0,057 ^a	14,2 ± 2,0 ^a	0,080 ± 0,020 ^a
	Coréia I	1,99 ± 0,35 ^{a, b}	7,54 ± 0,16 ^{b, e}	0,328 ± 0,023 ^b
	Coréia II	1,58 ± 0,24 ^{a, b}	78,4 ± 1,7 ^c	0,257 ± 0,010 ^{b, c}
	Japão I	0,206 ± 0,022 ^c	6,10 ± 0,66 ^{b, d}	0,422 ± 0,020 ^{b, d}
	Japão II	0,112 ± 0,031 ^c	8,37 ± 0,54 ^{d, e}	0,545 ± 0,080 ^{d, e}
	EUA	2,07 ± 0,21 ^{a, b, d}	10,95 ± 0,93 ^{a, b, d, f}	0,284 ± 0,086 ^{b, c, d, f}
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	China I	1,49 ± 0,22 ^a	7,26 ± 0,75 ^a	0,56 ± 0,13 ^a
	China II	1,87 ± 0,10 ^{a, b}	16,7 ± 2,8 ^b	0,318 ± 0,057 ^{a, b, c}
	Coréia	0,772 ± 0,080 ^c	1,64 ± 0,14 ^c	0,350 ± 0,083 ^{a, c}
	Japão I	0,709 ± 0,074 ^b	8,01 ± 0,33 ^{a, d}	0,856 ± 0,092 ^d
	Japão II	2,10 ± 0,18 ^b	10,10 ± 0,80 ^{a, d, e}	1,390 ± 0,076 ^e
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	China I	1,65 ± 0,13 ^a	2,045 ± 0,037 ^a	0,98 ± 0,18 ^a
	China II	1,91 ± 0,15 ^b	1,889 ± 0,078 ^a	0,63 ± 0,12 ^{a, b}
	China III	1,830 ± 0,022 ^c	3,10 ± 0,69 ^{a, b}	0,257 ± 0,073 ^{b, c}
	Coréia I	1,59 ± 0,10 ^d	0,791 ± 0,088 ^{a, c}	0,320 ± 0,076 ^{b, c, d}
	Coréia II	1,67 ± 0,18 ^e	1,960 ± 0,078 ^a	0,295 ± 0,033 ^{b, c, d, e}
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	China I	0,867 ± 0,050 ^a	0,859 ± 0,010 ^a	<LD
	China II	0,752 ± 0,046 ^b	0,208 ± 0,031 ^b	<LD
	Coréia	0,296 ± 0,054 ^{b, c}	0,370 ± 0,070 ^{b, c, d}	<LD
	Japão I	0,95 ± 0,15 ^a	0,314 ± 0,046 ^{b, d, e}	<LD
	Japão II	0,0811 ± 0,0045 ^a	0,339 ± 0,065 ^{b, c, d, e}	<LD
Ágar	Brasil	0,161 ± 0,019 ^a	0,92 ± 0,11 ^a	0,547 ± 0,043 ^a
	Brasil	0,162 ± 0,022 ^a	0,861 ± 0,091 ^a	0,455 ± 0,051 ^a
	Brasil	0,064 ± 0,010 ^b	0,336 ± 0,065 ^b	0,316 ± 0,032 ^b
Alginato de Sódio	China	0,0667 ± 0,0077	0,168 ± 0,025	0,072 ± 0,020
Carragenana	Brasil	0,5213 ± 0,0067	0,804 ± 0,083	<LD

* = média e desvio padrão de 3 determinações, LD= abaixo do limite de detecção,. Letras iguais são consideradas estatisticamente iguais a um nível de significância de 0,05

Fonte: autora da dissertação

Figura 22 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie *Porphyra Umbilicalis* (Nori)

Fonte: autora da dissertação.

Figura 23 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie *Hijikia fulsiforme* (Hijiki).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 24 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd e Cu para a espécie *Laminaria sp.* (Kombu).

Fonte: autor da dissertação.

Figura 25 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para a espécie *Undaria pinnatifida* (Wakame).

Fonte: autora da dissertação.

Figura 26 - Representação Boxplot da concentração dos elementos Cd, Cu e Pb para Agar.

Fonte: autora da dissertação.

8.5 Resultados das concentrações dos derivados de algas marinhas.

As macroalgas são uma fonte muito rica em polissacarídeos, mais especificamente em polissacarídeos sulfatados. Estes compostos são recursos importantes para a indústria alimentar, pois são aditivos com capacidade gelificante e espessante, de que são exemplos os alginatos, o agar e as carragenanas (FONSECA, 2016). As concentrações obtidas nesse estudo para Ágar, Alginato de sódio e Carragenana, derivados das algas marinhas, para a maioria dos elementos determinados em relação às outras espécies, foram baixas.

O elemento que apareceu em maior concentração para todos os derivados foi o Ca, elemento essencial para o organismo humano.

O Alginato de sódio, dentre os derivados, apresentou as menores concentrações para todos os elementos determinados.

As concentrações de Cd e Cu para Carragenana chamam a atenção, pois são as maiores entre os derivados; os valores obtidos para Cd não chegam a

ultrapassar o limite máximo estabelecido de 1 mg/kg, porém em uma dieta com o consumo de 3,3 g/ dia esse valor alcança o limite máximo permitido.

O Agar também apresentou valores mais altos de Cu e Pb em relação aos outros dois derivados, mas dentro dos limites estabelecidos.

Para carragenana os teores de Cd, Cu e Pb ficaram abaixo dos valores de L_D .

8.6 Cálculo da ingestão dietética das algas marinhas e seus derivados.

Para o cálculo da ingestão dietética, o consumo de algas foi baseado na literatura, uma vez que no Brasil não há dados de consumo para esse alimento. Desse modo, para esse estudo foi usado o valor de 3,3 g/dia baseado no consumo europeu, já que os países orientais apresentam um consumo maior em relação a qualquer outro país ocidental. No Japão, em 2002, o consumo médio *per capita* era de 14,6 g/dia (NAKAMURA *et al*, 2008). A Tabela 16 apresenta os valores mínimos e máximos de ingestão diária dos elementos determinados para consumo de 3,3g, e os respectivos valores de DRIs. O cálculo dos níveis de ingestão é necessário para assim estimar os possíveis riscos no consumo das algas marinhas e seus derivados à saúde humana.

O conhecimento sobre o conteúdo mineral de algas e/ou de seus gêneros alimentícios não é, no entanto, suficiente para garantir que seu consumo cubra as DRIs desses elementos e proporcione seus efeitos conhecidos à saúde, uma vez que existem muitos aspectos que podem interferir em sua biodisponibilidade para humanos (CIRCUNCISÃO *et al.*, 2018). Ser bioacessível não significa necessariamente que os minerais estejam biodisponíveis, isto é, absorvidos e atingindo a circulação sistêmica. Nesse contexto, é preciso destacar que os elementos são muito propensos a interagir com a fibra alimentar, fato que pode comprometer sua biodisponibilidade, pois as fibras não são acessíveis para absorção (MABEAU e FLEURENCE. 1993). Outro fato observado na literatura mostra que as interações com vários polissacarídeos aniônicos, particularmente alginatos e ágar ou carragenana, podem formar complexos insolúveis com minerais, diminuindo sua biodisponibilidade (DEBON e TESTER, 2001).

Tabela 16 - Valores mínimos e máximos de ingestão diária do elemento para consumo de 3,3g com os valores de DRI.

Elemento	<i>Porphyra umbilicals</i> (Nori)	<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	RDA ^a	UL ^b
As (µg/d)	0,043-0,088	0,23-0,48	0,19-0,20	0,099-0,27	-	-
Br (mg/d)	0,12-1,05	0,42-0,62	0,43-0,62	0,38-1,26	-	-
Ca (mg/d)	6,0-19	42--64	1,8-44	21-48	800-100	2500
Cd (µg/d)	0,68-6,8	2,3-6,9	0,26-3,13	5,2-6,3	-	-
Cl (g/d)	0,017-0,073	0,01-0,07	0,22-0,37	0,01-0,44	1,8-2,3	3,6
Co (ng/d)	0,35-0,85	0,34-1,46	0,05-0,38	0,39-1,29	-	-
Cr (ng/d)	0,005-1,9	0,9-15,5	0,3-8,9	2,1-6,3	2000-3500	-
Cu (µg/d)	20-47	5,4-55	0,68-2,8	2,6-10,2	900	10000
Fe (mg/d)	0,16-1,3	0,1-3,2	0,12-0,21-	0,4-1,8	5-18	45
I (mg/d)	0,11-0,38	2,4-4,9	0,8-32,9	0,4-1,8	0,150	1,10
K (g/d)	0,059-0,094	0,05-0,19	0,1-0,4	0,01-0,03	4,70	-
Mg (g/d)	0,0098--0,15	0,01-0,02	0,01-0,03	0,01-0,03	0,320-0,420	0,350
Mn (mg/d)	0,048-1,3	0,67-0,13	0,008-0,017	0,050-0,61	1,8-2,3	11
Na (g/d)	0,017-0,025	0,02-0,05	0,07-0,14	0,05-0,32	1,2-1,5	2,3
Pb (µg/d)	0,26-1,8	1,1-4,5	-	2,6-10,2	-	-
Zn (mg/d)	0,04-0,11	0,05-0,21	0,03-8,25	0,1-0,2	8-11	40

^a:Ingestão dietética recomendada; ^b:Ingestão máxima tolerável

Fonte: autora da dissertação

Pode-se observar pela Tabela 16, que o elemento I não ultrapassou o valor limite permitido apenas para a espécie *Porphyra umbilicals* (Nori).

Os valores de ingestão dietética de iodo ultrapassaram o UL para as espécies *Hijikia fusiforme* (Hijiki), *Laminaria sp* (Kombu) e *Undaria pinnatifida* (Wakame) na maioria dos países exceto para China II em *Laminaria sp* (Kombu)

(Apêndice A). Como esperado, as maiores concentrações de I foram obtidas nessas algas. Desse modo o consumo dessas espécies deve ser controlado mesmo que o processo de cocção das algas possa diminuir a concentração de I nas mesmas.

Para os elementos essenciais as algas não representam uma boa fonte, uma vez que o consumo delas é muito baixo pela população.

Os valores dos elementos tóxicos As e Cd não representaram riscos à saúde. O valor de ingestão dietética tolerável para As foi estabelecida como sendo de 2 a 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corpóreo/dia. Considerando um adulto de 70kg, o valor limite corresponde à ingestão tolerável de 140 a 490 $\mu\text{g}/\text{dia}$, valor muito superior aos obtidos para o consumo de algas.

O valor de PTMI (ingestão mensal tolerável provisória) para o Cd é de 25 μg de Cd/kg de peso corpóreo. Para um adulto de 70 kg a ingestão dietética corresponde a 1750 $\mu\text{g}/30$ dias ou 58,3 $\mu\text{g}/\text{dia}$, ou seja, as algas comestíveis analisadas no presente estudo não representam também risco à saúde em relação ao Cd. O maior valor obtido foi de 6,8 $\mu\text{g}/\text{dia}$.

Como o Pb é considerado tóxico em qualquer concentração para o organismo humano, os valores de ingestão dietética de Pb obtidos podem ser considerados elevados. No entanto os valores obtidos para *Undaria pinnatifida* (Wakame) foram próximos aos obtidos por DESIDERI *et al* (2016), cujos valores de ingestão para Pb variaram de 11 a 22 $\mu\text{g}/\text{dia}$.

Considerando a grande expansão atual do consumo de algas pela população ocidental, devem ser estabelecidas regulamentações específicas sobre o seu o consumo. É preciso destacar também que a alta dispersão dos dados coletados para cada espécie de macroalgas dificulta conclusões sólidas quanto à sua capacidade específica de acumular um mineral específico, alertando para a necessidade de estudos comparativos. Naturalmente, as variações na literatura são devidas a uma infinidade de fatores, incluindo a localização geográfica, sazonalidade, atividades exploratórias humanas, processamento (por exemplo, tipo de água nos procedimentos de lavagem e etc.) (CIRCUNCISÃO *et al.*, 2018).

8.7 Tratamento estatístico

8.7.1 ANOVA e Teste de Tukey

O teste de análise de variância ANOVA, foi aplicado para verificar se existem diferenças significativas entre as médias das concentrações obtidas pelos diferentes procedimentos em cada amostra analisada. A ANOVA foi utilizada para testar a hipótese nula de igualdade entre as médias de concentrações entre diferentes países de origem para uma mesma espécie. No caso em que a hipótese nula foi rejeitada, aceitou-se a hipótese alternativa de que pelo menos uma das médias das concentrações era diferente. Na Tabela 17 são apresentados os elementos com diferença significativa de concentração utilizando dados de diferentes alíquotas dentro de uma mesma espécie (marcado com símbolo “x”) e os que não apresentaram diferença significativa (marcados com o símbolo “-”).

Os resultados apresentados na Tabela 17 indicam que, de maneira geral, existe diferença entre as concentrações obtidas para um mesmo elemento dentro de uma mesma espécie, com exceção das concentrações dos elementos As e Mg nas amostras de Agar, Mg na alga Hijiki, Ca e Cl em amostras de Kombu, Co e Cr em amostras de Nori e para as amostras de Wakame Cu e Mg.

A partir dos resultados do teste ANOVA, foi utilizado o teste de Tukey para verificar quais países apresentaram diferenças de concentração dos elementos dentro de uma mesma espécie. Nas Tabelas 12,13, 14 e 15 esses resultados são apresentados da seguinte forma: letras iguais indicam que as médias das concentrações são estatisticamente iguais e letras diferentes indicam que as médias das concentrações foram estatisticamente diferentes a um nível de 0,05 de significância.

Os resultados de Tukey indicaram que não existe uma tendência de que algas coletadas em um mesmo país apresentem as mesmas concentrações dos elementos, como o caso da concentração de Fe na alga Hijiki, onde o teste indicou que as concentrações de Fe de duas alíquotas oriundas do Japão foram diferentes, assim como de duas alíquotas oriundas da China. E nesse mesmo exemplo verificou-se que em países distintos como Coreia e China a concentração de Fe não apresentou diferença significativa.

Tabela 17 - Teste ANOVA.

Elemento	Ágar	Hijiki	Kombu	Nori	Wakame
As	-	x	x	x	x
Br	x	x	x	x	x
Ca	x	x	-	x	x
Cd	x	x	x	x	x
Cl	x	x	-	x	x
Co	x	x	x	-	x
Cr	x	x	x	-	x
Cu	x	x	x	x	-
Fe	x	x	x	x	x
I	x	x	x	x	x
K	x	x	x	x	x
Mg	-	-	x	x	-
Mn	x	x	x	x	x
Na		x	x	x	x
Pb	x	x	x	x	x
Zn	x	x	x	x	x

X= com diferença significativa $p>0,05$, - = sem diferença significativa $p<0,05$

Fonte: autora da dissertação.

8.7.2 Correlação de Pearson

Aos resultados das análises de algas marinhas foram aplicados testes estatísticos para verificar se há uma correlação entre os elementos determinados, bem como os agrupamentos para identificar suas possíveis origens.

Na Tabela 18 é apresentada a matriz de correlação de Pearson obtida para as concentrações dos elementos determinados nas espécies de algas marinhas. Os coeficientes de correlação de Pearson maiores que 0,7 estão em vermelho nesta tabela, lembrando que quanto mais próximo a 1 maior a qualidade da associação linear, mais fortemente correlacionada estão as variáveis (FIGUEREDO e SILVA, 2009).

Foi possível verificar que os países de origem não correlacionam com os elementos mostrando que para cada país há um comportamento diferente para cada elemento.

8.7.3 Análise de Agrupamento

A análise de agrupamento (AA) foi aplicada a fim de se avaliar melhor as correlações entre as concentrações dos elementos, ou seja, o agrupamento dos

elementos que apresentam maior similaridade. O dendrograma da Figura 26 foi obtido pelo método de Ward e as distâncias Euclidianas estão expressas em porcentagem em relação à distância máxima de ligação $((D_{link}/D_{max}) \cdot 100)$.

O dendrograma gerado formou 3 grupos que apresentaram padrões semelhantes aos obtidos pela matriz de correlação de Pearson, confirmando os resultados obtidos entre os elementos.

O grupo 1 formado pelos elementos K, Br, I e Mg apresentou fortes correlações entre os elementos Mg e I (0,88), Br e Mg (0,80), e os pares de elementos Br e K, Mg e K e I e K apresentaram correlações positivas. Quando a comparação entre as concentrações é realizada entre países verifica-se grande variabilidade entre as concentrações desses elementos.

O Grupo 2 é formado por dois subgrupos: um deles composto pelos elementos Pb, Ca, Fe, Co e Na que são aqueles que apresentam fraca correlação entre as concentrações, variando entre 0,49 (para Pb e Ca) e 0,66 (para Fe e Co). O outro subgrupo é formado pelos elementos As, Cu e Mn que são aqueles que não apresentaram correlação significativa (como o caso dos elementos Cu e Mn cujo valor foi de 0,04), As e Mn (-0,29) e As e Cu (-0,14).

O terceiro grupo formado pelos elementos Cd, Zn, Cl e Cr apresentou maior similaridade, por terem formado um grupo específico. Os resultados obtidos pela matriz de correlação de Pearson corroboram com a formação do grupo 3 da AA, devido aos elementos Cd e Zn apresentarem valor de correlação de 0,74 (fortemente correlacionados) e um valor de 0,72 para Cr e Cl (fortemente correlacionados). A formação desse grupo pode ser justificada pela menor variabilidade de concentração dos elementos, quando comparado com os resultados do grupo 1.

A variabilidade dos elementos pode estar ligada tanto ao país de origem quanto as espécies, por exemplo: o elemento iodo apresenta grande variabilidade de concentração entre os países, no entanto, apresenta menor variabilidade de concentração quando a comparação é feita entre espécies.

A formação dos grupos apresentados na AA (Fig. 27) está mais fortemente relacionada com a variabilidade da concentração dos elementos em relação ao país de origem das amostras, do que da espécie estudada.

Tabela 18 - Matriz de correlação de Pearson entre as concentrações dos elementos e origem em algas marinhas comestíveis.

As correlações marcadas são significativas em p <, 05000																	
	PAÍS	Cl	Mg	Mn	K	Na	I	As	Br	Ca	Co	Cr	Fe	Zn	Cu	Cd	Pb
PAÍS	1,00																
Cl	-0,23	1,00															
Mg	-0,01	-0,17	1,00														
Mn	0,00	-0,09	0,03	1,00													
K	-0,10	-0,12	0,51	-0,10	1,00												
Na	-0,41	-0,22	-0,25	0,05	-0,01	1,00											
I	0,06	-0,19	0,88	-0,16	0,48	-0,12	1,00										
As	0,17	-0,30	-0,13	-0,29	-0,27	-0,15	0,09	1,00									
Br	0,08	0,18	0,80	-0,24	0,60	-0,35	0,73	-0,09	1,00								
Ca	-0,09	0,26	0,16	0,06	0,07	0,39	0,21	-0,12	0,29	1,00							
Co	-0,02	-0,17	-0,39	-0,04	-0,20	0,59	-0,28	-0,23	-0,29	0,54	1,00						
Cr	-0,39	0,72	-0,18	-0,07	-0,22	-0,15	-0,22	-0,13	-0,09	0,06	-0,19	1,00					
Fe	-0,22	0,10	-0,39	0,09	-0,24	0,64	-0,28	-0,19	-0,37	0,58	0,66	0,13	1,00				
Zn	-0,21	0,40	-0,29	0,07	-0,12	0,01	-0,29	-0,32	0,01	0,42	0,28	0,25	0,34	1,00			
Cu	-0,36	-0,15	-0,22	0,04	-0,13	0,33	-0,22	-0,14	-0,22	-0,19	0,16	-0,03	0,08	0,11	1,00		
Cd	-0,51	0,31	-0,33	-0,15	0,07	0,43	-0,29	-0,37	-0,05	0,41	0,45	0,27	0,37	0,74	0,27	1,00	
Pb	0,18	0,11	0,07	-0,01	0,16	-0,03	0,18	0,10	0,41	0,49	0,47	-0,16	0,55	0,35	-0,18	0,16	1,00

Fonte: autora da dissertação

Figura 27 - Dendograma.

Fonte: autora da dissertação.

8.7.4 Análise de Componentes Principais (PCA) para as espécies de algas marinhas comestíveis.

Uma análise exploratória mais detalhada foi realizada por meio do procedimento matemático da PCA a fim de se obter uma redução dos dados para melhor visualização dos padrões de similaridade entre os elementos determinados nas algas marinhas. A Figura 28 apresenta a similaridade dos elementos em relação à origem e espécie.

Os resultados de PCA apresentados na Figura 28

Figura 28- Similaridade dos elementos em relação à origem e espécie.

Fonte: autora da dissertação.

Os resultados obtidos pela PCA indicam que as espécies escolhidas apresentaram diferença significativa com relação aos teores dos elementos presentes nas amostras de algas marinhas de diferentes locais de amostragem. A ampla variabilidade nos teores dos elementos em cada região de origem pode estar ligada a vários fatores ambientais, sazonais e atividades antrópicas.

É possível observar pela análise da Figura 28 que as concentrações de As nas algas marinhas está relacionada diretamente com o ambiente de origem e as diferentes espécies. Pode-se verificar ainda pela análise da Figura 28 que nenhum outro elemento apresentou relação entre as concentrações com a origem e espécie, esse comportamento corrobora com os resultados obtidos na matriz de correlação de Pearson, pois o As apresenta correlação positiva apenas com a origem.

Os fatores utilizados na construção do gráfico da Figura 29 explicam aproximadamente 55% da variação e esses dois fatores agruparam as algas por

espécie, mostrando que as espécies apresentam de maneira geral composição elementar semelhante.

Figura 29 - Similaridade das espécies.

Fonte: autora da dissertação.

A amostra de alga Kombu de origem China II apresentou maior dissimilaridade com as demais, pois os elementos Cl, Mg, Mn, K e Na ficaram abaixo do LD. Durante as medições dessa alíquota verificou-se um tempo morto muito elevado (em torno de 65%), fato esse que pode ter prejudicado os resultados analíticos de INAA.

9 Conclusão

As técnicas de INAA e ENAA se mostraram adequadas para a determinação de elementos essenciais e tóxicos como: As, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Zn em amostras de algas marinhas comestíveis. Para Cd, e Pb a análise de GF AAS foi satisfatória em algas marinhas e em seus derivados.

Os valores de ingestão dietética foram calculados baseados no consumo diário de 3,3g de alga e mostraram-se abaixo dos valores limites de tolerância para os elementos tóxicos, segundo valores estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde.

Para a maioria dos elementos essenciais, as algas não foram consideradas uma boa fonte desses elementos exceto para o I. Os valores de ingestão dietética para o I ultrapassaram os valores de limite tolerável (UL) para as espécies *Hijiki fusiforme* e *Laminaria* sp.

Em relação aos derivados das algas, foi possível concluir, que os mesmos não apresentam grandes riscos para a alimentação, em relação aos elementos tóxicos e potencialmente tóxicos por apresentarem baixas concentrações, mas por apresentarem inúmeras aplicações dentro da indústria alimentícia e farmacêutica, tornam-se cada vez mais necessários estudos sobre a composição dos derivados.

Aplicaram-se os métodos estatísticos que mostraram uma grande variabilidade dos elementos dentro de uma mesma espécie para diferentes países. Para o elemento As foi observado que as suas concentrações vão depender diretamente do país de origem e da espécie. Já para o elemento I as concentrações apresentaram maior variabilidade para os países de origem da amostra. Foi observada também uma variedade da concentração de I entre as espécies, na qual as espécies de algas pardas apresentaram altos teores de I, mas o que mais se destacou nesse estudo foi o local de origem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANDRADE, D. F.; ROCHA, M. S. A toxicidade do Arsênio e sua natureza. *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz*, 2016.

ASTORGA-ESPAÑA, M. S.; RODRÍGUEZ GALDÓN, B.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, E. M.; DÍAZ ROMERO, C. "Mineral and trace element concentrations in seaweeds from the sub-Antarctic ecoregion of Magallanes (Chile)". *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 39, p. 69–76, 2015.

BENKIDAD, A.; LAISSAOUI, A.; TORNERO, M. V.; BENMANSOUR, M.; CHAKIR, E.; GARRIDO, I. M.; MORENO, J. B. "Trace metals and radionuclides in macroalgae from Moroccan coastal waters". *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 182, n. 1–4, p. 317–324, 2011.

BESADA, V.; ANDRADE, J. M.; SCHULTZE, F.; GONZÁLEZ, J. J. "Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption". *Journal of Marine Systems*, v. 75, n. 1–2, p. 305–313, 2009.

BORTOLINI, G. A., & VITOLO, M. R. "Relationship between iron deficiency and anemia in children younger than 4 years". *Journal of Pediatrics*. v.86(6), p.488-921, 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 de ago. 2013.

CIRCUNCISÃO, A. R.; CATARINO, M. D.; CARDOSO, S. M.; SILVA, A. M. S. "Minerals from macroalgae origin: Health, benefits and risks for consumers". *Marine Drugs*, v. 16, n. 11, p. 2-30, 2018.

COFRADES, S.; LÓPEZ-LOPEZ, I.; BRAVO, L.; RUIZ-CAPILLAS, C.; BASTIDA, S.; LARREA, M. T.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. "Nutritional and antioxidant properties of different brown and red Spanish edible seaweeds". *Food Science and Technology International*, v. 16, n. 5, p. 361–370, 2010.

CORTECCI, G. *Geologia e Saúde*, 2010: Tradução de Wilson Scarpelli Disponível em:<<http://www.cprm.gov.br/publique/media/geosaude.pdf>>. Acesso em: 10 de março de 2019.

COZZOLINO, S. M. F. Zinco. In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). . *Biodisponibilidade de nutrientes*2. 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, 2012. p. 695-721, 2012.

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

DAWCZYNSKI, C.; SCHÄFER, U.; LEITERER, M.; JAHREIS, G. " Nutritional and toxicological importance of macro, trace, and ultra-trace elements in algae food products". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 25, p. 10470–10475, 2007.

DEBON, Stéphane JJ; TESTER, Richard F. "In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides". *Food Chemistry*, v. 73, n. 4, p. 401-410, 2001.

DE SOETE, D.; GILBELS, R.; HOSTE, J. "Neutron activation analysis". New York: Wiley-Interscience, p. 140, 1972.

DESIDERI, D., CANTALUPPI,C., CECCOTTO, F.MELI,M.A.,. ROSELLI, C.,. FEDUZI, L. "Essential and toxic elements in seaweeds for human consumption".

Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, v.79(3), v.112-122, 2016.

DONATI, G. L., NASCENTES, C. C., NOGUEIRA, A. R. A., ARRUDA, M. A., & NÓBREGA, J. A. "Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". Microchemical Journal, v. 82, n. 2, p. 189-195, 2006.

FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission. Position paper arsenic. 13^o Session CODEX Committee on Food Additives and Contaminants, 9-13 Mar.1998, Haia, The Netherlands, Rome, 1997 CX/FAC 98/23).

FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission. Position paper arsenic. 13^o Session CODEX Committee on Food Additives and Contaminants, 22-26 Mar.1999, Haia, The Netherlands, Rome, 1997 CX/FAC 99/21).

FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission. JOINT FAO/WHO Food Standards Program me CODEX Committee on Contaminants in Foods), Fifth Session, 21-25 March 2011, Haia, The Netherlands. (CF/5 INF/1).

FIGUEIREDO F. D.B, SILVA. J.A. "Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson" (r). Revista Política Hoje, v. 18, n. 1, p. 115-46, 2009.

FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JÚNIOR, J.A. (2009) "Visão além do alcance: uma introdução á análise fatorial. Opinião pública, v. 16, n. 1, p. 160-184, 2010.

FONSECA, JULIANA AZEVEDO. "Aplicação de algas na indústria alimentar e farmacêutica". Tese de doutorado. Universidade Fernando Pessoa - Portugal, 2016.

FRAGA, C.G. "Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health". Molecular Aspects of Medicine, v. 26, p. 235-244, 2005.

FRIBERG, L., ELINDER, C. G., KJELLSTRÖM, T., & KJELLSTRÖM, G. F. "General summary and conclusions and some aspects of diagnosis and treatment of chronic cadmium poisoning". Cadmium and health: a toxicological and epidemiological appraisal, 2, 247-263, 1986.

FUKUSHIMA, M.; CHATT, A. "Estimation of total as well as bioaccessible levels and average daily dietary intake of iodine from Japanese edible seaweeds by epithermal neutron activation analysis". Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 294, n. 3, p. 471–478, 2012.

GALLAGHER, D.; LEE, S. Y. "Assessment methods in human body composition". Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, v. 11, p. 566–572, 2008.

GOLDHABER, S. "Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity". Regulatory Toxicology and Pharmacology v.38, p. 232–242, 2003

GUERRA, A., RÊGO, C., SILVA, D., FERREIRA, G. C., MANSILHA, H., ANTUNES, H., & FERREIRA, R. "Alimentação e nutrição do lactente", Revista de Medicina da Criança e do Adolescente, v. 43, n.º 5, 2012 .

HENRIQUES, G. S.; PIRES, L. V; COZZOLINO, S. M. F. Iodo. In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). "Biodisponibilidade de nutrientes". 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, p. 767–795, 2012.

HOU, X., & YAN, X. "Study on the concentration and seasonal variation of inorganic elements in 35 species of marine algae". Science of the Total Environment, 222(3), 141-156 1998.

IAEA. Internacional Atomic Energy Agency. Pratical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory. IAEA TEC-DOC-564. Vienna 1990.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008).

Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf> 2010.

IOM- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes (DRIs): Estimated Average Requirements. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. 2006. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/DRI/DRI_Tables/recommended_intakes_individuals.pdf>. Acesso em 22 jul. 2018

JACOB, M.; BRITO, N. "Suplementação de iodo na gravidez: qual a importância?" *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, v. 3, n. 1, p. 107–119, 2015.

JIMÉNEZ-ESCRIG, B, F.J. SÁNCHEZ-MUNIZ. "Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism" , *Nutrition Research*.v. 20, p.585-598, 2000.

KHAN, N.; RYU, K. Y.; CHOI, J. Y.; NHO, E. Y.; HABTE, G.; CHOI, H.; KIM, M. H.; PARK, K. S.; KIM, K. S. "Determination of toxic heavy metals and speciation of arsenic in seaweeds from South Korea". *Food Chemistry*, v. 169, p. 464–470, 2015.

KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. "Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory". London: CRC Press, 2009.

KU, C. S.; YANG, Y.; PARK, Y.; LEE, J. "Health Benefits of Blue-Green Algae: Prevention of Cardiovascular Disease and Nonalcoholic Fatty Liver Disease". *Journal of Medicinal Food*, v. 16, n. 2, p. 103–111, 2013.

MABEAU, S., & FLEURENCE, J. "Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects". *Trends in Food Science & Technology* , v.4 (4), p.103-107, 1993.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Magnésio. In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). . Biodisponibilidade de nutrientes. 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, 2012. p. 629–645, 2012.

MARCHIONI. L. M; SLATER. B; FIBERG, M. Regina. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. Revista de Nutrição, v.17(2), p:207-216, 2004.

MARINHO-SORIANO, E.; MOREIRA, W. S. C.; CARNEIRO, M. A. A. "Some aspects of the growth of *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) in an estuary in northestest Brazil". Aquaculture International, v. 14, p. 327–336, 2006.

MARKOU, K.; GEORGOPOULOS, N.; KYRIAZOPOULOU, V.; VAGENAKIS, A. G. "Iodine-Induced Hypothyroidism". Thyroid, v. 11, n. 5, 2001.

MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; CALDEIRA COSTA, V.; RODRIGO, N.; PIRES, X.; PEREIRA DE PEREIRA, C. M.; PICOLOTO, R. S.; AZEVEDO MELLO, P. "Determinação de Bromo e Iodo em alga marinha comestível Por ICP-MS após decomposição por combustão iniciada por micro-ondas". Quimica Nova, v. 37, n. 6, p. 964–968, 2014.

MILONE, G. Estatística: geral e aplicada. São Paulo: Thomson Learning, 2004.

MONTEIRO, J. C. M. "Oligoelementos na nutrição humana". Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, 65f., Instituto Superior De Ciências Da Saúde Egas Moniz, Almada, Portugal, 2017.

MOTA, N. S.; VILAS, T.; FIGUEIREDO, B.; APARECIDA, B.; MACHADO, S. "Macroalgas marinhas comestíveis: tendências tecnológicas". Cadernos de Prospecção, v. 7, n. 2, p. 118–129, 2014.

MUGHABGHAB S F. "Resonance integrals and g-factors". INDC International Nuclear Data Committee, n.11376, 2003 .

NAGATAKI, S. "The average of dietary iodine intake due to the ingestion of seaweeds is 1.2 mg/day in Japan". *Thyroid*, v. 18, n. 6, p. 667–668, 2008.

NAKAMURA, Y.; NARUKAWA, T.; YOSHINAGA, J. "Cancer Risk to Japanese Population from the Consumption of Inorganic Arsenic in Cooked Hijiki". *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, v.56(7), p. 2536–2540, 2008

NITSCHKE, U.; STENGEL, D. B. "A new HPLC method for the detection of iodine applied to natural samples of edible seaweeds and commercial seaweed food products". *Food Chemistry*, v. 172, p. 326–334, 2015.

NITSCHKE, U., & STENGEL, D. B. "Quantification of iodine loss in edible Irish seaweeds during processing". *Journal of Applied Phycology*, v.28(6), p.3527-3533, 2016.

OLESEN, M. S.; BENTZEN, H. H.; NIELSEN, J. B.; STEFFENSEN, A. B.; DAVID, J. P.; JABBARI, J.; JENSEN, H. K.; HAUNSO, S.; SVENDSEN, J. H.; SCHMITT, N. "Mutations in the potassium channel subunit KCNE1 are associated with early-onset familial atrial fibrillation". *BMC Medical Genetics*, v.13(24), p 1-9, 2012.

OLIVEIRA, R.C.; LOURENÇO, L.F.; MOREIRA, T.C.L.; SILVA, D.R.R.; VIEIRA, B.D.; MAUAD, T.; SAIKI, M.; SALDIVA, P.H.N. "Effectiveness of traffic-related elements in tree bark and pollen abortion rates for assessing air pollution exposure on respiratory mortality rates". *Environment International*, v. 99, p. 161-169, 2017.

PARRY, S.J. "The role of neutron activation with radiochemistry in geoanalysis". *Journal of Geochemical Exploration* v. 44, p. 321-349, 1992.

PRASHANTH L, KATTAPAGARI KK, CHITTURI RT, BADDAM VR, PRASAD LK. "A review on role of essential trace elements in health and disease". *Journal of Dr. NTR University Health Sciences*, v. 4, p.75-85, 2015.

PEDROSA, L.F.C.; COMINETTI, C.; BUENO, R.B.; COZZOLINO, S.M.F. Cobre. In: COZZOLINO, S.M.F. (Org.). Biodisponibilidade de nutrientes. 4.ed. Barueri: Manole, p. 675-694, 2012.

PEDROZO, M. D. F. Cobre. Metais: Gerenciamento da toxicidade. São Paulo: editora Atheneu, 143-185, 2003.

PEREIRA, G. A. P; GENARO, P. S.; SANTOS, L. C.; SARKIS, K. S.; PINHEIRO, M. M.; SZJENFELD, V. L.; SCHUCH, N. J; MARTINI, L.A. "Validation of a food frequency questionnaire for women with osteoporosis". The Journal of Nutrition, Health & Aging, v. 13, n. 5, p. 403–407, 2009.

PEREIRA, A. G.; MUNIZ, L. B." Avaliação da suplementação de cromo em pacientes diabéticos tipo II em um centro de saúde de Brasília- Distrito Federal". Revista De Divulgação Científica Sena Aires, v. 1, n. 1, p. 25–31, 2012.

PINTO, E. & FONSECA, A. J. M. "Rastreamento de algas como fontes minerais para animais de fazenda". Journal Applied Phycology, v.28, p.3135-3150, 2016.

RAMOS, P. D. S., & Ferreira, D. F. "Agrupamento de médias via bootstrap de populações normais e não-normais 1". Ceres, 56(2), 2015.

ROCHA, S. R.,SANCHEZ-MUNIZ, F.J.GÓMEZ-JUARISTI, MARÍN, M.T. L. "Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method". Journal of Food Composition and Analysis, v.22, p.330–336, 2009.

ROLEDA, M. Y.; SKJERMO, J.; MARFAING, H.; JÓNSDÓTTIR, R.; REBOURS, C.; GIETL, A.; STENGEL, D. B.; NITSCHKE, U. "Iodine content in bulk biomass of wild-harvested and cultivated edible seaweeds: Inherent variations determine species-specific daily allowable consumption". Food Chemistry, v. 254, p. 333–339, 2018.

ROSE, M, LEWIS, J., LANGFORD, N., BAXTER, M, ORIGGI, S., BARBER, M, MASBAIN, H, THOMAS, K. "Arsenic in seaweed-Forms, concentration and dietary exposure". Food Chemical Toxicology, v. 45(1), p. 1263-1267, 2007.

RUBIO C. G. NAPOLEONE G. LUIS-GONZALEZ A. J. GUTIERREZ D. GONZALEZ-WELLER A. HARDISSON C. R. "Metals in edible seaweed". Chemosphere, v 173, p. 572- 579, 2017.

RUPÉREZ, P. "Mineral content of edible marine seaweeds". Food Chemistry, v. 79 (1), p. 23–26, 2002.

SHIGENOBU N. "The Average of Dietary Iodine Intake due to the Ingestion of Seaweeds is 1.2 mg/day in Japan". Thyroid v.18, p.667-668, 2008.

SILVA, A. G. H.; DONADIO, J. L. S.; COZZOLINO, S. M. F." Manganês". In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). Biodisponibilidade de nutrientes. 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, 2012. p. 795–813.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH. "Principles of instrumental analysis". 6 ed. Thomson Book/cole, 2007.

TEAS, J., PINO, S., CHITCHELEY, A., BRAUERMAS, L.E., Variability of iodine content in common commercially available edible seaweeds. Tyroid, v. 14(10): p.836-841, 2004.

TRAMONTE, V. L. C. G.; CALLOU, K. R. A.; COZZOLINO, S. M. F. Sódio, cloro e potássio. In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). Biodisponibilidade de nutrientes. 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, p. 555–579, 2012.

TUKEY, J. W. "Comparing individual means in the analysis of variance". Biometrics, v. 5(2), p.99-114, 1949.

VICINI, L.; SOUZA, A.M. "Análise multivariada da teoria à prática". Santa Maria: UFSM, CCNE, 2005.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. D. C. E. "Algas: Da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica". *Química Nova*, v. 27(1), p. 139–145, 2004.

UNDERWOOD, E. "Trace Elements in Human and Animal Nutrition". 4th. ed. New York: Academic Press, 1977.

WAYHS, M. L. C.; MORAIS, M. B. DE; MACHADO, U. F.; NASSAR, S. M.; NETO, U. F.; AMÂNCIO, O. M. S. "Transepithelial transport of glucose and mRNA of glucose transporters in the small intestine of rats with iron-deficiency anemia". *Nutrition*, v. 27(1) , p. 111–115, 2012 .

WELZ, B.; SPERLING, M. "Atomic Absorption Spectrometry". 3th. ed. New York: Wiley-VCH, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). "Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control". A guide for programme managers. Geneva: WHO/UNICEF/UNU; 2001.

YUYAMA, L. K. O.; YONEKURA, L.; AGUIAR, J. P. L.; RODRIGUES, M. L. C. F.; COZZOLINO, S. M. F. Zinco. In: COZZOLINO, S. M. F. (Ed.). . Biodisponibilidade de nutrientes2. 4th. ed. Barueri: Manole LTDA, 2012. p. 695–721, 2012.

Apêndice A

Tabela 19 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia (resultados em µg/dia).

Espécie	Origem	As	Br	Ca	Co	Cr	Fe	Zn
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China	0,071	0,182	7,125	0,657	1,917	0,667	0,086
	Coréia I	0,061	0,122	5,996	0,508	0,987	0,680	0,092
	Coréia II	0,088	0,175	9,029	0,756	0,005	0,703	0,109
	Japão I	0,043	0,512	7,656	0,350	1,003	0,162	0,086
	Japão II	0,071	1,056	18,708	0,459	0,005	1,297	0,041
	EUA	0,061	0,294	10,289	0,851	0,964	0,663	0,089
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão I	0,228	0,634	48,299	0,340	0,911	0,191	0,125
	Japão II	0,284	0,455	54,552	1,465	15,510	3,290	0,215
	China I	0,248	0,545	50,576	1,409	8,316	2,871	0,053
	China II	0,257	0,429	41,775	0,789	15,279	1,544	0,079
	Coréia	0,479	0,597	63,898	1,313	4,983	1,785	0,086
<i>Laminaria</i> sp (Kombu)	Japão I	0,187	0,624	32,677	0,281	0,406	0,122	0,063
	Japão II	0,200	0,455	33,294	0,389	8,910	0,211	0,069
	China I	0,268	0,521	22,701	0,172	0,528	134,310	0,036
	China II	0,426	0,432	1,802	0,059	0,383	19,635	8,250
	Coréia	0,187	0,578	43,943	0,195	0,647	0,191	0,191
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	Coréia	0,265	0,644	48,375	1,294	6,303	1,855	0,109
	Coréia II	0,158	1,125	32,759	0,393	2,211	0,446	0,135
	China I	0,099	0,548	21,034	0,700	2,102	0,818	0,125
	China II	0,133	1,261	42,959	0,624	2,822	0,845	0,241
	China III	0,127	0,380	31,178	0,587	2,716	0,653	0,251
Ágar	Brasil	0,558	21,912	2,666	0,271	2,838	0,518	14,619
	Brasil	0,627	0,330	2,762	0,218	2,970	0,350	13,992
	Brasil	0,518	23,760	7,395	1,132	1,782	0,139	9,603
Alginato	China	0,696	22,143	3,095	0,251	1,485	0,059	7,227
Carragenana	Brasil	3,039	0,479	93,169	3,531	9,669	0,442	27,324

Fonte: autora da dissertação

Tabela 20 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia.

Espécie	Origem	Mn (ug)	Cl (g)	K (g)	Mg (g)	Na (g)	I (mg)
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China	99,0	0,025	0,056	0,013	0,034	0,145
	Coréia I	118,8	0,018	0,059	0,010	0,025	0,110
	Coréia II	99,0	0,032	0,064	0,011	0,025	0,110
	Japão I	48,2	0,043	0,094	0,011	0,017	0,254
	Japão II	1296,9	0,073	0,092	0,148	0,021	0,376
	EUA	115,5	0,032	0,070	0,014	0,027	0,180
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	Japão I	76,9	0,030	0,128	0,025	0,034	2,424
	Japão II	108,6	0,016	0,103	0,022	0,027	2,762
	China I	90,8	0,068	0,050	0,022	0,048	6,517
	China II	125,4	0,061	0,197	0,023	0,054	4,932
	Coréia	67,0	0,020	0,128	0,018	0,037	4,503
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	Japão I	17,4	0,376	0,162	0,032	0,142	22,473
	Japão II	11,8	0,353	0,253	0,030	0,092	15,711
	China I	7,5	0,227	0,449	0,011	0,079	9,325
	China II	0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,855
	Coréia	8,3	0,335	0,317	0,019	0,086	32,875
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	Coréia	49,8	0,340	0,011	0,031	0,251	1,313
	Coréia II	6,9	0,254	0,009	0,034	0,211	1,867
	China I	49,8	0,446	0,017	0,014	0,315	0,416
	China II	32,4	0,077	0,012	0,032	0,051	1,544
	China III	607,2	0,014	0,036	0,021	0,329	0,883
Ágar	Brasil	18,7	0,003	0,001	0,000	0,001	0,027
	Brasil	15,9	0,003	0,001	0,000	0,002	0,035
	Brasil	189,4	0,003	0,016	0,001	0,016	0,013
Alginato	China	1,8	0,006	0,001	0,000	0,007	0,013
Carragenana	Brasil	32,8	0,396	0,528	0,046	0,050	0,085

Fonte: autora da dissertação

Tabela 21 - Ingestão dos elementos para o consumo de 3,3 g por dia (resultados em µg/dia).

Espécie	Origem	Elementos µg		
		Cd	Cu	Pb
<i>Porphyra umbilicalis</i> (Nori)	China I	5,739	46,721	0,264
	Coréia	6,574	24,879	1,082
	Japão I	0,680	20,127	1,393
	Japão II	0,370	27,614	1,799
	EUA	6,838	36,128	0,937
<i>Hijikia fusiforme</i> (Hijiki)	China I	4,904	23,961	1,845
	China II	6,161	55,044	1,049
	Coréia	2,548	5,419	1,155
	Japão I	2,340	26,423	2,825
	Japão II	6,940	33,314	4,587
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	China I	5,432	6,749	3,241
	China II	6,296	6,234	2,079
	China III	6,039	10,223	0,848
	Coréia I	5,250	2,610	1,056
	Coréia II	5,498	6,468	0,974
<i>Laminaria sp</i> (Kombu)	China I	2,861	2,835	-
	China II	2,482	0,686	-
	Coréia	0,977	1,221	-
	Japão I	3,128	1,036	-
	Japão II	0,268	1,119	-
Ágar	Brasil	0,531	3,020	-
	Brasil	0,535	2,841	-
	Brasil	0,211	1,109	-
Alginato de Sódio	China	0,220	0,554	-
Carragenana	Brasil	1,720	2,653	-

Fonte: autora da dissertação.

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

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