



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

**Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica
de fluorescência de raios X**

MATEUS RAMOS DE ALMEIDA

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Cibele Bugno Zamboni**

**São Paulo
2022**

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

**Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica
de fluorescência de raios X**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

MATEUS RAMOS DE ALMEIDA

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Cibele Bugno Zamboni**

**São Paulo
2022**

Fonte de financiamento: CNPq, projeto: 830615/1999-7, processo: 130031/2020-8

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

Como citar:

ALMEIDA, Mateus R. ***Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica de fluorescência de raios X***. 2022. 65 p.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN, São Paulo. Disponível em:

<<http://repositorio.ipen.br/>> (data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN, com os dados fornecidos pelo autor.

Almeida, Mateus Ramos de

Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica de fluorescência de raios X / Mateus Ramos de Almeida; orientadora Cibele Bugno Zamboni. -- São Paulo, 2022.

65p.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2022.

1. Medicina esportiva. 2. Sangue. 3. Análise elementar. 4. FRXDE. 5. AAN. I. Zamboni, Cibele Bugno, orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Mateus Ramos de Almeida

Título: Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica de fluorescência de raios X

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia Nuclear da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de participar deste projeto incrível, pelo privilégio de ter trabalhado com pessoas que eu admiro, pelo cuidado à minha saúde física e emocional e por todo o resto inenarrável.

À minha estimada e querida orientadora Dra. Cibele Bugno Zamboni pela paciência, atenção, incentivo, orientação incondicional e apoio sem o qual este trabalho não seria possível. É notável o grau de profissionalismo e rigor em seu trabalho, fazendo-me dar sempre o meu melhor em todas as minhas atividades no LEER/CERPq.

Aos meus pais pelo apoio incondicional, compreensão e incentivo em todos os momentos.

À minha querida colega Msc. Ilca Marli Moitinho Amaral Medeiros por ter sido fundamental na minha vida acadêmica.

Ao meu estimado colega Dr. Dalton Giovanni Nogueira da Silva pelo companheirismo no laboratório e valiosos ensinamentos sobre ciência e resolução de problemas cotidianos.

Ao Dr. José Agostinho Gonçalves de Medeiros por sempre estar à disposição para sanar minhas dúvidas sobre física nuclear.

A todos os colegas do LEER/CERPq - IPEN/CNEN-SP pelo apoio e incentivo.

Às instituições envolvidas: IPEN/CNEN-SP, USP-SP, UNICAMP, Banco de Sangue Paulista, UNIFIEO e UNISA pela possibilidade de realizar este trabalho.

À CPG do IPEN/CNEN-SP por sempre prestar um auxílio de excelência.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido. Projeto: 830615/1999-7, processo: 130031/2020-8.

“Se vi mais longe foi por estar sobre os ombros de gigantes.”

Isaac Newton

RESUMO

ALMEIDA, Mateus R. *Investigação de elementos químicos em sangue total de judocas utilizando a técnica de fluorescência de raios X*. 2022. 66 p.
Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

O objetivo do presente estudo foi direcionado a avaliação de elementos químicos, de relevância nutricional e clínica, em sangue total de judocas submetidos a plano alimentar balanceado com suplementos (G1) e sem suplementação (G2) visando maior entendimento das necessidades nutricionais e adequação das necessidades diárias em função do desempenho esportivo, uma vez que pequenas variações desses elementos podem levar a perda de rendimento e deixar o organismo vulnerável aos problemas de ordem patológica. As coletas de sangue total foram realizadas após 6 meses da implantação do protocolo nutricional para posterior comparação entre os grupos (G1 e G2). Para essa análise foram empregadas as técnicas de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (FRXDE) e Análise por Ativação com Nêutrons (AAN). Estas técnicas analíticas são complementares e possibilitaram a análise quantitativa dos elementos Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, P, Rb, S e Zn compondo dados de uso na medicina esportiva que podem beneficiar o atleta durante o treino e recuperação. Verificou-se que as dosagens de Cl, K, P e S em sangue total para todos os judocas encontram-se dentro dos intervalos de normalidade, independente do controle alimentar. Entretanto, as dosagens dos demais elementos mostraram variações, tanto para G1 como para G2 em relação ao grupo de controle, quando as comparações foram realizadas em função do gênero. Os resultados mostram a necessidade de adotar dieta personalizada, otimizando o desempenho e recuperação dos judocas, além de contribuir para a proposição de novos protocolos de avaliação nutricional e clínica ainda não descritos na literatura.

Palavras-chave: medicina esportiva, sangue, análise elementar, FRXDE, AAN.

ABSTRACT

ALMEIDA, Mateus R. *Investigation of chemical elements in whole blood of judokas using the X-ray fluorescence technique*. 2022. 66 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

The objective of the present study was the evaluation of chemical elements of nutritional and clinical relevance in the whole blood of judokas submitted to balanced food plan with supplementation (G1) and without supplementation (G2), aiming at a better understanding of the nutritional needs and adequacy of the diets. The daily needs depending on sports performance, since small variations in the nutrition's can lead to loss of performance and leave the body vulnerable to pathological problems. Whole blood analyses were performed 6 months after the implementation of the nutritional protocol using EDXRF and INAA techniques. These analytical techniques are complementary and enabled the quantitative analysis of the elements Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, P, Rb, S and Zn, composing data for use in sports medicine that can benefit the athlete during training and recovery. It was found that the dosages of Cl, K, P and S in whole blood for all judokas are within normal ranges, regardless of dietary control. However, the dosages of the other elements showed variations, both for G1 and for G2 related to the control group, when the comparisons were carried out according to gender. The results show the need to adopt a personalized diet, optimizing the performance and recovery of judokas, in addition, they contribute to the proposition of new nutritional and clinical assessment protocols not yet described in the literature.

Key words: sports medicine, blood, elemental analysis, EDXRF, NAA.

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 – Funções dos elementos químicos envolvidos em processos metabólicos e fisiológicos do corpo humano.....	3
Tabela 2 – Informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea e faixa etária, para os grupos de judocas (G1 e G2).....	11
Tabela 3 – Propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue total: composição isotópica (%), isótopo a ser ativado com nêutrons, reação induzida por nêutrons (n,γ), energia dos raios γ emitidos (E_γ) e o tempo de meia-vida ($T_{1/2}$) associada ao isótopo radioativo.....	16
Tabela 4 – Condições experimentais para a realização das medidas utilizando a técnica de AAN.....	17
Tabela 5 – Determinação da sensibilidade (S), limite de detecção (LD), desvio padrão relativo (DPR) e teste Z-Score para P, S, Cl, K, Ca e Fe.....	22
Tabela 6 – Limites de detecção (LD) para P, S, Cl, K, Ca e Fe em sangue total na condição de medida 300s e 900s.....	27
Tabela 7 – Concentrações dos elementos obtidos (presente estudo) comparados aos valores de referência.....	28
Tabela 8 – Concentrações medidas em sangue total.....	29
Tabela 9 – Razão entre a média da concentração em sangue para G1 e GC. As estimativas percentuais da variação entre as médias, entre esses grupos, foram inclusas para comparação.....	40
Tabela 10 – Razão entre a média da concentração em sangue para G2 e GC. As estimativas percentuais da variação entre as médias, entre esses grupos, foram inclusas para comparação.....	41
Tabela 11 – Matriz de correlação em sangue total para G1.....	45
Tabela 12 – Matriz de correlação em sangue total para G2.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Dimensão do arranjo compacto de FRXDE (esquerda) e detalhes do posicionamento da amostra de sangue (direita).....	7
Figura 2 – Arranjo experimental com detector HPGe do espectrômetro gama no LEER.....	10
Figura 3 – Coleta de sangue por pulsão digital.....	12
Figura 4 – Dimensão da amostra de sangue total.....	12
Figura 5 – Coleta de sangue por pulsão venal e dimensão da amostra de sangue total.	13
Figura 6 – Espectro de sangue total usando espectrômetro de FRXDE com alvo de Ag. A presença do pico de Argônio (Ar) é devido a presença do ar (medidas realizadas sem vácuo).	15
Figura 7 – Invólucros cilíndricos utilizados na irradiação com nêutrons: dispositivo de polietileno para irradiação curta (abaixo), dispositivo de alumínio para irradiação longa (acima).....	16
Figura 8 – Espectro- γ parcial do sangue total ativado com nêutrons na irradiação curta.....	17
Figura 9 – Espectro- γ parcial do sangue total ativado com nêutrons na irradiação longa.....	18
Figura 10 – Retas de calibração do P e do S.....	21
Figura 11 – Retas de calibração do Cl e do K.....	21
Figura 12 – Retas de calibração do Ca e do Fe.....	22
Figura 13 – Variação do LD para P em função do tempo de contagem.....	23
Figura 14 – Variação do LD para S em função do tempo de contagem.....	24
Figura 15 – Variação do LD para Cl em função do tempo de contagem.....	24
Figura 16 – Variação do LD para K em função do tempo de contagem.....	25
Figura 17 – Variação do LD para Ca em função do tempo de contagem.....	25
Figura 18 – Variação do LD para Fe em função do tempo de contagem.....	26
Figura 19 – Valores do Z-Score considerando o intervalo de confiança de $\pm 1DP$ (linha tracejada) e $\pm 2DP$ (linha contínua).....	29

Figura 20 – Comparativo entre as concentrações medidas em sangue total para os grupos G1, G2 e GC.....	31
Figura 21 – Comparação entre as concentrações de P em função do gênero e da dieta adotada.....	32
Figura 22 – Comparação entre as concentrações de S em função do gênero e da dieta adotada.....	32
Figura 23 – Comparação entre as concentrações de Ca em função do gênero e da dieta adotada.....	32
Figura 24 – Comparação entre as concentrações de Cl em função do gênero e da dieta adotada.....	33
Figura 25 – Comparação entre as concentrações de K em função do gênero e da dieta adotada.....	33
Figura 26 – Comparação entre as concentrações de Fe em função do gênero e da dieta adotada.....	33
Figura 27– Comparação entre as concentrações de Br em função do gênero e da dieta adotada.....	34
Figura 28– Comparação entre as concentrações de Na em função do gênero e da dieta adotada.....	34
Figura 29 – Comparação entre as concentrações de Rb em função do gênero e da dieta adotada.....	34
Figura 30 – Comparação entre as concentrações de Zn em função do gênero e da dieta adotada.....	35
Figura 31 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre os grupos G1 e G2 em função da dieta adotada.....	37
Figura 32 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre os grupos G1 e G2 em função do gênero feminino.....	38
Figura 33 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) para o grupo G1 em função do gênero.....	38
Figura 34 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre o grupo de controle (GC) e o grupo G1.....	39
Figura 35 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre o grupo de controle (GC) e o grupo G2.....	39

Figura 36 – Razão entre as médias das concentrações em sangue nos grupos de judocas (G1 e G2) em função das médias das concentrações no sangue do grupo de controle (GC)..... 40

LISTA DE ABREVIATURAS

AAN: Análise por Ativação com Nêutrons

CERPq: Centro do Reator de Pesquisas

CNEN: Comissão Nacional de Energia Nuclear

FRXDE: Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia

GC: grupo controle

G1: grupo 1 (judocas com dieta balanceada com suplementos e controlada)

G2: grupo 2 (judocas sem controle da ingestão regular de suplementos)

IAEA: International Atomic Energy Agency

IMC: índice de massa corpórea

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

LEER: Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

UNIFIEO: Universidade Fundação Instituto de Ensino para Osasco

UNISA: Universidade de Santo Amaro

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos específicos.....	4
2 MATERIAIS E MÉTODOS	5
2.1 Metodologia de FRXDE	5
2.1.1 Instrumentação para medidas de FRXDE	6
2.2 Metodologia de AAN	6
2.2.1 Instrumentação para medidas de AAN.....	8
2.3 Casuística	9
2.4 Coleta e preparo das amostras	10
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	13
3.1 Aquisição e análise de dados por FRXDE.....	13
3.2 Aquisição e análise de dados por AAN	14
4 RESULTADOS	17
4.1 Avaliação da performance do espectrômetro de FRXDE	17
4.2 Análise de sangue total por FRXDE.....	21
4.3 Avaliação da performance das medidas de AAN	26
4.4 Concentrações dos elementos	27
5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	35
5.1 Distribuição <i>t-student</i>	35
5.2 Avaliação entre os grupos de judocas e controle	39
5.3 Coeficiente de correlação linear de Pearson	42
6 CONCLUSÃO	47
6.1 Perspectivas	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1. INTRODUÇÃO

O Judô é um esporte de combate praticado como arte marcial com foco no desenvolvimento de técnicas de defesa pessoal. Compõe uma modalidade esportiva que se baseia na agilidade e flexibilidade dos praticantes. Foi criado no Japão em 1882 com o objetivo de desenvolver o físico, o espírito e a mente e, desde 1972, está integrado à lista dos esportes olímpicos. No Brasil o judô foi introduzido por volta de 1910 a 1920, por influência do aumento no número de imigrantes japoneses no país. Daí por diante disseminaram-se sua cultura e os ensinamentos. Com o aumento de adeptos veio a necessidade de organizar a Federação Nacional de Judô, o que ocorreu em 1969. Hoje em dia é praticado em centenas de academias desportivas e clubes brasileiros. É reconhecido como um esporte saudável que não está relacionado à violência, sendo o esporte individual brasileiro que mais conseguiu medalhas olímpicas (24 medalhas, sendo 4 de ouro, 3 de prata e 17 de bronze).

O bom desempenho do atleta, independentemente da atividade esportiva praticada, caracteriza-se pela combinação de vários fatores entre os quais se destacam o treinamento adequado e o correto aporte nutricional. As atividades esportivas proporcionam benefícios à saúde, entretanto, demandas consideráveis sobre o corpo, durante treinamento físico repetitivo e de longa duração, podem resultar em lesão muscular. Da mesma forma, a nutrição balanceada também traz benefícios ao atleta, todavia, condutas nutricionais inadequadas podem ser responsáveis por treinamentos de baixa performance e podem levar ao aparecimento de enfermidades, independentemente do grau de esforço e dedicação do atleta [1-2]. Portanto, para um treinamento seguro e adequado, a prescrição do treino e da dieta deve ser estabelecida visando suprir as necessidades nutricionais e energéticas para melhorar o desempenho atlético.

Os elementos inorgânicos embora presentes em pequenas quantidades no corpo humano são indispensáveis ao bom desempenho do atleta e estão presentes em todas as células e participam dos processos fisiológicos e metabólicos que ocorrem no organismo. Enquanto os processos fisiológicos estão relacionados ao funcionamento do corpo humano e envolvem, por exemplo, digestão, excreção, circulação, respiração, imunização, dentre outros, os

processos metabólicos estão relacionados a funções vitais como a nutrição (inclusão de elementos essenciais no organismo), a respiração (oxidação desses elementos essenciais para produção de energia) e síntese de moléculas estruturais (utilizando a energia produzida). Os processos metabólicos se dividem em dois grupos: anabolismo e catabolismo. O anabolismo é um processo de construção de tecido muscular pelo consumo de energia (nutrição), que pode ser provocado pela realização de exercícios físicos. Já o catabolismo é o conjunto de reações envolvidas na quebra de moléculas complexas em moléculas menores, processo que fornece energia para o organismo. Os exercícios catabólicos geralmente são aeróbicos, ou seja, eles consomem oxigênio e ajudam na queima de calorias. No judô tem-se a predominância do sistema aeróbio para suprir a energia necessária para a realização do combate [3].

Na Tabela 1 são apresentadas algumas das funções de elementos envolvidos em processos fisiológicos e metabólicos do corpo humano.

Tabela 1 – Funções dos elementos químicos envolvidos em processos metabólicos e fisiológicos do corpo humano.

Elementos	Funções [1,2, 4-9]
Br	Encontra-se ligado às proteínas e aminoácidos; seu possível papel pode estar associado ao balanço eletrolítico.
Ca	Formação de tecidos, ossos e dentes; tonicidade vascular, coagulação sanguínea, contração muscular e sinalização intracelular.
Cl e K	Equilíbrio eletrolítico e pressão osmótica.
Fe	Transporte e armazenamento de oxigênio, respiração celular, produção de energia e biossíntese de algumas moléculas orgânicas.
Na	Principal cátion nos líquidos extracelulares, presente em todas as células do organismo; regula a quantidade de líquido extracelular, importante regulador da pressão arterial, atua na pressão osmótica e do equilíbrio ácido-base, na condução de impulsos nervosos, na contração muscular, no transporte e na absorção de alguns nutrientes, como cloro, aminoácidos e glicose.

P	Auxilia na rigidez dos ossos e dentes (em combinação com o cálcio), une – se aos lipídios para formar fosfolipídios nas membranas, atua no controle das funções nervosas e musculares e participa do metabolismo energético de proteínas, lipídios e carboidratos, além de auxiliar no controle do pH do corpo.
S	Desempenha um papel importante no crescimento, metabolismo e mecanismo de transferência de energia.
Zn	Importante e essencial componente no metabolismo orgânico, atuando como cofator em mais de 300 enzimas; também atua na transmissão de impulsos nervosos e no metabolismo energético.
Rb	O rubídio não tem função biológica conhecida no corpo humano e é pouco tóxico em concentrações normais. Embora esteja presente em pequenas quantidades, não há evidências conclusivas sobre seu papel na fisiologia humana.

Fonte: Autor da dissertação.

Considerando que nos últimos anos o Laboratório de Espectroscopia e Espectrometria das Radiações (LEER) do Centro do Reator de Pesquisas (CERPq) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP) tem utilizado, com sucesso, as técnicas de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (FRXDE) e Análise por Ativação com Nêutrons (AAN) como alternativas para ensaios bioquímicos em fluidos corpóreos, foram estabelecidas parcerias com a Universidade de Santo Amaro (UNISA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e com a Universidade Fundação Instituto de Ensino para Osasco (UNIFIEO) para a investigação de fluidos corpóreos de atletas submetidos a treinos de longa performance [10-15]. Essas investigações proporcionaram uma interpretação mais detalhada das respostas ao longo de todo período de treinamento. Além disso, foi possível avaliar com eficiência o estado nutricional e/ou o grau de estresse do organismo como um todo, relativo a um determinado período de esforço físico aliando saúde, desempenho e aumento da vida útil dos atletas.

No presente estudo o foco está na análise multielementar do sangue total de judocas, em constante treino durante o período de 2,8 anos, e submetidos à dieta balanceada com e sem suplementação. Esse estudo compõe uma parceria do LEER com a UNIFIEO, UNISA e o Banco de Sangue Paulista.

1.1 Objetivos específicos

Determinação da concentração de Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, P, Rb, S e Zn em sangue total de judocas com dieta balanceada com suplementos (grupo composto por 11 judocas e denominado G1).

Determinação da concentração Br, Ca, Cl, Fe, K, Na, P, Rb, S e Zn em sangue total de judocas com dieta balanceada sem adição de suplementos (grupo composto por 9 judocas e denominado G2).

Os elementos Ca, Cl, Fe, K e Na foram selecionados para esta investigação em função da sua relevância clínica para avaliação de disfunções eletrolíticas bem como pela importância nutricional. A avaliação de Zn, embora não seja usual, é importante principalmente para a função imune. Da mesma forma, foram feitas as avaliações de P e S, pois esses elementos estão presentes na dieta dos brasileiros principalmente em carnes e vegetais e tornaram-se mais relevantes após a pandemia de COVID-19 por estarem relacionados com a perda muscular e nervosa (coração/pulmão). O elemento Rb, embora em quantidades menores em sangue, foi avaliado com o objetivo de fornecer subsídios para melhor entendimento das correlações interelementos em sangue de atletas desta modalidade esportiva.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Metodologia de FRXDE

A técnica de Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia (FRXDE) é um método de análise elementar qualitativo e quantitativo que se aplica praticamente a todos os elementos químicos ($Z > 13$). Quando um elemento químico de uma amostra é excitado, este tende a ejetar os elétrons do interior dos níveis dos átomos e, como consequência disto, elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui uma perda de energia, e esta energia é emitida na forma de um raio X de energia característica e bem definida para cada elemento. A detecção e análise deste espectro de raios X característicos permitem a identificação e quantificação dos elementos constituintes da amostra.

O espectro de FRXDE representa a quantidade de fótons de raios X característicos detectados e a energia dos mesmos. Dessa forma, as áreas sob os picos nos espectros fornecem a quantidade total de fótons que foram detectados durante o tempo de medida. A equação que relaciona a intensidade de raios X característicos com sua concentração em uma determinada amostra é dada por [16]:

$$I_i = C_i S_i A$$

onde:

I_i : intensidade do elemento i (número total de fótons pelo tempo da medida);

C_i : concentração do elemento i na amostra;

S_i : sensibilidade do sistema de medidas para o elemento i ;

A : fator de absorção da matriz; particularmente para amostras líquidas depositadas em papel de filtro podem ser consideradas finas ($A=1$).

2.1.1 Instrumentação para medidas de FRXDE

Para a realização das medidas foi utilizado um espectrômetro compacto de FRXDE constituído por um tubo de raios X com alvo de Ag e detector de Si Drift (25 mm² x 500 µm / janela de Berílio, 12,5 µm). A amostra foi posicionada na frente do tubo de raios X, mantendo-se fixa a geometria do conjunto fonte (alvo) - detector bem como a distância da amostra, para que ocorresse a excitação dos átomos na amostra; a radiação produzida (raio X característico) foi detectada usando o detector de Si Drift (Figura 1).

Figura 1– Dimensão do arranjo compacto de FRXDE (esquerda) e detalhes do posicionamento da amostra de sangue (direita).



Fonte: Autor da dissertação.

2.2 Metodologia de AAN

O método denominado Análise por Ativação com Nêutrons (AAN) consiste em irradiar um material utilizando nêutrons produzidos a partir de um reator nuclear ou fontes de nêutrons [17]. Cada elemento constituinte do material ao tornar-se radioativo emite uma radiação gama (γ) característica, com energia de emissão bem estabelecida. A partir da medida de radiação emitida por esses núcleos radioativos é possível obter informações da composição do material ativado através das análises qualitativas e quantitativas dos elementos químicos presentes na amostra [18].

No método de ativação, denominado instrumental (AANI), a amostra e o padrão (material de referência com teor conhecido dos elementos a serem determinados) devem ser irradiados sob a mesma intensidade do feixe de nêutrons garantindo assim as mesmas condições de irradiação. A equação geral que fornece a atividade induzida por um fluxo de nêutrons é expressa por [19].

$$A = \frac{N_A \cdot \varphi \cdot \sigma \cdot m \cdot f \cdot F}{M} \cdot (1 - e^{-\lambda T_i}) \quad (1)$$

onde:

N_A : número de Avogadro (tabelado);

φ : fluxo de nêutrons;

σ : secção de choque de ativação (tabelado) [20];

m : massa da amostra;

f : fração do isótopo que irá sofrer a ativação;

F : fração do elemento ativado;

T_i : tempo de irradiação;

M : massa atômica do elemento;

λ : constante de desintegração (tabelado) [20].

Desta forma, a razão entre as atividades (amostra e padrão) reduz-se a,

$$\frac{A_{am}}{A_{pd}} = \frac{m_{am}}{m_{pd}} \quad (2)$$

onde:

A_{am} : atividade da amostra;

A_{pd} : atividade do padrão (conhecida);

m_{am} : massa do elemento na amostra (estabelecida);

m_{pd} : massa do elemento no padrão (estabelecido).

Conhecendo a atividade da amostra é possível calcular a concentração do elemento através da equação (3), inserindo um fator de correção devido à diferença de tempo entre a medida do padrão e da amostra.

$$C_{am} = C_{pd} \cdot \frac{A_{am}}{A_{pd}} \cdot \frac{m_{pd}}{m_{am}} \cdot e^{\lambda t} \quad (3)$$

onde:

C_{am} : concentração do elemento na amostra;

C_{pd} : concentração do elemento no padrão (conhecido);

A_{am} : área da transição gama referente a amostra (calculada pelo programa IDF) [21];

A_{pd} : área da transição gama referente ao padrão (calculada pelo programa IDF) [21];

m_{pd} : massa do padrão;

m_{am} : massa da amostra;

λ : constante de desintegração (tabelado);

t : intervalo de tempo entre o término da contagem do padrão e o início da contagem da amostra.

Desta forma obtém-se a concentração dos elementos ativados nas amostras em questão.

2.2.1 Instrumentação para medidas de AAN

A instrumentação nuclear instalada no LEER, utiliza um espectrômetro gama constituído por um detector semiconductor de Germânio hiperpuro (HPGe) de 198 cm³, modelo ORTEC - GEM-60195, montado no interior de uma blindagem de chumbo, conforme mostra a Figura 2. Este tipo de blindagem minimiza a radiação de fundo do laboratório. Um suporte circular de lucite, centralizado sobre a face do detector, sustenta a amostra a uma distância de 12,5 cm, que atenua efeitos secundários de detecção como soma e empilhamento, causados pelas transições gama mais intensas. Entre a fonte e o detector não há nenhum tipo de absorvedor, o que minimiza os efeitos de absorção e espalhamento.

Figura 2 – Arranjo experimental com detector HPGe do espectrômetro gama no LEER.



Fonte: Autor da dissertação.

O sistema de aquisição de dados é constituído de um amplificador linear (ORTEC – modelo 671) e um analisador multicanal ADCAM, (ORTEC – modelo 918-A) ambos conectados a um microcomputador (Figura 2).

2.3 Casuística

Participaram deste estudo 20 judocas fisicamente saudáveis (9 mulheres e 11 homens), em constante treino durante o período de 2,8 anos, com volume de treino de 8–10 h/semana. Os atletas foram submetidos a dietas diferenciadas:

G1: grupo de judocas com plano alimentar balanceado e ingestão controlada de suplementos por proteínas (72%), carboidratos (2,6%), fibras (1,2%), gorduras (0,8%), minerais (0,9%: Ca, Cr, Mg, Na, Zn) e vitaminas (0,1%: Vitaminas B12 e C).

G2: grupo de judocas com plano alimentar balanceado, mas sem ingestão de suplementação.

Na Tabela 2 são apresentadas as informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea (IMC) e faixa etária para os grupos de atletas investigados. Os atletas receberam esclarecimentos sobre os procedimentos do estudo (termo de consentimento livre). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética

em Pesquisas com Seres Humanos (15388713.0.0000.0081). Para o grupo controle (GC) foram utilizadas amostras de sangue total, disponíveis no Banco de Amostras biológicas do LEER, de doadores saudáveis (20 homens e 20 mulheres) selecionados do Banco de Sangue Paulista em São Paulo, homens e mulheres de mesma faixa etária e peso, mas não envolvidos em atividades físicas intensas.

Tabela 2 – Informações sobre gênero, peso, altura, índice de massa corpórea e faixa etária, para os grupos de judocas (G1 e G2).

	G1	G2
	n ^m = 6	n ^m = 5
	n ^f = 5	n ^f = 4
Massa (kg)	86,0 ± 17,3	87,6 ± 32,2
	58,5 ± 5,7	57,6 ± 11,7
Estatuta (cm)	174 ± 1	180 ± 8
	162 ± 5	163 ± 6
IMC (kg/m ²)	28,35 ± 5,53	26,75 ± 8,16
	21,33 ± 2,32	21,48 ± 2,64
Idade (anos)	18,2 ± 1,0	21,7 ± 3,8
	19,0 ± 2,6	21,2 ± 6,5

G1: dieta suplementada;

G2: dieta sem suplementação;

n^m: número de judocas do gênero masculino;

n^f: número de judocas do gênero feminino;

Fonte: Autor da dissertação.

2.4 Coleta e preparo das amostras

Para implantação do protocolo nutricional, a avaliação dos atletas foi feita com base em testes clínicos de hemoglobina, hematócrito e avaliação sorológica de Ca, Cl, Fe, K e Na.

As coletas de sangue total foram realizadas após 6 meses da implantação do protocolo nutricional, isto é, com base em: plano alimentar balanceado com suplementação (G1) e sem suplementação (G2). Foram coletadas amostras por pulsão digital e venal.

As amostras por punção digital foram coletadas (em duplicata) usando o dedo indicador da mão direita de cada judoca. Foi utilizada lanceta Medisafe solo agulha 28 g e 0,36 mm para perfuração (Figura 3) e, após este procedimento, foi

realizado o depósito de uma gota de sangue em papel de filtro Whatman nº 41 (Figura 4), antes do exercício (no repouso). As coletas foram realizadas por profissional habilitado.

Figura 3 – Coleta de sangue por pulsão digital.



Fonte: Banco de imagens do LEER.

Figura 4 – Dimensão da amostra de sangue total.



Fonte: Banco de imagens do LEER.

A coleta por pulsão venal (~ 2ml de sangue total) foi coletada (no repouso) em tubo seco (Figura 5). Imediatamente após coleta, alíquotas de 500 μ L (em duplicata) foram pipetadas em cápsulas de polietileno com dimensão de 0,2cc. As amostras foram submetidas a luz de infravermelho (por alguns minutos) para secagem.

Figura 5 – Coleta de sangue por pulsão venal e dimensão da amostra de sangue total.



Fonte: Banco de imagens do LEER.

Para o grupo de controle, as amostras foram coletadas (por pulsão venal e digital) e preparadas seguindo os mesmos procedimentos adotados para os judocas.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

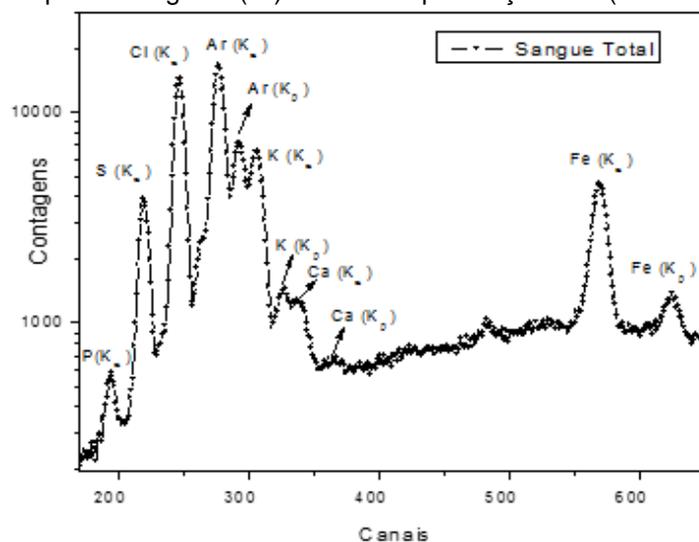
3.1 Aquisição e análise de dados por FRXDE

As medidas de FRXDE foram realizadas utilizando as amostras depositadas em papel de filtro. A metodologia de FRXDE (descrito no item 2.1) foi aplicada permitindo quantificar P, S, Cl, K, Ca e Fe. As intensidades fluorescentes foram detectadas e os espectros construídos usando softwares dedicados [22]:

- I. Software Amptek Mini-X Controller: permite o controle do tubo de raios X, definindo valores para diferença de potencial (kV) e corrente aplicada (μA).
- II. Software Dcc MCA Digital Acquisition: permite o controle de operação do detector, do multicanal e do amplificador; por este software é possível estabelecer o ganho de amplificação e o tempo de aquisição.

As medidas foram realizadas utilizando a intensidade da linha K_{α} , bem estabelecida na literatura [23]. A análise espectral foi realizada utilizando o programa WinQXAS [24]. Para ilustrar, na Figura 6 é apresentado um espectro do sangue total obtido em 300s de contagem para condição de medida de corrente de $5\mu\text{A}$ e tensão de 30KV.

Figura 6 – Espectro de sangue total usando espectrômetro de FRXDE com alvo de Ag. A presença do pico de Argônio (Ar) é devido a presença do ar (medidas realizadas sem vácuo).



Fonte: Autor da dissertação.

3.2 Aquisição e análise de dados por AAN

As medidas foram realizadas utilizando as amostras de 500 μL depositadas em cápsulas de polietileno. O método de análise instrumental (descrito no item 2.2) foi aplicado permitindo quantificar os nuclídeos: ^{82}Br ($T_{1/2} = 35,3$ h, $E_{\gamma} = 1044$ keV), ^{24}Na ($T_{1/2} = 14,96$ h, $E_{\gamma} = 1369$ keV), ^{86}Rb ($T_{1/2} = 18,7$ dias, $E_{\gamma} = 1076$ keV) e ^{65}Zn ($T_{1/2} = 244$ d, $E_{\gamma} = 1116$ keV). Na Tabela 3 são apresentadas as propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue total. O fluxo de nêutrons térmicos variou em um intervalo de $5,2 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ a $8,2 \cdot 10^{12} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Cada amostra foi colocada no interior do invólucro de irradiação (Figura 7), juntamente com a amostra padrão de sangue total (AIEA A-13) e, posteriormente, irradiadas no reator nuclear IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP

Tabela 3 – Propriedades nucleares relacionadas aos elementos ativados em sangue total: composição isotópica (%), isótopo a ser ativado com nêutrons, reação induzida por nêutrons (n, γ), energia dos raios γ emitidos (E_{γ}) e o tempo de meia-vida ($T_{1/2}$) associada ao isótopo radioativo.

Composição Isotópica de X (%)	Isótopo X^A	Reação Nuclear NA (n, γ) NP \rightarrow ($T_{1/2}$)	Energia do Raio γ (E_{γ}) emitido por NP (keV)
100	Na^{23}	$\text{Na}^{23} (n, \gamma) \text{Na}^{24} \rightarrow (14,96 \text{ horas})$	1369
49,31	Br^{81}	$\text{Br}^{81} (n, \gamma) \text{Br}^{82} \rightarrow (35,3 \text{ horas})$	554
72,18	Rb^{85}	$\text{Rb}^{85} (n, \gamma) \text{Rb}^{86} \rightarrow (18,7 \text{ dias})$	1076
48,6	Zn^{64}	$\text{Zn}^{64} (n, \gamma) \text{Zn}^{65} \rightarrow (244 \text{ dias})$	1116

A: número de massa;

X: elemento químico;

NA: núcleo alvo (sangue total);

NP: núcleo produzido após o bombardeio com nêutrons (sangue total radioativo);

$T_{1/2}$: meia-vida do isótopo radioativo;

(n, γ): representativo da reação nuclear (nêutron, gama).

Fonte: Autor da dissertação.

Figura 7 – Invólucros cilíndricos utilizados na irradiação com nêutrons: dispositivo de polietileno para irradiação curta (abaixo), dispositivo de alumínio para irradiação longa (acima).



Fonte: Banco de imagens do LEER.

Em função da meia vida dos elementos a serem quantificados foram realizadas irradiações curtas (minutos) na Estação Pneumática automatizada e longas (horas) no núcleo do reator. Na Tabela 4 são apresentadas as condições experimentais estabelecidas para cada elemento ativado com nêutrons em sangue total.

Tabela 4 – Condições experimentais para a realização das medidas utilizando a técnica de AAN.

Local de Irradiação no Reator IEA-R1	Isótopo Ativado	T_i	T_e	T_c
Estação Pneumática	Na	30 s	60 s	240 s
Núcleo Reator	Br	6 h	4 dias	4 h
Núcleo Reator	Rb, Zn	8 h	7 dias	8 h

T_i: tempo de irradiação;

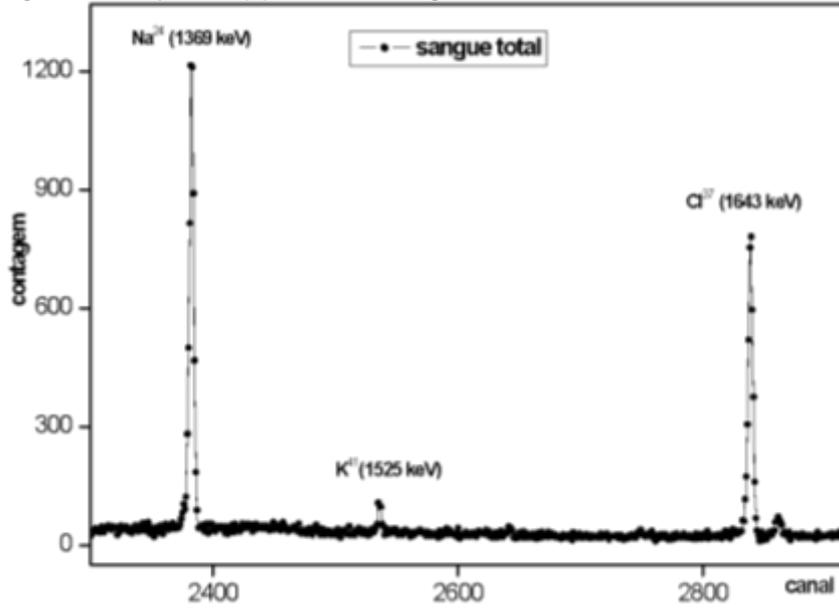
T_e: tempo de espera;

T_c: tempo de contagem;

Fonte: Autor da dissertação.

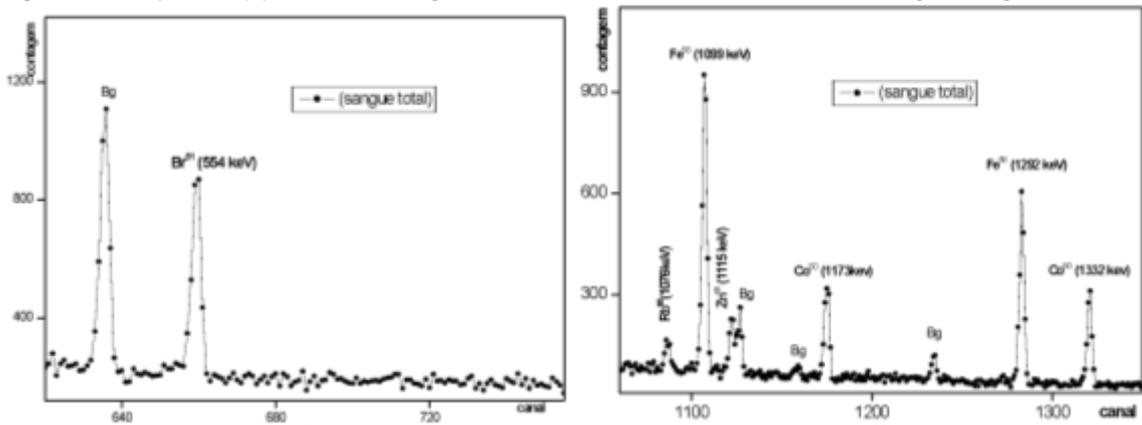
Concluída a irradiação, amostra de sangue total e padrão (AIEA A-13) foram levados para contagem no espectrômetro γ . Cada amostra foi irradiada duas vezes. A análise de cada espectro- γ foi realizada utilizando o programa IDEFIX [21] e a concentração dos elementos foi obtida através do software INAA [25]. Para ilustrar, nas Figuras 8 e 9 são apresentados os espectros- γ do sangue total ativado na irradiação curta e longa, respectivamente.

Figura 8 – Espectro- γ parcial do sangue total ativado com nêutrons na irradiação curta.



Fonte: Autor da dissertação.

Figura 9 – Espectro- γ parcial do sangue total ativado com nêutrons na irradiação longa.



Fonte: Autor da dissertação

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da performance do espectrômetro de FRXDE

O desempenho do espectrômetro foi verificado pela avaliação dos parâmetros: linearidade, precisão, acurácia ou exatidão, sensibilidade e limite de detecção utilizando solução padrão.

Linearidade: o procedimento matemático conhecido como regressão linear foi utilizado para estimar os coeficientes angular (a) e linear (b) da reta de calibração, usualmente expressa por:

$$y = ax + b$$

Onde:

y: intensidade do analito (medido experimentalmente);

x: a concentração da solução padrão.

Precisão: Pode ser avaliada pela repetição das medidas em circunstâncias similares. A precisão do método é considerada satisfatória quando os valores de desvio padrão relativo (DPR) são abaixo de 10%.

$$DPR\% = \frac{DP_{det}}{V_{det}}$$

onde:

DP_{det} : desvio padrão determinado;

V_{det} : valor determinado experimentalmente.

Acurácia ou exatidão: Pode ser verificada a partir do teste Z-score que avalia a concordância das medidas em fornecer resultados próximos ao valor verdadeiro (de um padrão certificado). A avaliação do teste Z-score é considerada satisfatória para valores de $|Z| < 2$; valores de $2 < |Z| < 3$ são questionáveis; valores de $|Z| > 3$ são insatisfatórios.

$$z - score = \frac{(V_{det} - V_{cert})}{\sqrt{(DP_{det}^2 - DP_{cert}^2)}}$$

onde:

V_{det} : Valor determinado;

V_{cert} : Valor certificado;

DP_{det} : Desvio padrão determinado;

DP_{cert} : Desvio padrão certificado.

Sensibilidade (S_i): para cada elemento (i) será obtido pela relação

$$S_i = \frac{I_i}{C_i}$$

onde:

I_i : intensidade do raio X característico (expresso pela área) de cada elemento inorgânico (i);

C_i : concentração associada a cada elemento;

Limite de detecção: É a menor concentração que pode ser determinada (distinguida da radiação de fundo) com acurácia e precisão.

$$LD = \frac{3}{S_i} \sqrt{\frac{I_{BG}}{t}}$$

onde:

LD : limite de detecção para o analito;

I_{BG} : Intensidade (cps) do background sob o pico do analito;

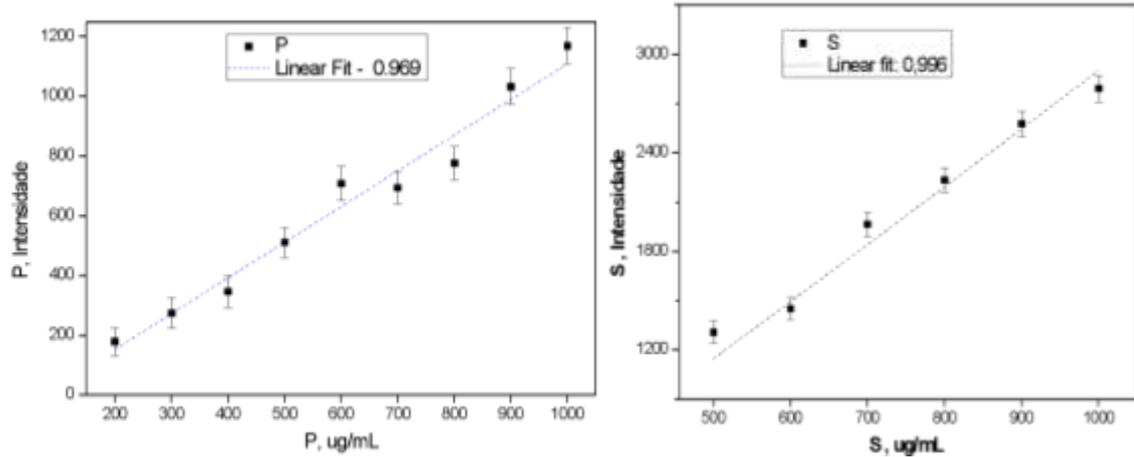
S_i : sensibilidade do analito;

t : tempo de excitação/detecção.

Para realização dessas medidas foi utilizada a solução padrão (gotejada em papel de filtro Whatman – nº 41). A condição de excitação foi estabelecida por 5µA e 30kV para tempo de contagem de 200s. A precisão do método foi verificada

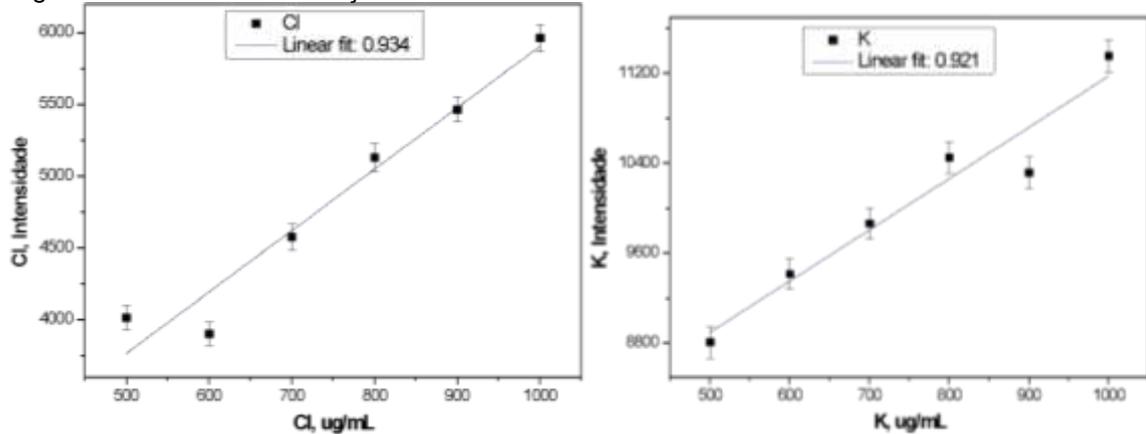
peelo cálculo do DPR para 10 amostras. Os resultados são apresentados na Tabela 5 e são considerados satisfatórios (precisão do método $<5\%$ e acurácia $Z < 2$). A linearidade foi verificada pela obtenção das retas de calibração dos elementos P, S, Cl, K, Ca e Fe apresentadas nas Figuras 10, 11, e 12. Todas as medidas foram realizadas utilizando a intensidade da linha K_{α} .

Figura 10 – Retas de calibração do P e do S.



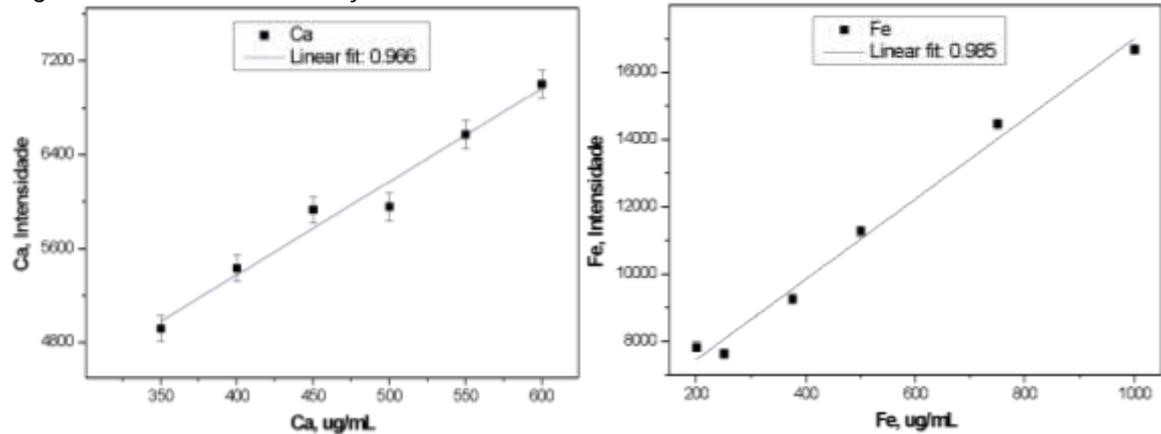
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 11 – Retas de calibração do Cl e do K.



Fonte: Autor da dissertação.

Figura 12 – Retas de calibração do Ca e do Fe.



Fonte: Autor da dissertação.

Tabela 5 – Determinação da sensibilidade (S), limite de detecção (LD), desvio padrão relativo (DPR) e teste Z-Score para P, S, Cl, K, Ca e Fe.

Elemento K_{α} (keV)	Padrão	Medido		Z-Score	S cps g/L	LD g/L
	$VM_p \pm 1DP_p$ $\mu\text{g/mL}$	$VM_{md} \pm 1DP_{md}$ $\mu\text{g/mL}$	DPR %			
P (2,02)	1000 ± 10	973 ± 71	7,29	0,38	5,24	0,94
S (2,31)	10100 ± 30	10225 ± 98	0,96	1,22	12,42	0,74
Cl (2,62)	1006 ± 5	1000 ± 24	2,45	0,23	44,98	0,22
K (3,31)	1000 ± 10	994 ± 14	1,38	0,37	23,64	0,53
Ca (3,69)	1000 ± 2	1041 ± 73	7,02	0,56	26,20	0,49
Fe (6,40)	1000 ± 54	986 ± 14	1,42	0,82	59,68	0,27

VM_p : Valor médio certificado;

$1DP_p$: Desvio Padrão do valor certificado;

VM_{md} : Valor médio determinado;

$1DP_{md}$: Desvio Padrão do valor determinado;

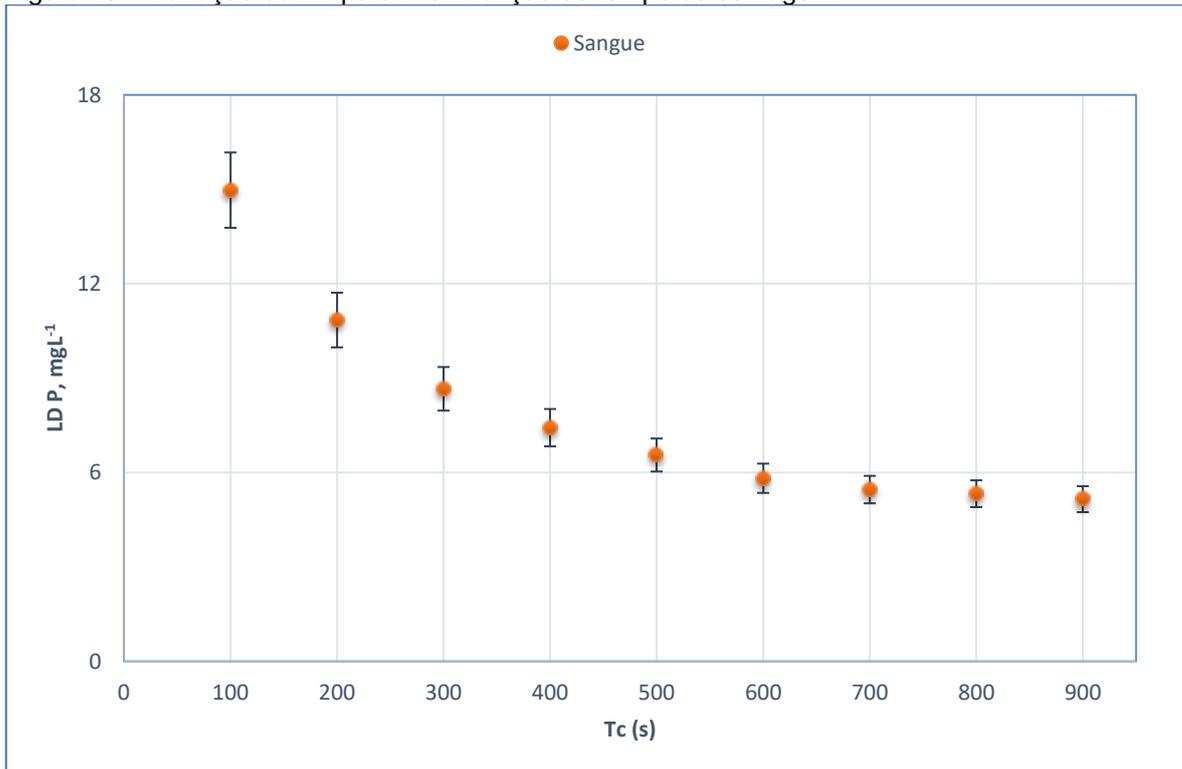
Fonte: Autor da dissertação.

Os resultados apresentados na Tabela 5 fornece subsídios que atestam que a metodologia de FRXDE é adequada para realizar medidas com precisão e qualidade.

4.2 Análise de sangue total por FRXDE

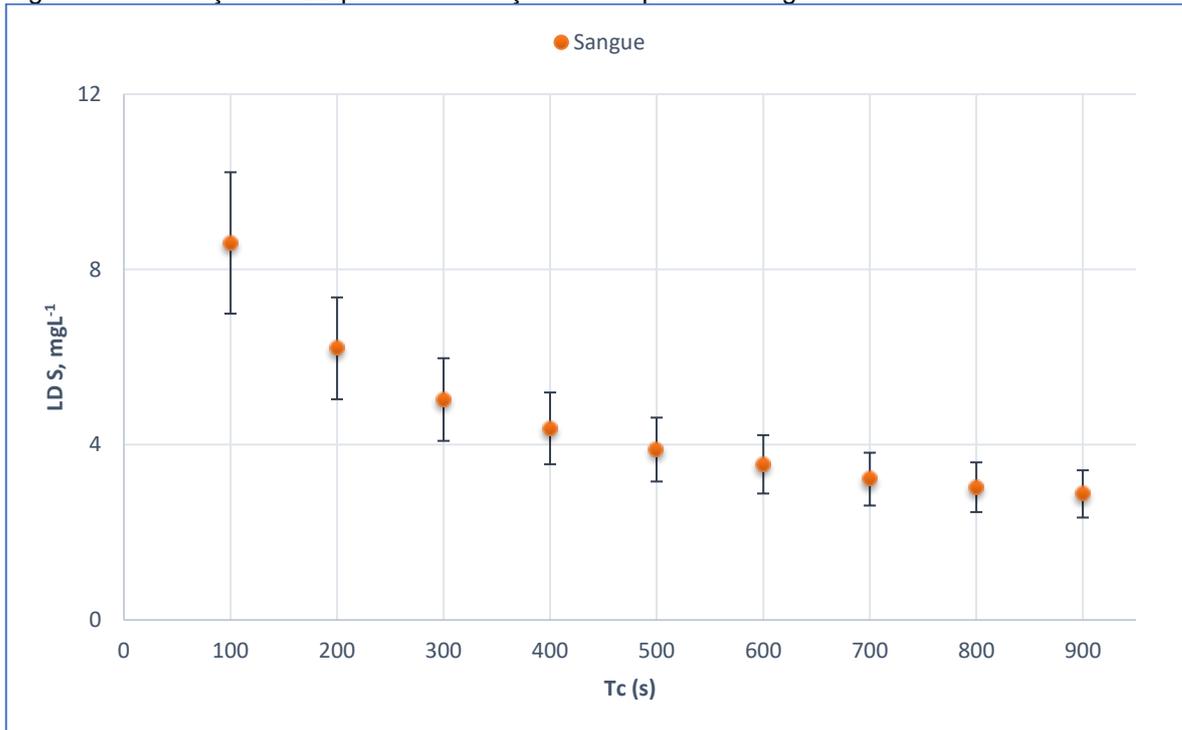
Para estabelecer o tempo de excitação da amostra de sangue total, para medida simultânea dos elementos P, S, Cl, K, Ca e Fe, o tempo de contagem foi avaliado em função do Limite de Detecção (LD). Esses resultados podem ser visualizados nas Figuras 13 a 18.

Figura 13 – Variação do LD para P em função do tempo de contagem.



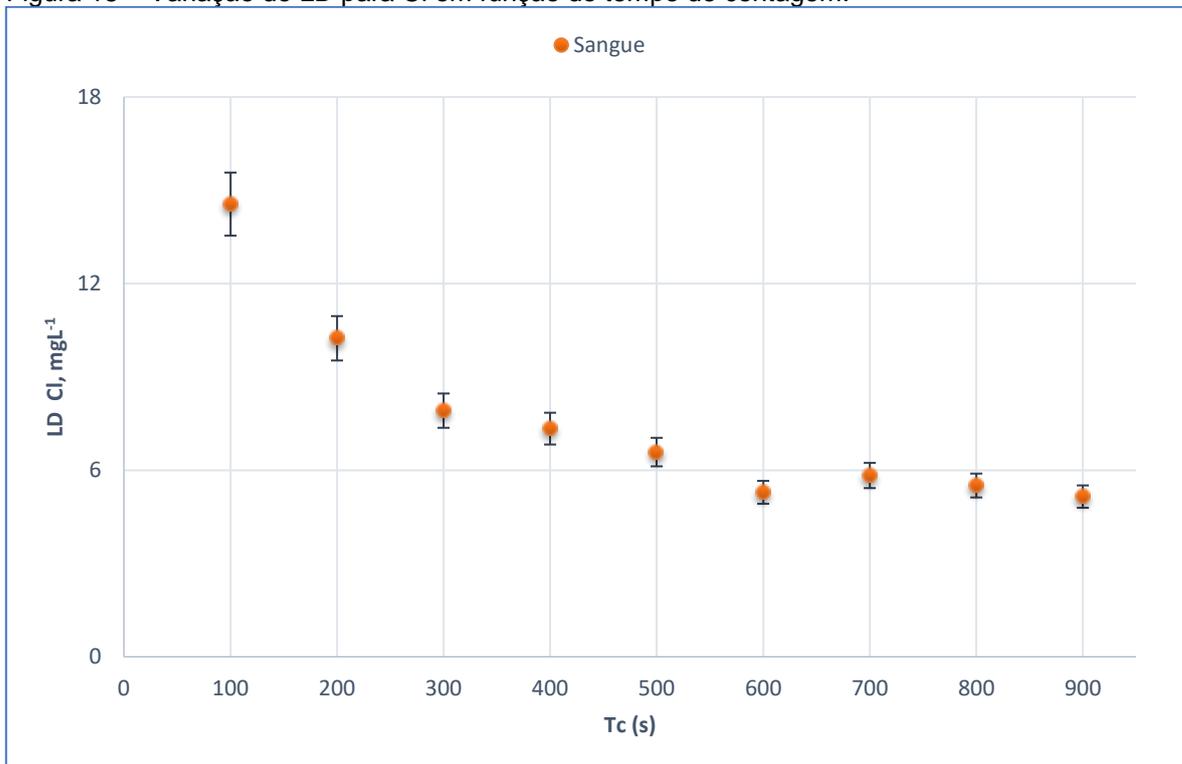
Fonte: autor da dissertação.

Figura 14 – Variação do LD para S em função do tempo de contagem.



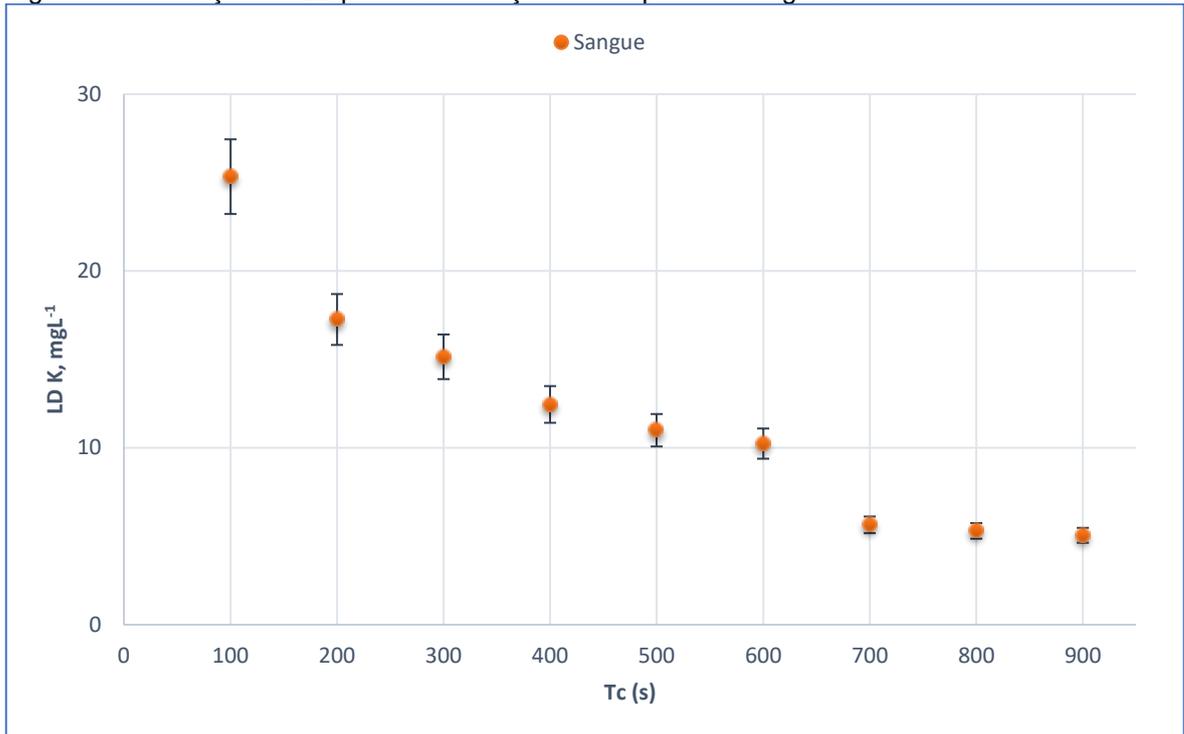
Fonte: autor da dissertação.

Figura 15 – Variação do LD para Cl em função do tempo de contagem.



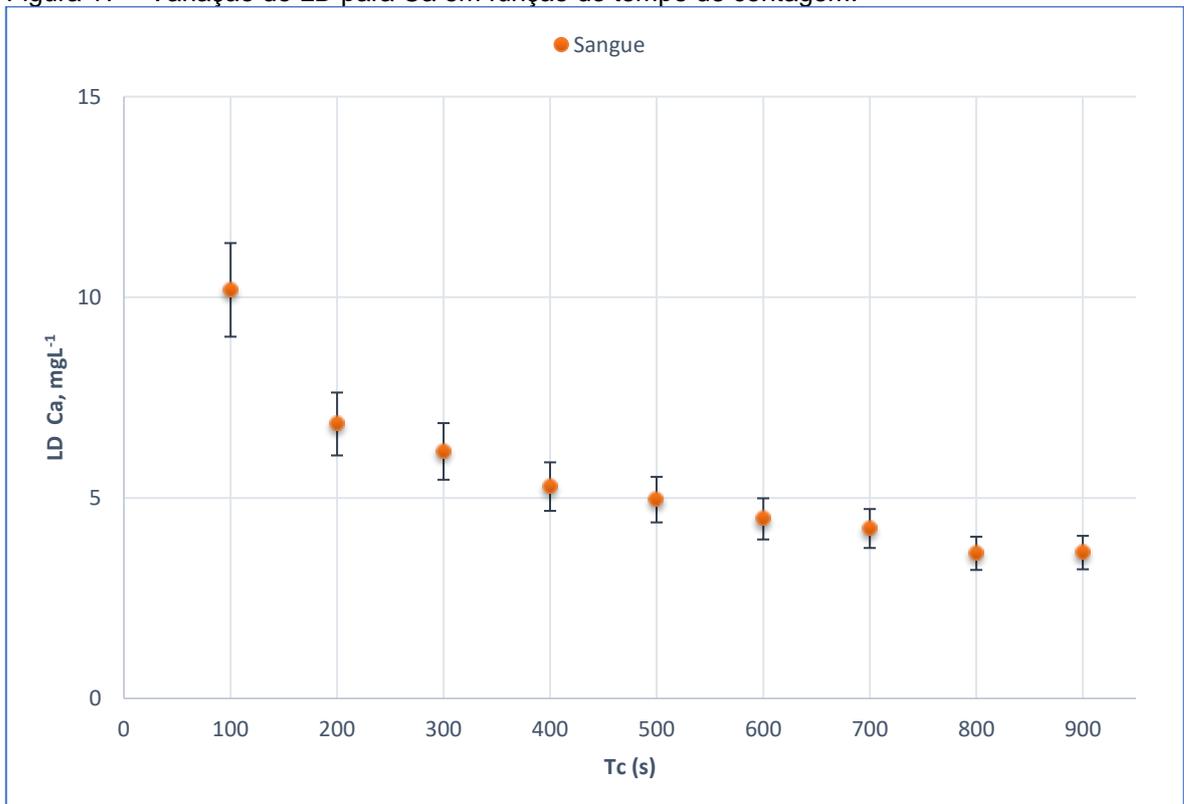
Fonte: autor da dissertação.

Figura 16 – Variação do LD para K em função do tempo de contagem.



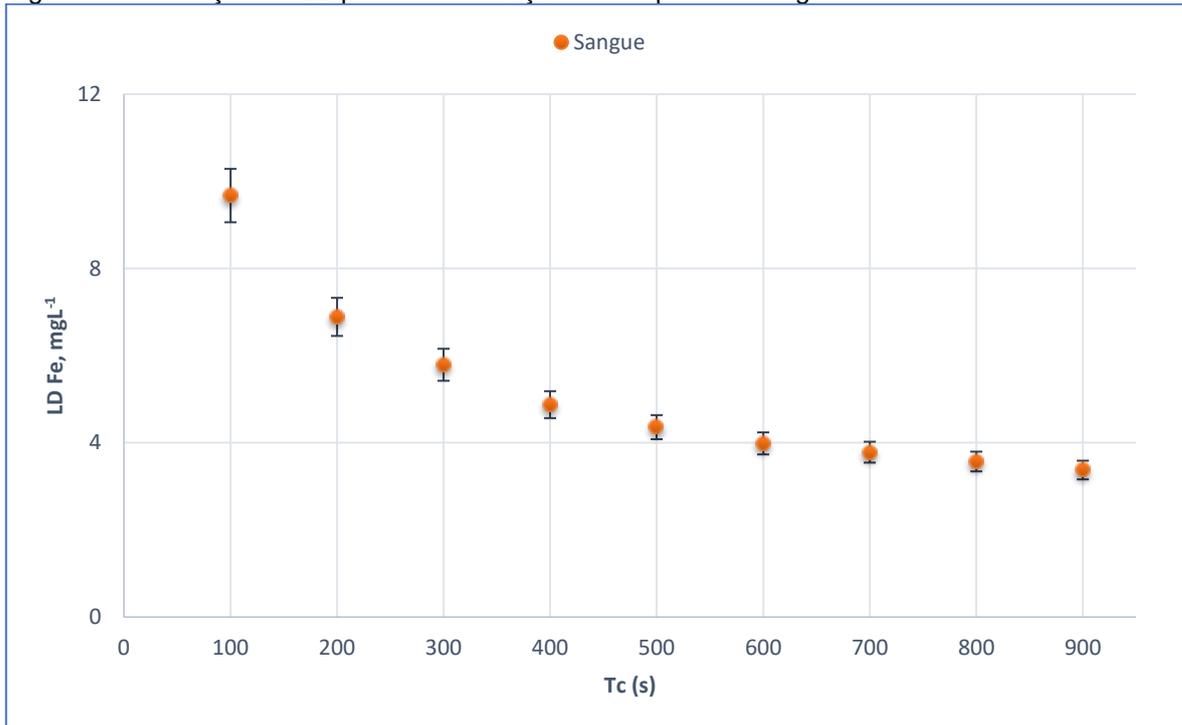
Fonte: autor da dissertação.

Figura 17 – Variação do LD para Ca em função do tempo de contagem.



Fonte: autor da dissertação.

Figura 18 – Variação do LD para Fe em função do tempo de contagem.



Fonte: autor da dissertação.

Na Tabela 6 são apresentados resultados para o Limite de Detecção (LD) para $T_c = 300$ s e $T_c = 900$ s; os valores de normalidade (Range), utilizados na prática clínica (intervalo de 95% confiabilidade), foram incluídos para comparação. Verificou-se que para o tempo de excitação (T_c) de 300 s é possível medir simultaneamente todos os elementos; acima de 300s os resultados tendem a uma estimativa de LD constante.

Tabela 6 – Limites de detecção (LD) para P, S, Cl, K, Ca e Fe em sangue total na condição de medida 300s e 900s.

Elementos [Range]*, mg/L	K _α keV	LD (%) ** mg/L Tc= 300s	LD (%) ** mg/L Tc= 900s
P [105 – 145]	2,02	20,34 ± 9	12,59 ± 9
S [40 – 88]	2,31	8,65 ± 19	5,12 ± 19
Cl [2470 – 3270]	2,62	11,89 ± 7	7,03 ± 7
K [1100 – 1540]	3,31	11,71 ± 8	6,37 ± 8
Ca [74 – 118]	3,69	6,03 ± 11	3,29 ± 11
Fe [413 – 533] ^M	6,40	6,17 ± 3	3,62 ± 3
Fe [277 – 513] ^F	6,40	6,17 ± 3	3,62 ± 3

* considerando o intervalo de 95% confiabilidade adotada na prática clínica

** incerteza associada em %

^M intervalo de normalidade para homens

^F intervalo de normalidade para mulheres

Fonte: Autor da dissertação.

A partir dessas análises verifica-se que a metodologia de FRXDE proporciona limites de detecção em níveis sanguíneos abaixo de 20 mg L⁻¹. Considerando que os intervalos de normalidade (Range) em sangue total são da ordem de dezenas a centenas de mgL⁻¹ (Tabela 6), este procedimento é adequado para a dosagem de P, S, Cl, K, Ca e Fe em sangue total. Além disso, este procedimento oferece uma alternativa não-destrutiva, para uso em exames clínicos (dosagens simultâneas Ca, Cl, Fe, K, P e S) utilizando pequena quantidade de sangue total (gotas).

4.3 Avaliação da performance das medidas de AAN

O desempenho do espectrômetro γ , bem como o controle de qualidade das medidas foi verificado utilizando material de referência certificado. Na Tabela 7 são apresentados os valores certificados e os resultados das concentrações (Média \pm 1DP) dos elementos obtidos nas análises do padrão de sangue animal (IAEA A-13 Blood).

Tabela 7 – Concentrações dos elementos obtidos (presente estudo) comparados aos valores de referência.

Elementos mgkg⁻¹	Presente Estudo Média \pm 1DP	Material de referência IAEA A-13	DPR %	 Z Score
Br	0,0203 \pm 0,0012	0,0220 \pm 0,0024	5,9	0,63
Na	13,1 \pm 0,30	12,6 \pm 1,01	6,1	0,80
Rb	2,20 \pm 0,14	2,3 \pm 0,7	6,4	0,14
Zn	13,75 \pm 0,77	13,00 \pm 1,04	5,7	0,40

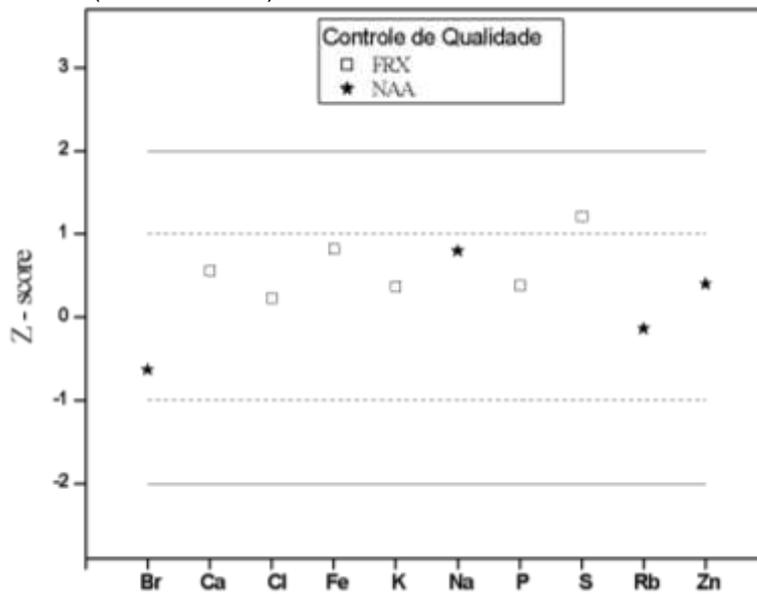
DPR: Desvio Padrão Relativo;

DP: Desvio Padrão;

Fonte: Autor da dissertação.

Os valores de acurácia e precisão obtidos indicam que os resultados são satisfatórios ($|Z| \leq 2$, DPR <7 %), considerando o intervalo de confiança de 95% usualmente adotado na prática clínica, para os padrões analisados. Na Figura 19 é apresentada uma síntese dos resultados que permitem avaliar o controle de qualidade das medidas de FRXDE e AAN. Nesta figura estão dispostas as avaliações de Z-score para ambas as técnicas

Figura 19 – Valores do Z-Score considerando o intervalo de confiança de $\pm 1DP$ (linha tracejada) e $\pm 2DP$ (linha contínua).



Fonte: Autor da dissertação.

4.4 Concentrações dos elementos

Na Tabela 8 são apresentados os resultados das concentrações medidas em sangue total expressas pelo Valor Médio (VM) e Desvio Padrão ($1\pm DP$) para os grupos de judocas G1 e G2, bem como os valores de normalidade (range) do grupo de controle (GC) para o intervalo de confiabilidade de 95% (adotado pela prática clínica). Para visualizar, esses resultados são apresentados na Figura 20.

Tabela 8 – Concentrações medidas em sangue total.

GC	VM ± 1DP	
	G1	G2
n=20	n = 11	n = 9
Br, mgL⁻¹		
1,6 ± 0,8	2,2 ± 0,5	2,5 ± 1,2
[< 3,2]	[1,2 – 3,2]	[0,1 – 4,9]
Ca, mgL⁻¹		
245 ± 97	69 ± 9	76 ± 13
[51 – 439]	[51 – 87]	[50 – 102]
Cl, gL⁻¹		
3,05 ± 0,49	2,64 ± 0,13	2,76 ± 0,13
[2,07 – 4,03]	[2,38 – 2,90]	[2,50 – 3,02]
Fe^f, mgL⁻¹		
395 ± 59 ^f	511 ± 56 ^f	501 ± 29 ^f
[277 – 513] ^f	n ^f = 5 [399 – 623]	n ^f = 4 [443 – 559]
Fe^m, mgL⁻¹		
421 ± 66 ^m	499 ± 35 ^m	513 ± 84 ^m
[289 – 553] ^m	n ^m = 6 [429 – 569]	n ^m = 5 [345 – 681]
K, gL⁻¹		
1,64 ± 0,26	1,39 ± 0,09	1,37 ± 0,13
[1,12 – 2,16]	[1,21 – 1,57]	[1,11 – 1,63]
Na, gL⁻¹		
1,80 ± 0,29	2,72 ± 0,67	2,26 ± 0,34
[1,22 – 2,38]	[1,38 – 4,06]	[1,58 – 2,94]
P, mgL⁻¹		
113 ± 55	96 ± 9	109 ± 17
[3 – 223]	[78 – 114]	[75 – 143]
S, gL⁻¹		
0,49 ± 0,14	0,47 ± 0,04	0,54 ± 0,09
[0,21 – 0,77]	[0,39 – 0,55]	[0,36 – 0,72]

Rb, mgL⁻¹		
2,6 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,5
[1,8 – 3,4]	[0,7 – 2,3]	[0,5 – 2,0]
Zn, mgL⁻¹		
6,0 ± 1,0	5,7 ± 1,3	6,4 ± 2,3
[4,0 – 8,0]	[3,1 – 7,7]	[1,8 – 11]

*para o intervalo de confiabilidade de 95%;

n: número de amostras;

G1: dieta suplementada;

G2: dieta sem suplementação;

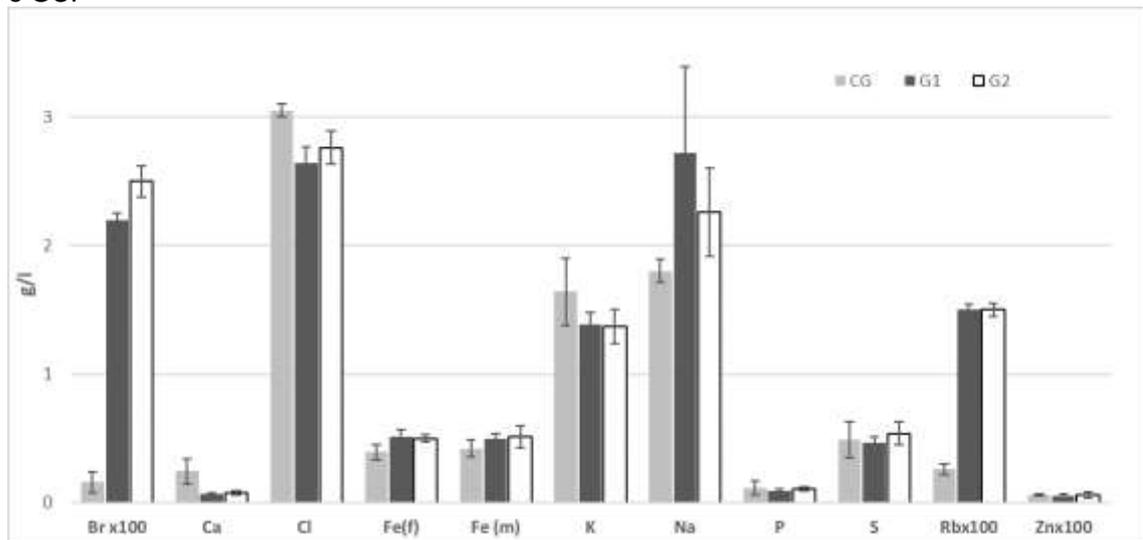
GC: grupo de controle

f: feminino;

m: masculino;

Fonte: Autor da dissertação.

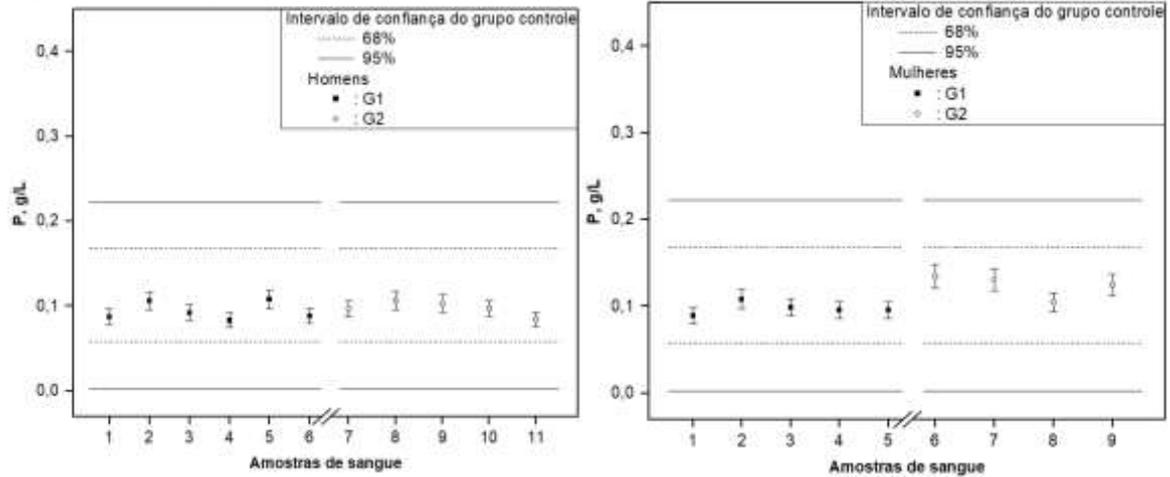
Figura 20 – Comparativo entre as concentrações medidas em sangue total para os grupos G1, G2 e GC.



Fonte: Autor da dissertação.

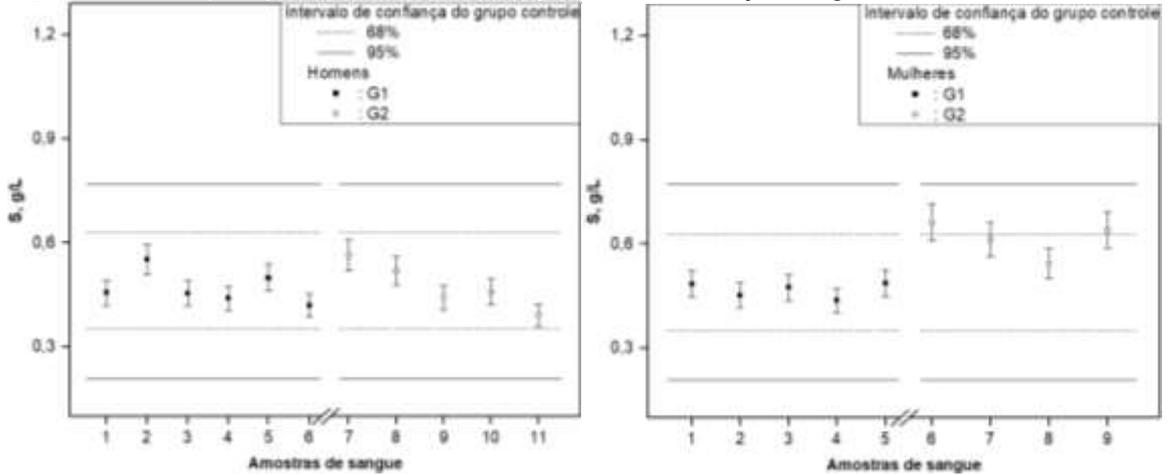
Quando a avaliação é feita de maneira individual é possível verificar o comportamento desses elementos no sangue de cada atleta. Para a visualização desses resultados foram elaboradas as Figuras 21 a 30 nas quais são apresentadas as comparações em sangue total para os grupos de judocas investigados (G1 e G2), com os resultados dispostos em função do gênero. Nessas figuras os valores médios e as incertezas associadas para G1 e G2 bem como os valores de referência do grupo controle (GC), para $\pm 1DP$ (68%) e $\pm 2DP$ (95%), foram incluídos para comparação.

Figura 21 – Comparação entre as concentrações de P em função do gênero e da dieta adotada.



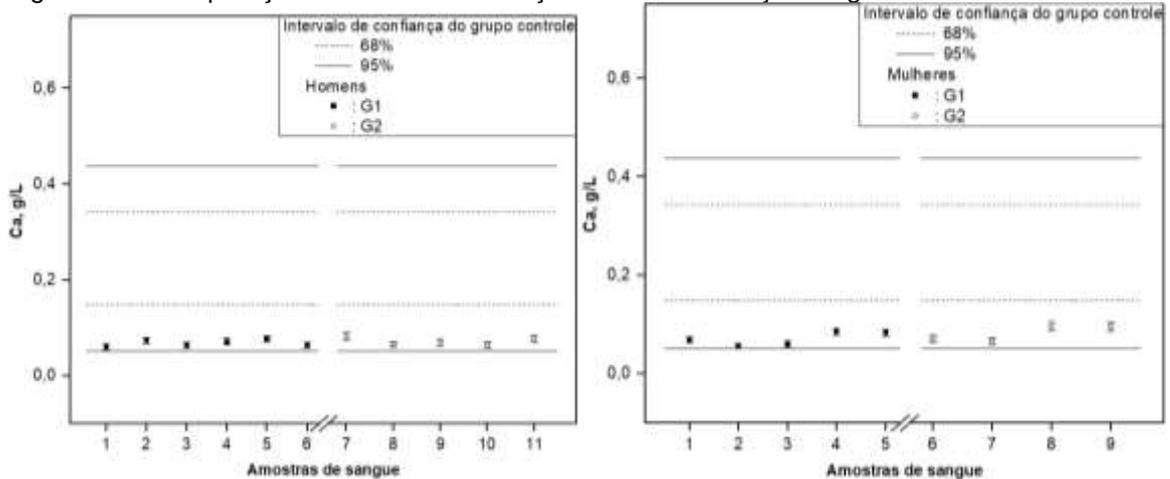
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 22 – Comparação entre as concentrações de S em função do gênero e da dieta adotada.



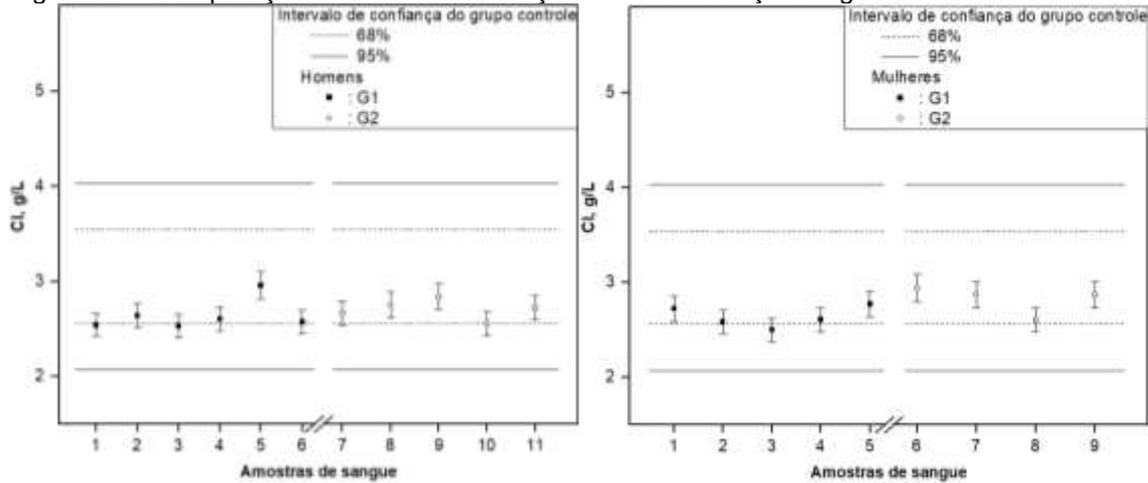
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 23 – Comparação entre as concentrações de Ca em função do gênero e da dieta adotada.



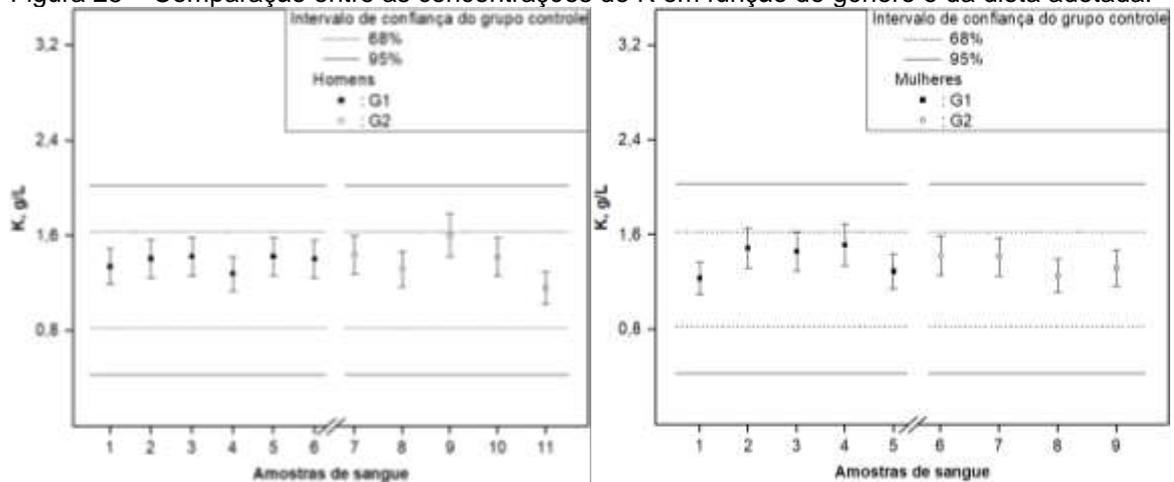
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 24 – Comparação entre as concentrações de Cl em função do gênero e da dieta adotada.



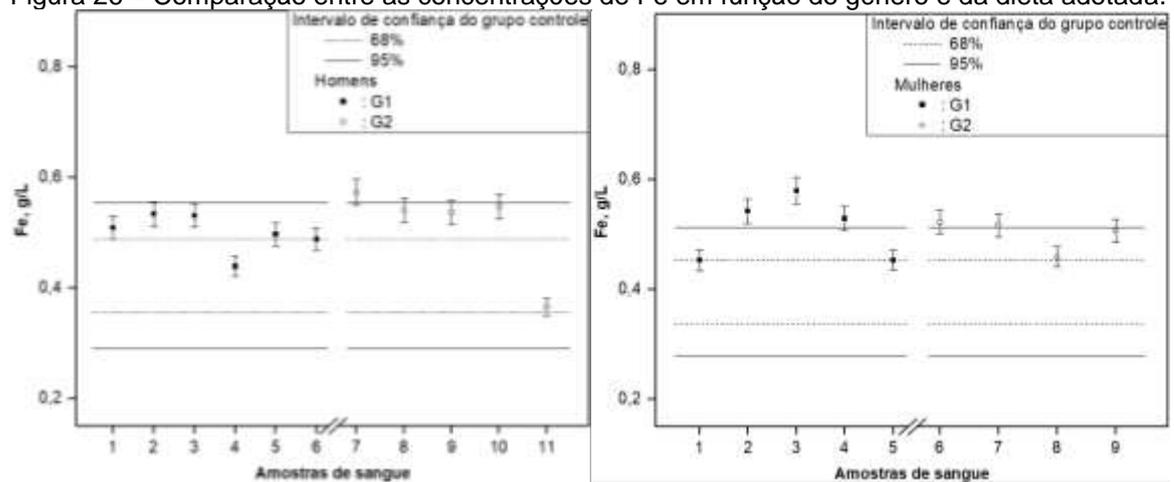
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 25 – Comparação entre as concentrações de K em função do gênero e da dieta adotada.



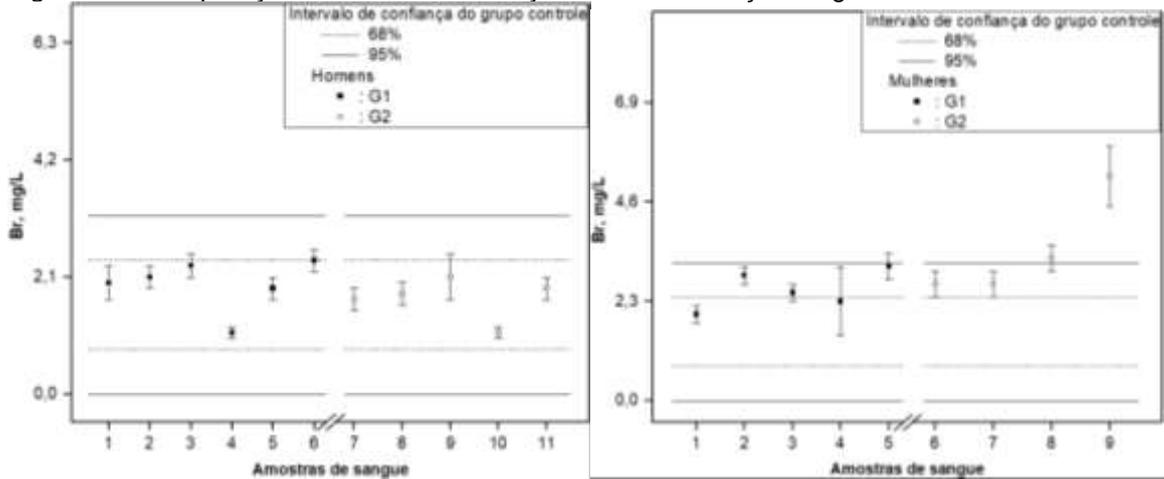
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 26 – Comparação entre as concentrações de Fe em função do gênero e da dieta adotada.



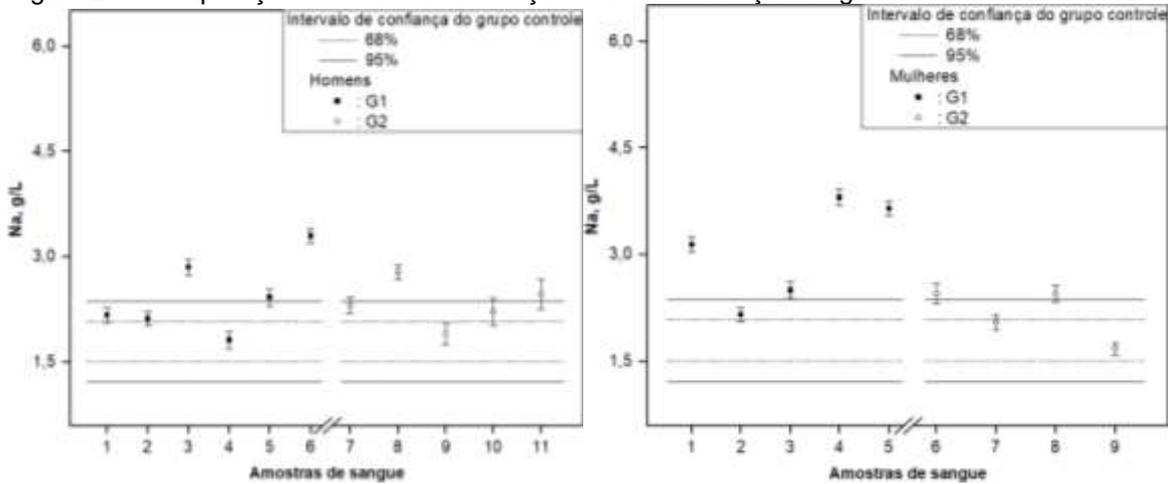
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 27– Comparação entre as concentrações de Br em função do gênero e da dieta adotada.



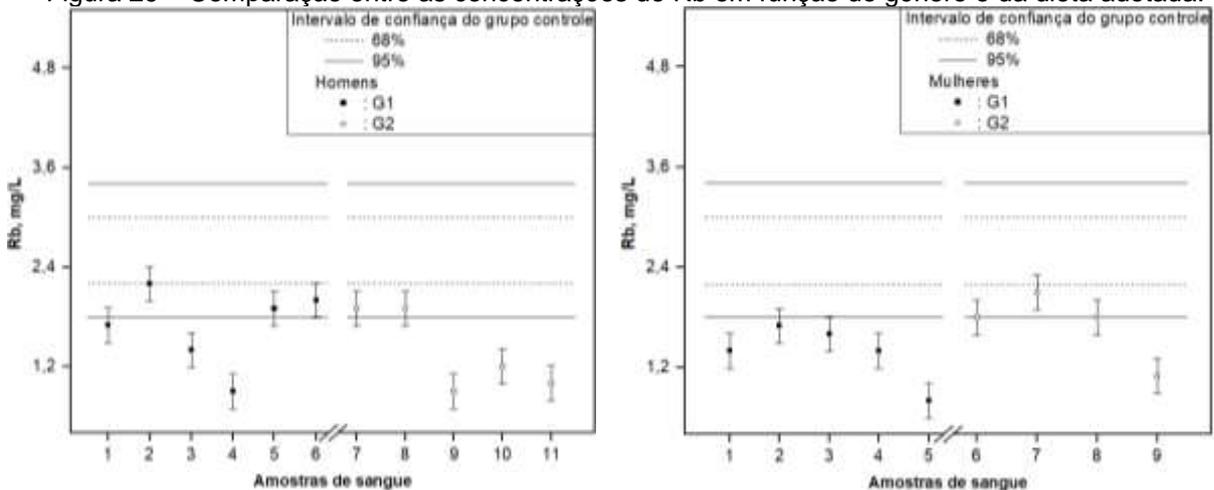
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 28– Comparação entre as concentrações de Na em função do gênero e da dieta adotada.



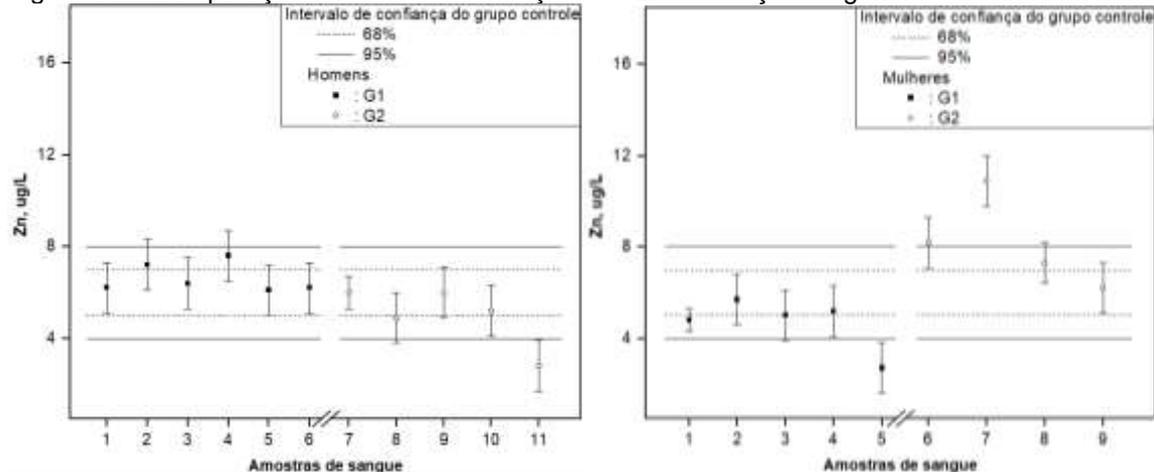
Fonte: Autor da dissertação.

Figura 29 – Comparação entre as concentrações de Rb em função do gênero e da dieta adotada.



Fonte: Autor da dissertação.

Figura 30 – Comparação entre as concentrações de Zn em função do gênero e da dieta adotada.



Fonte: Autor da dissertação.

Verificou-se que para ambos os grupos de judocas (G1 e G2), independente do gênero, as concentrações de Ca, Cl, K, P e S em sangue encontram-se dentro dos intervalos de normalidade, entretanto para Ca os resultados estão muito próximos ao limite inferior de normalidade adotado na prática clínica, isto é, para o intervalo de confiabilidade de 95% ($\pm 2DP$). Para o Br as concentrações medidas em sangue para os atletas do sexo masculino, em ambos os grupos (G1 e G2), permaneceram dentro do intervalo de normalidade, entretanto, para as atletas do sexo feminino as concentrações mantiveram-se próximas (para o grupo G1) e até acima do limite superior (para o grupo G2). Já as concentrações medidas de Na apresentaram variações acima dos limites de normalidade para 51% dos atletas (masculino e feminino) do grupo G1 e para os atletas do sexo masculino do grupo G2 os resultados estão muito próximos ao limite superior de normalidade (Figura 28). Nas medidas de Fe as concentrações para os atletas do sexo masculino encontram-se próximas ao limite superior ($+2DP$), enquanto para as mulheres mantiveram-se próximas, para o grupo G2, e até acima do limite superior para 40% das atletas do G1 (Figura 26). Com relação às medidas de Rb (Figura 29), as concentrações mantiveram-se abaixo do limite inferior ($-2DP$) para 40% dos atletas de ambos os grupos (G1 e G2).

Os resultados obtidos mostram que mesmo uma dieta suplementada não atendeu às demandas nutricionais de todos os atletas do grupo G1, enfatizando a necessidade de dieta personalizada. Além disso, tanto para G1 como G2 (ou seja, independentemente da dieta adotada) é necessário um monitoramento contínuo de Ca, Fe e Na e, embora não seja usual, a monitoração de Br, Rb e Zn é

recomendável. Essas avaliações podem contribuir com a elaboração de novos protocolos nutricionais, bem como com o entendimento dos processos metabólicos e fisiológicos do corpo humano quando submetidos a exercícios físicos constantes, repetitivos e de longa duração, uma vez que pequenas variações podem levar a perda de rendimento e deixar o organismo vulnerável aos problemas de ordem patológica.

5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Distribuição *t-student*

Para realizar a comparação entre as médias das concentrações em sangue total para os grupos investigados (G1, G2 e GC) foi utilizado o teste *t-student*.

$$t_v = \frac{x_1 - x_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

onde:

x_1 e x_2 : expressam as médias obtidas entre os grupos investigados;

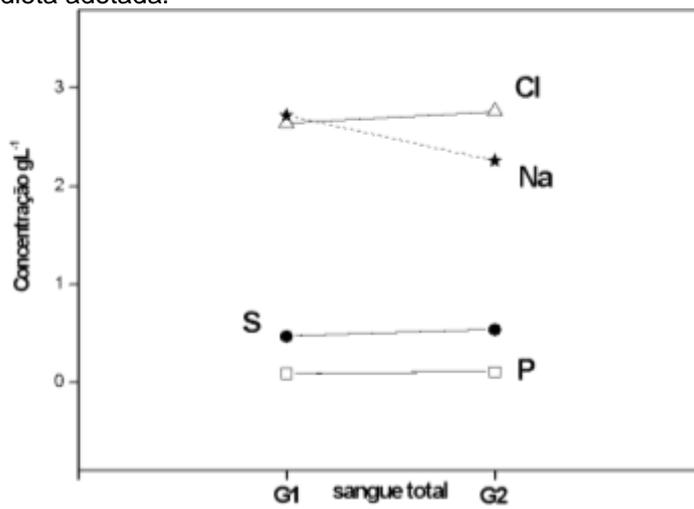
s_1^2 e s_2^2 : expressam as variâncias associadas às médias investigadas;

n_1 e n_2 : número de amostras.

Para discutir os resultados foram elaboradas figuras nas quais são apresentadas as avaliações da distribuição *t-student* entre os grupos de judocas investigados (G1 e G2), bem como um comparativo com o grupo de controle (GC). Em todos os testes foi fixado o nível de significância de 0,05. As avaliações foram realizadas para comparação dos valores de concentração em sangue total entre:

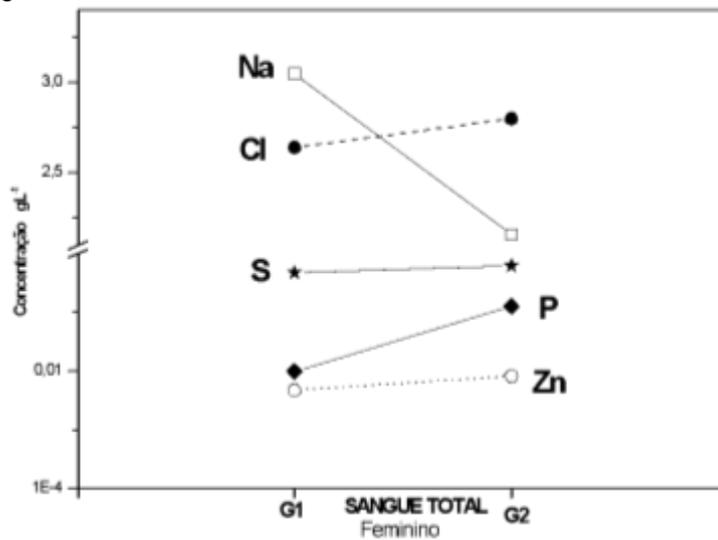
- G1 e G2: concentrações em função da dieta adotada (Figura 31);
- G1 e G2: concentrações em função do gênero e da dieta adotada (Figura 32);
- G1: concentrações em função do gênero (Figura 33);
- G1 e GC: comparativo de G1 com o grupo de controle (Figura 34);
- G2 e GC: comparativo de G2 com o grupo de controle (Figura 35).

Figura 31 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre os grupos G1 e G2 em função da dieta adotada.



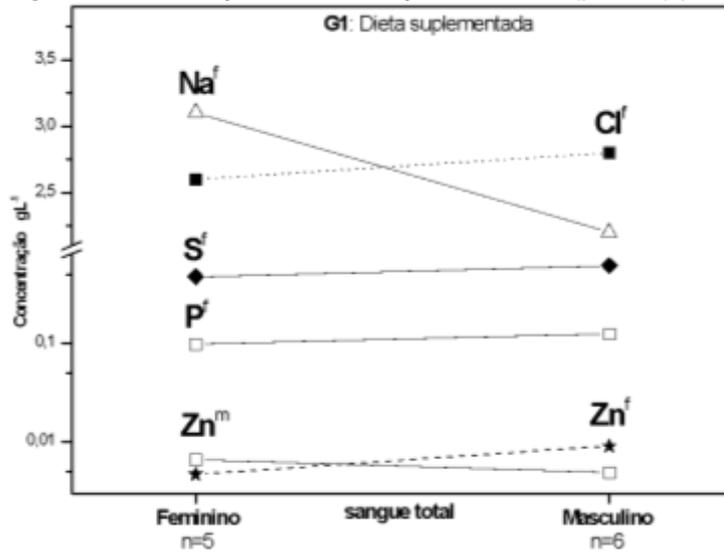
Fonte: autor da dissertação.

Figura 32 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre os grupos G1 e G2 em função do gênero feminino.



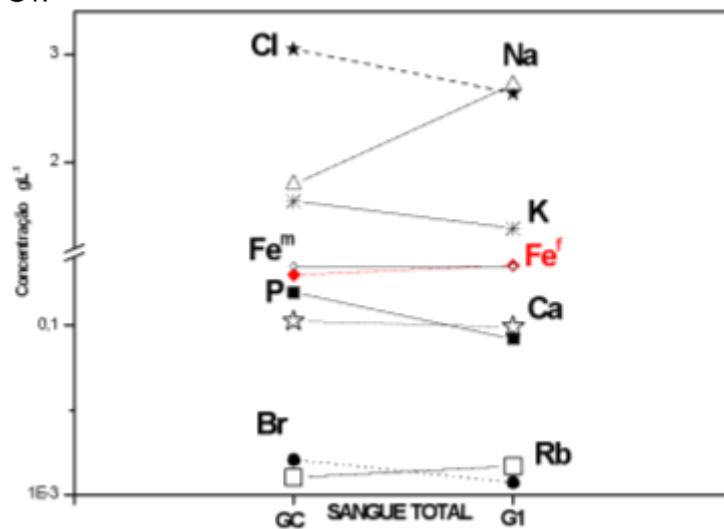
Fonte: autor da dissertação.

Figura 33 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) para o grupo G1 em função do gênero.



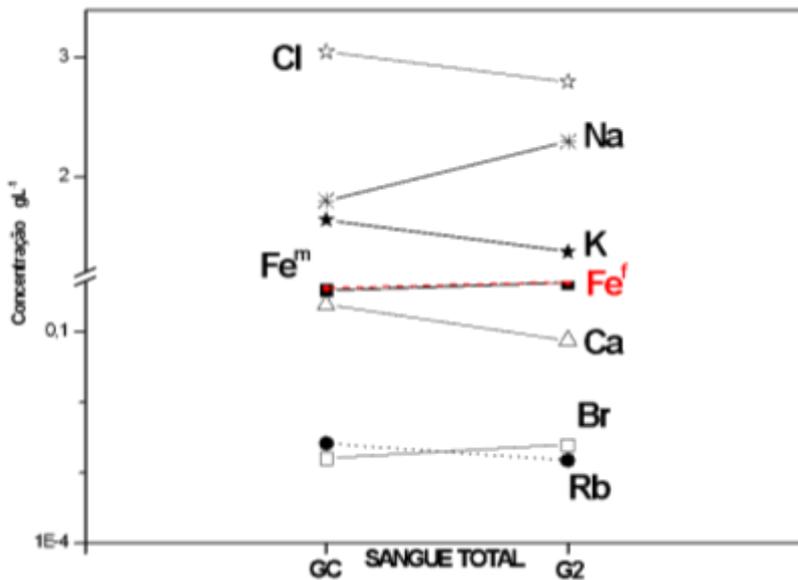
Fonte: autor da dissertação.

Figura 34 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre o grupo de controle (GC) e o grupo G1.



Fonte: autor da dissertação.

Figura 35 – Avaliação da distribuição t- student ($p < 0,05$) entre o grupo de controle (GC) e o grupo G2.



Fonte: autor da dissertação.

As concentrações dos elementos Cl, Na, P e S foram consideradas significativamente diferentes ($p < 0,05$) para ambos os grupos de judocas (Figura 31), isto é, independente da dieta adotada. Entretanto, quando esta avaliação é feita em função do gênero para esses grupos (Figura 33), o resultado para Zn também é considerado estatisticamente diferente ($p < 0,05$). Ainda, relacionado ao grupo de atletas G1, quando a avaliação é feita em função do gênero (Figura 32), as diferenças são significantes no âmbito feminino para Cl, Na, P, S e Zn, mas somente Zn é considerado estatisticamente diferente ($p < 0,05$) no âmbito masculino.

O teste *t-student* também foi aplicado para comparar os resultados das médias entre o grupo de controle (GC) e os grupos de judocas (G1 e G2). Os resultados para Br, Ca, Cl, K, Fe e Rb foram considerados significativamente diferentes ($p < 0,05$) para ambos os grupos de judocas (Figuras 34 e 35); além disso o resultado para o P também foi avaliado como estatisticamente diferente para G1 (Figura 34). Somente para S e Zn os resultados foram considerados estatisticamente iguais ($p > 0,05$) entre os grupos.

5.2 Avaliação entre os grupos de judocas e controle

Para avaliar as similaridades entre os grupos de judocas (G1 e G2) e o grupo de controle (GC) foi realizada uma comparação expressa pela razão das médias das concentrações em sangue entre: G1 e GC e G2 e GC. Essas comparações são apresentadas nas Tabelas 9 e 10 onde foram incluídas as estimativas percentuais da variação entre as médias, entre os grupos investigados. Essas análises podem ser visualizadas na Figura 36.

Tabela 9 – Razão entre a média da concentração em sangue para G1 e GC. As estimativas percentuais da variação entre as médias, entre esses grupos, foram inclusas para comparação.

Elementos	G1/GC	% *
Br	1,38	> 38
Ca	0,28	< 72
Cl	0,87	< 13
Fe ^f	1,30	>30
Fe ^m	1,19	>19
K	0,85	<15
Na	1,51	>51
P	0,85	<15
S	0,96	<4
Rb	0,60	<40
Zn	0,95	<5

G1: grupo de judoca com dieta controlada;

GC: grupo de controle;

(*): razão da concentração em sangue para GC (GC/CG =1 assumido);

>: expressa a aumento da concentração;

<: expressa o diminuição da concentração.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 10 – Razão entre a média da concentração em sangue para G2 e GC. As estimativas percentuais da variação entre as médias, entre esses grupos, foram inclusas para comparação.

Elementos	G2/GC	% *
Br	1,60	> 60
Ca	0,31	< 69
Cl	0,91	< 9
Fe ^f	1,27	>27
Fe ^m	1,22	>22
K	0,84	<16
Na	1,26	>26
P	0,97	<3
S	1,10	>10
Rb	0,60	< 40
Zn	1,07	> 7

G2: grupo de judoca com dieta controlada;

GC: grupo de controle;

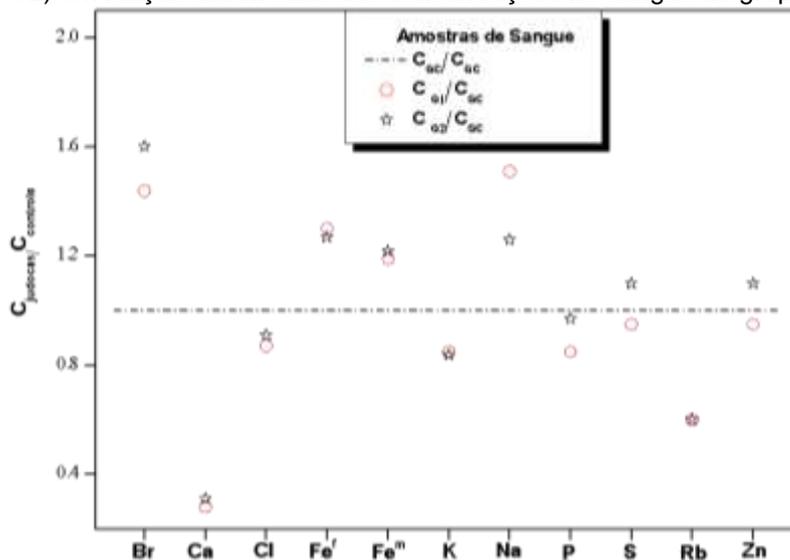
(*): razão da concentração em sangue para GC (GC/CG =1 assumido);

>: expressa a aumento da concentração;

<: expressa o diminuição da concentração.

Fonte: autor da dissertação.

Figura 36 – Razão entre as médias das concentrações em sangue nos grupos de judocas (G1 e G2) em função das médias das concentrações no sangue do grupo de controle (GC).



Fonte: autor da dissertação.

A Figura 36 mostra um aumento significativo do nível sanguíneo de Br em ambos os grupos de judocas (aumento de 38% em G1 e 60 % em G2). Esta

variação pode estar relacionada com a dieta, principalmente pela ingestão de frutos do mar que é rica em brometos, mas pode estar relacionada também ao uso de analgésicos e anti-inflamatórios, como o brometo de otilônio ($C_{29}H_{43}Br_1N_2O_4$), muito utilizado pelos atletas de forma terapêutica com o intuito de amenizar os efeitos das lesões musculares causadas pelo exercício físico.

Em relação ao Ca, os resultados obtidos enfatizam níveis baixos, independente da dieta adotada. Um fator que pode reduzir sua absorção é a realização de treinos intensos e sistemáticos em locais fechados. Como os judocas permanecem longos períodos dentro de academias esportivas sem se expor ao sol, eles podem precisar de aporte de vitamina D (a absorção de Ca é controlada pela ação da vitamina D). Além disso, a desidratação forçada induzida por diuréticos (usuais neste esporte) também pode afetar o equilíbrio eletrolítico do corpo, principalmente os níveis de Ca no sangue [26-28], o que pode resultar em menor mineralização óssea e causar fraturas [29]. Além disso, o uso excessivo de diuréticos também pode levar à Hipernatremia (aumento da concentração de Na no sangue), como foi observado neste estudo. Conseqüentemente, podem ocorrer manifestações como fraqueza, confusão mental e convulsões e, em situações graves, o atleta pode entrar em coma.

O controle do nível de Fe sanguíneo é importante para o bom desempenho do atleta. Na situação de excesso, como avaliado em ambos os grupos (G1 e G2) pode levar ao mau funcionamento do sistema cardíaco, da função cerebral, dentre outros [30, 31, 32] comprometendo a saúde do atleta. Além disso, os resultados obtidos evidenciam um aumento diferenciado também em função do gênero: enquanto em G1 o aumento para Fe nos homens foi de 19%, para as mulheres foi de 30%. Comportamento similar foi identificado em G2 (22% para os homens e 27% para mulheres), o que sugere que a sua monitoração precisa ser realizada de forma mais assídua e em função do gênero.

A análise comparativa entre os grupos de judocas e de controle evidencia a necessidade de adotar níveis de normalidade diferenciados para atletas. Esse comportamento já foi identificado em estudos envolvendo a dosagem de íons em sangue total de atletas de longa performance (corredor de longa distância) [13] e ciclistas [15].

5.3 Coeficiente de correlação linear de Pearson

Estabelecida as concentrações dos elementos nas amostras de sangue total é possível a elaboração da matriz de correlação de Pearson, expressa pelos coeficientes de correlação interelementos. Cada correlação fornece uma relação linear entre duas variáveis quantitativas aleatórias expressas pela relação:

$$r_{(x,y)} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \underline{x})(y_i - \underline{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \underline{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \underline{y})^2}} = \frac{\sigma_{xy}}{\sigma_x \sigma_y}$$

onde:

σ_{xy} : é a covariância de (X, Y);

$\sigma_x \sigma_y$: são os desvios padrões das variáveis X e Y.

Para obtenção dos coeficientes considera-se o valor de cada variável X_{ji} ($j = 1, \dots, m$ elementos), em cada amostra analisada ($i = 1, \dots, N$ amostras), sendo a correlação entre os elementos medidos, por exemplo X_1 e X_2 , expressa por [33] e [34]:

$$\rho_{12} = \frac{(x_1 \cdot x_2)}{\sigma_{x_1} \cdot \sigma_{x_2}}$$

onde:

$$(x_1 x_2) = \frac{\sum (x_{11} - x_1^m)(x_{12} - x_2^m)}{N - 1}$$

para:

X_j^m : valor médio da variável j nas N amostras medidas;

σ_{x_j} : é o desvio padrão da variável X_j .

O valor do índice de correlação varia no intervalo [-1, +1], de modo que:

- se $r = 1$ existe uma correlação positiva perfeita. O índice +1 indica uma dependência total entre as duas variáveis (relação direta), isto é, quando uma aumentar, o mesmo acontece com a outra na mesma proporção;

- se $0 < r < 1$ há uma correlação positiva: quando uma aumentar, o mesmo acontece com a outra e vice-versa, não necessariamente na mesma proporção;
- se $r = 0$, não existe uma relação linear, mas isso não implica necessariamente que as variáveis são independentes;
- se $r = -1$, existe uma correlação perfeita negativa. O índice -1 indica uma dependência total entre as duas variáveis (relação inversa): quando uma aumentar a outra irá diminuir na mesma proporção;
- se $-1 < r < 0$, há uma correlação negativa; quando uma aumentar a outra irá diminuir, não necessariamente na mesma proporção.

Nas Tabelas 11 e 12 são apresentadas as matrizes de correlação dos elementos investigados em sangue total para os grupos G1 e G2.

Tabela 11 – Matriz de correlação em sangue total para G1.

	Br	Ca	Cl	Fe	K	Na	P	S	Rb	Zn
Br	1	-0,06	-0,06	0,37	0,34	0,50	0,45	0,03	0,02	-0,23
Ca		1	0,58	-0,40	-0,09	0,54	0,02	0,27	-0,34	-0,04
Cl			1	-0,46	-0,22	0,14	0,36	0,46	-0,02	0,18
Fe				1	0,83	-0,16	0,55	0,10	0,53	-0,39
K					1	0,04	0,62	-0,11	0,48	-0,57
Na						1	-0,15	0,54	0,49	0,14
P							1	-0,22	-0,27	-0,28
S								1	0,29	0,10
Rb									1	-0,07
Zn										1

Fonte: Autor da dissertação

Tabela 12 – Matriz de correlação em sangue total para G2.

	Br	Ca	Cl	Fe	K	Na	P	S	Rb	Zn
Br	1	0,72	0,46	-0,16	-0,21	-0,54	0,57	0,61	-0,07	-0,16
Ca		1	-0,15	-0,34	-0,44	-0,25	-0,03	0,24	-0,10	-0,35
Cl			1	0,07	0,28	-0,34	0,75	0,53	0,03	0,07
Fe				1	0,76	-0,17	0,32	0,39	0,34	0,28
K					1	-0,43	0,24	0,11	-0,03	-0,09
Na						1	-0,30	-0,21	0,46	0,55
P							1	0,89	0,43	0,10
S								1	0,58	0,08
Rb									1	0,44
Zn										1

Fonte: Autor da dissertação.

De acordo com as Tabelas 11 e 12 a maioria das correlações são fracas tanto para G1 como G2, mesmo para as correlações entre os elementos majoritários em sangue (Cl, K e Na). Para G1 tem-se: Cl:Na (0,14) e K: Na (0,04) e para G2 Cl:Na (-0,34) e K: Na (-0,43).

Para G1 tem-se correlação significativa entre Fe:K (0,83) e K:P (0,62) e para G2 P:S (0,89), Fe:K (0,76), Cl:P (0,75) e Br:Ca (0,72). Existe, portanto, uma similaridade entre G1 e G2 expressa por Fe:K, pois são correlações fortes (G1: 0,83 e G2: 0,76) e positivas ($0 < r < 1$) e, por consequência expressam o mesmo comportamento. Mas a comparação entre G1 e G2 também mostram diferenças significativas: a forte correlação entre Br:Ca (0,72) em G2 é significativamente alterada em G1, pois é praticamente inexistente (0,06). A correlação entre P e S, também é alterada entre esses grupos: para G1 o coeficiente é expresso por -0,22 e para G2 por 0,89. Da mesma forma, a correlação entre Cl e P possui mesmo

comportamento ($0 < r < 1$), mas para G1 o coeficiente é expresso por 0,36 e para G2 por 0,75.

Os resultados obtidos mostram que mesmo uma dieta suplementada (G1) não atendeu às demandas nutricionais de todos os atletas, enfatizando a necessidade de estabelecer dieta personalizada. Além disso, é necessário um monitoramento contínuo de Ca, Fe, Na, e Fe e, embora não seja usual, realizar também a avaliação de Br, Rb e Zn. Essas avaliações também podem contribuir com a elaboração de novos protocolos nutricionais, bem como com o entendimento dos processos metabólicos e fisiológicos do corpo humano, uma vez que pequenas variações podem levar a perda de rendimento e deixar o organismo vulnerável aos problemas de ordem patológica.

6 CONCLUSÃO

As avaliações sanguíneas obtidas neste estudo sustentam a necessidade de monitoração constante e individualizada do sangue de judocas, pois a adoção de dieta balanceada com suplementos não foi suficiente para adequar as necessidades nutricionais de todos os atletas. Com relação aos coeficientes de correlação em sangue total, a comparação em função da dieta (G1 e G2) mostrou poucos resultados significativos, o que também enfatiza a necessidade de adotar protocolo individualizado no âmbito nutricional.

A técnica de FRXDE mostrou-se promissora para o monitoramento simultâneo, preciso e rápido de P, S, Cl, K, Ca e Fe utilizando uma gota de sangue total, o que pode ser útil e abre caminhos para pesquisas futuras, visando sua utilização na elaboração de novos protocolos clínicos e nutricionais beneficiando o atleta durante o treino, bem como em sua recuperação pós-treino.

6.1 Perspectivas

As análises de Co e Cr em sangue total de judocas já estão em andamento e poderão complementar as informações no âmbito clínico e nutricional além de fornecer subsídios para melhor entendimento dos processos metabólicos e fisiológicos em atletas desta modalidade esportiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WOLINSKY, I.; HICKSON, JR. J. F. **Nutrição no exercício e no esporte**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002.
2. MAHAN, L. K.; STUMP, S. E. **Krause – alimentos, nutrição e fisioterapia**. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
3. JULIO, U. F. **Aptidão física, ações técnicas e respostas fisiológicas durante a luta de judô**. 2015. 126p. Tese. (Doutorado em Biodinâmica do Movimento Humano) Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br>> Acesso em: 17 jan. 2022.
4. SPEICH, M.; PINEAU, A.; BALLEREAU, F. Minerals, trace elements and related biological variables in athletes and during physical activity. **Clin Chim Acta**, v.312, p.1-11, 2001.
5. HALPERIN, M. L.; KAMEL, K.S. Potassium. **Lancet**, v.352, p.135-140, 1998.
6. BEARD J, TOBIN B. Iron status and exercise. **Am. J. Clin. Nutr.**; v.72(2), p.594S–597S, 2000.
7. SAMARTIN, S.; CHANDRA, R.K. Obesity, overnutrition and the immune system. **Nutr. Res.**, v.21, p.243-262, 2001.
8. KATCH F I, MCARDLE W D. **Nutrição, Exercício e Saúde**. 4. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1996.
9. INGENBLEEK Y, KIMURA H. Nutritional essentiality of sulfur in health and disease. **Nutr Rev.** v.71(7), p.413-432, 2013.
10. ZAMBONI, C. B.; AZEVEDO, M. R.; METAIRON, S. Raios-X para dosagem de ferro em sangue. Riga, Letônia: **Novas Edições Acadêmicas**. p.60, 2018.
11. KOVAC, L.; ZAMBONI, C. B.; NUNES, L. A. S.; LOURENÇO, T. F.; MACEDO, D. V. Sodium Analysis in Whole Blood of Athletes Using NAA. **AIP**. v.1265, p.423-426, 2010.

12. KOVACS, L.; ZAMBONI, C. B.; NUNES, L. A. S.; LOURENÇO, T. F.; MACEDO, D. V. Potassium Concentration in Blood of Brazilian Athletes Using NAA. **AIP**. v.1351, p.204-207, 2011.
13. KOVACS, L.; ZAMBONI, C. B.; NUNES, L. A. S.; LOURENÇO, T. F.; MACEDO, D. V. Concentrations of ions and metals in blood of amateur and elite runners using NAA. **J. Radioanal. Nucl. Chem.** v.297, p.393-398, 2013.
14. KOVACS, L.; ZAMBONI, C. B.; LOURENÇO, T.; MACEDO, D. Sulfur status in long distance runners. **AIP**. v.630, p.012009, 2015.
15. ZAMBONI, C. B.; KOVACS, L.; METAIRON, S.; AZEVEDO, M. R. A.; FURHOL, C. F.; UCHIDA, M. C. Blood elements concentration in cyclists investigated by instrumental neutron activation analysis. **J. Radioanal. Nucl. Chem.** v.309, p.45-51, 2016.
16. PARREIRA, P. S. **Metodologia de EDXRF e aplicações com um sistema portátil**. 1.ed. Londrina, Paraná: Departamento de Física, Universidade Estadual de Londrina, 2006.
17. ZAMBONI, C.B. **Fundamentos da Física de Nêutrons**. 1.ed. São Paulo: Livraria da Física, 2007.
18. REUS, U.; WESTMEIER, W. Catalog of gamma rays from radioactive decay Part 1. **Atomic data and nuclear data tables**. Germany: v.29, p.1-192, 1983.
19. MUGHABGHAB, S.F. **Atlas of neutron resonances: resonance parameters and thermal cross sections X=1-100**. Elsevier BV, London, 2006.
20. FIRESTONE, R.B. **Table of Isotopes**. 8.ed. New York, NY.: Wiley, 1996.
21. GOUFFON, P. **Manual do Programa Idefix**. Universidade de São Paulo, Instituto de Física, Laboratório do Acelerador Linear, São Paulo, 1987.
22. "AMPTEK, DPPMCA Display & Acquisition Software", <https://www.amptek.com/software/dpp-mca-display-acquisition-software> (2019).
23. ZSCHORNACK G. **Handbook of X-Ray Data**. Berlin: Springer, 2007.

24. WinQXAS Quantitative X-ray Analysis System for MS operating system, version 1.40, **International Atomic Energy Agency**, 2002.
25. MEDEIROS, J.A.G.; ZAMBONI, C.B.; ZAHN, G.S.; OLIVEIRA, L.C.; DALAQUA JR, L. Software para realização de análises hematológicas utilizando processo radioanalítico. In: **Anais**. 39 CBPC/ML, 2005.
26. ARTIOLI, G.G.; FRANCHINI, E.; LANCHA JUNIOR, A.H. Perda rápida de peso em esportes de combate de domínio: revisão e recomendações aplicadas. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, Florianópolis. v.8, n.2, p.92-101, 2006.
27. Pereira, A. A. S., Queiroz, A., Carvalho, A., Nelli, C. M., Babiski, J. A. D., Katayama, M. M., & Alvarenga, M. Taxa de sudorese em atletas de judô. **RBNE - Revista Brasileira De Nutrição Esportiva**. v. 11(61), p.16-23, 2016.
28. Barros, J.; e colaboradores. Avaliação da Taxa de Sudorese de Atletas de Judô e sua Associação com Escores Subjetivos de Fome e Apetite. **Rev. Bras. Med. Esporte**. v.16, n.6, p.408-412, 2010.
29. COHEN, A.J.; ROE, F.J.C.; Review of risk factors for osteoporosis with particular reference to a possible aetiological role of dietary salt. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford, v.38, n.2-3, p.237-53, 2000.
30. MAHAN, L.K.; STUMP, S.E.; **Krause – alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12.ed.; Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
31. McARDLE, D.W.; KATCH, I.F.; KATCH, L.V. **Fisiologia do exercício – Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 6.ed; Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008.
32. BIESEK, S.; ALVES, L.A.; GUERRA, I. **Estratégias de Nutrição e Suplementação no Esporte**. 2.ed.; Barueri, SP: Manole, 2010.
33. GHILANI, C. D.; WOLF, P. R., **Adjustment Computations Spatial Data Analysis**. 5. ed.; John Wiley and Sons, New York, USA, 2010.
34. HANG CHUI, Q. S.; BISPO, J. M. A; IAMASHITA, C. O., O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos. **Quim Nova**. v. 27(6), p. 993-1003, 2004.

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.
