

## **DETERMINAÇÃO DE METAIS EM SUPLEMENTOS MULTIVITAMÍNICOS/MINERAIS: AS CONCENTRAÇÕES INFORMADAS NOS RÓTULOS SÃO EXATAS?**

**RODRIGO MENDES PEREIRA; DIOGO LA ROSA NOVO; FILIPE SOARES  
RONDAN; NATÁLIA JORGE BIELEMANN; PRISCILA TESSMER SCAGLIONI;  
MÁRCIA FOSTER MESKO**

*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas  
rodrigo.mprs@yahoo.com.br; marciamesko@yahoo.com.br*

### **1. INTRODUÇÃO**

O consumo de suplementos multivitamínicos/minerais tem crescido de maneira considerável nos últimos anos. Esses produtos têm sido utilizados na prevenção e no tratamento de deficiência nutricional e de doenças relacionadas, bem como para a manutenção e/ou promoção de qualidade de vida (WILDMAN et al., 2006). É importante mencionar que os suplementos multivitamínicos/minerais são facilmente adquiridos, sem qualquer restrição, em farmácias, lojas especializadas em produtos dietéticos, lojas virtuais, entre outras, o que contribui para o consumo abusivo desses produtos. Assim, levando em consideração que os consumidores geralmente se baseiam nas informações descritas nos rótulos para a escolha do produto, é de extrema importância que as concentrações dos nutrientes informados sejam confiáveis, uma vez que a ingestão de concentrações inadequadas de nutrientes, como os minerais, pode torná-lo ineficiente para a finalidade proposta e até mesmo provocar danos à saúde devido à ingestão excessiva, como demonstrado em outros estudos (WATSON, 2015). Nesse sentido, é imprescindível a utilização de métodos analíticos adequados para a realização de um efetivo controle de qualidade.

A determinação de minerais nesses produtos, como os metais, tem sido realizada através do uso de técnicas espectrométricas como, por exemplo, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, as quais apresentam elevada sensibilidade para a determinação de metais e, ainda, possibilitam a determinação multielementar (SOŁTYK et al., 2003; KREJČOVÁ et al., 2006). Apesar disso, essas técnicas apresentam elevado custo de aquisição e manutenção, o que torna difícil sua aplicação na análise de rotina. Nesse contexto, a cromatografia de íons com detecção por condutividade (IC-DC) pode ser uma alternativa para a determinação multielementar sequencial de metais em suplementos dietéticos, uma vez que apresenta relativo baixo custo de aquisição, manutenção e operação e, além disso, necessita reduzido volume de amostra para análise (500 a 2000  $\mu\text{L}$ ) (WEISS, 2016). No entanto, essas técnicas requerem que a amostra seja convertida em uma solução compatível com a técnica de determinação.

Os métodos de preparo de amostras comumente utilizados com o intuito de converter a matriz dos suplementos multivitamínicos/minerais em uma solução adequada para a análise se baseiam em métodos de digestão úmida em sistemas abertos ou fechados, com aquecimento convencional ou micro-ondas na presença de ácidos inorgânicos concentrados (SOŁTYK et al., 2003; KREJČOVÁ et al., 2006). Esses métodos geralmente possibilitam a obtenção de soluções compatíveis com as técnicas espectrométricas supracitadas. Por outro lado, as soluções resultantes desses métodos são incompatíveis com a determinação de

metais por IC-DC, uma vez que essa técnica é extremamente suscetível a interferências relacionadas a concentrações de íons  $H^+$  em solução. Por essa razão, a IC-DC tem sido utilizada principalmente para a determinação de metais em matrizes líquidas que, geralmente, não necessitam do uso de ácidos concentrados durante a etapa de preparo de amostra.

Assim, com o intuito de possibilitar a determinação de metais em suplementos dietéticos por IC-DC, faz-se necessário a avaliação de métodos de preparo de amostras alternativos, os quais possibilitem o uso de soluções diluídas. Sob esse aspecto, destaca-se o sistema de combustão iniciada por micro-ondas (MIC) que já foi aplicado ao preparo de amostras de diversas matrizes visando a posterior determinação de metais, metaloides e não metais (BARIN et al., 2014). Cabe mencionar que o uso de soluções diluídas no preparo de amostras, além de tornar as soluções resultantes compatíveis com as técnicas de determinação, reduz os riscos de acidentes, o consumo de reagentes e, conseqüentemente, a geração de resíduos. Além disso, nos últimos anos tem crescido a demanda por métodos alternativos que preconizam os princípios da química verde. Este trabalho, portanto, teve como o objetivo o desenvolvimento de um método alternativo para a determinação de Ca, Mg, Mn, Na e Zn em suplementos multivitamínicos/minerais a fim de verificar se as informações descritas nos rótulos dos produtos são exatas.

## 2. METODOLOGIA

Três suplementos multivitamínicos/minerais, denominados de SMVM-1, SMVM-2 e SMVM-3, foram adquiridos no comércio local de Pelotas/RS. Inicialmente, aproximadamente 50 g de todas as amostras, independentemente de sua forma de apresentação (cápsulas ou comprimidos), foram homogeneizadas com auxílio de gral e pistilo e secas em estufa por 4 h a  $60 \pm 5$  °C e armazenadas em frascos de polipropileno.

Os ensaios que visaram a otimização da MIC para o preparo de amostras de suplementos multivitamínicos/minerais, assim como a avaliação da exatidão do método proposto, foram realizados com a amostra SMVM-1. Para a introdução das amostras no sistema de decomposição por MIC, massas que variaram de 400 a 1100 mg foram pesadas em um filme de polietileno, fechado com auxílio de uma pinça e selado por aquecimento. O invólucro contendo a amostra foi colocado na base de um suporte de quartzo que continha um disco de papel filtro umedecido com 50  $\mu L$  de uma solução de  $NH_4NO_3$  6 mol  $L^{-1}$ . Após, o dispositivo de quartzo foi introduzido em um frasco de quartzo contendo 6 mL de solução absorvedora ( $HNO_3$  – 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 ou 4,0 mol  $L^{-1}$  ou  $HNO_3:HCl$  – 1,0:1,0; 1,0:0,5; 1,0:0,1; 0,5:1,0 ou 0,1:1,0 mol  $L^{-1}$ ). Em seguida, os frascos foram fechados, fixados no rotor, pressurizados com 20 bar de  $O_2$  e submetidos a aquecimento em forno micro-ondas no seguinte programa de irradiação: 1400 W por 1 min (ignição); 0 W por 1 min (combustão); 1400 W por 5, 10 ou 15 min (refluxo) e, por fim, 0 W por 20 min (resfriamento). A taxa de aumento de pressão, a temperatura máxima e a pressão máxima, assim como a pressão inicial de  $O_2$ , foram fixadas em 0,8 bar  $s^{-1}$ , 280 °C, 80 bar e 20 bar, respectivamente. Os digeridos foram filtrados, transferidos para frascos volumétricos de 25 mL e o volume final foi aferido com água ultrapura. A determinação dos analitos foi realizada por IC-DC. Por fim, a exatidão do método proposto foi avaliada através da realização de ensaios de recuperação com solução padrão em dois níveis de concentração (equivalente a 50% e 100% da concentração dos analitos, em massa, na amostra) e pela comparação dos resultados com os obtidos a partir de um método de referência.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o preparo das amostras por MIC, fez-se necessário otimizar alguns parâmetros como a massa de amostra a ser decomposta, a solução absorvedora e o tempo de refluxo do programa de irradiação com micro-ondas. A avaliação da massa de suplemento considerada mais adequada para a digestão por MIC foi realizada, inicialmente, com base no aspecto das soluções obtidas, que apresentaram aspecto límpido em todas as condições avaliadas (400 – 1100 mg). Por sua vez, uma quantidade considerável de resíduo foi observada na base do suporte de quartzo durante essas avaliações, o que vai ao encontro das informações descritas no rótulo da amostra utilizada que indica a presença de diversos sais inorgânicos. Tendo em vista que, provavelmente, a maior parte dos analitos não são disponibilizados para a solução absorvedora, propôs-se a realização da etapa de refluxo com o resíduo remanescente da combustão em contato com a solução absorvedora com o intuito de possibilitar a dissolução da matriz ou a extração dos analitos. Para a realização desses experimentos, foi utilizado  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  como solução absorvedora e 5 min de tempo de refluxo. Essa estratégia foi adotada para a realização de todos os experimentos e, após a análise das soluções resultantes da combustão de massas crescentes de amostra, foi possível verificar que a decomposição de massas superiores a 1000 mg de amostra não foi eficiente, uma vez que um decréscimo significativo na concentração dos analitos foi observado. Assim, a massa de 1000 mg foi selecionada para a avaliação da solução absorvedora. Após a avaliação das soluções absorvedoras descritas anteriormente, foi possível verificar que, quando  $\text{HNO}_3$  4 mol  $\text{L}^{-1}$  ou  $\text{HNO}_3:\text{HCl}$  1,0:1,0 ou 0,5:1,0 mol  $\text{L}^{-1}$  foram utilizadas, as concentrações obtidas para todos os analitos não diferiram significativamente e, ainda, foram superiores às demais condições avaliadas. Nesse sentido, a solução contendo  $\text{HNO}_3:\text{HCl}$  1,0:1,0 mol  $\text{L}^{-1}$  foi selecionada como a mais adequada em vista dos menores desvios padrão relativos (RSDs) –  $\leq 7\%$ . Por fim, após a avaliação do tempo de refluxo, foi possível verificar que a partir do uso de 10 min de tempo de refluxo a concentração dos analitos não apresentou diferenças significativas das demais condições e, por esse motivo, foi selecionado como a condição mais adequada. Com relação à avaliação da exatidão do método proposto, recuperações adequadas que variaram de 92 a 107% foram obtidas para os analitos nos dois níveis de concentração avaliados. Além disso, após avaliação estatística (teste t-student, nível de confiança de 95%), não foram observadas diferenças significativas nas concentrações dos analitos quando o método proposto e o método de referência foram aplicados. Os limites de quantificação (LOQ) variaram de 162  $\text{mg kg}^{-1}$  (para Na) a 229  $\text{mg kg}^{-1}$  (para Mn) e os RSDs foram sempre inferiores a 7%. Com base nos resultados obtidos, é possível afirmar que o método proposto apresentou exatidão e precisão adequadas para a determinação de todas as espécies avaliadas.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos após a análise de três amostras de suplementos multivitamínicos/minerais pelo método proposto. A partir desses resultados, foi possível verificar que a concentração dos analitos variaram em uma ampla faixa (de 1623 a 169175  $\text{mg kg}^{-1}$  para Ca; de < 203 a 96855  $\text{mg kg}^{-1}$  para Mg; de 1190 a 7616  $\text{mg kg}^{-1}$  para Mn e de 5485 a 32543  $\text{mg kg}^{-1}$  para Zn). Além disso, cabe enfatizar que somente a concentração de Ca na amostra SMVM-1 não apresentou diferença significativa da concentração descrita no rótulo (teste t-student, nível de confiança de 90%). Com relação aos demais resultados, destacam-se as concentrações de Mg e Zn nas amostras SMVM-2 e SMVM-3 que foram de 90 até 242% superior àquelas informadas nos rótulos.

**Tabela 1.** Concentrações de Ca, Mg, Mn, Na e Zn em suplementos multivitamínicos/minerais de três marcas obtidas após a digestão das amostras por MIC e determinação por IC-DC – média  $\pm$  desvio padrão (concordâncias com os valores informados nos rótulos), n = 3.

Analitos	Amostras (mg kg <sup>-1</sup> )		
	SMVM-1	SMVM-2	SMVM-3
Ca	169175 $\pm$ 8083 (113%)	1623 $\pm$ 114 (n.d.)	137396 $\pm$ 9275 (82%)
Mg	47618 $\pm$ 1616 (80%)	< 203* (n.d.)	96855 $\pm$ 4194 (145%)
Mn	1190 $\pm$ 82 (166%)	7616 $\pm$ 553 (190%)	1868 $\pm$ 124 (233%)
Na	3373 $\pm$ 160 (n.d.)	18773 $\pm$ 1159 (n.d.)	< 162* (n.d.)
Zn	5485 $\pm$ 321 (131%)	32543 $\pm$ 2302 (244%)	16007 $\pm$ 754 (342%)

n.d.: não determinado; \*limite de quantificação.

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, foi possível verificar que a MIC é uma interessante alternativa para o preparo de amostras de suplementos multivitamínicos/minerais visando a posterior determinação de metais por IC-DC. Isso ocorre, tendo em vista que a MIC possibilita o uso de reagentes diluídos e, dessa forma, reduz o manuseio de reagentes concentrados, assim como a quantidade e a periculosidade dos resíduos gerados, o que é de extrema importância na análise de rotina e para o meio ambiente. Ademais, o método desenvolvido apresentou exatidão e precisão satisfatórias, bem como LOQs que, apesar de serem relativamente elevados, mostraram-se adequados para a finalidade proposta. Com relação a aplicabilidade do método proposto, destacam-se as discrepâncias observadas entre os valores determinados e informados, que estão, possivelmente, relacionados ao uso de métodos inadequados para o controle de qualidade desses produtos. Esses fatos evidenciam a importância do desenvolvimento de métodos analíticos precisos e exatos para um efetivo controle de qualidade com o intuito de garantir a segurança alimentar dos consumidores.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARIN, J. S.; et al. Microwave-Induced Combustion. In: FLORES, E. M. M. (Ed.). **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2014. chapter 5, p.143-177.
- KREJČOVÁ, A.; et al. Determination of macro and trace element in multivitamins preparations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with slurry sample introduction. **Food Chemistry**, v.98, n.1, p.171-178, 2006.
- SOŁTYK, K.; et al. Determination of chromium and selected elements in multimineral and multivitamin preparations and in pharmaceutical raw material. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v.32, n.3, p.425-432, 2003.
- WATSON, R. R. **Foods and dietary supplements in the prevention and treatment of disease in older adults**. New York: Academic Press, 2015.
- WEISS, J. **Handbook of Ion Chromatography**. 4. ed. Weinheim: John Wiley & Sons, 2016.
- WILDMAN, R. E. C.; WILDMAN, R.; WALLACE, T. C. **Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 560p.