



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E
DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO CENTRO-OESTE



RENAN DA SILVA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DE RISCOS À SAÚDE HUMANA DEVIDO À PRESENÇA DE
MACRO E MICROELEMENTOS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Campo Grande/MS
2024

RENAN DA SILVA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DE RISCOS À SAÚDE HUMANA DEVIDO À PRESENÇA DE
MACRO E MICROELEMENTOS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre pelo programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Orientando do Professor Dr. Valter Aragão do Nascimento.

Campo Grande/MS

2024

RENAN DA SILVA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DE RISCOS À SAÚDE HUMANA DEVIDO À PRESENÇA DE
MACRO E MICROELEMENTOS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre pelo programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Orientando do Professor Dr. Valter Aragão do Nascimento.

Campo Grande, 11 de dezembro de 2024.

Banca examinadora

Nota/Conceito

*Dedico este trabalho aos meus pais
Renato Faustino Vieira e Adriana da
Silva Moura Vieira que foram a minha
base para me dedicar na área
acadêmica.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha gratidão a todos que contribuíram de alguma maneira para a conclusão deste trabalho.

Primeiramente, devo agradecer a Deus por ter me abençoado, guiado, e me dado coragem e sabedoria para seguir neste processo.

Agradeço aos meus pais, que não deixaram faltar nada. Sem vocês nada disso teria acontecido, sou eternamente grato.

Agradeço ao meu Professor Dr. Valter Aragão, pela orientação, paciência e pelos ensinamentos. Sua orientação aprimorou este trabalho de maneira fundamental e me inspirou a buscar a excelência.

Agradeço às minhas colegas de pesquisa, Dra Elaine Melo e Dra. Cláudia Stela, pelas críticas construtivas, pelas análises e trocas de ideias.

À minha família e amigos, que sempre estiveram comigo e me apoiaram, meu profundo agradecimento.

Agradeço a Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, e seus recursos que proporcionaram um ótimo ambiente para a realização dessa pesquisa. Também estendo os meus agradecimentos aos professores e funcionários que foram de grande ajuda.

Agradeço ao Dr. Jeaser Almeida, que foi uma inspiração para ingressar neste mestrado, contribuiu com ensinamentos e me fez pensar como pesquisador.

Agradeço a Me. Suzilene Ormond, minha professora na graduação, que me motivou a entrar nessa pós-graduação. Agradeço pelos conselhos.

Agradecemos aos participantes deste estudo, cuja colaboração foi fundamental para a coleta de dados. Sem a participação de cada um, este trabalho não teria sido possível. Os autores também expressam sua gratidão a CAPES Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio prestado ao longo desta pesquisa.

A todos, que de alguma forma fizeram parte desta jornada, o meu mais profundo obrigado.

RESUMO

Introdução: O consumo de suplementos proteicos tornou-se popular devido aos seus benefícios na biossíntese proteica e no aumento da massa muscular. Atletas e frequentadores de academias, frequentemente, consomem Whey Protein (WP) em níveis que ultrapassam até três vezes conforme as recomendações. Entretanto, não há estudos que quantifiquem macro e microelementos nesses suplementos comercializados no Brasil, cujo excesso pode representar riscos à saúde. **Objetivo:** Avaliar os riscos à saúde associados à ingestão de macro e microelementos presentes em suplementos proteicos comercializados no Brasil. **Métodos:** Foram adquiridas amostras de suplementos proteicos em estabelecimentos comerciais no Brasil. As concentrações de As, Cr, Cu, Cd, Hg, Mn, Pb, Se e Zn foram quantificadas utilizando Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES), após digestão das amostras. Os cálculos de risco à saúde consideraram adultos de 30 anos. **Resultados:** As concentrações de Cd e Hg ficaram abaixo do limite de detecção, enquanto As, Cr, Cu, Mn, Pb, Se e Zn foram detectadas. Foram observadas altas concentrações de Zn, Cu e Mn. O cálculo de ingestão diária crônica (CDI) mostrou que o O Zn apresentou as maiores concentrações, e o As excedeu os níveis mínimos de risco (MRLs). As concentrações de Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn estão abaixo dos LMRs. Contudo, o Índice de Perigo (HI) foi superior a 1, trazendo riscos potenciais à saúde de adultos que consomem 40 g/dia. **Conclusão:** Concentrações elevadas de Zn, Cu e Mn foram encontradas em todas as amostras, e o As estava acima dos níveis seguros em todas as amostras de WP. O consumo prolongado pode causar danos à saúde, sendo necessário o monitoramento dos suplementos proteicos.

Palavras-chave: Suplementos proteicos; Proteína do soro do leite; Suplemento proteico de origem vegetal; Avaliação de risco; Macro e Microelementos.

ABSTRACT

Introduction: The consumption of protein supplements has become popular due to their benefits in protein biosynthesis and muscle mass gain. Athletes and gym-goers often consume Whey Protein (WP) at levels up to three times the recommended intake. However, few studies quantify the macro and microelements in these supplements, whose excessive intake can pose health risks. **Objective:** To assess the health risks associated with the consumption of macro and microelements in protein supplements marketed in Brazil. **Methods:** Samples of protein supplements were purchased from commercial establishments in Brazil. The concentrations of As, Cr, Cu, Cd, Hg, Mn, Pb, Se and Zn were quantified using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES) after sample digestion. Health risk calculations were based on 30-year-old adults. **Results:** Concentrations of Cd and Hg were below the detection limit, while As, Cr, Cu, Mn, Pb, Se and Zn were detected. High concentrations of Zn, Cu, and Mn were observed. Chronic Daily Intake (CDI) calculations showed that Zn had the highest values, and As exceeded the Minimum Risk Levels (MRLs). The concentrations of Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se and Zn were below the MRLs. However, the Hazard Index (HI) was greater than 1, indicating potential health risks for adults consuming 40 g/day. **Conclusion:** Elevated concentrations of Zn, Cu and Mn were found in all samples, and As exceeded safe levels in all WP samples. Prolonged consumption may cause health damage, highlighting the need for protein supplement monitoring.

Keywords: Protein supplements; Whey Protein; Plant-based protein supplements; Risk assessment; Macro and microelements.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Processo de digestão em blocos divididos em estágios com temperaturas, tempo de rampas e patamar	33
Tabela 2 . Equação de calibração da curva, Coeficiente de correlação (R^2), Limite de detecção (LODs) e Limite de quantificação (LOQ)	36
Tabela 3 . Teste de adição e recuperação (spike)	37
Tabela 4 . Valores De MRLs para os respectivos elementos químico	39
Tabela 5 . Doses de referência (RfD) para macro e microelementos	40
Tabela 6 . Concentração média dos elementos quantificados nas amostras dos suplementos proteicos (mg/kg)	44
Tabela 7 . Dose média de ingestão diária (mg/Kg/dia).	61
Tabela 8 . Comparação da ingestão diária de WP com a literatura, mg/kg.	63
Tabela 9 . Quociente de risco (HQ) obtido para adultos.	66
Tabela 10 . Índice de Perigo (somatória dos HQs).	68

LISTA DE FIGURA

Figura 1 Processo de produção da proteína do soro do leite.	20
Figura 2 - Equipamento de digestão por blocos	33
Figura 3 Espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente	34
Figura 4 . Concentração média de As (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	46
Figura 5 Concentração média de Cr (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	48
Figura 6 Concentração média de Cu (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	50
Figura 7 Concentração média de Mn (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	52
Figura 8 Concentração média de Pb (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	54
Figura 9 Concentração média de Se (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	56
Figura 10 - Concentração média de Zn (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas	58
Figura 11 . Quociente de risco (HQ) obtido para adultos	67
Figura 12 Valores de índice de perigo em suplementos proteicos obtido para adultos.	69

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Suplementos nutricionais e seus benefícios	18
Quadro 2 - Fonte proteica e seus respectivos alimentos	23
Quadro 3 - Contribuição dos minerais no exercício físico: elemento, autor/ano e desempenho no exercício físico	27
Quadro 4 - Caracterização das amostras dos suplementos proteicos: saborização, processamento, edulcorante, emulsificantes e aromatizantes.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AT	Tempo médio de exposição (inglês: <i>Averaging time</i>)
ATSDR	Agência de registros de substâncias tóxicas e doenças (inglês: <i>Agency for toxic substances and disease registry</i>)
CDI	Ingestão diária crônica (inglês: <i>Chronic daily intake</i>)
ED	Duração da exposição (inglês: <i>Duration of exposure</i>)
EF	Frequência de exposição (inglês: <i>Frequency of exposure</i>)
FDA	Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (inglês: <i>Food and Drug Administration</i>)
HI	Índice de perigo (inglês: <i>Hazard index</i>)
HQ	Quociente de risco (inglês: <i>Hazard quotient</i>)
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (inglês: <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MC	Massa corporal
MRLs	Níveis mínimos de risco (inglês: <i>Minimum risk levels</i>)
RfD	Dose de referência (inglês: <i>Reference dose</i>)
R ²	Coeficiente de correlação
VP	Suplemento proteico de origem vegetal (inglês: <i>Vegan protein</i>)
WP	Proteína do soro do leite (inglês: <i>Whey protein</i>)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 SUPLEMENTO NUTRICIONAL	18
2.1.1 <i>Proteínas do soro do leite</i>	20
2.1.2 <i>Suplemento proteico de origem vegetal</i>	22
2.2 CONSUMO DE SUPLEMENTO PROTEICO	24
2.3 MACRO E MICROELEMENTOS	25
2.4 AVALIAÇÃO DE RISCO	28
3. OBJETIVO	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4. METODOLOGIA	31
4.1 AQUISIÇÃO DE MATERIAIS	31
4.2 PROCESSO DE DIGESTÃO DE AMOSTRAS	33
4.3 DETERMINAÇÃO DOS MACROELEMENTOS E MICROELEMENTOS	34
4.4 ESTIMATIVA DE EXPOSIÇÃO	37
4.4.1 <i>Estimativa de exposição aos macro e microelementos</i>	37
4.4.2 <i>Determinação do quociente de risco</i>	39
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
5.1 CONCENTRAÇÃO DE MACRO E MICROELEMENTOS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS	43
5.2 INGESTÃO DIÁRIA DE MACRO E MICROELEMENTOS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS	58
5.3 AVALIAÇÃO DE RISCO NÃO CARCINOGENICO	64
6. CONCLUSÃO	70

1. INTRODUÇÃO

O mercado global de suplementos proteicos tem crescido significativamente nos últimos anos, atingindo um valor de US\$ 22,43 bilhões em 2021, com projeções de crescimento para US\$ 46,12 bilhões até 2030 (STATISTICA, U.S, 2023). Esse aumento é impulsionado pela conscientização sobre os benefícios das proteínas para o desempenho físico e a manutenção da massa muscular (PASIAKOS *et al.*, 2015).

Os suplementos proteicos à base de proteína do soro do leite (WP) são os mais consumidos por atletas e praticantes recreativos de treinamento de força, devido à sua eficácia no suporte ao crescimento muscular e à recuperação pós-exercício (PASIAKOS; MCLELLAN; LIEBERMAN, 2015). Essas proteínas são altamente valorizadas por seu alto valor biológico, rápida digestão e absorção, fatores que facilitam a biossíntese proteica e promovem o aumento da massa muscular (PATEL, 2015; CHURCH *et al.*, 2020).

Como alternativa, as proteínas de origem vegetal (VP) ganham cada vez mais destaque, sendo valorizadas por fornecerem aminoácidos essenciais (HERTZLER *et al.*, 2020). Além disso, são amplamente conhecidas por seus diversos benefícios à saúde, incluindo a promoção da saúde metabólica, a redução do risco de doenças cardiovasculares e suas propriedades antioxidantes e antitumorais (HERTZLER *et al.*, 2020; KEOGH; LI; GAO, 2019; LANGYAN *et al.*, 2022). Assim, tanto as WP, quanto as VP, quando consumidas em doses recomendadas, desempenham papéis fundamentais na nutrição esportiva, cada uma com vantagens específicas.

Frequentemente, muitos atletas e praticantes recreativos de treinamento de força têm consumido quantidades de proteína superiores às recomendações nutricionais, por meio de suplementos, o que gera preocupações relacionadas à segurança (SPENDLOVE *et al.*, 2015). A ingestão excessiva de proteínas pode acarretar problemas de saúde, incluindo complicações no fígado, rins, intestino e pele (VASCONCELOS, BACHUR, ARAGÃO, 2021). Além disso, existe o risco de contaminação por metais pesados, como Arsênio (As), Cádmio (Cd), Chumbo (Pb) e

Mercúrio (Hg), que podem se acumular no organismo ao longo do tempo (CLEAN LABEL PROJECT, 2018).

Estudos têm analisado as concentrações de elementos em suplementos proteicos. Dailos González-Weller *et al.* (2023) avaliaram a presença de elementos como Ca, Mg, K, Na, Ba, B, Co, Cu, Cr, Sr, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, V, Zn e Al em amostras de WP, comercializados na Europa. Os resultados indicaram uma variação significativa nas concentrações desses elementos, entre diferentes marcas e lotes. Notavelmente, foram detectadas, concentrações elevadas de cálcio (Ca), potássio (K), magnésio (Mg) e sódio (Na), essenciais para funções biológicas, mas também de elementos como alumínio (Al), níquel (Ni) e vanádio (V), que em excesso podem representar riscos à saúde. Esses achados ressaltam a necessidade de um monitoramento rigoroso dos suplementos alimentares para garantir a segurança dos consumidores (DAILOS GONZÁLEZ-WELLER *et al.*, 2023).

Da mesma forma, Bandara *et al.* (2020) verificaram que as concentrações de metais como As, Cd e Hg em suplementos de proteína em pó, representavam riscos à saúde humana, baseados nas doses de referência (RfD), da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos e cálculos dos quocientes de risco (HQs), para cada elemento químico. O estudo revelou que os níveis de As e Cd, em alguns suplementos excedem os limites seguros. Embora as concentrações de Hg tenham ficado abaixo do limite seguro individualmente. O risco cumulativo, quando considerado em conjunto com outros metais pesados, ainda é preocupante. Esses achados destacam a importância de monitorar a presença de metais pesados em suplementos proteicos, para evitar exposições perigosas a longo prazo (BANDARA *et al.*, 2020).

Por sua vez, um estudo realizado no Egito por Elgammal *et al.* (2019) quantificou a presença de metais como Co, Ni, Sn, Cr, Cu, Mn, Zn, Fe, Al, Na, Ca, Mg, Pb, Cd e Hg em amostras de WP. Embora esses resultados tenham revelado a presença de metais potencialmente tóxicos em níveis variáveis, a avaliação de risco à saúde, baseada na ingestão diária estimada, no quociente de risco (HQ) e no índice de risco (HI), indicou que, para a maioria dos elementos, os valores de HQ e

HI foram menores que 1, sugerindo um baixo risco de efeitos adversos. Contudo, duas marcas de proteínas de soro de leite apresentaram HI superior a 1, indicando que pode haver algum risco não cancerígenos devido ao consumo prolongado.

Além disso, Guefai *et al.* (2022) quantificaram elementos como Li, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ag, Cd, In, Sn, Ba, Pb e B em amostras de WP e utilizaram os valores de concentração para avaliar o risco associado à saúde. Seus resultados indicaram que Na, K, Ca e Mg estavam em maiores concentrações em três grupos distintos de suplementos de WP, evidenciando a importância de monitorar esses componentes.

Por fim, Lofaso (2021) avaliou elementos como Cd, Pb, Fe, Co, Mn, V, Cu, Cr, Cd e Pb em WP e VP, utilizando as doses diárias recomendadas pela Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (FDA) dos EUA como referência. A análise revelou que, embora a maioria dos elementos estivesse dentro dos limites seguros, a proteína vegetal em pó, continha concentrações de Mn e Fe que poderiam exceder os critérios da FDA, representando riscos, quando consumidos em excesso, ou provenientes de múltiplas fontes alimentares.

Embora estudos sobre a quantificação de elementos em suplementos proteicos estejam disponíveis em alguns países, no Brasil essas pesquisas são escassas. Essa lacuna é preocupante, pois esses suplementos podem exceder os limites seguros de consumo diário, representando um risco potencial à saúde humana. A quantificação desses elementos é fundamental para avaliar a extensão desse risco e determinar se o consumo regular desses produtos pode levar a efeitos adversos à saúde devido à toxicidade cumulativa.

Diante desse cenário, esta dissertação tem como objetivo avaliar os riscos à saúde através do consumo de macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos comercializados no Brasil. Especificamente, pretende-se quantificar os níveis de As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn nesses produtos. Além disso, será realizado um estudo abordando os potenciais riscos à saúde devido à ingestão de suplementos de proteína em pó.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Suplemento nutricional

Os suplementos nutricionais são formulados a partir de carboidratos, proteínas, gorduras, minerais, vitaminas, aminoácidos e outros nutrientes ou compostos bioativos, como enzimas e probióticos. Esses componentes podem ser isolados ou combinados para complementar a dieta de indivíduos saudáveis (KERKSICK *et al.*, 2017). Além de serem essenciais para a manutenção da saúde geral, esses suplementos desempenham um papel significativo no desempenho esportivo (MAUGHAN *et al.*, 2018).

A diversidade de suplementos nutricionais, disponíveis no mercado, é notável, abrangendo uma variedade de formatos, como: comprimidos, cápsulas, géis, pós e líquidos, todos administrados por via oral (ANVISA, 2020; KERKSICK *et al.*, 2017). Para ilustrar a relevância desses suplementos no contexto esportivo, consideramos alguns exemplos amplamente utilizados conforme ilustrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Suplementos nutricionais e seus benefícios

Suplemento	Benefícios	Evidencia científica
Proteína do soro do leite	Recuperação muscular e ganho de massa magra	Meta-análise de DAVIES <i>et al.</i> (2023): ganhos significativos de massa muscular e força
Creatina	Melhora desempenho em atividades de força e potência	Potenciais efeitos neuroprotetores (AVGERINOS <i>et al.</i> , 2018)
Beta-alanina	Reduz fadiga em exercícios de alta intensidade	Melhora capacidade de tamponamento muscular (TREXLER <i>et al.</i> , 2015)
Cafeína	Aumenta estado de alerta e desempenho em exercícios de resistência	Reduz percepção de esforço (GUEST <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: Autor, 2024.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) desempenha um papel crucial na regulamentação da fabricação e comercialização desses suplementos. Por exemplo, para suplementos de proteína, a Resolução RDC Nº 18, de 27 de abril de 2010, estabelece diretrizes específicas. Cada porção deve conter, no mínimo, 10g de proteína, e 50% do valor energético total deve ser proveniente das proteínas. A adição de vitaminas e minerais é opcional, enquanto a inclusão de fibras alimentares e elementos não nutritivos é proibida (BRASIL, 2010). A diversidade dos suplementos proteicos reflete a variedade de fontes proteicas, tanto de origem animal quanto vegetal bem como as diferenças nos perfis de aminoácidos e nos métodos de processamento, ou isolamento das proteínas (KERKSICK *et al.*, 2017).

Além dessas diretrizes, a ANVISA estabelece um conjunto abrangente de leis, normas, resoluções e guias, que orientam fabricantes e consumidores sobre os processos de produção e a composição dos suplementos nutricionais, assegurando a qualidade e segurança dos produtos (ANVISA, 2020). Esses aspectos são cruciais, pois o uso inadequado ou a contaminação dos suplementos, podem representar riscos significativos à saúde, como intoxicações ou reações adversas (MAUGHAN *et al.*, 2018). Um estudo recente, mostrou que aproximadamente 12–58% dos suplementos nutricionais, podem conter substâncias proibidas, não declaradas, enfatizando a importância da regulamentação rigorosa (MARTÍNEZ-SANZ *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, o mercado de suplementos tem observado uma crescente demanda por produtos "limpos", aqueles isentos de aditivos artificiais, corantes sintéticos, conservantes, emulsificantes e outros componentes não naturais. Essa tendência reflete a preocupação dos consumidores com a saúde e o bem-estar, além de uma preferência por ingredientes mais naturais e orgânicos (ARENAS-JAL *et al.*, 2019). Nesse contexto, inovações tecnológicas, como a encapsulação e a liberação controlada de nutrientes, estão sendo desenvolvidas para aumentar a eficácia destes suplementos e minimizar os efeitos toxicológicos associados a aditivos alimentares e outras substâncias (XU *et al.*, 2024). Uma pesquisa recente,

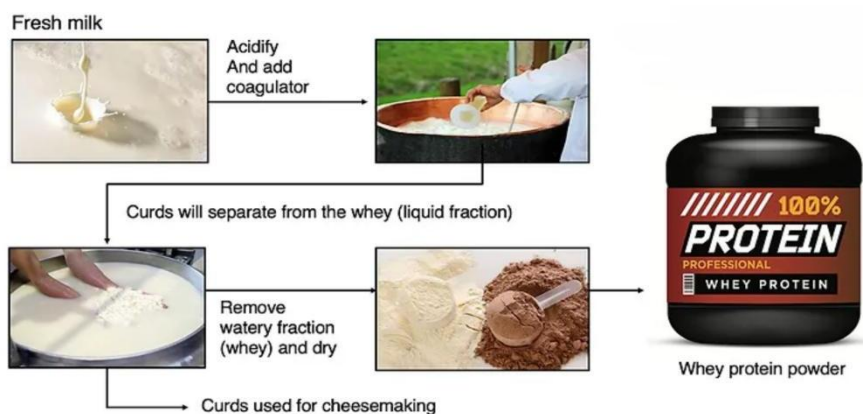
demonstrou que a nanoencapsulação de compostos bioativos, pode aumentar significativamente a biodisponibilidade e a estabilidade de certos suplementos nutricionais (SINGH *et al.*, 2023).

Embora a ANVISA desempenhe um papel fundamental na regulamentação de suplementos nutricionais no Brasil, as abordagens regulatórias variam globalmente. Nos Estados Unidos, por exemplo, a FDA, adota uma regulamentação com ênfase na rotulagem dos produtos e menos foco na aprovação prévia à comercialização, resultando em diferentes padrões de qualidade entre os mercados (FDA, 2024).

2.1.1 Proteínas do soro do leite

As proteínas do soro do leite são componentes essenciais do leite, representando 20% de seu conteúdo proteico total. Sua popularidade como suplemento nutricional, deve-se ao seu elevado valor nutricional e excelente biodisponibilidade (PATEL, 2015). Estas proteínas são extraídas do subproduto, gerado durante a fabricação de queijo, após a remoção da caseína (CAMARGO; DONEDA; OLIVEIRA, 2020). O processo de produção do WP pode ser visualizado na Figura 1, que ilustra as etapas desde a acidificação do leite até a obtenção do produto final em pó.

Figura 1 Processo de produção da proteína do soro do leite.



Fonte: Adaptado de My Sport Science.

As WP, são compostas principalmente por β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, imunoglobulinas, albumina e lactoferrina (CHEN *et al.*, 2014). Seu perfil de aminoácidos é completo e rico em aminoácidos essenciais e de cadeia ramificada (BCAAs), com destaque para a leucina, que desempenha um papel fundamental na síntese proteica muscular (DEVRIES; PHILLIPS, 2015).

Historicamente, o soro do leite era considerado como um resíduo industrial e descartado, causando sérios problemas ambientais e de saúde pública (SMITHERS, 2008). No entanto, a descoberta de seu alto valor nutricional, rico em peptídeos, vitaminas e minerais, levou a indústria a reavaliá-lo como um valioso recurso. Atualmente, é amplamente utilizado na produção de alimentos e suplementos, reduzindo significativamente o impacto ambiental e agregando valor econômico (CASTRO *et al.*, 2019).

Na indústria alimentícia, as WP são aplicadas para melhorar a textura, aumentar o valor nutricional e prolongar a vida útil de diversos produtos, incluindo laticínios, produtos de panificação e bebidas funcionais (PATEL, 2015). O processamento industrial das WP é realizado principalmente por ultrafiltração, um método que utiliza membranas especializadas, para separar as proteínas, dos outros componentes do soro (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011). As características dessas membranas, como porosidade e material de fabricação, são cruciais para determinar a concentração final das proteínas (WEN-QIONG *et al.*, 2019). A ultrafiltração, é frequentemente complementada pela diafiltração, que remove moléculas indesejadas e assegura um alto teor proteico no concentrado de WP (EBERSOLD; ZYDNEY, 2004).

As proteínas do soro do leite, são comercialmente classificadas com base em seu teor proteico e tipo de processamento. As três principais categorias são: concentrado (35% a 80% de proteínas), isolado (até 90% de proteínas) e hidrolisado (derivado do concentrado ou isolado por hidrólise enzimática, que fragmenta as proteínas em peptídeos menores para facilitar a digestão e absorção) (CAMARGO; DONEDA; OLIVEIRA, 2020; CAMARGO *et al.*, 2018; MELNIKOVA; BOGDANOVA; KOSHEVAROVA, 2022).

O consumo de WP está associado a diversos benefícios à saúde, como redução do risco de doenças cardiovasculares, melhora da função cardiorrespiratória e controle glicêmico. Sua aplicação é adequada tanto para indivíduos saudáveis, quanto para fins terapêuticos (CAMARGO; DONEDA; OLIVEIRA, 2020). Além disso, as WP, são amplamente utilizadas por atletas e praticantes de atividades físicas, devido à sua capacidade de estimular a síntese proteica muscular e promover saciedade, auxiliando no controle do peso e na composição corporal (MACKENZIE-SHALDERS *et al.*, 2015; PASIAKOS; MCLELLAN; LIEBERMAN, 2015; VELASCO *et al.*, 2022).

2.1.2 Suplemento proteico de origem vegetal

Nos últimos anos, o mercado de suplementos proteicos passou por uma mudança significativa, com um aumento na popularidade dos suplementos de origem vegetal. Esses produtos se destacam por sua sustentabilidade e menor custo (GORISSEN *et al.*, 2016), especialmente num contexto em que a produção de proteínas animais enfrenta crescentes desafios ambientais. A produção de proteínas animais, como o WP, está associada a impactos ambientais consideráveis, incluindo pressão sobre recursos naturais e emissões de gases de efeito estufa (HENCHION *et al.*, 2017). Nesse cenário, a substituição das proteínas animais por vegetais surge como uma alternativa viável para mitigar esses impactos.

A popularidade das proteínas vegetais também reflete a tendência global de dietas ricas em proteínas, com mais de 80% das vendas de nutrição esportiva, provenientes de produtos proteicos (ARENAS-JAL *et al.*, 2019). Consumidores estão cada vez mais optando por produtos "limpos", e de origem vegetal, livres de alérgenos e aditivos artificiais, alinhando-se às crescentes preocupações com saúde e bem-estar (ARENAS-JAL *et al.*, 2019). Estudos recentes, têm demonstrado que as proteínas vegetais, podem oferecer benefícios adicionais à saúde, como a redução do risco de doenças cardiovasculares e melhora do controle glicêmico (MARIOTTI; GARDNER, 2019)

Apesar dos benefícios, as proteínas vegetais enfrentam desafios importantes. Uma das principais limitações é a deficiência em certos aminoácidos essenciais, cuja disponibilidade varia, conforme a fonte proteica (LANGYAN *et al.*, 2022). No entanto, essa limitação pode ser superada com o consumo de suplementos proteicos vegetais que oferecem isolados e concentrados de alto teor proteico, como os derivados de soja, ervilha, canola e batata (HERTZLER *et al.*, 2020).

Esses suplementos fornecem os aminoácidos essenciais necessários para a síntese proteica, atendendo às necessidades dietéticas de indivíduos que optam por dietas baseadas em plantas (HERTZLER *et al.*, 2020). Além disso, são ricos em fibras, ácidos graxos e carboidratos, contribuindo para uma nutrição equilibrada e diversificada (LANGYAN *et al.*, 2022). Os suplementos proteicos, também podem desempenhar um papel importante na saúde humana, sendo ricos em vitaminas e minerais, com propriedades antitumorais, antioxidantes, hipoglicemiantes, antimicrobianas e hipolipidêmicas (LANGYAN *et al.*, 2022). Estudos recentes têm demonstrado que certos peptídeos derivados de proteínas vegetais, podem ter efeitos benéficos adicionais, como propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras (CHAKRABARTI *et al.*, 2018).

As fontes proteicas utilizadas nesses suplementos, detalhadas no Quadro 2, incluem uma variedade de alimentos vegetais, conforme mencionado por Kumar *et al.* (2022).

Quadro 2 - Fonte proteica e seus respectivos alimentos

Fonte	Alimento
Leguminosas	Grão-de-bico, feijão-caupi, soja e ervilha.
Cereais	Trigo, arroz, sorgo, milho e cevada.
Pseudocereais	Amaranto, trigo sarraceno e quinoa.
Sementes	Girassol, abóbora, gergelim e linhaça.

Fonte: Autor, 2024.

2.2 Consumo de suplemento proteico

A proteína é um macronutriente essencial para a síntese proteica, e os suplementos proteicos se destacam como uma escolha eficaz para potencializar as respostas ao treinamento resistido (PARK *et al.*, 2019). Esses suplementos, fornecem todos os aminoácidos essenciais, além de serem altamente digestíveis e rapidamente absorvidos, facilitando a ingestão de proteínas de alto valor biológico e contribuindo significativamente para o aumento da massa muscular (PARK *et al.*, 2019; JÄGER *et al.*, 2017). A suplementação com as WP e outras fontes proteicas, como as VP, são consideradas recursos ergogênicos, pois envolve estratégias nutricionais que amplificam a resposta ao treinamento resistido e favorecem a adaptação ao exercício (KERKSICK *et al.*, 2018).

Uma revisão conduzida por Morton *et al.* (2018), que analisou 49 estudos envolvendo 1863 participantes, demonstrou que a suplementação com WP, aumentou de forma significativa a força e a hipertrofia muscular em adultos saudáveis durante o treinamento resistido. Além dos benefícios comprovados das WP, no aumento da massa muscular, as VP também se mostraram eficazes na manutenção e no crescimento muscular, desde que forneçam todos os aminoácidos essenciais necessários (MANGANO *et al.*, 2017). Recentemente, Singh *et al.* (2024) demonstraram que a suplementação com proteína de ervilha, pode ser tão eficaz quanto a proteína do soro do leite, quando combinado com o treinamento resistido para promover ganhos de força e massa muscular em adultos jovens.

Embora a dose de proteína recomendada para um adulto saudável, seja de 0,8g/kg de peso corporal, por dia (CAMPBELL *et al.*, 2007), essa recomendação tem sido questionada no caso de atletas que possuem uma demanda nutricional maior, devido a prática de exercícios físico intenso (WU, 2016). Empiricamente, muitos atletas que buscam aumentar a massa muscular, consome até 4,3 g/kg de proteína, por dia (SPENDLOVE *et al.*, 2015). Os suplementos proteicos são amplamente utilizadas para alcançar essas quantidades, devido à sua praticidade e alta digestibilidade (MENON; SANTOS, 2012).

Na preparação de atletas, diversas estratégias dietéticas de suplementação são empregadas, fazendo com que o consumo de suplementos proteicos varie conforme os objetivos e a fase do treinamento (VELASCO *et al.*, 2022; ALVES *et al.*, 2020). No entanto, alguns atletas chegam a consumir doses exageradas, o que pode levar a efeitos adversos, como disfunção da microbiota, aumento de acne, níveis elevados de colesterol total e triglicerídeos, além de alterações no metabolismo renal e hepático (GUEFAI *et al.*, 2022; VASCONCELOS *et al.*, 2021).

Além desses potenciais efeitos adversos, o consumo excessivo de WP, também apresenta o risco de contaminação por metais pesados, uma vez que esses produtos podem conter níveis detectáveis de metais (BANDARA; TOWLE; MONNOT, 2020). A *Clean Label Project* (2018), quantificou a presença de elementos químicos em 134 marcas de WP e relatou que todos os produtos apresentavam concentrações significativas e detectáveis de metais pesados. No entanto, há uma escassez de informações sobre as concentrações dos macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos em muitos países, e não existem valores estabelecidos para o limite máximo de ingestão diária (CARDELLINA, 2002).

2.3 Macro e microelementos

Os minerais desempenham papéis fundamentais no metabolismo e na saúde humana, podendo ser classificados como macroelementos e microelementos. Os macroelementos, necessários em quantidades superiores a 100 mg por dia, incluem cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na), potássio (K) e cloreto (Cl). Já os microelementos, requeridos em quantidades inferiores a 100 mg por dia, incluem ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), selênio (Se), cromo (Cr) e manganês (Mn) (MORRIS; MOHIUDDIN, 2023).

Os macroelementos são essenciais para diversas funções biológicas, como:

- Cálcio (Ca): Participa na formação de ossos e dentes, coagulação sanguínea e contração muscular. Sua deficiência pode levar à osteoporose, enquanto o excesso pode causar calcificações nos tecidos (GRÖBER, SCHMIDT, KISTERS, 2015).

- Magnésio (Mg): Crucial para mais de 300 reações enzimáticas, incluindo a produção de energia e a função muscular. Deficiências podem causar câibras e fraqueza muscular (GRÖBER, SCHMIDT, KISTERS, 2015).

- Potássio (K): Regula a função muscular e nervosa, além do equilíbrio ácido-base. Sua deficiência pode causar fraqueza e arritmias cardíacas (ADROGUÉ, MADIAS, 2007).

Já os microelementos, embora necessários em menores quantidades, desempenham papéis igualmente essenciais no organismo, são eles:

- Zinco (Zn): Necessário para o sistema imunológico e funções enzimáticas. Deficiências comprometem a imunidade, enquanto o excesso pode causar anemia e danos pancreáticos (ATSDR, 2005).

- Selênio (Se): Atua como antioxidante, protegendo as células contra o estresse oxidativo e contribuindo para o metabolismo da insulina. Altas doses podem aumentar o risco de diabetes e afetar a fertilidade masculina (ZHANG *et al.*, 2023).

- Cromo (Cr): Potencializa os efeitos da insulina, participando no metabolismo de carboidratos e lipídios. A deficiência pode causar resistência à insulina, enquanto o excesso pode danificar o fígado e os rins (MAYNAR *et al.*, 2018; CHAKRABORTY *et al.*, 2022).

- Cobre (Cu): Importante no metabolismo do ferro e na síntese de colágeno. Em excesso, pode causar doenças hepáticas e neurodegenerativas (ZHOU *et al.*, 2020).

- Manganês (Mn): Participa no metabolismo de lipídios, carboidratos e no fortalecimento ósseo. A ingestão inadequada pode levar a alterações metabólicas e imunológicas (ASCHNER, ERIKSON, 2017).

Os metais pesados, como arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), são elementos não essenciais e tóxicos para o organismo:

- Arsênio (As): Presente em alimentos e água, está associado ao câncer de pulmão, diabetes tipo 2 e complicações reprodutivas quando ingerido por longos períodos (HONG; SONG; CHUNG, 2014).

- Cádmio (Cd): Pode causar distúrbios na tireoide, danos neurológicos e lesões hepáticas quando consumido em excesso (BANDARA; TOWLE; MONNOT, 2020; LLORENT-MARTÍNEZ *et al.*, 2012).

- Chumbo (Pb): Encontrado em alimentos contaminados, é altamente tóxico, causando danos neurológicos, cardiovasculares e hepáticos, além de afetar a fertilidade (SOUZA; ANDRADE; DALMOLIN, 2018; ABDULLA *et al.*, 2019).

- Mercúrio (Hg): Contamina alimentos como peixes e frutos do mar, podendo provocar disfunções neurológicas, auditivas e visuais, além de ser carcinogênico (BENSEFA-COLAS; ANDUJAR; DESCATHA, 2011).

Os minerais também desempenham papéis importantes na prática de exercícios físicos, contribuindo na metabolização de proteína, lipídio, carboidrato, redução da inflamação, melhora do transporte de oxigênio, metabolismo ósseo e função imune (HEFFERNAN *et al.*, 2019). Para melhor compreensão das contribuições dos minerais, as mesmas são apresentadas no Quadro 3, que descreve os minerais e sua relação com o exercício físico.

Quadro 3 - Contribuição dos minerais no exercício físico: elemento, autor/ano e desempenho no exercício físico

Elemento	Autor/Ano	Desempenho no exercício físico
Cr	MAYNAR <i>et al.</i> (2022)	Participa no metabolismo do carboidrato e no anabolismo proteico. Reduções da massa de gordura associados ao exercício.
Mn, Se e Cu	MUÑOZ <i>et al.</i> , (2019)	Função antioxidante através da redução do estresse oxidativo.
Zn	HEFFERMAN <i>et al.</i> (2019) ÇINAR <i>et al.</i> , (2017)	Melhora da imunidade; Aumento da testosterona livre pós-exercício;

Fonte: Autor, 2024.

Embora indispensáveis, o consumo excessivo de minerais pode ser prejudicial, destacando a importância da alimentação equilibrada e individualizada para atender às necessidades do organismo sem exceder os limites seguros.

2.4 Avaliação de risco

Embora cada elemento desempenhe um papel essencial no organismo e sua importância para o exercício físico tenha sido destacada anteriormente (ver Quadro 3), é fundamental ressaltar os potenciais riscos à saúde associados à ingestão excessiva, tanto em curto quanto em longo prazo. A avaliação desses riscos pode ser realizada utilizando equações estabelecidas por organizações como a FDA e a WHO.

A avaliação de risco é o processo de estimar tanto a probabilidade de ocorrência de um evento, quanto a magnitude provável de seus efeitos adversos. Esses efeitos podem ser econômicos, relacionados à saúde, segurança da população ou ecológicos, sendo considerados ao longo de um período de exposição especificado (GERBA, 2019). Esse cálculo permite, por exemplo, estimar a provável incidência de câncer em uma comunidade exposta a um produto químico derramado, (USEPA, 1994) ou avaliar os riscos à saúde, associados à presença de patógenos na água potável, pesticidas, metais pesados e metalóides nos alimentos (TCHOUNWOU *et al.*, 2012).

Riscos baseados na saúde normalmente envolvem exposições crônicas de alta probabilidade e baixa consequência, onde longos períodos de latência e efeitos retardados tornam difícil estabelecer relações claras, de causa e efeito (GERBA, 2019). Esta categoria, inclui também riscos microbianos, que geralmente têm efeitos agudos, embora as consequências de uma infecção microbiana possam persistir ao longo da vida de um indivíduo. Além disso, há os riscos a longo prazo, decorrentes da exposição de trabalhadores a produtos químicos. Dentro dessa complexidade, o processo de avaliação de riscos, consiste em quatro etapas básicas (GERBA, 2019):

- Identificação do perigo: Definição do perigo e da natureza do dano, como identificar um contaminante químico (por exemplo, mercúrio, chumbo ou arsênio) e documentar seus efeitos tóxicos em seres humanos.
- Avaliação da exposição: Determinação da concentração de um agente contaminante no ambiente, por meio de técnicas experimentais e estimativa de sua

taxa de ingestão pelos organismos-alvo, como a concentração de aflatoxina na manteiga de amendoim e a dose que uma pessoa "comum" receberia.

- Avaliação dose-resposta: Quantificação dos efeitos adversos decorrentes da exposição a um agente perigoso, baseada no grau de exposição, geralmente, expressa em gráficos, que mostram as respostas dos organismos vivos, a doses crescentes do agente.

- Caracterização do risco: Estimativa do impacto potencial de um perigo, com base na gravidade de seus efeitos e na quantidade de exposição.

A exposição aos elementos químicos podem ocorrer por três vias principais: digestória, inalatória e dérmica (GERBA, 2019). A ingestão oral diária de alimentos, conhecida como CDI (ingestão diária crônica), é medida em unidades de mg/kg/dia, e representa a ingestão diária crônica de um produto químico, sendo proporcional à concentração de exposição média ao longo do período (por exemplo, mg/dia ou litro/dia), e à quantidade de uma substância química presente no produto de consumo (L/dia ou mg/kg) (USEPA, 2005). A ingestão oral, depende inversamente de parâmetros como: a massa corporal média durante o período de exposição (kg), e o tempo médio de exposição (dias) (GERBA, 2019).

Nos últimos anos, a ingestão diária crônica tem sido utilizada como parâmetro para calcular os riscos à saúde, pois está associada ao potencial de uma substância causar dano, ao longo de um período de exposição (LIMA *et al.*, 2021). Embora existam estudos que quantificam macro e microelementos em alimentos, poucos realizam os cálculos de risco, especialmente no Brasil. No caso dos suplementos proteicos, cálculos considerando os potenciais riscos à saúde devido à ingestão, ainda são escassos na literatura. Vale destacar que a ingestão crônica, é um parâmetro essencial, para estimar o potencial risco de efeitos adversos, como o câncer.

Embora alguns elementos químicos sejam essenciais para o organismo, outros podem ser tóxicos, ou seja, quando ingerido em grandes quantidades, ou por um longo período. Neste sentido se faz necessário estudos que avaliem os potenciais riscos à saúde daqueles que utilizam WP.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar os riscos à saúde através do consumo de macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos em pó comercializado no Brasil.

3.2 Objetivos específicos

- a) Quantificar os macro e microelementos As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn presente nas proteínas do soro do leite (WP) e em suplementos proteicos de origem vegetal (VP).
- b) Determinar o risco não carcinogênico para saúde através do consumo diário;
- c) Realizar os cálculos de risco através da ingestão diária crônica.
- d) Comparar os resultados das concentrações de macro e microelementos presentes na WP com aqueles disponíveis na literatura.
- e) Comparar os resultados das concentrações de macro e microelementos entre WP e VP.

4. METODOLOGIA

4.1 Aquisição de materiais

No presente estudo foram adquiridas 70 unidades de suplementos nutricionais de proteínas, comercializados por 14 marcas diferentes, dentre as quais 60 unidades de proteína do soro do leite e 10 unidades de suplemento proteico de origem vegetal, todos embalados em sachês plásticos. Os produtos foram adquiridos por compra direta, em loja de suplementos alimentares de Campo Grande/MS, Brasil, no mês de novembro de 2022.

Cada marca foi composta por 5 unidades de sachês do mesmo lote e sabor, que foram misturados para criar um pool, formando assim um novo grupo amostral. Os grupos foram organizados de acordo com as marcas dos suplementos proteicos, e nomeados como WP1, WP2, WP3, WP4, WP5, WP6, WP7, WP8, WP9, WP10, WP11, WP12 para as proteínas do soro do leite e VP1 e VP2 para os suplementos proteicos de origem vegetal. A caracterização das amostras está detalhada no Quadro 4.

Quadro 4 - Caracterização das amostras dos suplementos proteicos: saborização, processamento, edulcorante, emulsificantes e aromatizantes.

Amostra	Saborização	Processamento	Edulcorante	Emulsificantes	Aromatizantes
WP1	Sabor beijinho	Blend	Sucralose	Chia pó e goma xantana	Aroma artificial de quatro leites
WP2	Chocolate	Concentrado	Xilitol e estévia	Goma xantana	Cacau em pó
WP3	Vitaminas de fruta	Blend	Estévia e Taumatina	Não contém	Aromatizantes naturais
WP4	Creme de baunilha	Blend	Sucralose e Acesulfame de potássio	Goma xantana	Aromatizante de baunilha
WP5	Chocolate	Blend	Xilitol, Estévia e Taumatina	Não contém	Cacau em pó
WP6	Chocolate	Isolado	Sucralose	Goma xantana e guar	Cacau em pó
WP7	Neutro	Isolado	Não contém	Não contém	Não contém
WP8	Morango	Concentrado	Sucralose	Goma xantana	Aromatizantes de morango
WP9	Baunilha	Blend	Sucralose	Não contém	Aromatizantes de baunilha
WP10	Chocolate	Concentrado	Sucralose, ciclamato de sódio, acesulfame de potássio e aspartame	Não contém	Aromatizante idênticos a chocolate
WP11	Cookies e creme	Blend	Sucralose	Goma guar	Aroma idêntico a cookies
WP12	Doce de leite	Concentrada	Estévia	Goma xantana e guar	Aromatizante idênticos a chocolate branco e pistache
VP1	Doce de leite	Isolada	Estévia e Taumatina	Goma xantana e guar	Aromas naturais
VP2	Morango	Isolada	Xilitol e estévia	Goma xantana	Aromas idênticos aos naturais

Legenda: WP que contém uma combinação de dois ou mais tipos de processamento é referido de WP blend.
Informações reproduzidas dos rótulos.

Fonte: Autor (2024).

4.2 Processo de digestão de amostras

Em tubos de digestão individuais, foram adicionados 300 mg de cada amostra, em seguida acrescentou-se 2 ml de ácido nítrico (HNO_3), 2 ml de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 1 ml de água ultra pura (condutividade $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, Elga). Cada uma das amostras foi misturada individualmente utilizando um vórtex (Biomixer QL-901), para melhor homogeneidade. A seguir foram conduzidas até o equipamento de digestão por blocos (Tecnal, TE-041/25) como apresentadas na Figura 2, com rampas (tempo que leva a temperatura a chegar de um ponto ao outro) e patamares (tempo em que a temperatura se mantém constante) onde passaram por estágios sob tempo e temperatura otimizados, descritos na Tabela 1.

Figura 2 - Equipamento de digestão por bloco



Fonte: Autor (2024).

Tabela 1- Processo de digestão em bloco dividido em estágio com temperatura, tempo de rampa e patamar

Estágio	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo Rampa (Min)	Tempo de Patamar (Min)
1	70	15	30
2	120	15	120
3	150	15	60

Fonte: Autor (2024).

4.3 Determinação dos macroelementos e microelementos

O teor de macroe e microelementos (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn) nas amostras de suplementos proteicos foram quantificados por espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) (Thermo Scientific-série iCAP 6300) conforme apresentados na Figura 3.

Figura 3 Espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente



Fonte: Autor (2024).

Para garantir a qualidade e a reprodutibilidade dos resultados, foi elaborada uma curva de instalação utilizando soluções padrão estoque (Specsol, Quimlab, Merck) a 100 mg/L para cada elemento. Foram preparadas sete concentrações: 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mg/L. Além disso, foi utilizado um branco analítico e 11 intervalos de concentração (ppm), abrangendo valores de concentração na faixa de 0 a 1 ppm. As condições experimentais do ICP-OES, incluindo parâmetros utilizados e configurações principais, como os comprimentos de onda necessários para a quantificação dos elementos químicos, estão descritas no Quadro 1.

Quadro 1. Parâmetros instrumentais e configuração de operação do ICP-OES

Parâmetro	Configuração
Potencia	1,150
Fluxo RF	0,50
Replicas	3
Taxa de fluxo do plasma	5
Tempo de interação	15
Tempo de estabilização	30
Pressão	20
Visão do plasma	Axial
Analítico/ comprimento de onda	As (189,042 nm); Cd (228,802 nm); Cr (283,563nm); Cu (324,754 nm); Hg (184,950 nm); Mn (257,610 nm); Pb (220,353 nm); Se (196,090 nm); Zn (213,856)

Fonte: Autor (2024).

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados conforme os padrões analíticos estabelecidos pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (LONG; WINEFORDNER, 2008), garantindo a confiabilidade dos resultados obtidos. O LOD foi determinado como três vezes o desvio padrão do branco dividido pela definição da curva analítica (slope), enquanto o LOQ foi definido como dez vezes o desvio padrão do branco dividido pela mesma integração. Esses parâmetros garantem a capacidade de identificar e quantificar com precisão os elementos presentes nas amostras de suplementos protéicos.

O coeficiente de correlação (R^2) das curvas analíticas foi avaliado para verificar a linearidade do método utilizado. Esses coeficientes, bem como os respectivos valores de LOD e LOQ para cada elemento, estão apresentados de forma detalhada na Tabela 2, conforme mostrado a seguir.

Tabela 2. Equação de calibração da curva, Coeficiente de correlação (R^2), Limite de detecção (LODs) e Limite de quantificação (LOQ)

Analitos	Equação de calibração externa $y = ax + b$	R^2	LOD	LOQ
As	$y = 867,25 x + 6,0416$	0,9997	0,006	0,019
Cd	$y = 17844x + 196,5$	0,9996	0,001	0,005
Cr	$y = 19907x + 105,34$	0,9999	0,003	0,011
Cu	$y = 17169x + 178,54$	0,9998	0,005	0,018
Hg	$y = 2998x + 50,242$	0,9965	0,001	0,005
Mn	$y = 82266x + 610,94$	0,9997	0,001	0,002
Pb	$y = 1962,8x + 14,158$	0,9998	0,008	0,028
Se	$y = 668,86x + 7,2761$	0,9998	0,010	0,032
Zn	$y = 19057x + 163,85$	0,9998	0,005	0,017

y = intensidade; a = slope; x = concentração (mg/L); b = intercept

Fonte: Autor (2024).

A avaliação da acurácia da análise de minerais nos suplementos proteicos foi realizada por meio do método de adição e recuperação (spike). Este procedimento consiste na adição de quantidades específicas de cada elemento nas amostras, seguido pela análise para verificar a porcentagem de recuperação dos analitos. Para este estudo, foram acrescentados 0,15 mL de cada elemento a 0,5 mL de uma amostra de coleta de colírio, com recuperações obtidas na faixa de 90,23% a 99,05%. Esses valores estão dentro do intervalo de 80% a 120% previsto pela IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002), demonstrando eficiência e confiabilidade do método.

Os resultados detalhados das porcentagens de recuperação para cada elemento explorado, incluindo As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Teste de adição e recuperação (spike)

Analitos	Spike %
As	90
Cd	96
Cr	99
Cu	91
Hg	97
Mn	95
Pb	95
Se	97
Zn	98

Fonte: Autor (2024).

4.4 ESTIMATIVA DE EXPOSIÇÃO

4.4.1 Estimativa de exposição aos macro e microelementos

Na revisão bibliográfica, abordamos brevemente o conceito de estimativa de exposição. Nesta subseção, será calculada a ingestão diária crônica (Chronic Daily Intake - CDI), que caracteriza a exposição oral aos macro e microelementos resultante da ingestão dos suplementos proteicos. O cálculo da CDI é fundamental para avaliar os riscos potenciais associados ao consumo desses suplementos e pode ser descrito conforme a equação abaixo (USEPA, 1992):

$$CDI = \frac{C \times CR \times EF \times ED}{MC \times AT} \quad (\text{Eq.1})$$

onde:

C = concentração média de macro e microelementos quantificados nas amostras de suplementos proteicos (mg/kg), ou seja, esta concentração será obtida mediante métodos analíticos utilizando o ICP OES;

CR = taxa de ingestão diária de suplementos proteicos, uma vez que constatamos que não é estipulado uma ingestão diária conforme rotulagem dos fabricantes, assumiremos que seja 40 g por dia (quantidade máxima).

EF = frequência de exposição. Adotamos a duração crônica de 365 dias/ano (ATSDR, 2005).

ED = duração da exposição, consideramos 30 anos para adulto (TSCHINKEL *et al.*, 2020);

MC = massa corporal, considerado o peso padrão de um adulto como 70Kg (EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE, 2012).

AT = período o qual a exposição não carcinogênico (dias), obtido como $AT = ED \times EF$ (30 anos x 365 dias/anos= 10950 dias)

Os valores de CDI obtidos para as amostras de WP e VP foram comparados com os Níveis Mínimos de Risco (MRLs) estabelecidos pela Agência de Registros de Substâncias Tóxicas e Doenças (Agency for Toxic Substances and Disease Registry - ATSDR, 2023). Os MRLs definem limites de segurança para a exposição crônica a elementos químicos, permitindo avaliar se os valores obtidos representam riscos à saúde humana.

De acordo com a ATSDR, a duração da exposição é dividida em três categorias:

- **Aguda:** 1 a 14 dias;
- **Intermediária:** 15 a 364 dias;
- **Crônica:** 1 ano ou mais.

Para o período de exposição crônica (365 dias ou mais), os MRLs para os elementos químicos analisados são apresentados na Tabela 4:

Tabela 4. Valores De MRLs para os respectivos elementos químico

Elemento Químico	MRL (mg/kg/dia)
As	0.0003
Cd	0.0001
Cr	0.0009
Cu (15 a 364 dias)	0.02
Hg	Não estipulado
Mn	Não estipulado
Pb	Não estipulado
Se	0.005
Zn	0.3

Fonte: Autor (2024).

Os resultados de CDI para cada elemento químico serão analisados em relação aos MRLs para identificar possíveis riscos à saúde associados ao consumo dos suplementos proteicos estudados. A ausência de valores estipulados para alguns elementos (como Hg, Mn e Pb) reforça a necessidade de avaliações adicionais para determinar limites seguros de exposição.

4.4.2 Determinação do quociente de risco

Risco não-carcinogênico

O quociente de risco (HQ) é um parâmetro utilizado para avaliar o risco potencial associado à ingestão diária crônica (CDI) de macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos, como WP e o VP. Esse quociente representa a relação entre a CDI de um elemento químico e sua dose de referência (RfD). As RfD são definidas como estimativas de uma exposição oral diária aceitável para cada elemento, baseada em dados toxicológicos disponíveis e aplicáveis à população geral, incluindo grupos sensíveis (USEPA, 2005).

O HQ é, portanto, uma estimativa do risco não carcinogênico associado à ingestão de elementos químicos. A interpretação do HQ é direta:

- Quando $HQ < 1$, conclui-se que não existem riscos significativos à saúde associados à exposição ao elemento.
- Quando $HQ > 1$, sugere-se que há potencial de risco à saúde, indicando a necessidade de atenção e possível mitigação.

O cálculo do HQ é realizado de acordo com a seguinte fórmula, descrita na Equação 2:

$$HQ = \frac{CDI}{RfD} \quad (\text{Eq.2})$$

Onde o CDI representa a Dose Média Diária (mg/kg/dia), conforme descrito na Eq. 1, e o RfD corresponde à Dose de Referência (mg/kg/dia) para cada elemento. Os valores de RfD utilizados neste estudo estão apresentados na Tabela 5.

Esse quociente permite avaliar se a exposição aos macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos excede os níveis considerados seguros para a saúde humana. Os valores de RfD para os elementos analisados foram obtidos de fontes confiáveis, como a Environmental Protection Agency (USEPA) e a Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), e estão apresentados na Tabela 5 a seguir.

Tabela 5. Doses de referência (RfD) para macro e microelementos

Elemento	RfD_{ingestão} (mg/kg.dia)	Referências
As	0,0003	USEPA (1998)
Cd	0,001	USEPA (1987)
Cr	0,0009	USEPA (2024)
Cu	0,04	TAYLOR <i>et al.</i> , (2023)
Mn	0,14	USEPA (1988)
Pb	0,004	NAG; CUMMINS (2022)
Se	0,005	USEPA (1991)
Zn	0,3	USEPA (2005)

Fonte: Autor (2024).

O índice de risco (HI) é uma medida que avalia o efeito cumulativo dos riscos associados à ingestão de múltiplos macro e microelementos presentes nos suplementos proteicos. Diferentemente do quociente de risco (HQ), que analisa o impacto de um único elemento químico, o HI considera a soma dos HQs para todos os elementos analisados, refletindo a potencial sobreposição de riscos não carcinogênicos. Essa abordagem é essencial para compreender o impacto total da exposição diária crônica a esses elementos químicos.

A interpretação do HI segue uma lógica semelhante à do HQ:

- $HI \leq 1$: Não há risco cumulativo significativo à saúde.
- $HI > 1$: Existe um potencial risco cumulativo não carcinogênico à saúde humana, indicando a necessidade de atenção adicional.

O cálculo do HI é realizado de acordo com a Equação 3, apresentada a seguir:

$$HI = HQ(As) + HQ(Cd) + \dots(HQ(n)) \quad (\text{Eq.3})$$

O índice de risco (HI) é especialmente relevante para estudos envolvendo suplementos alimentares, uma vez que estes podem conter diversos macro e microelementos em concentrações variáveis. A análise do HI permite identificar se a soma dos riscos individuais pode resultar em um impacto adverso cumulativo à saúde.

4.5 Análise estatística

Para avaliar as diferenças estatísticas nas concentrações de macro e microelementos entre os grupos de suplementos proteicos, utilizou-se o teste ANOVA de uma via (One-Way ANOVA). Esse método permite verificar a existência de diferenças significativas entre três ou mais grupos. Em seguida, foi aplicado o teste post-hoc de Tukey, que identifica quais grupos apresentam diferenças estatisticamente significativas nas concentrações dos elementos analisados.

Os valores de significância (valor-p) foram comparados ao nível de significância de 0,05. Valores de $p < 0,05$ foram considerados indicativos de

diferenças estatisticamente significativas. Para as amostras em que os elementos químicos não foram detectados, atribuiu-se o valor zero, garantindo sua inclusão no modelo estatístico sem comprometer os resultados.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 9.0 (San Diego, Califórnia, Estados Unidos), amplamente utilizado em estudos científicos devido à sua confiabilidade e precisão. O software foi empregado tanto para os cálculos estatísticos quanto para a geração de gráficos ilustrativos das diferenças observadas entre os grupos.

Essa abordagem garantiu uma análise robusta e detalhada, permitindo identificar diferenças significativas entre as concentrações de elementos nos suplementos WP e VP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Concentração de macro e microelementos em suplementos proteicos

Os resultados referentes à quantificação das concentrações dos elementos As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb, Se e Zn nas amostras de suplementos proteicos estão detalhados na Tabela 6. As concentrações de cada elemento para as diferentes marcas estão organizadas em ordem decrescente, foram observados os seguintes resultados:

- WP1: Zn > Se > As > Mn > Cu > Pb;
- WP2: Zn > Mn > Cu > Se > As > Cr > Pb;
- WP3: Zn > Se > As > Pb > Mn > Cu;
- WP4: Zn > Se > As > Cu;
- WP5: Zn > Mn > Cu > Se > As > Cr > Pb;
- WP6: Zn > Mn > Cu > Se > As > Cr;
- WP7: As > Se > Zn;
- WP8: Zn > Se > As > Pb > Cu;
- WP9: Cu > Zn > Se > As > Cr;
- WP10: Zn > Se > Cu > As > Mn;
- WP11: Zn > Mn > Cu > Se > As > Cr > Pb;
- WP12: Zn > Se > As > Cu > Mn;
- VP1: Zn > Cu > Mn > Se > As > Pb > Cr;
- VP2: Zn > Mn > Cu > Se > As > Cr.

De maneira geral, as concentrações mais elevadas foram observadas para Zn em quase todas as amostras, seguidas por Se e As , com variações entre as diferentes marcas. As amostras WP7 e WP9 apresentaram abordagens notáveis, com predominância de As e Cu , respectivamente.

Tabela 6. Concentração média dos elementos quantificados nas amostras dos suplementos proteicos (mg/kg)

Elemento	WP 1	WP 2	WP 3	WP 4	WP 5	WP 6	WP 7	WP 8	WP 9	WP 10	WP 11	WP 12	VP 1	VP 2
As	1,12± 0,006	1,05± 0,001	1,17± 0,0006	1,25± 0,001	1,22± 0,001	1,20± 0,002	1,26± 0,001	1,24± 0,0003	1,14± 0,001	1,20± 0,001	1,13± 0,001	1,33± 0,002	0,85± 0,003	1,00± 0,001
Cd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cr	<LOD	0,37± 0,001	<LOD	<LOD	0,10± 0,0005	0,23± 0,0007	<LOD	<LOD	0,08± 0	<LOD	0,16± 0,0002	<LOD	0,10± 0,0003	0,01± 0,0008
Cu	0,62± 0,001	2,60± 0,002	0,01± 0,001	0,27± 0,0005	4,48± 0,001	1,79± 0,0005	<LOD	0,32± 0,0007	4,34± 0,0009	1,40± 0,0001	6,52± 0,001	0,79± 0,001	5,44± 0,003	4,30± 0,001
Hg	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mn	0,85± 0,0003	2,95± 0,001	0,15± 0,0001	<LOD	4,93± 0,001	2,66± 0,0007	<LOD	<LOD	<LOD	1,15± 0,001	19,24± 0,003	0,41± 0,0003	4,73± 0,002	6,75± 0,001
Pb	0,05± 0,002	0,001± 0,001	0,16± 0	<LOD	0,06± 0	<LOD	<LOD	0,04± 0	<LOD	<LOD	0,13± 0,001	<LOD	0,26± 0,004	<LOD
Se	1,41± 0,002	1,16± 0,001	1,27± 0,001	1,40± 0,002	1,41± 0,002	1,13± 0,001	1,12± 0,003	1,63± 0,001	1,63± 0,002	1,66± 0,001	1,25± 0,003	1,50± 0,002	1,23± 0,005	1,52± 0,001
Zn	4,15± 0,002	8,08± 0,005	2,71± 0,001	3,40± 0,001	9,77± 0,002	4,51± 0	0,22± 0	2,96± 0	3,04± 0,001	7,67± 0,001	16,85± 0,001	5,09± 0,002	34,69± 0,008	53,21± 0,004

O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de As entre os suplementos proteicos analisados ($F = 16,25$; $P < 0,0001$). Conforme ilustrado na Figura 4, observou-se uma variação nos níveis de As entre os suplementos proteicos, sendo que os suplementos do tipo VP apresentaram concentrações significativamente menores em comparação aos WP. Essa diferença é particularmente interessante, considerando que estudos anteriores indicam que suplementos de origem vegetal frequentemente apresentam níveis mais elevados de metais pesados, como o As, devido à extração de matérias-primas de solos contaminados (CLEAN LABEL PROJECT, 2018).

Em consonância com nosso estudo, Guefai *et al.* (2022) também quantificaram concentrações de As em amostras de suplemento proteico WP. Uma possível explicação é que produtos derivados do leite, como o soro, frequentemente apresentam concentrações significativas de As, conforme demonstrado no estudo de Dabeka *et al.* (1993). Isso pode impactar diretamente os níveis desse contaminante em suplementos à base de WP.

Adicionalmente, o uso de aditivos como goma xantana e goma guar, amplamente utilizados na formulação de suplementos, pode contribuir para a presença de metais pesados. Esses aditivos, dependendo de sua origem e dos processos de fabricação, podem introduzir contaminantes, especialmente quando derivados de plantas cultivadas em solos contaminados (EFSA, 2017). Essa influência é evidenciada pelas concentrações observadas no suplemento WP12, que contém ambos os aditivos e apresentou uma das maiores concentrações de As entre as amostras analisadas.

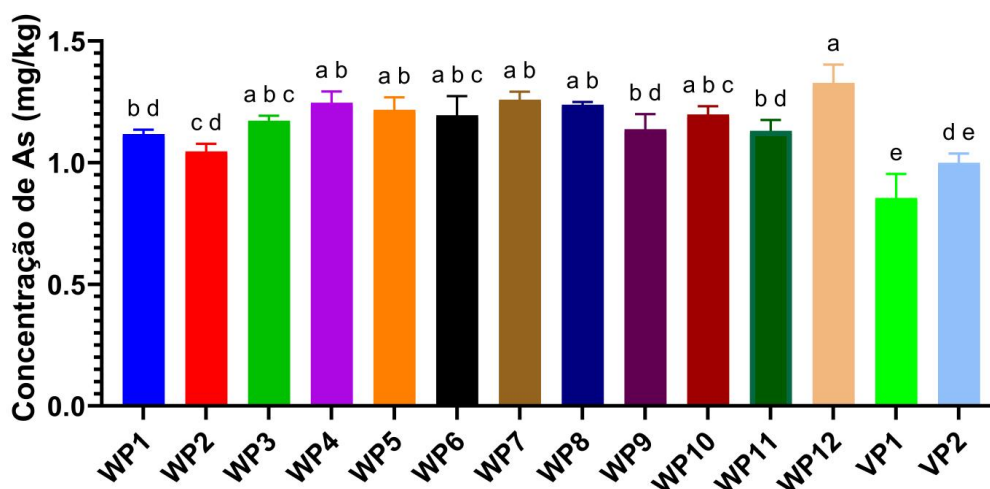
Outro fator relevante é o processo de saborização, que pode ser uma fonte de contaminação por metais pesados devido ao uso de aditivos aromáticos e matérias-primas naturais. Em estudo realizado por Pinto *et al.* (2020), amostras de WP com sabores de banana e blueberry apresentaram concentrações mais altas de As em comparação com outras variedades, como chocolate, morango e natural. Por outro lado, suplementos com sabores naturais e de framboesa exibiram concentrações mais baixas e com menor variação (PINTO *et al.*, 2020). Deve-se destacar que o

cacau, frequentemente utilizado em produtos com sabor de chocolate, pode conter níveis elevados de As, o que pode influenciar as concentrações detectadas em suplementos proteicos (DICO *et al.*, 2018; VILLA *et al.*, 2014).

Bandara *et al.* (2020) apontou que suplementos proteicos voltados para "ganho de massa" podem apresentar níveis mais elevados de As em comparação às proteínas de WP. Isso pode ser explicado pela maior concentração de ingredientes nesses produtos e pelos processos intensivos de filtragem e refinamento, que podem introduzir ou acumular contaminantes.

Esses resultados reforçam a importância de um controle rigoroso de qualidade na fabricação de suplementos proteicos, além da necessidade de regulamentações mais robustas para reduzir a exposição crônica a contaminantes como o As. Os efeitos adversos à saúde decorrentes dessa exposição podem manifestar-se a longo prazo, tornando essencial o monitoramento cuidadoso em todas as etapas da produção. Desde a seleção de matérias-primas, uso de aditivos, processos de produção, até os ingredientes utilizados na saborização, fatores ambientais e industriais podem contribuir para a contaminação por As em suplementos proteicos (FDA, 2024).

Figura 4. Concentração média de As (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024).

A análise estatística One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas na concentração média de Cr, entre os suplementos proteicos avaliados ($F=158,3$; $P < 0,0001$). Variações consideráveis nas concentrações de Cr, foram observadas entre as amostras de WP e VP, conforme ilustrado na Figura 5. Esses resultados são consistentes com os achados de Elgammal *et al.* (2019), que também observaram grandes variações nas concentrações médias de Cr.

Vale ressaltar que os resultado obtido por González-Weller *et al.* (2023), também quantificou concentrações de Cr, em suplementos proteicos, corroborando nossos achados. Entretanto, não parece haver diferença significativa no tipo de processamento do WP, visto que o WP isolado e concentrado, apresentaram concentrações próximas.

As variações podem ser explicadas por diversos fatores, como o tipo de processamento, influências ambientais, práticas industriais e a qualidade das matérias-primas. Esses fatores, podem introduzir contaminantes em diferentes etapas, desde a origem dos ingredientes até o processamento final, incluindo o uso de aditivos e aromatizantes nos suplementos (FDA, 2024).

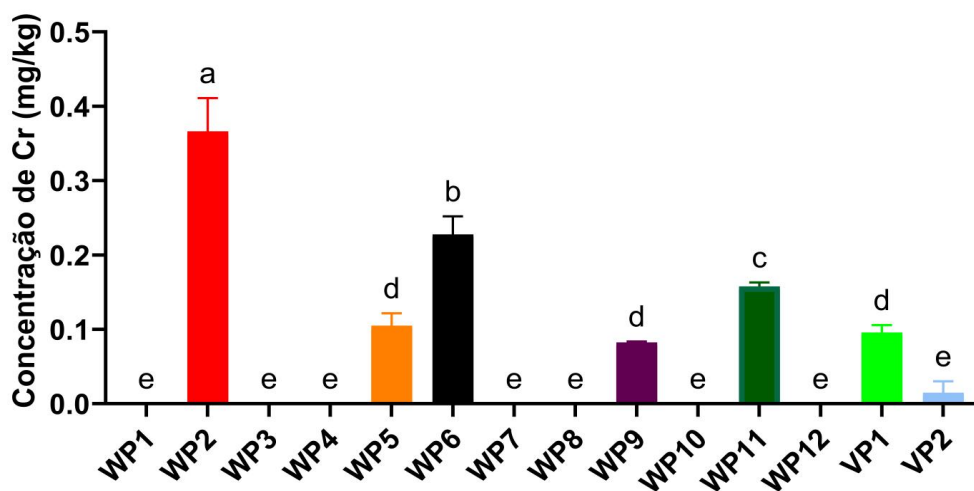
O cacau, frequentemente utilizado para saborizar suplementos de chocolate, é um ingrediente que pode contribuir significativamente para a presença de Cr. Estudos de Pinto *et al.* (2020) mostraram que produtos com sabor de chocolate e café, tendem a ter níveis elevados de Cr, em comparação com outros sabores, como banana, blueberry, natural, framboesa e morango. Isso foi corroborado por nossos resultados, visto que nossas amostras WP2, WP5 e WP6 de sabor chocolate, apresentaram maiores concentrações de Cr. Em contraste, a amostra WP10, que não continha cacau, apresentou níveis mais baixos de Cr, sugerindo que o cacau pode ser uma fonte relevante de contaminação por Cr.

Adicionalmente, os suplementos com sabor de morango apresentaram concentrações mais baixas de Cr em comparação com outros sabores (Tabela 5). Ou seja, nossos resultados estão de acordo com os achados de Pinto *et al.* (2020), que relataram níveis reduzidos de Cr, em produtos com sabor de morango. Esses

resultados sugerem que a escolha dos ingredientes, pode influenciar os níveis de contaminação por metais, nos suplementos.

Apesar de nossos achados, os resultados contrastam com os de Lofaso (2021), que encontrou níveis mais altos de Cr, em suplementos vegetais. Isso pode ser atribuído à capacidade das plantas de absorver metais pesados do solo, conforme apontado por Shahid *et al.* (2017). No entanto, as diferenças nas concentrações observadas em nosso estudo, podem ser influenciadas por outros fatores, como os processos de produção e as técnicas de saborização utilizadas, que podem afetar a presença de metais nos suplementos de forma diferenciada.

Figura 5 Concentração média de Cr (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024).

O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de Cu entre os suplementos proteicos analisados ($F = 5876$; $P < 0,0001$). As análises evidenciaram uma considerável variabilidade nas concentrações de Cu entre as amostras, conforme apresentado na Figura 6, destacando a necessidade de maior padronização na indústria de suplementos proteicos. Essa heterogeneidade está alinhada aos achados de Elgammal *et al.* (2019), que também identificaram variações significativas no conteúdo de Cu em

diferentes suplementos proteicos, reforçando a importância de um controle mais rigoroso nos processos de produção.

González-Weller *et al.* (2023) corroboraram nossos achados ao quantificar as concentrações de Cu em suplementos proteicos. No entanto, o estudo de González-Weller destacou diferenças relacionadas ao tipo de processamento do WP, com o WP concentrado apresentando concentrações mais elevadas de Cu em comparação ao WP isolado. Essas diferenças podem ser atribuídas à presença natural de Cu no soro do leite, reduzida durante o processo de filtração na produção do WP isolado (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Nossos resultados sugerem que os riscos de contaminação por Cu podem estar associados a diversos fatores, como o tipo de produto, as condições de cultivo (solo, água e uso de fertilizantes e fungicidas contendo cobre), o processo de fabricação e a origem dos ingredientes. Além disso, a saborização pode influenciar significativamente as concentrações de Cu, tornando a questão ainda mais complexa (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

A utilização de ingredientes como maçã, banana e iogurte natural na saborização de suplementos pode contribuir para a presença de Cu, como apontado por Skinner *et al.* (2018) e Oyeyinka e Afolayan (2019). No entanto, nossos resultados contradizem essa expectativa, já que suplementos com sabores de frutas e sabor neutro apresentaram as menores concentrações de Cu.

Por outro lado, Pinto *et al.* (2020) relataram maiores concentrações de Cu em suplementos com sabores de chocolate, café e natural, sendo o cacau uma possível fonte de cobre devido à contaminação do solo onde é cultivado (AZEVEDO; CHASIN, 2003). Embora nossos resultados corroborem os achados de Pinto para o sabor chocolate, observamos concentrações de Cu abaixo do limite de detecção no suplemento com sabor neutro, divergindo dos dados do estudo citado.

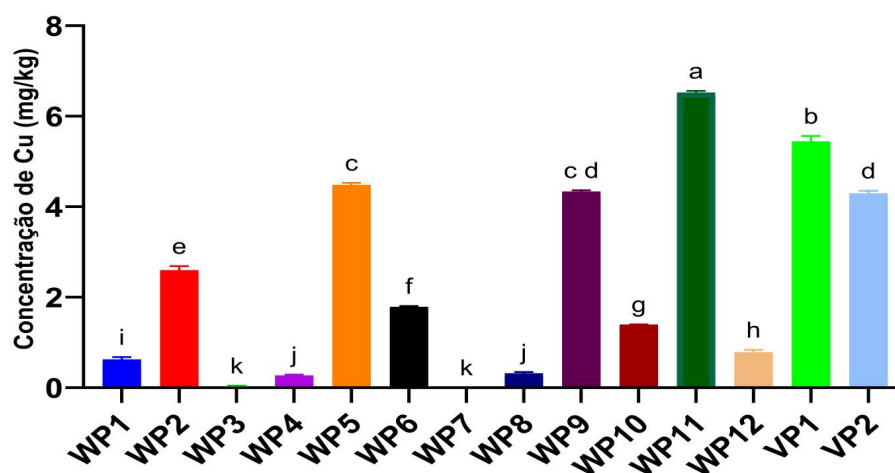
Conforme ilustrado na Figura 6, os sabores *cookies & cream* e doce de leite apresentaram as maiores concentrações de Cu. Esses sabores, frequentemente formulados com leite e aditivos como sacarose e bicarbonato de sódio, podem contribuir para níveis elevados de contaminação, como observado por Gaze *et al.*

(2015). Além disso, nossos estudos indicaram concentrações significativamente altas de Cu em suplementos com sabor de baunilha.

De forma interessante, os suplementos com sabor de morango apresentaram níveis mais baixos de Cu em comparação a outros sabores (Tabela 5). Pinto *et al.* (2020) também relataram menores níveis de metais em produtos com sabor de morango, sugerindo que a contaminação pode estar mais relacionada aos ingredientes utilizados do que à saborização propriamente dita. Entretanto, nossos dados mostraram concentrações mais elevadas de Cu em suplementos veganos com sabor de morango, possivelmente devido à composição vegetal desses produtos, como apontado por Sener e Cantemur (2023).

Como destacado por Bost *et al.* (2016), as concentrações de Cu nos alimentos podem variar significativamente em função de fatores locais, como o teor de Cu no solo, o uso de compostos à base de cobre e as emissões industriais. Esses fatores afetam diretamente os níveis de Cu em cereais, frutas, vegetais e, em menor escala, em produtos de origem animal. Isso reforça a necessidade de controle rigoroso em toda a cadeia de produção para mitigar os riscos de contaminação nos suplementos proteicos.

Figura 6 Concentração média de Cu (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024).

O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas, nas concentrações de manganês (Mn), entre os suplementos proteicos analisados ($F = 44510,3$; $P < 0,0001$). Como mostrado na Figura 7, as concentrações de Mn variaram consideravelmente entre as amostras. Esses resultados corroboram parcialmente os achados de Elgammal *et al.* (2019), que também observaram grandes variações nas concentrações de elementos químicos, em suplementos proteicos, sugerindo a falta de um padrão consistente na composição desses produtos. Isso reforça a necessidade de um controle rigoroso na fabricação e formulação de suplementos.

Maiores concentrações de Mn, são encontradas em alimentos como grãos, nozes e cereais, enquanto, menores quantidades, estão presentes em leite, carnes, peixes, ovos e frutas (WHO, 1999). Embora o leite contenha menores concentrações de Mn, ele pode ser uma fonte desse elemento, em suplementos proteicos à base de leite (WHO, 1999).

A concentração de Mn, em suplementos, pode variar de acordo com o tipo de produto, o processo de fabricação, o uso de embalagens e os ingredientes, como aditivos saborizantes de cacau e coco. Produtos com sabor de chocolate, como demonstrado por Pinto *et al.* (2020), tendem a apresentar concentrações mais elevadas de Mn, possivelmente devido à capacidade desses ingredientes de absorver manganês de solos ricos em metais pesados.

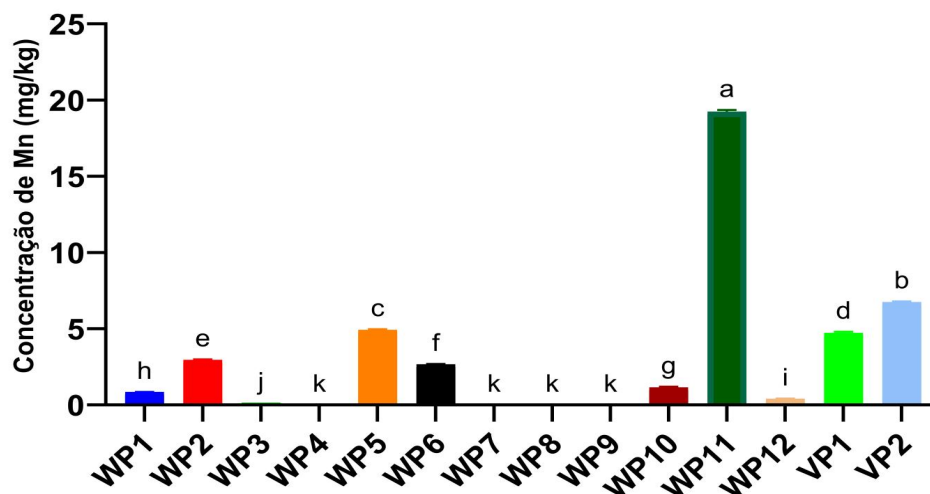
Embora o Mn seja um micronutriente essencial, importante para funções biológicas como a formação óssea e o metabolismo de nutrientes, seu excesso pode resultar em toxicidade. A contaminação por Mn, em suplementos proteicos pode estar relacionada tanto à origem dos ingredientes, quanto aos processos industriais que envolvem o uso de fertilizantes e pesticidas. Como apontado por Pandiselvam *et al.* (2022), o cultivo em solos contaminados pode resultar em níveis elevados de Mn nos produtos finais, especialmente, em suplementos à base de vegetais.

Nossas análises indicam que o uso de aditivos como goma xantana e goma guar, também pode contribuir para a exposição ao Mn, já que esses emulsificantes são derivados de plantas cultivadas em solos possivelmente contaminados com

metais pesados. Suplementos à base de proteínas vegetais (VP), são particularmente vulneráveis a essa contaminação, devido à maior capacidade das plantas de absorver metais diretamente do solo.

Em nossa pesquisa, verificamos que suplementos com sabor de chocolate e outros aromatizantes naturais, apresentaram concentrações mais elevadas de Mn, em comparação a outros sabores, como morango, que mostrou níveis mais baixos desse metal. Esses achados, reforçam a necessidade de um controle rigoroso na seleção de ingredientes e no processo de produção, para garantir que as concentrações de manganês permaneçam dentro de limites seguros, protegendo a saúde dos consumidores.

Figura 7 Concentração média de Mn (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024)

O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de Pb, entre os suplementos proteicos analisados ($F = 158,3$; $P < 0,0001$). Esses resultados estão em concordância com os achados de Korfali *et al.* (2013), que também identificaram variações nos níveis de Pb em diferentes suplementos nutricionais, como ilustrado na figura 8, destacando a necessidade de um monitoramento rigoroso para garantir a segurança desses

produtos. A contaminação por Pb pode ocorrer devido ao uso de equipamentos durante a produção, processamento e armazenamento dos suplementos (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Clean Label Project (2018), indicam que cerca de 75% dos suplementos à base de plantas apresentam níveis preocupantes de Pb, superiores aos encontrados em suplementos de WP. Esses dados sugerem que ingredientes vegetais, como a proteína isolada de arroz e ervilha, frequentemente utilizados em amostras como a VP1, são mais suscetíveis à contaminação devido ao cultivo em solos ou água poluídos. De acordo com a Consumer Reports (2018), suplementos VP, como soja ou cânhamo, apresentaram o dobro da concentração de Pb e outros contaminantes, em comparação aos suplementos de WP, ou ovo. Além disso, o Clean Label Project (2018), revelou que aproximadamente 10% dos 53 produtos testados de WP, continham níveis de Pb, acima das diretrizes de segurança.

Outro fator que pode contribuir para a contaminação, é o uso de aditivos, como emulsificantes (goma xantana, goma guar) e edulcorantes artificiais, especialmente quando derivados de fontes vegetais expostas a condições ambientais adversas. A EFSA (2017), relatou que os processos industriais envolvidos na produção de aditivos, podem introduzir traços de metais pesados nos produtos finais.

A adição de aromatizantes no processo de fabricação de suplementos é uma prática comum para melhorar o sabor dos produtos. Contudo, esses aditivos podem introduzir contaminantes indesejados, dependendo da origem e do processamento dos ingredientes utilizados. Por exemplo, os resultados de Pinto *et al.* (2019) demonstraram que os suplementos com sabor de chocolate continham concentrações mais elevadas de Pb. Isso pode estar relacionado à contaminação do cacau, amplamente utilizado na saborização desses produtos, uma vez que o cacau é frequentemente cultivado em solos com altos níveis de metais pesados, como o Pb (DICO *et al.*, 2018; VILLA *et al.*, 2014).

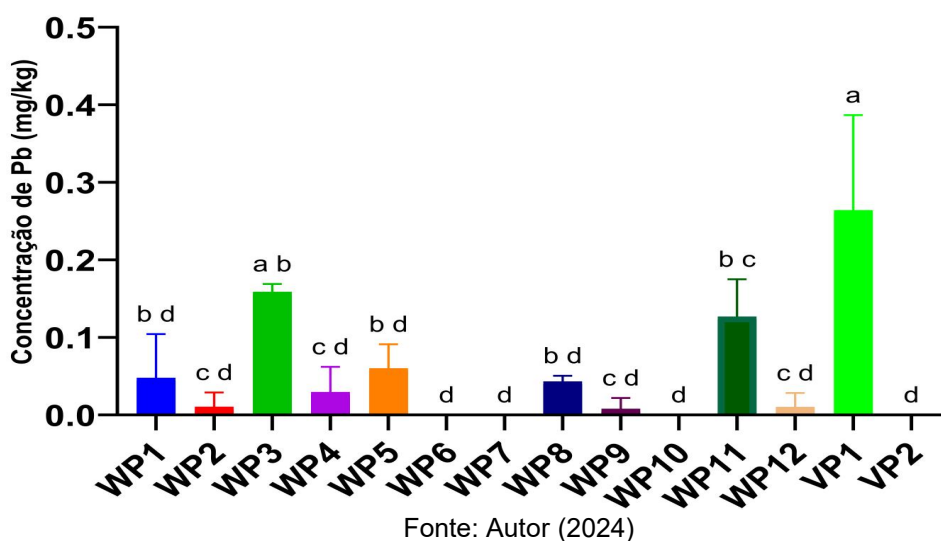
Em nossos resultados, também foi observado que suplementos com sabor de baunilha, apresentaram concentrações elevadas de Pb. No entanto, o sabor

baunilha em si, não parece ser o principal fator determinante. Adubofuor e Wireku-Manu (2014) encontrou concentrações elevadas de minerais como potássio, cálcio e fósforo, além de níveis significativos de magnésio, sódio, ferro e zinco, em iogurtes com sabor de baunilha,. Esses resultados sugerem que a contaminação por Pb, pode não estar diretamente associada ao sabor baunilha.

Por outro lado, o tipo de suplemento, parece ser um fator mais relevante para a contaminação por metais pesados. Um estudo conduzido por Bandara conduziu uma pesquisa que revelou que suplementos do tipo "ganhador de massa" (ou blends), apresentaram maiores concentrações de Pb, em comparação a outros tipos de WP, sugerindo que a composição complexa desses produtos, que inclui vários ingredientes e processos de fabricação distintos, pode aumentar a exposição à contaminação.

A ausência de regulamentações específicas e claras para o controle de metais pesados em suplementos alimentares, ressalta a importância de medidas rigorosas de controle de qualidade, para garantir a segurança dos consumidores.

Figura 8 Concentração média de Pb (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



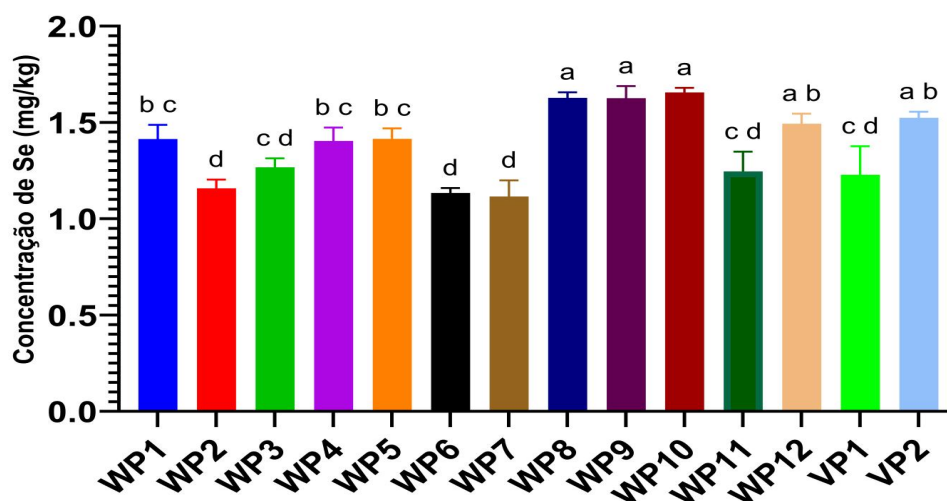
O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de Se, entre os suplementos proteicos analisados ($F = 22,62$; $P < 0,0001$). As concentrações de Se variaram consideravelmente entre as amostras, como evidenciado na Figura 9, o que pode ser atribuído a fatores como a matéria-prima e o processo de fabricação dos suplementos. Esses resultados estão alinhados com Guefai *et al.* (2022), que também observou em seus resultados, variações nas concentrações de Se, nos suplementos WP. O Se, é um micronutriente essencial, com propriedades antioxidantes, desempenhando um papel crucial na saúde humana, mas pode se tornar tóxico, em altas concentrações (BENSTOEM *et al.*, 2015).

Além disso, nossos achados corroboram com Pinto *et al.* (2020), que demonstraram variações nas concentrações de Se, em suplementos proteicos com diferentes sabores, como chocolate, baunilha, morango e doce de leite. Curiosamente, em nossas amostras, o sabor morango apresentou as maiores concentrações de Se, sugerindo que essas variações podem estar relacionadas tanto à fonte proteica, quanto aos aditivos utilizados durante o processo de fabricação, como emulsificantes e aromatizantes. Em seus resultados, Pinto *et al.* (2020), observaram concentrações mais elevadas de Se, nos sabores neutro, morango e café, embora o suplemento WP7, de sabor neutro, tenha apresentado a menor concentração de selênio entre as amostras analisadas. A consistência das altas concentrações de Se, no sabor morango, tanto em nosso estudo, quanto no de Pinto, sugere uma possível relação direta entre esse sabor e as concentrações de selênio.

Em diversos países, alimentos como carne, ovos e leite apresentam naturalmente altos teores de Se, sendo que o leite é um ingrediente chave na produção de WP (AZEVEDO; CHASIN, 2003). No Brasil, o estudo de Ferreira *et al.* (2022), identificaram que, alimentos como: ervilha, arroz e leite, utilizados tanto na produção de WP, quanto de proteínas vegetais (VP), podem conter altos níveis de Se. Além disso, frutas usadas como aditivos para a saborização de suplementos também contribuem para o teor final de Se, nesses produtos.

Dada a importância do Se para a saúde, mas também seu potencial tóxico em doses elevadas, é essencial, que a indústria de suplementos, implemente rigorosos controles de qualidade, para garantir que as concentrações desse elemento, permaneçam dentro de níveis seguros para o consumo.

Figura 9 Concentração média de Se (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024).

O teste estatístico One-Way ANOVA revelou diferenças significativas nas concentrações de zinco (Zn) entre os suplementos proteicos analisados ($F = 70101,3$; $P < 0,0001$). Estudos recentes de Alabyadh et al. (2024) e Bethencourt-Barbuzano et al. (2023) também relataram concentrações de Zn em suplementos de WP, corroborando nossos resultados. No entanto, nossa pesquisa identificou concentrações ainda mais elevadas de Zn em suplementos proteicos de origem vegetal, conforme mostrado na Figura 10.

É importante destacar, que diversos alimentos, como produtos marinhos, carnes, grãos, laticínios, nozes e leguminosas, são ricos em Zn. Embora as verduras, geralmente, contenham menores quantidades desse mineral, ele pode ser absorvido pelas plantas, quando presente no solo (AZEVEDO; CHASIN, 2003). Esse ponto, é relevante em nossa pesquisa, pois observamos que os suplementos de origem VP,

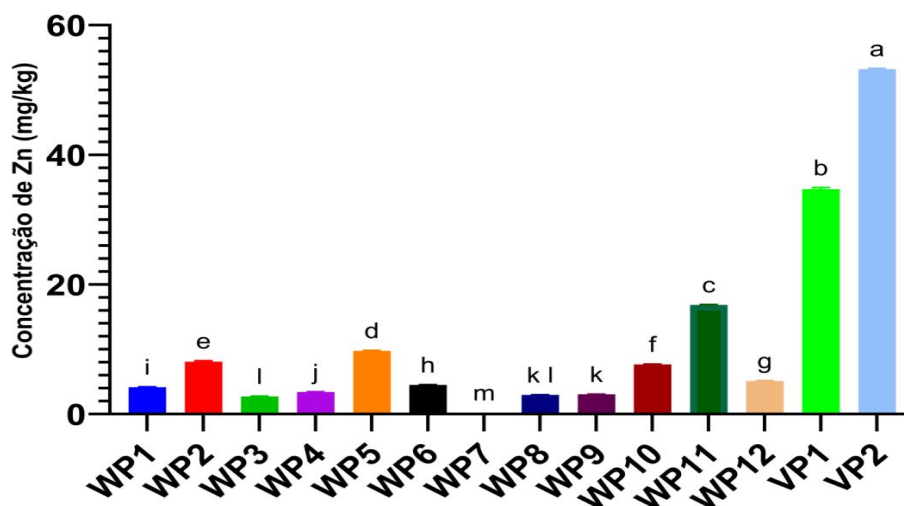
apresentaram concentrações de Zn significativamente mais elevadas, em comparação aos suplementos de WP.

A alta concentração de Zn, observada nos suplementos de origem vegetal, pode ser atribuída à capacidade das plantas de absorver metais pesados do solo, tornando esses suplementos vulneráveis à contaminação, dependendo das condições de cultivo. O estudo de Augustsson *et al.* (2021) reforça essa observação, destacando que o Zn, é comumente encontrado em vegetais, água e leguminosas, o que explica as maiores concentrações detectadas nas amostras de VP.

Além disso, o estudo de González-Weller *et al.* (2023) quantificaram as concentrações de Zn em suplementos proteicos e confirmaram nossos achados ao observar que o WP isolado apresentou concentrações de Zn superiores às WP concentradas. Essa diferença sugere uma possível influência no processamento, uma vez que o processo de isolamento pode concentrar-se não apenas nas proteínas, mas também nos elementos presentes na matéria-prima. Esse resultado está em concordância com nossos dados, nos quais também detectamos concentrações mais elevadas de Zn em suplementos isolados, mesmo nos de origem vegetal, diminuindo que o tipo de processamento é um fator determinante na concentração final desse elemento.

Curiosamente, nossa pesquisa aponta que, a maior concentração de Zn, foi encontrada em suplementos com sabor de morango. Esse achado, contraria os resultados apresentados por Pinto *et al.* (2020), que relataram concentrações significativamente mais altas de Zn, em suplementos com sabor de chocolate, enquanto os suplementos de morango, apresentaram as menores concentrações.

Figura 10 - Concentração média de Zn (mg/kg) para as diferentes marcas de suplementos proteicos comercializadas



Fonte: Autor (2024).

5.2 Ingestão diária de macro e microelementos em suplementos proteicos

Os resultados de ingestão diária crônica (CDI, mg/kg/dia) de As, Cr, Cu, Mn, Pb, Se e Zn em diferentes amostras (WP1 a WP12 e VP1 a VP2), estão apresentados na Tabela 7. Neste estudo, conforme a metodologia adotada, considerou-se um adulto de 30 anos com 70 kg, ingerindo 40 g/dia de suplemento proteico durante 365 dias.

No caso do Cu, os valores de CDI, variaram de <LOD a 0,0008 mg/kg/dia nas amostras WP7 e WP10, destacando a necessidade de métodos analíticos mais sensíveis para uma detecção precisa. Vale ressaltar que o MRL estabelecido para o Cu, refere-se apenas à exposição intermediária (0,02 mg/kg/dia), o que impossibilita a avaliação do risco crônico. O Cu, é um mineral essencial para saúde humana, além de desempenhar um papel crucial no metabolismo do ferro e na prevenção da anemia, o Cu também atua como antioxidante durante o exercício físico, ajudando a reduzir o estresse oxidativo. No entanto, o excesso de Cu pode causar condições graves, como doenças neurodegenerativas e hepáticas (CADENAS, 2015; ZHOU *et al.*, 2020). É fundamental que a Agência de registros de substâncias tóxicas e

doenças (ATSDR) estabeleça o MRL específico para exposição crônica ao Cu, permitindo que potenciais riscos associados à ingestão prolongada sejam devidamente avaliados e mitigados.

O Se apresentou valores de CDI variando de 0,0006 a 0,0009 mg/kg/dia, com o menor valor registrado na amostra WP7 e o maior na amostra WP10. Todas as amostras apresentaram valores de CDI abaixo do MRL prescrito para o Se, que é de 0,005 mg/kg/dia. O Se é um mineral essencial para a saúde, com uma função antioxidante, que pode ser benéfica para o exercício físico. No entanto, é crucial manter o monitoramento dos suplementos proteicos, visto que o excesso de Se, pode aumentar o risco de diabetes e causar complicações na espermatogênese (ZHANG *et al.* , 2023). Assim, é essencial garantir que tanto o excesso quanto a deficiência de Se sejam monitorados, para que os níveis permaneçam dentro dos limites seguros e proporcionem benefícios à saúde

Em relação ao Pb, algumas amostras contidas abaixo do limite de detecção (LOD), indicam que a exposição ao Pb, pode ser baixa em algumas situações. Entretanto, a maior ingestão, foi observada na amostra WP2, com um valor de 0,0004 mg/kg/dia. Vale destacar que o Pb, não teve seus valores de MRL estipulados pela ATSDR, embora seja altamente tóxico. O Pb, é um metal pesado, conhecido por seu potencial carcinogênico, e sua exposição pode resultar em disfunções neurológicas, cardiovasculares, imunológicas e ósseas, além de causar danos aos rins e ao fígado (SOUZA; ANDRADE; DALMOLIN, 2018). O Pb, também pode induzir aborto espontâneo em mulheres grávidas e problemas na espermatogênese em homens (ABDULLA *et al.*, 2019). Isso é motivo de preocupação, visto que o Pb pode se acumular com a ingestão a longo prazo.

O Zn apresentou variações no CDI de 0,0001 a 0,0019 mg/kg/dia, com o menor valor registrado na amostra WP7 e o maior na amostra VP2. Todas as amostras, no entanto, apresentaram valores de CDI abaixo do MRL previsto para o Zn, que é de 0,3 mg/kg/dia. O CDI foi maior nas amostras de VP, em comparação com WP, indicando que os suplementos de origem vegetal podem ser uma fonte relevante de Zn. Como o Zn, é um mineral essencial, fundamental para várias

funções biológicas, manter níveis adequados, é importante, uma vez que baixas concentrações estão associadas ao comprometimento do sistema imunológico, aumento de marcadores de estresse oxidativo e elevação de citocinas pró-inflamatórias (ANANDA *et al.* , 2007).

Com base nas comparações realizadas, constatou-se que a ingestão diária de As, em todas as amostras, estão acima dos valores estipulados pelos MRLs (ver Tabela 6), indicando um possível risco associado ao consumo regular desses suplementos. Essa descoberta é preocupante, pois a exposição contínua a níveis elevados de As, pode representar uma ameaça significativa à saúde a longo prazo.

O As, quando ingerido por longos períodos, está associado a riscos carcinogênicos, como o desenvolvimento de câncer de pulmão, além de estar relacionado ao diabetes mellitus tipo 2 e complicações no sistema reprodutivo (HONG; SONG; CHUNG, 2014). Além disso, a exposição crônica ao As, pode causar sintomas gastrointestinais, como cólicas abdominais, náuseas e diarreia crônica (AZEVEDO e CHASIN, 2003). Esses sintomas parecem estar diretamente relacionados a alterações na microbiota intestinal, particularmente associadas ao consumo de WP. Moreno-Pérez *et al.* (2018), avaliou a microbiota intestinal de atletas suplementados com WP, observou uma diminuição nas bactérias benéficas, resultando em um desequilíbrio intestinal, o que pode ter consequências prejudiciais para a saúde a longo prazo.

No entanto, o CDI para os elementos Cd, Cr, Se e Zn nas amostras dos suplementos proteicos, estão abaixo dos valores previstos pelos MRLs, apresentando uma exposição segura. Por outro lado, para os elementos Mn, Cu e Pb, não é possível afirmar que estão dentro da faixa de exposição segura, já que os MRLs para exposição crônica desses metais, não foram estabelecidos pela Agência de registros de substâncias tóxicas e doenças (ATSDR, 2023).

Tabela 7. Dose média de ingestão diária (mg/Kg/dia).

Amostras	WP 1	WP 2	WP 3	WP 4	WP 5	WP 6	WP 7	WP 8	WP 9	WP 10	WP 11	WP 12	VP 1	VP 2
As	0,0006	0,0006	0,0007	0,0007	0,0007	0,0007	0,0007	0,0007	0,0007	0,0007	0,0006	0,0008	0,0005	0,0006
Cr	<LOD	0,0002	<LOD	<LOD	0,0001	0,0001	<LOD	<LOD	0,0000	<LOD	0,0001	<LOD	0,0001	0,0000
Cu	0,0004	0,0015	0,0000	0,0002	0,0026	0,0010	<LOD	0,0002	0,0025	0,0008	0,0037	0,0004	0,0031	0,0025
Mn	0,0005	0,0017	,0001	<LOD	0,0028	0,0015	<LOD	<LOD	<LOD	0,0007	0,0110	0,0002	0,0027	0,0039
Pb	0,0000	0,0004	0,0001	<LOD	0,0000	<LOD	<LOD	0,0000	<LOD	<LOD	0,0001	<LOD	0,0002	<LOD
Se	0,0008	0,0007	0,0007	0,0008	0,0008	0,0006	0,0006	0,0009	0,0009	0,0009	0,0007	0,0009	0,0007	0,0009
Zn	0,0024	0,0046	0,0016	0,0019	0,0056	0,0026	0,0001	0,0017	0,0017	0,0044	0,0096	0,0029	0,0198	0,0304

Fonte: Autor (2024).

Os resultados da CDI dos elementos nas amostras dos suplementos proteicos (ver Tabela 7) foram comparados com a literatura existente, incluindo diferentes estudos conforme indicado na Tabela 8 (BANDARA; TOWLE; MONNOT, 2020; GONZÁLEZ-WELLER *et al.*, 2023; GUEFAI *et al.*, 2022; PINTO; FERREIRA; ALMEIDA, 2020). Para essa comparação, utilizou-se a Equação 1, levando em consideração os valores de concentração obtidos nas referências citadas. Os parâmetros considerados foram: um adulto de 30 anos, pesando 70 kg, ingerindo 40 g/dia de WP durante 365 dias.

A comparação dos valores de CDI para os elementos As (0,0006 - 0,0008), Cr (<LOD - 0,0002), Cu (<LOD - 0,0037), Mn (<LOD - 0,0011), Pb (<LOD - 0,0004) e Zn (0,0001 - 0,0096) apresentados na Tabela 7 revelou que estes foram menores do que os valores de CDI obtidos nos estudos de Pinto *et al.* (2020) para Cr (0,00008 - 0,0006) e Cu (0,0002 - 0,006); de Bandara *et al.*, (2020) para As (0,0001 - 0,0032) e Pb (0,00007 - 0,0025); de Guefai *et al.* (2022) para os elementos Cu (<LOD - 0,019), Mn (0,00005 - 0,066) e Zn (0,0005 - 0,137); e de González-Weller *et al.* (2023) para Cr (0,00001 - 0,0003), Cu (0,0002 - 0,0059), Mn (0,000051 - 0,015) e Zn (0,0007 - 0,058).

Os valores de CDI obtidos foram comparados com os MRLs estabelecidos pela Agência de Registros de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR, 2023). A análise comparativa revelou que os nossos resultados corroboram com os de Bandara *et al.*, (2020), pois as concentrações de As estão acima dos limites estabelecidos pelas MRLs, sugerindo que a ingestão prolongada de WP pode representar riscos à saúde devido à exposição ao arsênio.

Essa análise comparativa oferece uma visão abrangente sobre as concentrações de elementos em WP e sua conformidade com os valores relatados em estudos anteriores, ajudando na avaliação dos possíveis riscos à saúde associados ao consumo desses produtos. Vale ressaltar que, embora em muitos casos os resultados estejam dentro dos limites aceitáveis, a vigilância contínua e a pesquisa são fundamentais para garantir a segurança dos consumidores ao longo de um período de exposição igual ou superior a 365 dias.

Tabela 8. Comparação da ingestão diária de WP com a literatura (mg/kg).

Elemento	valor	CDI				
		Bandara,2020	González-keller, 2023	Pinto et al.,2020	Guefai et al., 2022	nossos resultados
As	mínimo	0,00011	Nd	Nd	Nd	0,00059
	máximo	0,00320	Nd	Nd	Nd	0,00076
Cr	mínimo	Nd	0,00002	0,00008	Nd	<LOD
	máximo	Nd	0,00034	0,00067	Nd	0,00021
Cu	mínimo	Nd	0,00022	0,00021	<LOD	<LOD
	máximo	Nd	0,00590	0,00600	0,01900	0,00372
Mn	mínimo	Nd	0,00005	0,00003	0,00006	<LOD
	máximo	Nd	0,01500	0,01100	0,06600	0,01100
Pb	mínimo	0,00007	Nd	Nd	Nd	<LOD
	máximo	0,00257	Nd	Nd	Nd	0,00040
Zn	mínimo	Nd	0,00077	0,00007	0,00057	0,00013
	máximo	Nd	0,05800	0,00041	0,13700	0,00963

Nd= não determinado

Fonte: Autor (2024).

5.3 Avaliação de risco não carcinogênico

Nossa análise concentrou-se na avaliação do Quociente de Risco (HQ) para os elementos As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Pb e Zn, conforme apresentados na Tabela. Foi observado que os valores de HQ são consistentemente superiores a 1 em todas as amostras para o elemento As, indicando a presença de potenciais riscos à saúde associados a essas amostras.

Os resultados destacam que o As é consistentemente um dos principais contribuintes para o risco de toxicidade. Como citado anteriormente, a contaminação por As pode ocorrer durante o processamento de alimentos, incluindo a adição de corantes, já identificados como fontes de contaminação (JAISHANKAR *et al.*, 2014). Além disso, o uso de agrotóxicos contendo As, conforme apontado por LI *et al.* (2016), pode levar à contaminação de produtos lácteos (DASRIYA *et al.*, 2021) e vegetais (EL-SHEIKH *et al.*, 2022). Esses alimentos, amplamente utilizados como matérias-primas na produção de suplementos proteicos, levantam preocupações significativas quanto à qualidade e segurança desses produtos.

Os resultados reforçam a necessidade de atenção crítica à análise de risco ambiental e à implementação de medidas preventivas sempre que o HQ ultrapassa o valor de 1. Estratégias como monitoramento contínuo e regulamentações rigorosas são essenciais para mitigar os riscos identificados, protegendo a saúde pública e o meio ambiente. A identificação precisa dos elementos de maior risco permite direcionar esforços de mitigação de forma mais eficaz.

A exposição ao As nesses suplementos pode representar riscos à saúde humana, incluindo o desenvolvimento de câncer no fígado, diabetes tipo 2 e complicações no sistema reprodutivo (HONG; SONG; CHUNG, 2014). Portanto, a regulamentação das práticas agrícolas e industriais é crucial para reduzir a presença de As em suplementos proteicos e garantir a segurança dos consumidores.

Outro elemento não essencial a ser considerado é o Pb, cujos valores de HQ variaram de 0,00709 a 0,114 no WP e de <LOD a 0,0431 no VP. Apesar dos valores de HQ estarem abaixo de 1, é fundamental ressaltar que o chumbo possui baixas

taxas de excreção pelo organismo humano e alto potencial de bioacumulação, o que pode levar a graves consequências à saúde ao longo do tempo. Esse cenário é ainda mais preocupante devido às propriedades tóxicas do chumbo, que é considerado um agente carcinogênico, estando associado a disfunções neurológicas, cardiovasculares, imunológicas, ósseas e a danos renais e hepáticos (SOUZA; ANDRADE; DALMOLIN, 2018).

Os HQs dos elementos essenciais foram todos inferiores a 1, com os seguintes valores para o WP: Cu (0,000124 a 0,0932), Cr (<LOD a 0,000139), Mn (<LOD a 0,0117), Zn (0,000425 a 0,0101) e Se (0,000638 a 0,000946). Para o VP, os valores foram: Cu (0,0614 a 0,0778), Cr (0,00000274 a 0,0000364), Mn (0,0113 a 0,0161), Zn (0,0661 a 0,101) e Se (0,000702 a 0,000871). Apesar de essenciais, esses elementos podem se acumular no organismo e causar danos a longo prazo, dependendo da dose de ingestão.

Exemplos incluem:

- Cobre: doenças neurodegenerativas e hepáticas (CADENAS, 2015);
- Cromo: danos ao fígado, rim, trato gastrointestinal e distúrbios cardiovasculares (CHAKRABORTY *et al.*, 2022);
- Manganês: sistema imune, má formação óssea, e deficiência no metabolismo lipídico e carboidratos (ASCHNER; ERIKSON, 2017);
- Zinco: anemia, danos pancreáticos e diminuição do HDL no sangue (ATSDR, 2005).
- Selênio: diabetes, e também afetar a espermatogênese (ZHANG *et al.*, 2023).

Esses resultados reforçam a necessidade de vigilância contínua e regulamentações para garantir a segurança no consumo de suplementos proteicos, especialmente considerando os efeitos cumulativos desses elementos ao longo do tempo.

Tabela 9. Quociente de risco (HQ) obtido para adultos.

Elemento	WP 1	WP 2	WP 3	WP 4	WP 5	WP 6	WP 7	WP 8	WP 9	WP 10	WP 11	WP 12	VP 1	VP 2
As	2,13	1,99	2,23	2,37	2,32	2,28	2,4	2,36	2,17	2,28	2,15	2,53	1,63	1,9
Cr	<LOD	0,222	<LOD	<LOD	0,111	0,111	<LOD	<LOD	0,0	<LOD	0,111	<LOD	0,111	0,0
Cu	0,009	0,0371	0,0001	0,004	0,064	0,026	<LOD	0,005	0,062	0,020	0,093	0,0112	0,1	0,0614
Mn	0,0035	0,0012	0	<LOD	0,002	0,001	<LOD	<LOD	<LOD	0,0005	0,0078	0	0,0019	0,0027
Pb	0,008	0,114	0,03	<LOD	0,010	<LOD	<LOD	0,0071	<LOD	<LOD	0,021	<LOD	0,0431	<LOD
Zn	0,008	0,0154	0,0052	0,0065	0,019	0,01	0,0004	0,01	0,01	0,015	0,0321	0,010	0,0661	0,101

Fonte: Autor (2024).

Os valores mais elevados de HQ para as amostras de WP são apresentados na Figura 11, destacando o elemento As como o principal contribuinte, com um HQ de 2,53. Em contrapartida, o menor valor de HQ foi registrado para o elemento Cr, com 0,0000867. Para as amostras de VP, os maiores valores de HQ estão ilustrados na Figura 6, novamente com o elemento As apresentando o maior HQ, de 1,9. O menor valor de HQ foi observado para o elemento Cr, com 0,0000364.

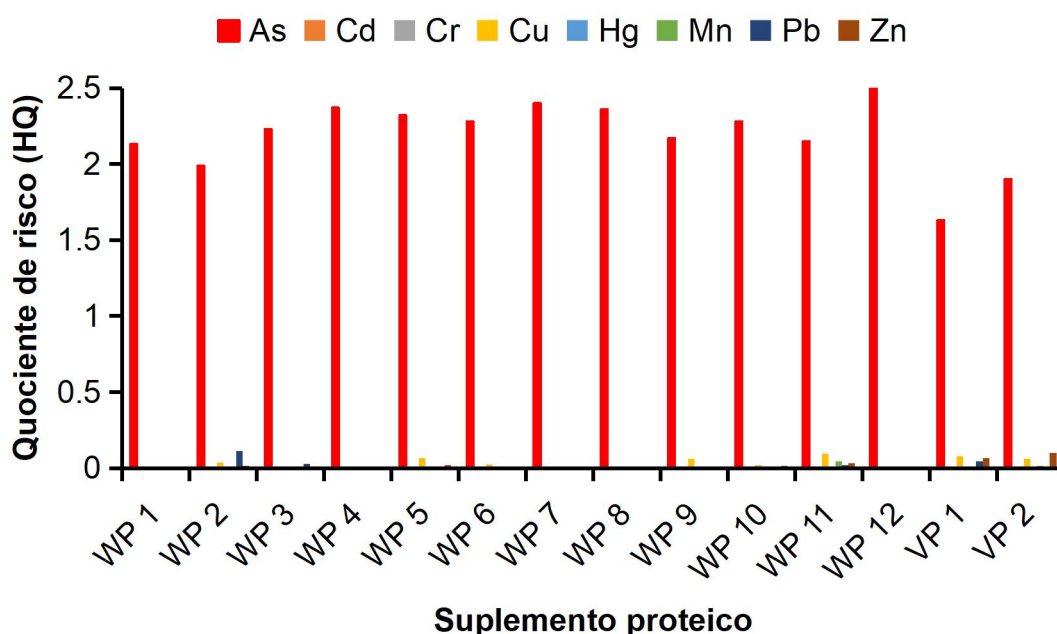


Figura 11. Quociente de risco (HQ) obtido para adultos

Fonte: Autor (2024)

O risco cumulativo dos macro e microelementos foi obtido através do Índice de Perigo (HI), conforme apresentado na Tabela 10. Notavelmente, todos os valores de HI nas amostras excedem 1, o que aponta para a presença de potenciais riscos à saúde, associados a essas amostras. O HI é uma medida que leva em conta a exposição a diversos componentes químicos, e valores acima de 1, indicam a necessidade de uma análise mais aprofundada, e a implementação de medidas para reduzir esses riscos.

Esses resultados são influenciados principalmente pelo alto conteúdo de As, que surge como o principal contribuinte para o risco de toxicidade quando se trata da ingestão desses macros e microelementos.

Essas descobertas destacam a importância crítica de adotar medidas preventivas, sempre que o HI, ultrapassa o valor de 1. Isso pode envolver a implementação de monitoramento contínuo, além de regulamentações mais rígidas, com o intuito de reduzir eficazmente os riscos identificados nessas amostras, e proteger os consumidores de uma possível contaminação.

Tabela 10. Índice de Perigo.

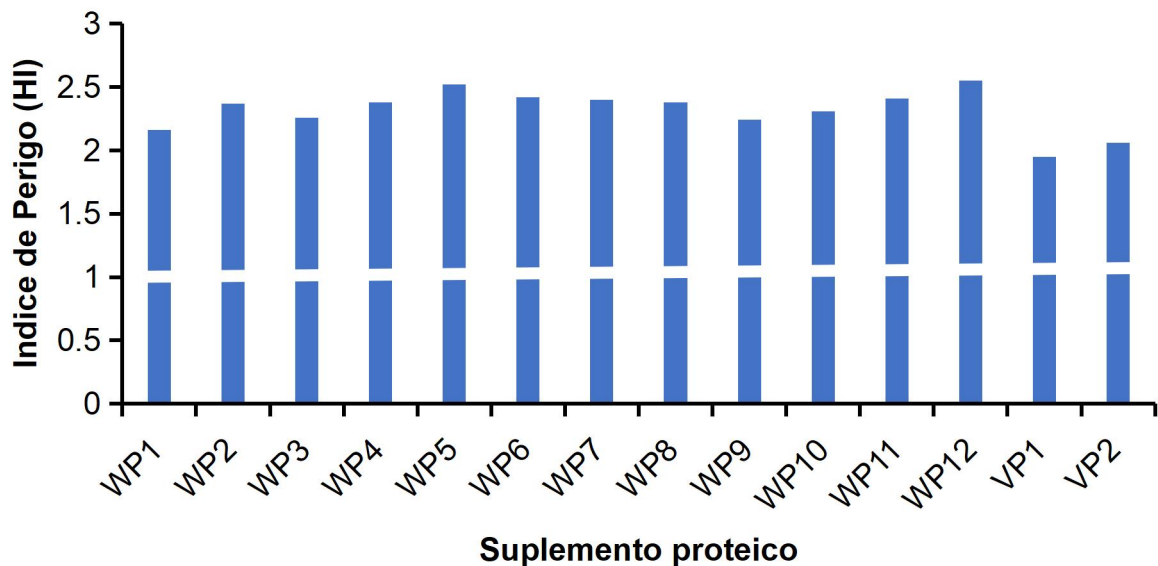
Amostra	HI
WP 1	2,16
WP 2	2,37
WP 3	2,26
WP 4	2,38
WP 5	2,52
WP 6	2,42
WP 7	2,40
WP 8	2,38
WP 9	2,24
WP 10	2,31
WP 11	2,41
WP 12	2,55
VP 1	1,95
VP 2	2,06

Fonte: Autor (2024)

Conforme ilustrado na Figura 11, a amostra de WP12, foi a que apresentou o HI mais elevado, com valores de 2,55, indicando um potencial maior de risco para a saúde. Isso pode ser um sinal, para investigar mais profundamente, os componentes específicos dessa amostra, e considerar a implementação de medidas de controle.

É importante notar que a amostra VP1 foi a que apresentou o menor HI (1,95), que embora seja inferior a 2, ainda sugere um nível significativo de risco. Portanto, todas as amostras exigem atenção e investigação adicionais, para avaliar os riscos à saúde, e determinar as medidas adequadas, para reduzir os possíveis riscos.

Figura 12 Valores de índice de perigo (HI) em suplementos proteicos obtido para adultos



Fonte: Autor (2024)

6. CONCLUSÃO

Neste estudo, foram quantificadas as concentrações de macro e microelementos em amostras de suplementos proteicos em pó, incluindo proteínas do soro do leite (WP) e de origem vegetal (VP) comercializadas no Brasil. Os elementos analisados incluíram As, Cr, Cu, Mn, Pb, Se e Zn, enquanto Cd e Hg Conteúdo abaixo do limite de detecção (LOD). Foram observadas concentrações elevadas de Zn e As em todas as amostras testadas. No entanto, os valores de As e Pb encontrados foram inferiores aos relatados na literatura.

Os valores de consumo diário de As quantificados em todas as amostras excederam os limites estipulados pelos Níveis mínimos de risco (MRLs) , diminuindo um risco potencial à saúde. Em contrapartida, os consumos diários de Cd , Cr , Cu , Hg , Se e Zn são específicos abaixo dos valores estabelecidos pelos MRLs, indicando uma exposição dentro de limites considerados seguros. Entretanto, para os elementos Mn , Cu e Pb , não existem MRL definidos, dificultando uma avaliação precisa sobre a segurança de sua ingestão crônica.

Os valores de quociente de risco (HQ) indicaram risco elevado ($HQ > 1$) para o As, e o índice de perigo (HI) calculando também foi superior a 1, destacando preocupações de saúde significativas. Além disso, é importante ressaltar que não há níveis seguros previstos para a ingestão de elementos como As, Cr e Pb, e sua exposição a longo prazo pode causar efeitos adversos graves, como toxicidade crônica, danos neurológicos e outros problemas sistêmicos.

Futuros estudos são recomendados para considerar a exposição a esses elementos em atletas de diferentes faixas etárias e níveis de atividade física. Também foi constatado que os suplementos de WP apresentam grande variação em relação às dosagens diárias indicadas, evidenciando a ausência de um padrão regulatório uniforme para o consumo desses produtos. Essa falta de padronização pode aumentar os riscos associados ao consumo inadvertido de elementos tóxicos e requer maior atenção regulatória e científica.

REFERÊNCIAS

ABDULLA, N. M. *et al.* Heavy metal content of herbal health supplement products in Dubai - UAE: A cross-sectional study. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2019.

ADROGUÉ, H. J., MADIAS, N. E. . Sodium and potassium in pathophysiology: implications for hypertension, kidney disease, and metabolic syndrome. **American Journal of Medicine**, 120(6), 583–590, 2007.

ADUBOFUOR J.; DZIGBORDI B.; WIREKU-MANU F.D. Comparative studies on the qualities of seven brands of vanilla-flavoured stirred yoghurts produced within the Kumasi metropolis of Ghana. **International Food Research Journal** v.21, p.1243-1248, 2014.

ALABYADH, Mokhtar; *et al.* Determination of Some Heavy Metals in Protein Supplements Marketed in Yemen of Aden. **ResearchGate**, April 2024.

ALVES, R. C. *et al.* Training Programs Designed for Muscle Hypertrophy in Bodybuilders: A Narrative Review. **Sports**, v. 8, n. 11, p. 1–15, 2020.

AMBULKAR, P. *et al.* Efficacy and safety assessment of protein supplement-micronutrient fortification in promoting health and wellbeing in healthy adults-a randomized placebo-controlled trial. **Translational and Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 1, p. 13–27, 2023.

ANVISA. Perguntas e respostas sobre suplementos alimentares. *Gerência geral de alimentos*, 2020.

ARENAS-JAL, M., SUÑÉ-NEGRE, J. M., PÉREZ-LOZANO, P., GARCÍA-MONTOYA, E. (2019). Trends in the food and sports nutrition industry: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**.

ASCHNER, M.; ERIKSON, K. Manganese. n. 7, p. 520–521, 2017.

ASEMI, Z. *et al.* Effects of selenium supplementation on glucose homeostasis, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial. [S.l.]: **Nutrition Ltd**, 2015. v. 31. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.04.014>>.

AUGUSTSSON A, QVARFORTH A, ENGSTRÖM E, PAULUKAT C, RODUSHKIN I. Trace and major elements in food supplements of different origin: Implications for daily intake levels and health risks. **Toxicol Rep**; 8:1067-1080. 2021.

ATSDR. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Toxicological Profile for Zinc. **Toxicological Profiles**, n. August, 2005.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry MINIMAL RISK LEVELS (MRLs). n. December, p. 1–14, 2023. Disponível em: <www.atsdr.cdc.gov/mrls/>.

AVGERINOS, Konstantinos I.; SPYROU, Nikolaos; BOUGIOUKAS, Konstantinos I.; KAPOGIANNIS, Dimitrios. Effects of creatine supplementation on cognitive function of healthy individuals: A systematic review of randomized controlled trials. **Experimental Gerontology**, v. 108, p. 166–173, 2018.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. (eds.). **Metais: Gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003.

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381–386, 2011.

BANDARA, S. B.; TOWLE, K. M.; MONNOT, A. D. A human health risk assessment of heavy metal ingestion among consumers of protein powder supplements. **Toxicology Reports**, v. 7, p. 1255–1262, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.08.001>>.

BENSEFA-COLAS, L.; ANDUJAR, P.; DESCATHA, A. Intoxication par le mercure. **Revue de Medecine Interne**, v. 32, n. 7, p. 416–424, 2011.

BENSTOEM C, GOETZENICH A, KRAEMER S, BOROSCH S, MANZANARES W, HARDY G, STOPPE C. Selenium and its supplementation in cardiovascular disease—what do we know? **Nutrients**. 3094–3118; 2015.

BETHENCOURT-BARBUZANO E, GONZÁLEZ-WELLER D, PAZ-MONTELONGO S, GUTIÉRREZ-FERNÁNDEZ ÁJ, HARDISSON A, CARRASCOSA C, CÁMARA M, RUBIO-ARMENDÁRIZ C. Whey Protein Dietary Supplements: Metal Exposure Assessment and Risk Characterization. **Nutrients**. 2023.

BOST, M.; HOUDART, S.; OBERLI, M.; KALONJI, E.; HUNEAU, J. F.; MARGARITIS, I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 35, p. 107–115, 2016.

BRASIL, M. DA SAÚDE. *RESOLUÇÃO - RDC Nº 18, DE 27 DE ABRIL DE 2010*.

CADENAS, C. Highlight report: toxicology of copper. **Archives of Toxicology**, v. 89, n. 12, p. 2471–2472, 2015.

CAMARGO, L. DA R.; DONEDA, D.; OLIVEIRA, V. R. Whey protein ingestion in elderly diet and the association with physical, performance and clinical outcomes. **Experimental Gerontology**, v. 137, n. March, p. 110936, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.110936>>.

CAMARGO, L. R. *et al.* Effect of whey protein addition on the nutritional,

technological and sensory quality of banana cake. ***International Journal of Food Science and Technology***, v. 53, n. 11, p. 2617–2623, 2018.

CAMPBELL, B. *et al.* International Society of Sports Nutrition position stand: protein and exercise. ***Journal of the International Society of Sports Nutrition***, v. 5, p. 1–5, 2007.

CARDELLINA, J. H. Challenges and opportunities confronting the botanical dietary supplement industry. ***Journal of Natural Products***, v. 65, n. 7, p. 1073–1084, 2002.

CASTRO, L. H. A. *et al.* Comparative Meta-Analysis of the Effect of Concentrated, Hydrolyzed, and Isolated Whey Protein Supplementation on Body Composition of Physical Activity Practitioners. ***Nutrients***, v. 11, n. 9, p. 2029–2047, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/2047%0Apapers3://publication/doi/10.3390/nu11092047>.

CHAKRABORTY, R. *et al.* Mechanism of chromium-induced toxicity in lungs, liver, and kidney and their ameliorative agents. ***Biomedicine and Pharmacotherapy***, v. 151, p. 113119, 2022.

CHEN, W.C. *et al.* Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. ***Medicine and Science in Sports and Exercise***, v. 46, n. 8, p. 1517–1524, 2014.

CHURCH, D.D.; HIRSCH, K.R.; PARK, S.; KIM, I.Y.; GWIN, J.A.; PASIAKOS, S.M.; WOLFE, R.R.; FERRANDO, A.A.. Essential Amino Acids and Protein Synthesis: Insights into Maximizing the Muscle and Whole-Body Response to Feeding. ***Nutrients***, v. 12(12), 2020.

ÇINAR, V. *et al.* The effects of the zinc supplementation and weight trainings on the testosterone levels. ***Human Sport Medicine***, v. 17, n. 4, p. 58–63, 2017.

CLEAN LABEL PROJECT. **Protein powder study results 2018**; Broomfield, CO: 2018. disponível em: <https://www.cleanlabelproject.org/protein-powder>. Acesso: 24 mar, 2020.

CLEAN LABEL PROJECT. **New study of protein powders from Clean Label Project finds elevated levels of heavy metals and BPA in 53 leading brands**. Clean Label Project. Acesso: 28 fev, 2018.

CONSUMER REPORTS. **Investigation: Test Reveal Contaminants in Many Protein Drinks, Unclear Labeling May Lead to Excessive Protein Consumption Which Can Pose Health Problems**. Last. 2010.

DABEKA R.W., McKenzie A.D., Lacroix G.M., Cleroux C., Bowe S., Graham R.A., Conacher H.B., Verdier P. Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of the dietary intake of arsenic by Canadian adults and children. ***J AOAC***

Int. 1993

DAMARIS JONES SEVERINO VASCONCELOS, Q.; PASCHOALETTE RODRIGUES BACHUR, T.; FROTA ARAGÃO, G. Whey protein supplementation and its potentially adverse effects on health: a systematic review. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 46, n. 1, p. 27–33, 2021.

DASRIYA, V. *et al.* Rapid detection of pesticide in milk, cereal and cereal based food and fruit juices using paper strip-based sensor. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-96999-w>>.

DAVIES, Robert W.; CARSON, Brian P.; JAKEMAN, Philip M. The effect of whey protein supplementation on the temporal recovery of muscle function following resistance training: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 10, n. 2, p. 221, 2018.

DEVRIES, MC.; PHILLIPS, SM (2015). Supplemental protein in support of muscle mass and health: advantage whey. **Journal of Food Science**, 80 (Suppl 1), A8-A15.

EBERSOLD, M. F.; ZYDNEY, A. L. Separation of protein charge variants by ultrafiltration. **Biotechnology Progress**, v. 20, n. 2, p. 543–549, 2004.

EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE. Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. **EFSA Journal**, v. 10, n. 3, p. 1–32, 2012.

EFSA SCIENTIFIC OPINION. Re-evaluation of guar gum (E 412) as a food additive. **EFSA Journal**, v 15, n. 12, 2017.

EFSA SCIENTIFIC OPINION. Re-evaluation of xanthan gum (E 415) as a food additive. **EFSA Journal**, v 15, n. 7, 2017.

ELGAMMAL, Sherif M.; KHORSHED, Mona A.; ISMAIL, Eman H. **Determination of heavy metal content in whey protein samples from markets in Giza, Egypt, using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and graphite furnace atomic absorption spectrometry: A probabilistic risk assessment study.** Journal of Food Composition and Analysis, v. 84, 2019, p. 103300. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/journal-of-food-composition-and-analysis>. Acesso em: 27 out. 2024.

EL-SHEIKH E.A.; RAMADAN M.M.; EL-SOBKI A.E.; SHALABY A.A.; MCCOY M.R.; HAMED I.A.; ASHOUR M.B.; HAMMOCK B.D. Pesticide Residues in Vegetables and Fruits from Farmer Markets and Associated Dietary Risks. **Molecules**. v.27, p.8072, 2022.

FERREIRA KS, GOMES JC, BELLATO CR, JORDÃO CP. Concentrações de selênio

em alimentos consumidos no Brasil. **Rev Panam Salud Publica**;11(3):172-177; 2002.

FDA. Food and Drug Administration. Dietary Supplement Products & Ingredients. **U.S. Food & Drug Administration**, 2024. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/dietary-supplements>.

FDA. Food and Drug Administration. Arsenic in Food. **(U.S. Food & Drug Administration**, 2024.

GAUCHERON, F. Milk and Dairy Products: A Unique Micronutrient Combination. **Journal of the American College of Nutrition**. v.30, p.400-409, 2011.

GAZE L.V.; COSTA M.P.; MONTEIRO M.L.; LAVORATO J.A.; CONTE JÚNIOR C.A.; RAICES R.S.; CRUZ A.G.; FREITAS M.Q. Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. **Food Chemistry**. v.169, p.471-477, 2015.

GERBA, C. P. Risk assessment. In: **Environmental Microbiology**. p. 557–571, 2019.

GONZÁLEZ-WELLER, D. *et al.* Proteins and Minerals in Whey Protein Supplements. **Foods**, v. 12, n. 11, p. 1–13, 2023.

GORISSEN, S. H. M. *et al.* Ingestion of wheat protein increases in vivo muscle protein synthesis rates in healthy older men in a randomized trial. **Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1651–1659, 2016.

Gröber, U., Schmidt, J., & Kisters, K. Magnesium in prevention and therapy. **Nutrients**, 7(9), 8199–8226. 2015.

GUANGYONG ZHU; GENFA YU. A pineapple flavor imitation by the note method. **Food Science and Technology**. 2019.

GUEFAI, F. Z. *et al.* Elemental bioavailability in whey protein supplements. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 112, p.104-696, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104696>>.

GUEST, N. S. *et al.* International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 18, p. 1, 2021.

HAMDAN, H. Z.; HAMDAN, S. Z.; ADAM, I. Association of Selenium Levels with Gestational Diabetes Mellitus: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 14, n. 19, p. 1–12, 2022.

HAMZA, Muhammad; ALAM, Sadia; RIZWAN, Muhammad; NAZ, Alia. Health Risks Associated with Arsenic Contamination and Its Biotransformation Mechanisms in Environment: A Review. In: AHMAD, Teayyer; HASHMI, Muhammad Zia (Ed.). **Hazardous Environmental Micro-pollutants, Health Impacts and Allied Treatment Technologies**. 1. ed. Springer, 2022. p. 241-288

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Whey protein: Composition, nutritional properties, applications in sports and benefits for human health. **Revista de Nutricao** v. 19, n. 4, p. 479–488 , 2006.

HEFFERNAN, S. M. *et al.* The role of mineral and trace element supplementation in exercise and athletic performance: a systematic review. **Nutrients**, v. 11, n. 3, 2019.

HENCHION, M. *et al.* Future protein supply and demand: Strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. **Foods**, v. 6, n. 7, p. 1–21, 2017.

HERTZLER, S. R. *et al.* Plant proteins: Assessing their nutritional quality and effects on health and physical function. **Nutrients**, v. 12, n. 12, p. 1–27, 2020.

HONG, Y. S.; SONG, K. H.; CHUNG, J. Y. Health effects of chronic arsenic exposure. **Journal of Preventive Medicine and Public Health**, v. 47, n. 5, p. 245–252, 2014.

HOUSTON, D. K. *et al.* Dietary protein intake is associated with lean mass change in older, community-dwelling adults: The Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 1, p. 150–155, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ajcn/87.1.150>>.

JÄGER, R. *et al.* International Society of Sports Nutrition Position Stand: Protein and exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 1–25, 2017.

JAISHANKAR, M. *et al.* Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60–72, 2014.

KARASAKAL, A. Determination of Trace and Major Elements in Vegan Milk and Oils by ICP-OES After Microwave Digestion. **Biological Trace Element Research**, v. 197, n. 2, p. 683–693, 2020.

KEOGH, C.; LI, C.; GAO, Z. Evolving consumer trends for whey protein sports supplements: the Heckman ordered probit estimation. **Agricultural and Food Economics**, v. 7, n. 1, 2019.

KERKSICK, C. M. *et al.* International society of sports nutrition position stand: Nutrient timing. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1,

p. 1–21, 2017.

KERSTETTER, J. E.; LOOKER, A. C.; INSOGNA, K. L. Low dietary protein and low bone density. ***Calcified Tissue International***, v. 66, n. 4, p. 313, 2000.

KHAN, N.; JEONG, I.S.; HWANG, I.M.; KIM, J.S.; CHOI, S.H.; NHO, E.Y.; CHOI, J.Y.; PARK, K.S.; KIM, K.S. Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). ***Food Chem.***, v.15, p.147:220, 2014.

KLEVAY, L. M. Is the Western diet adequate in copper? ***Journal of Trace Elements in Medicine and Biology***, 25(4), 204-212, 2011.

KORFALI, Samira Ibrahim; HAWI, Tamer; MROUEH, Mohamad. Evaluation of heavy metals content in dietary supplements in Lebanon. ***Chemistry Central Journal***, v. 7, n. 10, 2013.

KUMAR, M. *et al.* Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. ***Lwt***, v. 154, n. October 2021, p. 112620, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112620>>.

LANGYAN, S. *et al.* Sustaining Protein Nutrition Through Plant-Based Foods. ***Frontiers in Nutrition***, v. 8, n. January, 2022.

LANPHEAR, B. P.; RAUCH, S.; AUINGER, P.; ALLEN, R. W.; HORNING, R. W. Low-level lead exposure and mortality in US adults: A population-based cohort study. ***Lancet Public Health***, v. 3, n. 4, p. e177-e184, 2018.

LI, Y. *et al.* Chronic arsenic poisoning probably caused by arsenic-based pesticides: Findings from an investigation study of a household. ***International Journal of Environmental Research and Public Health***, v. 13, n. 1, 2016.

LIMA, N. V. *et al.* Data on metals, nonmetal, and metalloid in the samples of the canned tuna and canned sardines sold in Brazil. ***Data in Brief***, v. 35, 2021.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J. *et al.* Analysis of 20 trace and minor elements in soy and dairy yogurts by ICP-MS. ***Microchemical Journal***, v. 102, p. 23–27, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2011.11.004>>.

LO DICO G.M.; GALVANO F.; DUGO G.; D'ASCENZI C.; MACALUSO A.; VELLA A.; GIANROSSO G.; CAMMILLERI G.; FERRANTELLI V. Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. ***Food Chem.*** v.245, p.1163-1168, 2018.

LOFASO, M. ***Determination of Metals in Whey and Vegan Protein Supplements using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry***. Honors Theses. 2021.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. **Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition**, 2008.

MACKENZIE-SHALDERS, K. L. *et al.* The effect of a whey protein supplement dose on satiety and food intake in resistance training athletes. **Appetite**, v. 92, p. 178–184, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2015.05.007>>.

MANGANO, KELSEY M. *et al.* Dietary protein is associated with musculoskeletal health independently of dietary pattern: the Framingham Third Generation Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 105, n. 3, p. 714-722, mar. 2017.

MARIOTTI, F.; GARDNER, C. D. Dietary Protein and Amino Acids in Vegetarian Diets- A Review. **Nutrients**, 2019.

MARSHALL, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**, 9(2), 136-156.

MARTÍNEZ-SANZ, J. M.; SOSPEDRA, I.; ORTIZ, C. M.; BALADÍA, E.; GIL-IZQUIERDO, A.; ORTIZ-MONCADA, R. Intended or Unintended Doping? A Review of the Presence of Doping Substances in Dietary Supplements Used in Sports. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1093, 2017.

MAUGHAN, Ronald J. *et al.* IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. **Br J Sports Med**, [s.l.], v. 52, n. 7, p. 439-455, abr. 2018.

MAYNAR, M. *et al.* Seric concentrations of copper, chromium, manganese, nickel and selenium in aerobic, anaerobic and mixed professional sportsmen. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2018.

MELNIKOVA, Elena Ivanovna; BOGDANOVA, Ekaterina Viktorovna; KOSHEVAROVA, Irina Borisovna. Nutritional evaluation of whey protein hydrolysate: chemical composition, peptide profile, and osmolarity. **Food Science and Technology**, v. 42, e110721, 2022.

MENON, D.; SANTOS, J. S. DOS. Protein consumption by bodybuilding practitioners aiming muscle hypertrophy. Artigo original clínica médica do exercício e do esporte. **Rev Bras Med Esporte**, v. 18, p. 8–12, 2012.

MORENO-PÉREZ, Diego *et al.* Effect of a protein supplement on the gut microbiota of endurance athletes: a randomized, controlled, double-blind pilot study. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 337, 2018.

MORTON, R. W. *et al.* A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. **British journal of sports medicine**, v. 52, n. 6, p. 376–384, 2018.

MORRIS, Alyssa L.; MOHIUDDIN, Shamim S. **Bioquímica, Nutrientes**. In: StatPearls [Internet] . Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

MUÑOZ, D. *et al.* Effect of an Acute Exercise Until Exhaustion on the Serum and Urinary Concentrations of Cobalt, Copper, and Manganese Among Well-Trained Athletes. **Biological Trace Element Research**, v. 189, n. 2, p. 387–394, 2019.

MYSPOORTSCIENCE. **How is whey protein made?** Disponível em: <https://www.mysportscience.com>. Acesso em: 21 dez. 2024.

NACHMAN, K. E.; PUNSHON, T.; RARDIN, L.; SIGNES-PASTOR, A. J.; MURRAY, C. J.; JACKSON, B. P.; GUERINOT, M. L.; BURKE, T. A.; CHEN, C. Y.; AHSAN, H.; ARGOS, M.; COTTINGHAM, K. L.; CUBADDA, F.; GINSBERG, G. L.; GOODALE, B. C.; KURZIUS-SPENCER, M.; MEHARG, A. A.; MILLER, M. D.; NIGRA, A. E. *et al.* Opportunities and challenges for dietary arsenic intervention. **Environmental Health Perspectives**, v. 126, n. 8, p. 084503, 2018.

NAG, Rajat; CUMMINS, Enda. Avaliação do risco à saúde humana do chumbo (Pb) através da via ambiental-alimentar. **Science of the Total Environment**, v. 810, p. 151168, 2022.

OYEYINKA, B.O; AFOLAYAN, A.J. Comparative Evaluation of the Nutritive, Mineral, and Antinutritive Composition of Musa sinensis L. (Banana) and Musa paradisiaca L. (Plantain) Fruit Compartments. **Plants**. v.8, p.598, 2019.

O'NEAL, S. L.; ZHENG, W. Manganese toxicity upon overexposure: a decade in review. **Current Environmental Health Reports**, v. 2, n. 3, p. 315-328, 2015

PAIXÃO L.B.; BRANDÃO G.C.; ARAUJO R.G.O.; KORN M.G.A. Assessment of cadmium and lead in commercial coconut water and industrialized coconut milk employing HR-CS GF AAS. **Food Chem**. v.284, p.259-263, (2019).

PANDISELVAM R.; KAAVYA R.; MONTEAGUDO S.I.M.; DIVYA V.; JAIN S.; KHANASHYAM A.C.; KOTHAKOTA A.; PRASATH V.A.; RAMESH S.V.; SRUTHI N.U., *et al.* Contemporary Developments and Emerging Trends in the Application of Spectroscopy Techniques: A Particular Reference to Coconut (Cocos Nucifera L.) **Molecules**. v.27, p.32-50, 2022.

PARK, Y. *et al.* Effects of whey protein supplementation prior to, and following, resistance exercise on body composition and training responses: A randomized double-blind placebo-controlled study. **Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry**, v. 23, n. 2, p. 34–44, 2019.

PASIAKOS, S. M.; MCLELLAN, T. M.; LIEBERMAN, H. R. The Effects of Protein Supplements on Muscle Mass, Strength, and Aerobic and Anaerobic Power in Healthy Adults: A Systematic Review. **Sports Medicine**, v. 45, n. 1, p. 111–131,

2015.

PATEL, S. Emerging trends in nutraceutical applications of whey protein and its derivatives. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 6847–6858, 2015.

PINTO, E.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; ALMEIDA, A. Essential and non-essential/toxic trace elements in whey protein supplements. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 86, n. November 2019, p. 103383, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103383>>.

PLUM L.M., RINK L., HAASE H. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. **Int J Environ Res Public Health**. 2010.

RAYMAN, M. P. Selenium and human health. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1256-1268, 2012.

ROOHANI, N.; HURRELL, R.; KELISHADI, R.; SCHULIN, R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 18, n. 2, p. 144-157, 2013.

SCUTARAȘU, E.C.; TRINĂ, L.C. Heavy Metals in Foods and Beverages: Global Situation, Health Risks and Reduction Methods. **Foods** , v.12, p.33-40. 2023.

ŞENER, Sevinç; CANTEMUR, Mehmet Hadi. Comparison of Fruit Quality Criteria and Heavy Metal Contents of Strawberries Grown in Organic and Conventional Agriculture. **Applied Sciences**. 2023.

SHAHID, Muhammad et al. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36-58, 2017.

SINGH, A. K.; PAL, P.; PANDEY, B.; GOKSEN, G.; SAHOO, U. K.; LORENZO, J. M.; SARANGI, P. K. Development of “Smart Foods” for health by nanoencapsulation: Novel technologies and challenges. **Food Chemistry** v. 20, p. 100910, 2023.

SINGH, R. G.; GUÉRIN-DEREMAU, L.; LEFRANC-MILLOT, C.; PERREAU, C.; CROWLEY, D. C.; LEWIS, E. D.; EVANS, M.; MOULIN, M. Efficacy of Pea Protein Supplementation in Combination with a Resistance Training Program on Muscle Performance in a Sedentary Adult Population: A Randomized, Comparator-Controlled, Parallel Clinical Trial. **Nutrients**, 2023.

SKINNER, R.C.; GIGLIOTTI, J.C.; KU, K.M.; TOU, J.C. A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. **Nutr Rev**. v.76, p.893-909, 2018.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins-From “gutter-to-gold”. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 695–704, 2008.

SOLAIMAN, S. G.; MIN, B. R. The effect of high levels of dietary zinc on growth performance, carcass characteristics, blood parameters, immune response, and tissue minerals in growing Boer-cross goat kids. **Small Ruminant Research**, 2019.

SOUSA, Rafael A.; BACCAN, Nivaldo; CADORE, Solange. Determination of elemental content in solid sweeteners by slurry sampling and ICP OES. **Food Chemistry**, V 124, n 3, 2011.

SOUZA, I. D.; DE ANDRADE, A. S.; DALMOLIN, R. J. S. Lead-interacting proteins and their implication in lead poisoning. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 375–386, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408444.2018.1429387>.

SPENDLOVE, J. *et al.* Dietary Intake of Competitive Bodybuilders. **Sports Medicine**, v. 45, n. 7, p. 1041–1063, 2015.

STATISTICS PORTAL. U.S. Global animal and plant protein market size 2021-2032. 2023. disponível em: <http://www.statistica.com/statistics/512682/sports-protein-powder-market-size-us/> Retrieved April 5, 2024.

TAYLOR, Alicia A.; TSUJI, Joyce S.; McARDLE, Margaret E.; ADAMS, William J.; GOODFELLOW JR., William L. Recommended Reference Values for Risk Assessment of Oral Exposure to Coppe. **Risk Analysis**, v. 2, pág. 211-218, fev. 2023.

TCHOUNWOU, P. B. *et al.* Molecular, clinical and environmental toxicology Volume 3: Environmental Toxicology. **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**, v.101, p.133–164, 2012.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized Guidelines for SingleLaboratory Validation of Methods of Analysis: (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, 5. v. 74, p. 167–172, 2002.

TILMAN, D.; CLARK, M. Global diets link environmental sustainability and human health. **Nature**, v. 515, n. 7528, p. 518–522, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature13959>>.

TREXLER, Eric T.; SMITH-RYAN, Abbie E.; STOUT, Jeffrey R.; HOFFMAN, Jay R.; WILBORN, Colin D.; SALE, Craig; KREIDER, Richard B.; JÄGER, Ralf; EARNEST, Conrad P.; BANNOCK, Laurent; CAMPBELL, Bill; KALMAN, Douglas; ZIEGENFUSS, Tim N.; ANTONIO, Jose. International society of sports nutrition position stand: Beta-Alanine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 12, n. 30, 2015.

TSCHINKEL, P. F. S. *et al.* The Hazardous Level of Heavy Metals in Different Medicinal Plants and Their Decoctions in Water: A Public Health Problem in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

USEPA. **Guidelines for Carcinogen Risk Assessment**. Washington, 1994.

USEPA. **Guidelines for Exposure Assessment**, EPA/600/Z-92/001. *Risk Assessment Forum, Washington, DC, 1992.*, v. 57, n. May, p. 22888–22938, 1992.

USEPA. **Human Health Risk Assessment Protocol for Hazardous Waste Combustion Facilities**. v. EPA530-R-0, n. 11, p. 11–25, 2005.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Chemical Assessment Summary Arsenic, inorganic (CASRN 7440-38-2). **National Center for Environmental Assessment**, 1988. Disponível em: https://iris.epa.gov/static/pdfs/0278_summary.pdf. File first on-line: 10/fev, 1988.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Chemical Assessment Summary Cadmium (CASRN 7440-43-9). **National Center for Environmental Assessment**. Disponível em: https://iris.epa.gov/static/pdfs/0278_summary.pdf. File first on-line: 31 mar. 1987.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Toxicological Review of Hexavalent Chromium [Cr(VI)] (CASRN 18540-29-9). Integrated Risk Information System. **National Center for Environmental Assessment**. ago. 2024. Disponível em: <https://iris.epa.gov>. 2024.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Chemical Assessment Summary Manganese (CASRN 7439-96-5). **National Center for Environmental Assessment**, 1988. Disponível em: <https://iris.epa.gov>. File first on-line: 26 set. 1988.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Chemical Assessment Summary Selenium and Compounds (CASRN 7782-49-2). **National Center for Environmental Assessment**, 1991. Disponível em: <https://iris.epa.gov>. File first on-line: 1 mar. 1991.

USEPA. Integrated Risk Information System (IRIS): Chemical Assessment Summary Zinc and Compounds (CASRN 7440-66-6). **National Center for Environmental Assessment**, 1991. Disponível em: <https://iris.epa.gov>. File first on-line: 1 fev. 1991.

VELASCO, G. D. S. *et al.* Supplement consumption profile by strength training practitioners in Brazil : a literature review. v. 2061, 2022.

VILLA J.E.; PEIXOTO R.R.; CADORE S. Cadmium and lead in chocolates commercialized in Brazil. **J. Agric Food Chem.** v.87, p.59-63, 2014.

VINCENT, J. B. Effects of chromium supplementation on body composition, human and animal health, and insulin and glucose metabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 22, n. 6, p. 483-489, 2019.

WEN-QIONG, W. *et al.* Whey protein membrane processing methods and membrane fouling mechanism analysis. **Food Chemistry**, v. 289, n. December 2018, p. 468–481, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.086>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental Health Criteria 165: Inorganic lead. **Environmental Health Criteria**, n. 165, p. 3–300, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Concise International Chemical Assessment Document n. 12: **Manganese and its compounds**. Genova, 1999.

WU, G. Dietary protein intake and human health. **Food and Function**, v. 7, n. 3, p. 1251–1265, 2016.

XU, Yaguang; YAN, Xinxin; ZHENG, Haibo; LI, Jingjun; WU, Xiaowei; XU, Jingjing; ZHEN, Zongyuan; DU, Chuanlai. The application of encapsulation technology in the food Industry: Classifications, recent Advances, and perspectives. **Food Chemistry**. v. 21, 2024.

ZHANG, Y. *et al.* Dietary selenium excess affected spermatogenesis via DNA damage and telomere-related cell senescence and apoptosis in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 171, n. December 2022, p. 113556, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113556>>.

ZHOU, J. *et al.* The causal effects of blood iron and copper on lipid metabolism diseases: Evidence from phenome-wide mendelian randomization study. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 1–17, 2020.