

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DOUTORADO EM QUÍMICA

Náira da Silva Campos Almeida

Determinação de minerais em vísceras de frango cozidas em diferentes panelas e em amostras de sais e temperos por Espectrometria Atômica

Juiz de Fora

2020

Náira da Silva Campos Almeida

Determinação de minerais em vísceras de frango cozidas em diferentes panelas e em amostras de sais e temperos por Espectrometria Atômica

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química. Área de Concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa

Coorientadora: Profa. Dra. Céphora Maria Sabarense

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Almeida, Náira da Silva Campos.

Determinação de minerais em vísceras de frango cozidas em diferentes panelas e em amostras de sais e temperos por Espectrometria Atômica / Náira da Silva Campos Almeida. -- 2020. 155 f. : il.

Orientador: Rafael Arromba de Sousa

Coorientadora: Céphora Maria Sabarense

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.

1. Vísceras de Frango. 2. Panela de Ferro. 3. Minerais. 4. Espectrometria Atômica. 5. Temperos. I. Sousa, Rafael Arromba de, orient. II. Sabarense, Céphora Maria, coorient. III. Título.

Náira da Silva Campos Almeida

Determinação de minerais em víceras de frango cozidas em diferentes panelas e em amostras de sais e temperos por Espectrometria Atômica

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovada em 30 de outubro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Rafael Sousa

Prof. Dr. Rafael Arromba de Sousa - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Profa. Dra. Céphora Maria Sabarense - Coorientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Profa. Dra. Leticia Malta Costa

Universidade Federal de Minas Gerais

Rafael Sousa

Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Universidade Federal de Pelotas

Rafael Sousa

Prof. Dr. Rodrigo Stephani

Universidade Federal de Juiz de Fora

Rafael Sousa

Prof. Dr. Marcos Vidal Martins

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico aos meus pais, Hércules e Marlene.

AGRADECIMENTOS

À minha família, meu porto seguro: meus pais Hércules e Marlene, meus irmãos Marcela e Natherson, aos meus sobrinhos, Gabriel e Lucas e à minha cachorrinha, Amora, minha companhia de todas as horas.

Aos professores Rafael Sousa e Céphora Sabarense pela amizade, orientação, paciência e ensinamentos recebidos.

Aos colegas da UFPel: professores Anderson Ribeiro e Mariana Vieira e à doutoranda Janaína Timm pela colaboração nas determinações dos metais por MIP OES.

Aos colegas do Departamento de Nutrição da UFJF: Flávia Alvarenga e Michelle Nascimento pela contribuição com as cocções das amostras; João Pablo Pereira e Prof. Paulo Henrique Fonseca da Silva pela realização das análises de composição centesimal.

Aos professores Antonio Carlos Sant'ana (UFJF), Mariana Ramos de Almeida (UFMG) e ao doutorando Pedro Victor Almeida Pessanha pelas colaborações no trabalho dos sais.

Ao professor Marcone Oliveira (UFJF) pelo auxílio com a parte estatística das análises de carne de frango.

Aos amigos do LESPA, Dra. Graziela Fregonez Baptista Cruz. e Prof. Dr. Ricardo Jorgensen Cassella, pela colaboração com as digestões das amostras de carne e determinações dos teores totais de Ca e Fe.

Aos professores Denise Lowinsohn, Júlio Silva e Cristiane Fialho (*in memoriam*) pelas importantes sugestões durante o exame de qualificação.

Aos amigos do LabNano (UFJF) pela ajuda com a secagem das amostras.

Aos meus amigos queridos Oliver, Jefferson, Fernanda, Marciel, Dani, Kamila e Bruno pela amizade sincera e apoio recebido.

Aos amigos do Grupo Baccan, em especial, Agatha, Ângela, Felipe, Jemima, Joseane, Larissa, Lílian, Luiza, Paola e Thalles pelos bons momentos compartilhados. Aos amigos do Nupis: Bruno, Davi, Fausto, Guilherme, Lucas e Taimara pelo apoio e momentos de descontração.

Aos professores do departamento de química da UFJF que em muito contribuíram para a minha formação. Muito obrigada!

À UFJF, FAPEMIG, CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Temperos e vísceras de frango são importantes do ponto de vista econômico e nutricional. Neste estudo, determinaram-se os teores de em tecidos comestíveis de frango, especiarias, temperos industrializados e sais de uso culinário. Amostras de tecidos de frango foram analisadas cruas e cozidas em diferentes panelas utilizadas no Brasil: panela de ferro, de alumínio e de alumínio fundido. A digestão assistida por radiação micro-ondas foi empregada para decomposição das amostras. Os teores dos elementos metálicos Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas. Os limites de quantificação ficaram abaixo de $0,52 \text{ mg kg}^{-1}$, mostrando detectabilidade adequada para o nível dos analitos; os desvios padrões relativos ficaram abaixo de 23 %, indicando boa exatidão. A cocção das amostras de frango promove redução dos teores de Ca, Ni e umidade e aumento dos teores de proteínas e cinzas, independente do tipo de panela utilizada. Os teores de ferro obtidos para a amostra de fígado cozida nas panelas de ferro e de alumínio fundido são comparáveis, evidenciando que a cocção em panela de ferro não é significativa para melhorar o aporte desse nutriente na alimentação. Quanto ao estudo das ervas e temperos, a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas foi utilizada para determinação dos teores de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn em 15 amostras de especiarias e temperos prontos por espectrometria atômica. A exatidão das análises foi avaliada por ensaios de adição e recuperação, com valores entre 91 e 109 %, e pela análise de material de referência certificado, com recuperações entre 93 e 107 %, indicando boa exatidão. Os limites de quantificação variaram de 0,061 (Cr) a 69 mg kg^{-1} (K); os desvios ficaram abaixo de 13 %, indicando uma boa precisão. As amostras de temperos prontos apresentam teores de Na maiores que as amostras de alho, louro e pimenta. Observou-se uma grande variação dos teores de Fe e Zn em amostras de especiarias e de Ca e K em amostras de temperos prontos, não havendo um perfil para a concentração desses elementos. Os teores de Ca, Fe, K, Mg e Na foram determinados em 23 amostras de sal culinário por técnicas espectrométricas após dissolução empregando ácido nítrico diluído. A exatidão do método foi avaliada por ensaios de adição e recuperação, com resultados entre 94 a 109 %; os limites de quantificação variaram de 3,3 (Fe) a 76 mg kg^{-1} (K). Os desvios padrões relativos ficaram abaixo de 3 %, mostrando a boa precisão. As amostras de sal azul da Pérsia e sal *light* apresentam os maiores teores de K, enquanto as amostras de sal negro do Havaí apresentam teores de Na e Fe similares. Contudo, os níveis encontrados dos analitos indicam que esses

sais não são fontes significativas de minerais. A presença dos corantes E122 e E124 nas amostras de sal rosa do Himalaia foi investigada usando o método espectrofotométrico e a espectroscopia Raman como um método alternativo. Não foram encontradas evidências de adulterações no conjunto de amostras analisado.

Palavras-chave: Vísceras de Frango. Panela de Ferro. Panela de Alumínio. Metais. MIP OES. Sal. Especiarias. Temperos. Corantes. F AAS. GF AAS. Espectroscopia Raman.

ABSTRACT

Chicken meat and seasonings are important products for nutrition and economy. In this study, the levels of minerals were evaluated in edible chicken tissues, seasonings and kitchen salts. Samples of edible chicken tissues were analyzed raw and cooked with seasonings in different cooking pots commonly used in Brazil: iron, aluminum and hammered aluminum pot. Microwave-assisted acid digestion was used to sample decomposition. The levels of the metallic elements Al, Ca, Cu, Fe, Mn and Ni were determined by Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. The limits of quantification were below 0.52 mg kg^{-1} , showing to be adequate to the analytes levels; deviations were below 13 % showing good precision. The cooking in different pots promoted a decrease of Ca, Ni and moisture contents and an increase in the protein and ash concentration. Liver cooked in both iron and hammered aluminum pots presented similar Fe contents. The concentrations of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn in 15 samples of seasonings from different brands commercially available in Brazil were determined by Atomic Absorption Spectrometry, after microwave-assisted digestion. The method showed good accuracy with recovery ranges between 91 and 109% for addition to recovery tests and between 93 and 107% for the analysis of a certified reference material. The limits of quantification ranged from 0.061 (Cr) to 69 (K) mg kg^{-1} . The standard deviations were below 13%, indicating good precision. The ready-to-eat spices showed the highest Na levels among the samples studied. The levels of Ca, Fe, K, Mg and Na were determined in 23 samples of common and *gourmet* salts by spectrometric techniques after dissolution using diluted nitric acid. No matrix effects were observed when aqueous calibration was compared to the standard addition method. The accuracy of the method was assessed by addition and recovery tests, with ranges from 94 to 109%. The limits of quantification ranged from 3.3 (Fe) to 76 (K) mg kg^{-1} . The standard deviations were below 3% showing a good precision also. Principal component analysis showed that some Himalayan salts had similar Ca and Mg contents among different samples. Blue Persian salts and low-sodium salts had the highest K concentration levels. In addition, the Hawaiian black salts presented similar Na and Fe concentrations. In relation to the concentration of the analytes in general, the results suggest that these types of salts cannot be considered to be a source of Ca, Fe, and Mg, contrary to the widespread statements found in popular media. With respect to the Himalayan samples' authenticity, both UV-VIS spectrophotometry and

FT-Raman spectroscopy were used to investigate the presence of ordinary colorants E122 and E124 in commercial samples, and no evidence of adulteration or fraud was observed.

Keywords: Chicken Tissues. Iron Pot. Aluminum pot. Metals. MIP OES. Salt. Spices. Seasonings. Metals. Food Dyes. F AAS. GF AAS. Raman Spectroscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquema 1	- Representação esquemática de um <i>box plot</i>	77
Gráfico 1	- <i>Box plot</i> obtido para as amostras de coração, cruas e cozidas nas diferentes panelas	78
Gráfico 2	- <i>Box plot</i> obtido para as amostras de fígado, cruas e cozidas nas diferentes panelas	78
Gráfico 3	- <i>Box plot</i> obtido para as amostras de moela, cruas e cozidas nas diferentes panelas	79
Esquema 2	- Representação esquemática da Análise de Componentes Principais (PCA)	81
Gráfico 4	- Gráfico de scores do modelo de PCA obtido para o conjunto de dados das amostras de tecidos comestíveis de frango	82
Gráfico 5	- Gráfico de <i>loadings</i> do modelo de PCA obtido para o conjunto de dados das amostras de tecidos comestíveis de frango	83
Gráfico 6	- Curvas de Pirólise (▲) e Atomização (●) obtidas para a determinação de Cr na amostra ME (n=3)	85
Figura 1	- Sinais de atomização de Cr obtidos para as amostras ME (a), TF1 (b) e TC3(c) empregando o programa de aquecimento otimizado nas análises por GF AAS	86
Gráfico 7	- Gráfico biplot de PC1 x PC2 obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário	102
Gráfico 8	- Gráfico <i>biplot</i> de PC1 x PC3 obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário	104
Gráfico 9	- Dendrograma obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário	105
Gráfico 10	- Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções padrão do corante E122	107
Gráfico 11	- Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções padrão do corante E124	108
Gráfico 12	- Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções das amostras comercializadas como sal rosa do Himalaia	110
Gráfico 13	- Espectros FT-Raman das amostras de sal rosa do Himalaia	112
Gráfico 14	- Espectros FT-Raman das amostras de sal negro do Havaí	112

Gráfico 15	- Espectros FT-Raman do padrão do corante E122 e amostra adulterada AD11	114
Gráfico 16	- Espectros FT-Raman do padrão do corante E124 e amostra adulterada AD12	115
Gráfico 17	- Espectros FT-Raman das amostras adulteradas AD11 e AD12 e da amostra comercial de sal rosa do Himalaia SR3	116
Gráfico 18	- Curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,20 – 1,0 mg L ⁻¹	138
Gráfico 19	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,20 – 1,0 mg L ⁻¹	139
Gráfico 20	- Curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	140
Gráfico 21	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	140
Gráfico 22	- Curva analítica para o Cr na faixa de concentrações 1,0 – 10 µg L ⁻¹	141
Gráfico 23	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Cr na faixa de concentrações 1,0 – 10 µg L ⁻¹	142
Gráfico 24	- Curva analítica para o Fe na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	143
Gráfico 25	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Fe na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	143
Gráfico 26	- Curva analítica para o Zn na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	144
Gráfico 27	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Zn na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L ⁻¹	145
Gráfico 28	- Curva analítica para o Mg na faixa de concentrações 0,06 – 0,5 mg L ⁻¹	146
Gráfico 29	- Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Mg na faixa de concentrações 0,06 – 0,5 mg L ⁻¹	146
Gráfico 30	- Curva analítica para o K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L ⁻¹	147
Gráfico 31	- Gráfico de resíduos para o K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L ⁻¹	148
Gráfico 32	- Curva analítica para o K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L ⁻¹	149
Gráfico 33	- Gráfico de resíduos para o K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L ⁻¹	149
Gráfico 34	- Curva analítica para o Na com adição de padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L ⁻¹	150

Gráfico 35 - Gráfico de resíduos para o Na com padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L ⁻¹	151
Gráfico 36 - Curva analítica para o K. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L ⁻¹	152
Gráfico 37 - Gráfico de resíduos para o K. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L ⁻¹	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Código para as amostras de coração, fígado e moela cruas e cozidas nas panelas de ferro (P1), de alumínio polido (P2) e panela de alumínio fundido (P3) analisadas neste trabalho 54
Tabela 2	- Programa de aquecimento da digestão das amostras de tecidos comestíveis de frango assistida por radiação micro-ondas 56
Tabela 3	- Programa de aquecimento empregado para a digestão das amostras de especiarias e temperos assistida por radiação micro-ondas..... 57
Tabela 4	- Condições operacionais para determinação de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni nas amostras de tecidos comestíveis de frango por MIP OES 60
Tabela 5	- Parâmetros Instrumentais para determinação de Ca, Fe, Mg e Zn por F AAS e de Cr por GF AAS 61
Tabela 6	- Teores de cinzas, proteínas e umidade obtidos para as amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas nas diferentes panelas..... 65
Tabela 7	- Teores de Fe obtidos nas amostras de tecidos comestíveis de frango obtidos por F AAS e MIP OES 68
Tabela 8	- Equações das curvas analíticas, coeficientes de determinação (R^2) e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) por MIP OES 69
Tabela 9	- Teores de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni determinados nas amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e detecção por MIP OES (N=3) 71
Tabela 10	- Valores de Meta de Quociente de Perigo (THQ) e Índice de Risco (HI) calculados para os metais Cu, Fe, Mn e Ni determinados nas amostras de tecidos comestíveis de frango, cruas e cozidas nas diferentes panelas. 75
Tabela 11	- Programa de aquecimento utilizado para a determinação de Cr em amostras de especiarias e temperos após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e detecção por GF AAS 86
Tabela 12	- Análise de variância (ANOVA), testes de Cochran e de Shapiro-Wilk para as curvas analíticas. $W_{\text{tabelado}} = 0,874$; $C_{\text{tabelado}} = 0,6838$; $F_{\text{tabelado}}(3,10) = 3,71$ 88
Tabela 13	- Teores de K e Na obtidos após digestão assistida por radiação micro-ondas nas amostras ME e MTP (n=3) empregando calibração aquosa ou calibração com padronização interna. Detecção por F AES..... 88

Tabela 14	- Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após digestão assistida por radiação micro-ondas da amostra ME (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).....	89
Tabela 15	- Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após digestão assistida por radiação micro-ondas da amostra MTP (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).....	90
Tabela 16	- Teores de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn e valores de recuperação determinados em material de referência certificado (NIST 1573a) após digestão assistida por radiação micro-ondas (n=2). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).....	91
Tabela 17	- Valores de LOD e LOQ, instrumentais e do método, e valores de concentração característica (C0) para Ca, Fe, Mg e Zn (F AAS) e massa característica para Cr (GF AAS)	92
Tabela 18	- Teores totais de metais determinados após digestão assistida por radiação micro-ondas nas amostras de especiarias e temperos prontos (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).	94
Tabela 19	- Análise de variância (ANOVA), testes de Cochran e de Shapiro-Wilk para as curvas analíticas. Wtabelado = 0,874; Ctabelado = 0,6838; Ftabelado (3,10) = 3,71	96
Tabela 20	- Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após dissolução da amostra MS (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe e Mg) e F AES (K e Na).	96
Tabela 21	- Comparação dos teores de Ca, Fe e Mg obtidos após dissolução da amostra MS (n=3) empregando calibração aquosa e calibração por adição de padrão empregando teste t de Student a 95 % de confiança (t tabelado = 2,776). Detecção por F AAS.....	97
Tabela 22	- Teores de K e Na obtidos após dissolução da amostra MS (n=3) empregando calibração aquosa, calibração por adição de padrão e calibração com padronização interna. Detecção por F AES.....	98
Tabela 23	- Valores de LOD e LOQ, instrumentais e do método, e valores de concentração característica (C0) para Ca, Fe e Mg (F AAS)	99

Tabela 24	- Teores de metais determinados nas amostras de sais de uso culinário após dissolução ácida (n =3). Técnicas Analíticas: F AAS (Ca, Fe e Mg) e F AES (K e Na)	101
Tabela 25	- Equações das curvas analíticas, coeficientes de determinação (R ²) e limites de detecção e quantificação obtidos nas determinações dos corantes E122 e E124 pelo método de espectrofotometria de absorção no UV-Vis.....	109
Tabela 26	- Tabela de análise da variância para o ajuste de um modelo pelo método dos mínimos quadrados.....	137
Tabela 27	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Ca. Faixa de concentração 0,20 – 1,0 mg L-1	138
Tabela 28	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Ca. Faixa de concentração 0,25 – 4,0 mg L-1	139
Tabela 29	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Cr. Faixa de concentração 1,0 – 10 µg L-1	141
Tabela 30	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Fe. Faixa de concentração 0,25 – 4,0 mg L-1	142
Tabela 31	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Zn. Faixa de concentração 0,25 – 4,0 mg L-1	144
Tabela 32	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Mg. Faixa de concentração 0,06 – 0,5 mg L-1	145
Tabela 33	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L-1	147
Tabela 34	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L-1	148
Tabela 35	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Na com adição de padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L-1	150
Tabela 36	- Tabela de análise da variância para a curva analítica de Na. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L-1	151

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
F AAS	Espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
MIP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, do inglês <i>Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
UV-Vis	Espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível
OMS	Organização Mundial da Saúde
IDR	Ingestão diária recomendada
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
STPF	<i>Stabilized Temperature Platform Furnace</i>
F AES	Espectrometria de emissão atômica em chama, do inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>
GLP	Gás liquefeito de petróleo
pH	Potencial hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoretileno (teflon)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>Limit of detection</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>Limit of quantification</i>
ANOVA	Análise de Variância
R ²	Coeficiente de determinação
PCA	Análise de componentes principais, do inglês <i>Principal Component Analysis</i>
C ₀	Concentração característica

m_0	Massa característica
sB	Desvio-padrão de 10 leituras dos brancos
S	Coefficiente angular das curvas analíticas
S_m	Desvio padrão do coeficiente linear
R (%)	Porcentagem de recuperação
HCA	Análise hierárquica de grupos, do inglês <i>Hierarchical Cluster Analysis</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
1.1.1	Elementos metálicos	32
1.1.2	Técnicas Analíticas para determinação de elementos metálicos	37
1.1.3	Preparos de Amostra.....	42
1.2	JUSTIFICATIVA	47
2	OBJETIVOS	49
2.1	OBJETIVO GERAL.....	49
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
3	METODOLOGIA.....	51
3.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	51
3.2	EQUIPAMENTOS	51
3.3	AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS	52
3.3.1	Amostras de tecidos comestíveis de frango.....	52
3.3.2	Amostras de especiarias e temperos	54
3.3.3	Amostras de sais <i>gourmet</i>	55
3.4	METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS COMESTÍVEIS DE FRANGO	55
3.4.1	Determinação de alguns parâmetros de composição proximal	55
3.4.2	Preparo das amostras empregando digestão assistida por radiação micro-ondas.....	56
3.5	METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE ESPECIARIAS E TEMPEROS PRONTOS	57
3.6	METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE SAL CULINÁRIO .	57
3.6.1	Preparo de Amostra para determinação de elementos metálicos por F AAS/F AES	57
3.6.2	Método para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectrofotometria UV-Vis.....	58
3.6.3	Caracterização das amostras de sal por Espectroscopia Raman.....	59
3.6.4	Método para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectroscopia Raman.....	59
3.7	CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS	60

3.7.1	Condições instrumentais para as determinações de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni nas amostras de tecidos comestíveis de frango por MIP OES.....	60
3.7.2	Condições instrumentais para as determinações de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn nas amostras de especiarias, sais e temperos por F AAS, F AES ou GF AAS.....	61
3.8	AVALIAÇÃO DAS FIGURAS DE MÉRITO DOS MÉTODOS PROPOSTOS.....	62
4	RESULTADOS	65
4.1	RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA COCÇÃO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS COMESTÍVEIS DE FRANGO	65
4.1.2	Composição Proximal	65
4.1.3	Método de preparo das amostras empregando digestão assistida por radiação micro-ondas e determinação de elementos minerais por MIP OES.....	67
4.1.3.1	<i>Figuras de mérito</i>	<i>67</i>
4.1.3.2	<i>Aplicação do método e discussão dos resultados.....</i>	<i>70</i>
4.1.4	Análise estatística	76
4.1.4.1	<i>Box Plot</i>	<i>76</i>
4.1.4.2	<i>Análise de Componentes Principais</i>	<i>79</i>
4.2	RESULTADOS PARA AS AMOSTRAS DE ESPECIARIAS E TEMPEROS.....	84
4.2.1	Otimização das condições instrumentais para determinação de Cr por GF AAS	84
4.2.2	Figuras de mérito avaliadas para o método de digestão assistida por radiação micro-ondas para determinação de elementos minerais nas amostras de especiarias e temperos	87
4.2.3	Aplicação do método de digestão assistida por radiação micro-ondas	92
4.3	RESULTADOS PARA AS AMOSTRAS DE SAL CULINÁRIO.....	95
4.3.1	Determinação de elementos metálicos por F AAS e F AES após dissolução ácida..	95
4.3.1.1	<i>Figuras de Mérito.....</i>	<i>95</i>
4.3.1.2	<i>Aplicação do método de dissolução para determinação de Ca, Fe e Mg por F AAS e de K e Na por F AES nas amostras de sal culinário</i>	<i>99</i>

4.3.2	Determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectrofotometria UV-Vis (Método de Referência).....	106
4.3.3	Espectroscopia Raman para caracterização das amostras e como técnica alternativa para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia (Método proposto)	111
5	CONCLUSÕES.....	117
5.1	PERSPECTIVAS FUTURAS	119
	REFERÊNCIAS	122
	APÊNDICE A – Análise de Variância (ANOVA)	137
	APÊNDICE B – Formação Acadêmica e Produção Bibliográfica	153

1 INTRODUÇÃO

Por razões históricas, geográficas e socioeconômicas, o agronegócio é historicamente uma atividade importante no cenário econômico brasileiro. Mas, o agronegócio brasileiro se destaca, também, no cenário internacional, com elevados índices de exportação de diferentes produtos, tais como soja, café e carnes, com destaque para exportação de aves. De acordo com o relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) divulgado no ano de 2019, o Brasil é o 2º país no ranking mundial de produção de carne de frango, perdendo apenas para os Estados Unidos da América. Ainda de acordo com este órgão, o país produziu 12,86 milhões de toneladas de carne de frango no ano anterior, sendo 31,9 % deste valor destinado à exportação. Dentre os estados brasileiros, o líder no ranking de exportações é o estado do Paraná, responsável por 37,51 % do volume de exportações de carne de aves. O estado de Minas Gerais é o 6º no ranking de exportações deste produto, com uma fatia de 2,89 % do volume produzido no Brasil. Outro dado interessante é a exportação na forma de cortes, incluindo as vísceras, que corresponde a 66 % do total de exportações de produtos avícolas do país (ABPA., 2019).

Do ponto de vista nutricional, a carne de frango é considerada um alimento importante, rico em vitaminas, proteínas de alto valor biológico e minerais/ metais importantes para a saúde humana (USDA, 2020). Essas características, associadas ao baixo teor de gordura, fazem desta uma ótima opção para dieta de indivíduos de todas as idades e o consumo adequado pode contribuir para o controle do peso corporal podendo, e adicionalmente reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (MARANGONI; CORSELLO; CRICELLI; FERRARA *et al.*, 2015).

Para o consumo de alimentos como as carnes devem-se empregar alguns tratamentos térmicos tais como a cocção, cujos objetivos consistem no aumento da palatabilidade, digestibilidade e inibição do crescimento de organismos patogênicos (ORNELAS; H.; KAJISHIMA; VERRUMA-BERNARDI, 2006). O alimento pode ser assado, frito ou cozido com adição de água, empregando utensílios e panelas de diferentes materiais, tais como alumínio, ferro, pedra sabão, teflon (revestimento), vidro, etc. Nesse contexto vale ressaltar que existe na literatura uma discussão a respeito da possível migração de diferentes compostos, tais como os metais, dos utensílios empregados na cocção para o alimento (AL JUHAIMAN, 2010; DLA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; QUINTAES, K. D.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F. M.; MORGANO, M. A. *et al.*, 2004). Além disso, para agregar

sabor ao alimento é comum a adição de sal de cozinha, especiarias e temperos, sejam os naturais, como as ervas frescas e secas, ou aqueles processados industrialmente, tais como caldos de legumes e de carnes (BRASIL, 2014), que podem conter compostos antioxidantes e minerais como Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn (BRASIL, 2014).

As especiarias e os temperos são utilizados há milênios pelas diversas civilizações e fazem parte da história da humanidade. Por séculos foram usados como moeda de troca no comércio internacional e, devido às suas propriedades antimicrobianas, ainda hoje são utilizados como aditivos e conservantes na culinária, além de agregar aroma e sabor aos alimentos. Estes produtos naturais aumentam a segurança e a vida de prateleira de produtos alimentícios porque agem contra a proliferação de patógenos (CHAN; GAN; SHAH; CORKE, 2018). Além disso, combinações específicas de especiarias caracterizam a cozinha de um povo ou região, como as Ervas de *Provence*, na culinária francesa, que consiste na combinação de ervas como orégano, tomilho, manjerona, segurelha e alecrim. Outro exemplo é a Masala, na culinária indiana, que pode variar em composição de acordo com a região em que é produzida, mas que emprega basicamente pimenta-do-reino, cominho, anis, canela e cravo (REINHOLDS; BARTKEVICS; SILVIS; VAN RUTH *et al.*, 2015). No Brasil, cuja cultura e hábitos alimentares sofreram influência de diferentes povos, a utilização de especiarias e temperos varia nas diferentes regiões. As especiarias mais utilizadas pelos brasileiros incluem o alho, a cebola e a pimenta. Outro tipo de tempero que faz parte da cultura alimentar do brasileiro são os temperos industrializados, especialmente devido à sua praticidade (BRASIL, 2014).

De forma mais específica, as ervas e especiarias são ricas em fitoquímicos, compostos bioativos derivados de plantas que apresentam um elevado potencial no combate a diferentes sintomas e doenças. Estes produtos são compostos por flavonoides, compostos fenólicos, carotenoides, esteróis vegetais, glucosinolatos e outros compostos contendo enxofre (EMBUSCADO, 2015). Além de sua atividade antioxidante e, também, antimicrobiana, muitas especiarias apresentam atividade anti-inflamatória, antimutagênica, auxiliam a digestão, reduzem as taxas de colesterol, auxiliam no combate à diabetes e são anticarcinogênicos potenciais. Além disso, são excelentes alternativas para a redução da ingestão do sal de cozinha no preparo dos alimentos, auxiliando assim no combate à hipertensão arterial e doenças cardíacas associadas (INGUGLIA; ZHANG; TIWARI; KERRY *et al.*, 2017; MOHAMED, 2014).

Quanto ao sal de cozinha, o mesmo desempenha um importante papel no consumo e comercialização de alimentos e, por isso, constitui uma *comodity*. Além de agregar sabor, é um produto historicamente usado na preservação dos alimentos sendo reconhecido como o mais antigo conservante usado pela humanidade (EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014; PHILIPPI, 2014). Em termos nutricionais, a sua ingestão é importante para a regulação dos níveis de Na e K, essenciais em funções celulares e balanço osmótico e, também, para introdução de I na alimentação, elemento importante para a síntese de hormônios importantes pela glândula tireoide, que regula funções em órgãos como cérebro, coração, fígado e rins (TAYLOR; DOYLE; WEBB, 2018).

Atualmente existe grande variedade de sais disponível no comércio mundial, com destaque para os chamados na linguagem popular “sais *gourmet*”. Nesse contexto, o consumidor tem acesso a um elevado volume de informações sobre a grande variedade de minerais possivelmente presentes nestes sais, tais como cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) e tende, ainda, a substituir o sal refinado comum pelos mesmos. Dentre estes, o sal rosa do Himalaia tem ganhado destaque na mídia e redes sociais e é vendido em diferentes preços e formas (grosso ou refinado). Neste cenário, existem suspeitas de possíveis fraudes ou adulterações de sal marinho com corantes artificiais, que seriam então comercializados como o autêntico sal do Himalaia. Porém, estas afirmações, que estão cada vez mais populares devido à influência da internet, são baseadas em testes de solubilidade em água e pouco conclusivos/ confiáveis. Logo, preocupa muito o fato destas informações serem vinculadas sem respaldo científico, o que merece atenção e estudos que possam esclarecer e orientar sobre esses pontos.

Neste contexto, o objetivo geral deste trabalho consistiu no desenvolvimento de métodos analíticos que permitissem o monitoramento dos teores de elementos metálicos nessas matrizes tão importantes para a economia brasileira. Para isto, foram analisadas amostras de tecidos comestíveis de frango, sais e temperos comercializados na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Além disso, objetivou-se a verificação da possível adulteração de sais por adição de corantes sintéticos empregando-se métodos espectroscópicos.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Estudos desenvolvidos entre 2016 e 2020 em diferentes países propõem o monitoramento dos teores de diferentes elementos metálicos em amostras de carne de frango empregando para detecção a espectrometria atômica. Alguns destes trabalhos apresentam como foco apenas o monitoramento de contaminantes inorgânicos tais como Cd e Pb empregando a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) (KIM; KIM; SHIN; SON, 2016), a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica no forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) (CAMPOS; OLIVEIRA; IZUMI; SOUSA, 2018) e a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) (TYOKUMBUR, 2016).

Por outro lado, outros estudos são focados na determinação de macro e micronutrientes metálicos, tais como Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Zn, etc com detecção por F AAS (CAMPOS; LOURDES; ALVARENGA; SABARENSE *et al.*, 2018; EL BAYOMI; DARWISH; ELSHAHAT; HAFEZ, 2018), ICP-MS (GIRI; SINGH, 2019), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDİ; OTAIF *et al.*, 2018; MAJEWSKA; SZCZERBINSKA; LIGOCKI; BUCLAW *et al.*, 2016; MOTTALIB; ZILANI; SUMAN; AHMED *et al.*, 2018; RAMOS; PESTANA; CALDAS; AZEVEDO *et al.*, 2019; YILMAZ-AKSU; TARHAN; SANDIKCI-ALTUNATMAZ; PASTACI-OZSOBACI *et al.*, 2018) e, ainda, por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*) (PINTO; BOEIRA; LISBOA; MEDINA *et al.*, 2019).

No trabalho desenvolvido por Giri e colaboradores em 2017 na Índia (GIRI; SINGH, 2019), os níveis de Cu, Ni e Zn determinados por ICP-MS em amostras de peito e tecidos de frango comercializadas em algumas regiões do país excederam os limites máximos estabelecidos. Os níveis de Pb determinados por ICP OES em músculo e vísceras de frango no trabalho desenvolvido em 2018 por Al Bratty e colaboradores (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDİ; OTAIF *et al.*, 2018) também excederam o valor máximo permitido pela Organização Mundial da Saúde.

Em 2019, Pinto e colaboradores (PINTO; BOEIRA; LISBOA; MEDINA *et al.*, 2019) avaliaram os níveis de diferentes elementos metálicos em carnes de frango e de peru comercializadas no Brasil com detecção empregando MIP OES. Os resultados das análises mostraram que a carne de frango contém teores elevados de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg e Na, indicando que o seu consumo pode complementar a alimentação e fazer parte de uma dieta saudável. Em 2017, o estudo de Campos e colaboradores mostrou que as vísceras de frango são boas fontes de Fe, cujos teores totais e bioacessíveis foram determinados por F AAS (CAMPOS; LOURDES; ALVARENGA; SABARENSE *et al.*, 2018). Resultados similares foram obtidos no trabalho desenvolvido por Majewska e colaboradores em 2016 (MAJEWSKA; SZCZARBINSKA; LIGOCKI; BUCLAW *et al.*, 2016), cujos teores de Fe e outros micronutrientes metálicos foram determinados em fígado de frango, fígado de peru e em carne de ostra com detecção por ICP OES.

Contudo, para que seja consumida, a carne de frango precisa passar por um processo de cocção que visa, como anteriormente mencionado, aumentar a palatabilidade e digestibilidade do alimento bem como promover a remoção de micro-organismos patogênicos (PHILIPPI, 2003). Quando o alimento é cozido, permanece por algum tempo em contato com o interior do recipiente e com os utensílios utilizados na sua preparação, o que pode causar a migração de diferentes compostos, tais como os elementos metálicos para a matriz alimentícia (PARK; BRITTIN, 2000; QUINTAES, 2000). Esta migração pode ser interessante em casos de deficiência de alguns minerais no organismo do indivíduo e, ao mesmo tempo, preocupante quando se trata de elementos tóxicos ou essenciais em concentrações nocivas à saúde. (QUINTAES, 2000; QUINTAES; AMAYA-FARFAN; TOMAZINI; MORGANO *et al.*, 2007).

Por outro lado, durante a cocção ocorrem diversas reações que promovem alterações físico-químicas, trocas químicas e estruturais nas matrizes dos alimentos. Diferentes métodos de cozimento, as formas de transferência de calor, a temperatura, a duração do processo e o meio de cocção causam alterações químicas e físicas que podem modificar o valor nutricional dos alimentos, principalmente devido a perdas de vitaminas e minerais (DEB-CHOUDHURY; HAINES; HARLAND; CLERENS *et al.*, 2014; HE; KE; WANG, 2010; WEN; ZHOU; LI; XU *et al.*, 2015). Quando o cozimento ocorre em água pode haver perda de minerais do alimento para o meio de cocção por dissolução ou lixiviação de componentes hidrossolúveis (ROSA; BRESSAN; BERTECHINI; FASSANI *et al.*, 2006).

A literatura apresenta alguns trabalhos que discutem aspectos da cocção e da migração de elementos metálicos dos utensílios e panelas empregadas para cocção (GERBER; SCHEEDER; WENK, 2009; GOKHALE; MAHONEY, 2014; GORAN; TUDOREANU; ROTARU; CRIVINEANU, 2016; MENEZES; OLIVEIRA; FRANCA; SOUZA *et al.*, 2018; NUNES; SOUSA; SILVA; PEIXOTO *et al.*, 2013; PERELLÓ; MARTÍ-CID; LLOBET; DOMINGO, 2008; QUINTAES, K.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F.; MORGANO, M. *et al.*, 2004). Contudo, boa parte destes estudos reporta apenas a utilização de simulantes de alimentos e, os poucos que descrevem a cocção de matrizes cárneas, o fazem sem a adição de temperos e/ou avaliação de diferentes tipos de materiais dos utensílios utilizados para as preparações. Neste sentido, existe uma lacuna na literatura no que diz respeito à possível influência dos temperos adicionados e dos tipos de panelas empregadas nas cocções sobre os teores de elementos minerais em carnes, que consiste em um dos objetivos deste estudo.

Em 2009, Gerber e colaboradores (GERBER; SCHEEDER; WENK, 2009) avaliaram o efeito da cocção sobre os teores de Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn em carnes bovina e suína, grelhadas ou cozidas. Os resultados obtidos no trabalho mostraram uma redução dos teores de Ca, K, Mg e Na em todas as amostras após a cocção e um incremento dos teores de Fe e Zn. Contudo, os autores não deixam claro quais os utensílios utilizados nas preparações nem relatam se houve adição de temperos.

Quintaes e colaboradores (QUINTAES, K.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F.; MORGANO, M. *et al.*, 2004) avaliaram a possível migração de Ca, Cd, Cr, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn de panelas de aço inoxidável, ferro fundido e pedra sabão (esteatito) para simulantes de alimentos em cocções sequenciais. Os autores observaram que houve migração de Fe e Mn para os simulantes em todas as cocções, mas não observaram a presença de metais tóxicos como Cd, Hg e Pb nos mesmos. Contudo, verificaram a migração de Ni, metal não essencial, quando os simulantes foram preparados em panelas de pedra sabão. Ainda de acordo com os autores, a migração de metais do material da panela ou utensílio depende de fatores como pH do alimento, tempo de contato, temperatura e utilização de água na preparação. Este estudo contempla curiosidades do saber popular, especialmente em relação à migração de ferro, cuja carência está associada à anemia ferropriva. É comum ouvir, que o cozimento de alimentos em panela de ferro ou ainda com adição de pregos enferrujados poderiam prover quantidades de ferro expressivas pra combate a esta doença, muito comum em crianças, mulheres e na população que não têm acesso a uma alimentação balanceada

(QUINTAES, 2000; QUINTAES; AMAYA-FARFAN; TOMAZINI; MORGANO *et al.*, 2007; QUINTAES; HAJ-ISA; NETTO; AMAYA-FARFAN, 2011).

Recentemente, um estudo brasileiro (MENEZES; OLIVEIRA; FRANCA; SOUZA *et al.*, 2018) avaliou a influência do modo de preparo (cozido em água, assado em forno convencional ou micro-ondas, grelhado) sobre os teores de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em carnes de frango, bovina e suína preparadas sem adição de temperos. Os autores observaram uma redução estatisticamente significativa dos teores totais destes elementos após a cocção das amostras com adição de água, justificada por perdas por lixiviação.

Nas cocções, as ervas, os temperos e especiarias são adicionados aos alimentos para agregar sabor e aroma, tornando o alimento mais atrativo para consumo. Além disso, com o aumento crescente do interesse da população pela culinária natural e de qualidade e ainda pelo conceito de “*gourmetização*”, ou seja, qualificar e diferenciar a alta gastronomia através da elaboração de pratos exclusivos e refinados, os sais *gourmet*, bem como as especiarias e suas diferentes combinações estão cada vez mais presentes na culinária. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, (BRASIL, 2005b), especiarias são os produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas. Já os temperos são definidos como os produtos obtidos da mistura de especiarias e de outro(s) ingrediente(s), fermentados ou não, empregados para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas. O sal para consumo humano é definido pela ANVISA como “cloreto de sódio cristalizado extraído de fontes naturais, adicionado obrigatoriamente de iodo” (BRASIL, 2000) e não existe, ainda, legislação específica para os sais *gourmet*.

Diversos trabalhos disponíveis na literatura determinam a atividade antioxidante deste tipo de produto, em função dos teores de compostos fenólicos totais e dos demais compostos mencionados anteriormente (EMBUSCADO, 2015; KAEFER; MILNER, 2008; OPARA; CHOHAN, 2014; REINHOLDS; BARTKEVICS; SILVIS; VAN RUTH *et al.*, 2015). Diversos trabalhos relatam, ainda, que as especiarias podem ser fontes de macro e microelementos como Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, e Zn, que desempenham funções essenciais no organismo (CARIDI; MESSINA; BELVEDERE; D'AGOSTINO *et al.*, 2019; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO *et al.*, 2017; KARAVOLTSOS; SAKELLARI; BAKEAS; BEKIARIS *et al.*; 2020; KHAN; CHOI; NHO; HABTE *et al.*, 2014; LEMOS; SANTOS;

BEZERRA, 2010; SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH *et al.*, 2016; TEFERA; CHANDRAVANSI, 2018; TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ *et al.*, 2018),.

Por outro lado, sabe-se que os vegetais podem conter, em alguns casos, teores significativos de contaminantes inorgânicos (BUA; ANNUARIO; ALBERGAMO; CICERO *et al.*, 2016; CARIDI; MESSINA; BELVEDERE; D'AGOSTINO *et al.*, 2019; EL-RJOOB; MASSADEH; OMARI, 2008; KARAVOLTSOS; SAKELLARI; BAKEAS; BEKIARIS *et al.*; 2020; MATOS-REYES; CERVERA; CAMPOS; LA GUARDIA, 2010; NORDIN; SELAMAT, 2013). Uma das razões para isso é que durante as fases de produção da especiaria, seja no plantio, crescimento, armazenamento, no transporte e/ou na sua distribuição pode haver contaminação por micro-organismos e também por poluentes químicos, como pesticidas, metais tóxicos, cinzas e, ainda, pela presença de adulterantes como corantes artificiais e materiais densos, especialmente no caso de produtos com alto valor agregado (REINHOLDS; BARTKEVICS; SILVIS; VAN RUTH *et al.*, 2015).

Em relação à contaminação por metais tóxicos, em 2013 Nordin e Selamat (NORDIN; SELAMAT, 2013) avaliaram a presença de contaminantes inorgânicos em ervas comercializadas na Malásia. Os teores de As, Cd, Pb e Hg encontrados nas amostras excederam os limites máximos permitidos pela legislação do país. Em 2018, Tokalioglu e colaboradores (TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ *et al.*, 2018) observaram teores elevados de As e Cd em amostras de gengibre comercializadas na Turquia.

No Brasil, existem poucos estudos reportados a respeito da determinação e monitoramento de elementos metálicos em ervas e temperos comercializados e utilizados no país (GAMELA; COSTA; PEREIRA, 2020; KRAUSE; VIEIRA; CUNHA; BRANDAO *et al.*, 2020; LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010). Krause e colaboradores (KRAUSE; VIEIRA; CUNHA; BRANDAO *et al.*, 2020) investigaram os teores de elementos metálicos em amostras de pimenta preta de diferentes formas de apresentação (grão ou moída) e marcas comercializadas no Brasil. Uma análise estatística dos dados permitiu concluir que os níveis de Fe, Pb e V em amostras de pimenta preta comercializadas moídas eram maiores que aqueles determinados nas amostras de grãos. Outro estudo brasileiro (GAMELA; COSTA; PEREIRA, 2020) revelou que amostras de diferentes tipos de pimenta comercializadas e utilizadas pelos brasileiros podem conter teores importantes de metais como Ca, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn.

Contudo, estes estudos focam apenas em um tipo de tempero e não contemplam aqueles bastante utilizados pelos brasileiros (BRASIL, 2014), tais como alho e temperos prontos, comercializados sob diferentes formas, tais como em pó, em pasta ou em barras. Outro fato preocupante está relacionado com o pouco ou nenhum controle na comercialização de tais produtos, por parte das agências reguladoras, já que não existe regulamentação específica para temperos comercializados no Brasil e estes são produtos de crescente interesse na culinária nacional.

Estudos acerca da determinação de diferentes elementos em sais refinado, marinho e sais de rocha (“sais *gourmet*”) estão disponíveis na literatura (AKSUNER; TIRTOM; HENDEN, 2011; AMORIM; FERREIRA, 2005; CARIDI; MESSINA; BELVEDERE; D'AGOSTINO *et al.*, 2019; CHERAGHALI; KOBARFARD; FAEIZYA, 2010; DA-COL; BUENO; MELQUIADES, 2015; DRAKE; DRAKE, 2010; EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014; ESQUIVEL-PEÑA; MUNGUÍA-ACEVEDO; RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL; AGUILAR *et al.*, 2016; KARAVOLTSOS; SAKELLARI; BAKEAS; BEKIARIS *et al.*, 2020; LIMCHOOWONG; SRICHAROEN; TECHAWONGSTIEN; KONGSRI *et al.*, 2017; MIN HWANG; YANG; HYUN KIM; JAMILA *et al.*, 2016; SOYLAK; MURAT, 2011; SOYLAK; PEKER; TURKOGLU, 2008).

Alguns desses trabalhos focam na determinação de macro e micronutrientes metálicos, tais como Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) (DRAKE; DRAKE, 2010; MIN HWANG; YANG; HYUN KIM; JAMILA *et al.*, 2016; SOYLAK; PEKER; TURKOGLU, 2008) e Fluorescência de Raio X combinada com ferramentas quimiométricas (DA-COL; BUENO; MELQUIADES, 2015). Em geral, os teores de Ca e Mg apresentaram uma grande variação entre as amostras estudadas nesses trabalhos.

Os teores de alguns contaminantes inorgânicos também foram avaliados em sais provenientes de minas no Egito, na Grécia e na Turquia (AKSUNER; TIRTOM; HENDEN, 2011; CHERAGHALI; KOBARFARD; FAEIZYA, 2010; EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014; SOYLAK; PEKER; TURKOGLU, 2008). Felizmente, os níveis encontrados para estes elementos tóxicos ficaram abaixo dos limites máximos estabelecidos pelo CODEX *Alimentarius* para ingestão humana (FAO, 2012). Contudo, a variedade de tipos de sais culinários avaliada nestes trabalhos é modesta e, dado o elevado consumo deste tipo de produto, fica clara a necessidade de se avaliar a composição química

dos diferentes tipos disponíveis no mercado. Além disso, não foram encontrados estudos brasileiros a respeito da caracterização dos metais presentes em amostras de diferentes tipos de sal comercializados e empregados pela população brasileira.

Ainda em relação aos sais, as redes sociais vinculam vídeos contendo testes simples para demonstração da possível adulteração de sal marinho comum por adição de corantes artificiais, sendo este produto então comercializado como o autêntico sal do Himalaia a preços variáveis (Sal Rosa do Himalaia (FALSO X VERDADEIRO), 2016, vídeo do youtube).

Os corantes são adicionados aos produtos alimentícios para melhorar a aparência e torná-los mais atrativos para o consumidor, especialmente naqueles processados industrialmente como embutidos, doces e balas, iogurtes e outros produtos lácteos, etc. (LIPSKIKH; KOROTKOVA; DOROZHKO; DERINA *et al.*, 2017; YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016; ZHANG; ZHANG; ZHANG; YAN *et al.*, 2019). Estes compostos podem ser de origem natural ou sintética, sendo os sintéticos cada vez mais utilizados na indústria de alimentos devido à sua elevada estabilidade e aos baixos custos relacionados à sua produção. Dentre os corantes sintéticos, os azocorantes ganham destaque com uso correspondente a cerca de 70 % do mercado de corantes na indústria de alimentos mundial. Estes corantes são assim chamados devido à presença do grupo azo ($-N=N-$) como parte de sua estrutura (YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016). No entanto, estes compostos apresentam neurotoxicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade, e o seu consumo excessivo pode causar problemas relacionados à hiperatividade e alergias em crianças (ZHANG; ZHANG; ZHANG; YAN *et al.*, 2019) e, nos adultos, dores de cabeça (YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016). Devido a isto, muitos países já proibiram a utilização de alguns azocorantes e as legislações para aqueles permitidos são restritivas (ANVISA; JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2008; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2012).

Para a quantificação de corantes em amostras de alimentos, os métodos oficiais recomendados são baseados na espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) (FAO, 1999; LUTZ, 2008). Os espectrofotômetros utilizados nestas determinações operam nas regiões visível e ultravioleta do espectro eletromagnético, apresentando basicamente uma fonte contínua para emissão de radiação (lâmpada de tungstênio para a região visível e lâmpada de Deutério para a região do ultravioleta), um monocromador para seleção do comprimento de onda de interesse, um detector para medida

da intensidade da radiação e um computador para armazenamento e processamento dos dados (GOMES; TREVIZAN; NÓBREGA; KAMOGAWA, 2008; HARRIS, 2005; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

A espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) baseia-se na absorção de fótons por íons e moléculas presentes em uma solução, que são promovidos do chamado estado fundamental para um estado excitado de maior energia. Através da Lei de Lambert-Beer (equação 1), é possível afirmar que a quantidade de energia absorvida é proporcional à concentração da espécie de interesse na solução, o que permite a sua quantificação. Esta lei é baseada na medida da transmitância (T) ou da absorbância (A) das espécies contidas na solução, em uma região de observação com um caminho óptico (b), usualmente em centímetros. A concentração c da espécie absorvente está linearmente relacionada à absorbância (vide equação 1), onde ϵ consiste na absorvidade molar, uma grandeza específica e característica da espécie absorvente. O valor desta grandeza depende de outras grandezas como o comprimento de onda, monocromaticidade da radiação incidente, da seção de choque da espécie que absorve e, ainda, da probabilidade da transição eletrônica ocorrer (GOMES; TREVIZAN; NÓBREGA; KAMOGAWA, 2008; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

$$A = -\log \frac{P}{P_0} = -\log T = \epsilon b c \quad \text{Equação 1}$$

Além dos métodos espectrofotométricos descritos na literatura (ABDELGHANI; AL-DEGS; EL-SHEIKH; FASFOUS *et al.*, 2020; BISGIN, 2018; 2019; ZHANG; ZHANG; ZHANG; YAN *et al.*, 2019), trabalhos empregando outras técnicas analíticas são encontrados na literatura para determinação de corantes artificiais em matrizes alimentícias. São reportados métodos eletroanalíticos (LIPSKIKH; KOROTKOVA; DOROZHKO; DERINA *et al.*, 2017; STRELKOVA; VARYGINA; CHERNOVA, 2017) e, principalmente, métodos cromatográficos (ALP; BASKAN; YASAR; YAYLI *et al.*, 2018; DILRUKSHI; MUNASINGHE; SILVA; DE SILVA, 2019). Os métodos cromatográficos são bastante utilizados para determinação de corantes em diferentes matrizes devido à elevada precisão, sensibilidade e possibilidade de detecção simultânea. Contudo, geralmente requerem uma etapa de preparo de amostra envolvendo extrações com solventes orgânicos gerando resíduos, demandam tempo e os custos para manutenção dos cromatógrafos são geralmente elevados

(GUKOWSKY; XIE; GAO; QU *et al.*, 2018; HARRIS, 2005; MÜHLEN; LANÇAS, 2004; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006; ZHANG; ZHANG; ZHANG; YAN *et al.*, 2019).

Neste sentido, métodos alternativos para detecção rápida e seletiva de corantes que gerem pouco ou nenhum resíduo seriam úteis e teriam grande aplicação para análises de rotina. A literatura reporta o potencial da Espectroscopia Raman para detecção de diferentes corantes alimentícios, tais como o E124 (ALMEIDA; STEPHANI; SANTOS; OLIVEIRA, 2010), E122 (GUKOWSKY; XIE; GAO; QU *et al.*, 2018; SNEHALATHA; RAVIKUMAR; HUBERT JOE; SEKAR *et al.*, 2009), E110 (GUKOWSKY; XIE; GAO; QU *et al.*, 2018; SUN; DU; YAN; CHEN *et al.*, 2016), E132 (SUN; DU; YAN; CHEN *et al.*, 2016), E133 (GUKOWSKY; XIE; GAO; QU *et al.*, 2018; XIE; CHEN; GUO; CHENG *et al.*, 2019). Esta técnica foi empregada, também, para a determinação dos corantes Sudan IV em amostras de azeite de dendê (ANDOH; NUUTINEN; MINGLE; ROUSSEY, 2019), ácido carmínico em amostras de balas (GARRIDO; CLAVIJO; COPAJA; GOMEZ-JERIA *et al.*, 2019) e E102 em amostras de ovos (JOSHI; LOHUMI; KIM; QIN *et al.*, 2020).

A espectroscopia Raman baseia-se no espalhamento inelástico da radiação eletromagnética que interage com a matéria, sendo a radiação espalhada com uma frequência diferente da incidida. Essa variação de frequência corresponde à diferença de energia entre dois estados vibracionais da molécula (ALMEIDA; OLIVEIRA; STEPHANI; OLIVEIRA, 2012; SALA, 2008). Além de ser uma técnica versátil e rápida, possibilita determinar mais de um componente ao mesmo tempo, exige pré-tratamento mínimo das amostras (moagem) gerando pouco ou nenhum resíduo. Neste sentido, esta técnica pode ser utilizada para caracterização química/molecular de diferentes amostras, inclusive de alimentos tais como leite e seus derivados (ALMEIDA; OLIVEIRA; STEPHANI; OLIVEIRA, 2012; OLIVEIRA; CALLEGARO; STEPHANI; ALMEIDA *et al.*, 2016; SMITH; HOLROYD; REID; GORDON, 2017) e carnes (CAMPOS; OLIVEIRA; ALMEIDA; STEPHANI *et al.*, 2014; CAMPOS; OLIVEIRA; IZUMI; SOUSA, 2018). Em um artigo de revisão publicado por Esteki e colaboradores (ESTEKI; SHAHSAVARI; SIMAL-GANDARA, 2018) retratam o uso da Espectroscopia Raman não só como ferramenta de caracterização, mas para aplicação em estudos sobre fraude ou adulteração de diferentes alimentos. Neste trabalho, a Espectroscopia Raman foi empregada para caracterização das amostras de sal *gourmet* e foi avaliada como uma técnica alternativa para detecção de corantes em amostras de sal comercializadas como sal rosa do Himalaia.

1.1.1 Elementos metálicos

A exposição humana aos elementos metálicos ocorre principalmente através da ingestão de água e de alimentos. Assim, dados sobre a composição dessas matrizes são fundamentais para avaliar os índices de exposição a elementos tóxicos e adequar a ingestão daqueles que são essenciais. Os metais são constituintes naturais de alguns alimentos, mas a presença destes pode também estar relacionada à contaminação ambiental e a etapas de processamento, especialmente no caso dos alimentos que passam por algum tipo de processamento. (AZEVEDO; CHASIN, 2003; LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a).

Alguns elementos metálicos são considerados nutrientes essenciais e se dividem em macronutrientes, como Ca, K, Mg e Na, e micronutrientes como Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Se e Zn (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), um elemento é considerado essencial para o organismo quando a sua ingestão abaixo de um determinado limite resulta no comprometimento de uma função fisiológica importante ou quando este elemento é parte de uma estrutura orgânica e desempenha funções essenciais no organismo. Contudo, mesmo desempenhando funções vitais, estes nutrientes podem apresentar efeitos tóxicos se ingeridos em excesso (WHO, 1996; WHO, 2004), ou seja, existe um limite entre a dose que o torna essencial ou tóxico (COZZOLINO, 2016).

Por outro lado, elementos como Al e Ni, presentes na água e em alguns alimentos não são essenciais, mas também não apresentam toxicidade para a maioria das pessoas, ainda que em relação ao Al não haja um consenso na área da saúde. Em relação a outros elementos não essenciais destacam-se o As, Cd, Hg e Pb, que são classificados como contaminantes e têm a capacidade de substituir elementos essenciais em enzimas e macromoléculas, conferindo elevada toxicidade aos mamíferos, mesmo quando ingeridos em baixas concentrações (WHO, 1996; WHO, 2004). Esses elementos estão entre os principais contaminantes ambientais. Seu comportamento bioquímico é complexo e de difícil remediação; por isso, os limites permitidos ou recomendados para esses contaminantes são geralmente muito baixos, seja na água seja nos alimentos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008).

Nos parágrafos seguintes segue uma breve descrição das características principais dos elementos essenciais, que foram objeto de estudo nesse trabalho.

O cálcio (Ca) é um dos principais minerais presentes no corpo humano, contido nos ossos, nos dentes, no tecido conjuntivo, nos fluidos extracelulares e no sangue (PISTE;

SAYAJI; AVINASH, 2012). A sua ingestão é essencial para a manutenção de ossos e dentes saudáveis, para a regulação das contrações musculares e para a coagulação sanguínea. Além disso, este mineral atua como cofator de reações enzimáticas e participa de processos de regulação hormonal no organismo (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; PISTE; SAYAJI; AVINASH, 2012). A ingestão diária recomendada (IDR) de Ca para adultos é de 1000 mg, valores preconizados pela legislação brasileira (BRASIL, 2005a) e por agências internacionais (WHO, 2001; WHO, 2004). A deficiência deste mineral no organismo está associada ao enfraquecimento de dentes e ossos, podendo causar osteoporose, além de causar raquitismo, irritabilidade, nervosismo e tremores (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; PISTE; SAYAJI; AVINASH, 2012). A toxicidade por ingestão em excesso deste mineral é pouco comum, mas pode ocorrer em indivíduos que ingerem grandes quantidades de suplementos de Ca ou vitamina D ou em indivíduos que possuem as funções renais comprometidas, causando arritmias cardíacas, constipação, confusão mental etc. (PISTE; SAYAJI; AVINASH, 2012).

O potássio (K) é um macronutriente essencial e desempenha um papel importante na atividade osmótica intracelular, regulando os níveis de água dentro e fora das células. Além disso, este elemento é importante para o equilíbrio ácido-base e contribui para o estabelecimento do potencial elétrico nas membranas celulares essenciais para células musculares e nervosas. Outras funções importantes do K no organismo incluem a regulação de secreções hormonais e a síntese de proteínas e de glicogênio. No corpo, este elemento é armazenado nos músculos, ossos, fígado, pele e células vermelhas (AARON; SANDERS, 2013; LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; TURCK; BRESSON; BURLINGAME; DEAN *et al.*, 2016). A OMS recomenda uma IDR de potássio equivalente a 3510 mg (WHO, 2012b). A deficiência de K pode causar fraqueza muscular, problemas intestinais, confusão mental e em casos graves paralisia respiratória. Já o excesso deste elemento, apesar de pouco comum, pode causar fraqueza, paralisia, náusea, vômitos e diarreia e, em casos extremos, arritmia cardíaca (TURCK; BRESSON; BURLINGAME; DEAN *et al.*, 2016).

O magnésio (Mg) é outro macronutriente essencial ao bom funcionamento do organismo, armazenado principalmente nos ossos, mas também encontrado nos tecidos moles e no sangue. Este mineral é essencial para a saúde dos ossos, atua na regulação de vitamina D, na secreção de hormônios e como cofator de enzimas, sendo essencial para o desenvolvimento e reprodução celular. Sintomas e problemas de saúde relacionados à deficiência de Mg incluem fadiga, fraqueza muscular, disfunção neuromuscular, taquicardia,

coma e eventual morte do indivíduo (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; ISMAIL; ISMAIL; ISMAIL, 2017). A IDR de Mg é de 260 mg para adultos e esses valores podem variar em função da idade, gênero e condições de saúde do indivíduo (BRASIL, 2005a; WHO, 2004). A ingestão excessiva deste mineral pode causar hipotensão, depressão respiratória e parada cardíaca; contudo, a intoxicação é mais comum em pacientes com problemas renais crônicos (ISMAIL; ISMAIL; ISMAIL, 2017).

O sódio (Na) é o principal elemento presente nos fluidos extracelulares e está envolvido na manutenção da homeostase celular e na regulação do equilíbrio de fluidos e da pressão arterial. É considerado um nutriente essencial que atua na regulação osmótica celular, importante para o transporte de nutrientes e substratos através das membranas plasmáticas (STRAZZULLO; LECLERCQ, 2014; WHO, 2012a). A deficiência de Na no organismo ocorre apenas em quadros patológicos graves, causados por doença renal crônica, diarreia crônica, sudorese extrema prolongada e ingestão excessiva de diuréticos. Em geral, o problema de dimensão epidemiológica, relacionado a este elemento deve-se à sua ingestão em excesso, através da utilização excessiva de sais de sódio na preparação dos alimentos e do consumo de produtos processados industrialmente, que emprega diferentes compostos a base de sódio como realçadores de sabor e conservantes. A ingestão diária recomendada de Na equivale a 2000 mg/dia, o que corresponde a 5g de sal de cozinha (NaCl) (WHO, 2012a). O consumo excessivo de sódio pode causar hipertensão arterial e doenças cardiovasculares. Estudos indicam uma relação entre a ingestão em excesso de sódio com doença renal crônica, câncer gástrico e osteoporose (AARON; SANDERS, 2013; MORRIS; SCHMIDLIN; FRASSETTO; SEBASTIAN, 2006; STRAZZULLO; LECLERCQ, 2014).

O cromo (Cr) é um micronutriente essencial e importante para o metabolismo de carboidratos. No organismo, este elemento pode ser encontrado no fígado, nos tecidos moles e nos ossos (AZEVEDO; CHASIN, 2003; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). O Cr (III) atua como cofator para ação da insulina por formar um complexo com os receptores para insulinas no organismo, contribuindo para a manutenção de níveis normais de glicose. Por outro lado, o Cr (VI) é considerado carcinogênico e não desempenha funções essenciais no organismo (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a). A ANVISA recomenda uma IDR de 35 µg de Cr para homens adultos (BRASIL, 2005a). A deficiência de cromo no organismo pode favorecer o desenvolvimento da diabetes enquanto o seu excesso pode causar disfunções renal e hepática (MERTZ, 1993).

O cobre (Cu) é um micronutriente essencial presente em todos os tecidos do corpo humano incluindo o cérebro. Este elemento faz parte da estrutura de várias enzimas envolvidas na síntese de peptídeos e compostos neuroativos. Além disso, auxilia no processo de renovação das células vermelhas e nervosas, produção de colágeno e atua, ainda, nos processos de absorção do ferro (BOST; HOUDART; OBERLI; KALONJI *et al.*, 2016; LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a). A deficiência deste elemento está relacionada a problemas no desenvolvimento do feto, alterações no metabolismo do colesterol, anemia e disfunção do sistema neurológico, entre outros (BOST; HOUDART; OBERLI; KALONJI *et al.*, 2016; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). A ingestão diária recomendada de Cu é de 900 µg/ dia para adultos (BRASIL, 2005a) e o limite máximo tolerado (LMT) de ingestão diária por adultos é de 1000 µg/ dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). A contaminação por excesso de ingestão de Cu através dos alimentos é pouco comum, mas pode gerar estresse oxidativo de diferentes células, causando principalmente disfunção hepática (BOST; HOUDART; OBERLI; KALONJI *et al.*, 2016).

O ferro (Fe) é um elemento essencial que participa de vários processos metabólicos importantes para o organismo, tais como o transporte de oxigênio pelos tecidos, síntese de DNA, transporte de elétrons nas células e atua como cofator de algumas reações enzimáticas (ABBASPOUR; HURRELL; KELISHADI, 2014). A ingestão de ferro varia em função da idade e condições fisiológicas do indivíduo e para adultos a IDR é equivalente a 14 mg (BRASIL, 2005a; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001; WHO, 2004). A deficiência de ferro no organismo é a principal causa da anemia ferropriva, um problema de saúde pública mundial. Além disso, uma baixa ingestão de ferro também está relacionada a problemas motores e neurológicos (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a; WHO, 2004). Por outro lado, o excesso deste mineral no organismo pode ser nocivo para os tecidos, já que o ferro livre está envolvido na formação de radicais livres que podem lesar proteínas, lipídeos e o DNA das células (ABBASPOUR; HURRELL; KELISHADI, 2014). A ingestão máxima tolerada de ferro por dia é estabelecida como 45 mg, valor a partir do qual ocorre desconforto gastrointestinal (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

O manganês (Mn) é outro micronutriente metálico essencial encontrado nos tecidos ligado ao metabolismo de aminoácidos, proteínas, lipídeos e carboidratos. Atua como cofator de várias enzimas, na regulação dos teores de glicose no sangue, na digestão, na reprodução, no desenvolvimento dos ossos e no sistema imunológico (ASCHNER; ASCHNER, 2005). A

IDR para este elemento é igual a 2,3 mg para adultos (BRASIL, 2005a; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001). A ingestão inadequada de Mn gera má formação óssea, redução da fertilidade além de alterações no metabolismo de carboidratos e lipídeos (ASCHNER; ASCHNER, 2005). Estudos indicam que este elemento pode apresentar efeitos tóxicos quando há excesso deste no organismo. Os principais efeitos da intoxicação por Mn são sentidos no sistema neurológico, com lesões e sintomas parecidos característicos da doença de Parkinson (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001; POPICHAK; AFZALI; KIRKLEY; TJALKENS, 2018). O limite máximo tolerado para o Mn equivale a 11 mg/ dia e a ingestão a partir deste limite pode causar efeitos adversos (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

O zinco (Zn) é um micronutriente essencial encontrado nos tecidos e fluidos corporais. Atua como cofator de diversas reações enzimáticas envolvidas em processos metabólicos importantes para a síntese de hormônios e para o sistema imunológico (RONAGHY, 1987; ROOHANI; HURRELL; KELISHADI; SCHULIN, 2013). As agências reguladoras estabelecem uma IDR para o Zn equivalente a 7 mg (BRASIL, 2005a; INSTITUTE OF MEDICINE, 2001) e a deficiência deste mineral pode causar retardo no crescimento, problemas reprodutivos especialmente nos homens e disfunções no sistema imunológico (LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a). O excesso de Zn no organismo pode causar efeito adverso tais como ressecamento da pele e problemas gástricos. Além disso, pode afetar o metabolismo do cobre associado a algumas enzimas. O limite máximo tolerado para este elemento é de 40 mg/ dia (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001; WHO, 2004)

O alumínio (Al) pode apresentar efeitos tóxicos quando presente em elevadas concentrações no organismo humano (AZEVEDO; CHASIN, 2003). Os principais sintomas da ingestão em excesso deste metal são problemas gastrointestinais e neurológicos (AZEVEDO; CHASIN, 2003), e um estudo de revisão reporta altos níveis deste metal no cérebro de pacientes que sofrem do mal de Alzheimer (EXLEY, 2016). A exposição ocupacional é a principal forma de exposição humana a este metal e nestes casos há relatos de desenvolvimento de bronquite crônica, problemas cognitivos e cansaço crônico. A absorção de outros metais como Ca e Fe pode ser afetada pela presença deste metal (AZEVEDO; CHASIN, 2003). A OMS estabelece um limite máximo tolerado para ingestão de Al igual a 2 mg/ kg/ peso corporal (WHO, 2004). Outras formas de exposição ao Al incluem o uso de cosméticos, de aditivos alimentares, consumo de água e de alimentos e, ainda, através da

utilização de panelas e utensílios de materiais que possuem o metal em sua composição (AL JUHAIMAN, 2010).

Em relação ao níquel (Ni), não existem evidências de que este metal seja importante para a nutrição humana nem que participe de funções fisiológicas essenciais para o organismo humano (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001; ZAMBELLI; CIURLI, 2013). A exposição humana ao Ni pode ocorrer através da inalação, ingestão e contato dérmico com seus compostos. O contato com este metal pode causar diversos efeitos tóxicos à saúde humana, em especial alergias, problemas respiratórios e cardiovasculares, além de problemas renais (ZAMBELLI; CIURLI, 2013). O limite máximo tolerado para ingestão de sais de Ni, reportado por agências internacionais, é de 1 mg/ kg/ peso corporal (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

Os elementos mencionados, cujas concentrações têm sido monitoradas em diversos tipos de alimentos e produtos alimentícios, foram também determinados em amostras de vísceras de frango tais como coração, fígado e moela, cru e cozidos em diferentes tipos de panela e nas amostras de especiarias, sais e temperos industrializados.

1.1.2 Técnicas Analíticas para determinação de elementos metálicos

Para a determinação de elementos metálicos em diferentes matrizes, a seleção da técnica empregada para a detecção é extremamente importante para definir a sequência analítica e obtenção dos resultados. A técnica selecionada deve apresentar adequadas detectabilidade e sensibilidade, além de precisão nas determinações dos elementos, cujos níveis de concentração nas diferentes amostras são variáveis. (KORN; MORTE; SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; KRUG, 2008). O CODEX *Alimentarius*, programa conjunto da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS), recomenda os métodos espectroanalíticos para a determinação de contaminantes inorgânicos e macro/micronutrientes minerais em produtos alimentícios (FAO, 1999). Dentre as técnicas espectrométricas, a literatura destaca o uso da espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) ou em forno de grafite (GF AAS), da espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e, também, da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) (AMORIM; LOBO; SANTOS; FERREIRA,

2008; BROWN; MILTON, 2005; BULSKA; RUSZCZYŃSKA, 2017; EWA; ANNA, 2017; SETTLE, 1997; WELZ, 1999).

A seleção da técnica a ser empregada para a detecção depende especialmente do nível de concentração dos analitos na amostra em estudo, já que cada uma possui particularidades que afetam diretamente a sua sensibilidade e/ou detectabilidade (BROWN; MILTON, 2005; BULSKA; RUSZCZYŃSKA, 2017; SETTLE, 1997).

A espectrometria de absorção atômica, principal técnica empregada neste estudo, é uma técnica bem estabelecida e de vasta aplicação para a determinação de metais em diversos tipos de amostras, sejam líquidas, sólidas, suspensões ou até mesmo gasosas. Baseia-se na capacidade de átomos livres e no estado gasoso absorverem energia de frequência específica, emitida por uma fonte espectral. A quantidade de radiação absorvida relaciona-se à quantidade de átomos, que é proporcional à concentração do elemento. O processo de atomização do elemento pode ser obtido através de uma chama (F AAS) ou por atomização eletrotérmica, geralmente em um tubo pequeno, chamado de forno de grafite (GF AAS). Principalmente quando operada no modo chama é uma técnica simples, que apresenta baixos custos experimentais quando comparada às técnicas de plasma, além de poder ser associada a sistemas de análise em fluxo e permitir, inclusive, estudos de especiação; porém, a detecção é mono elementar (AMORIM; LOBO; SANTOS; FERREIRA, 2008; SETTLE, 1997; WELZ, 1999).

Apesar de amplamente aplicada em rotinas e laboratórios de pesquisa, a técnica de F AAS apresenta algumas limitações quando comparada à técnica de GF AAS, como o fato de não tolerar amostras com alto teor de sólidos dissolvidos, apresentar limites de detecção na faixa de miligramas por litro e apresentar elevado consumo de amostra (usualmente 3,0 mL/analito). Em relação à sensibilidade, as limitações obtidas em relação ao modo eletrotérmico estão relacionadas principalmente ao sistema de introdução da amostra, na qual apenas uma pequena fração (no máximo 5%) chega no atomizador. Resumidamente, a solução de amostra é aspirada através de um tubo capilar ligado a um nebulizador onde ocorre a formação do aerossol, que é carregado até a chama, onde ocorrerá o processo de atomização. Em termos instrumentais, as principais condições que podem ser otimizadas são a altura do queimador, a combinação dos gases para a atomização do analito bem como a vazão do gás combustível empregado, geralmente o acetileno (C_2H_2). As combinações de gases combustível e oxidante mais comuns em F AAS são aquelas formadas por ar/ C_2H_2 ou N_2O / C_2H_2 , cujas temperaturas

das chamas variam de 2100-2400 °C e 2600-2800 °C, respectivamente (AMORIM; LOBO; SANTOS; FERREIRA, 2008; SETTLE, 1997; WELZ, 1999).

Em contrapartida, a GF AAS é uma técnica que possui elevada detectabilidade, com limites de detecção da ordem de microgramas por litro, além da vantagem de necessitar de pequenas quantidades de amostra (usualmente 20 µL/ analito/ replicata), inserida diretamente no interior do tubo de modo manual ou automatizado; isto a torna compatível com amostras na forma de suspensão/emulsão e favorece a detecção de concentrações na ordem de traços. Porém, apresenta efeitos de matriz mais severos e menor frequência analítica do que a F AAS (AMORIM; LOBO; SANTOS; FERREIRA, 2008; SETTLE, 1997; WELZ, 1999).

Ao longo das décadas, avanços instrumentais realizados nos espectrômetros de absorção atômica tornaram os mesmos mais robustos e compatíveis com amostras complexas. Na década de 1980, surgiu o conceito de STPF (do inglês, *Stabilized Temperature Platform Furnace*) (SLAVIN, 1987), que consiste em um conjunto de requisitos instrumentais e operacionais para o caso do modo eletrotérmico e que permitiram melhorias nas condições de análise, melhorando a sensibilidade e reduzindo interferências. Dentre as condições STPF destacam-se: eletrônica adequada que permite a integração do sinal transiente, a elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite na etapa da atomização, a interrupção da vazão de gás de arraste, também durante a etapa de atomização (de modo a manter a nuvem atômica dentro do tubo), a utilização de tubos de grafite com revestimento pirolítico e com plataforma L'vov, a integração dos sinais em área e, ainda, o emprego de modificadores químicos, cujas finalidades incluem a diminuição da formação de compostos de íons interferentes e/ou dificultar volatilização do analito durante a pirólise da matriz (CORREIA; NOMURA; OLIVEIRA, 2003; SLAVIN, 1987).

Em termos instrumentais, na técnica de GF AAS é possível controlar fatores como a temperatura e o tempo durante a aplicação do programa de aquecimento da análise, que é composto por quatro etapas, a saber: secagem, pirólise, atomização e limpeza. A secagem é a primeira etapa do programa de aquecimento na qual se seleciona uma temperatura próxima ao ponto de ebulição do solvente no qual foram preparadas as soluções de padrões e amostra. Em seguida, tem-se a etapa de pirólise, que consiste na eliminação de concomitantes da matriz da amostra em temperatura elevada de forma que não ocorram perdas do analito. A próxima etapa é a atomização do analito, na qual a vazão do gás inerte é interrompida e a medida da absorbância gerada é realizada. Em seguida, a etapa de limpeza é aplicada em temperatura

maior que aquela utilizada na atomização cujos objetivos consistem na remoção de resíduos e consequente redução de efeitos de memória nas análises posteriores. Para garantir a volatilização da matriz e reduzir a perda de analitos por projeção de amostra, emprega-se normalmente uma rampa de aquecimento lenta nas etapas de secagem e pirólise e uma rampa mais rápida na etapa de atomização, o que promove melhorias na sensibilidade e na vida útil do tubo de grafite (CORREIA; NOMURA; OLIVEIRA, 2003; SLAVIN, 1987; WELZ, 1999). O programa de aquecimento deve ser otimizado para cada analito, em especial as condições de pirólise e atomização, visto que cada elemento em determinada matriz apresenta um comportamento térmico e um mecanismo de atomização característicos.

Já a técnica de emissão atômica em chama (F AES, do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*) baseia-se na excitação de átomos gasosos neutros através de uma chama. Ao retornar ao estado fundamental, os elementos atomizados emitem radiação em comprimentos de onda específicos que pode ser medida e ser relacionada diretamente com a quantidade de átomos envolvidos no processo. A fotometria de chama, baseada neste fenômeno, emprega geralmente uma chama de ar/GLP (Gás liquefeito de petróleo), cuja vazão em geral é fixa para cada equipamento, que é suficiente para excitar átomos gasosos com baixa energia de excitação, tais como Ca, K, Li e Na. A intensidade de cada linha gerada depende da probabilidade de ocorrência da transição eletrônica bem como da concentração do elemento a ser excitado (OKUMURA; CAVALHEIRO; NÓBREGA, 2004). Em relação às outras técnicas de emissão, como àquelas baseadas na atomização e excitação em plasmas, ela apresenta baixo custo, relacionado especialmente aos gases empregados no atomizador. Além disso, sua simplicidade operacional se adequa a análises de rotina e a técnica apresenta desempenho analítico satisfatório, geralmente com boa precisão e exatidão, bem como limites de detecção adequados para a maioria das aplicações analíticas que demandam a determinação dos elementos Ca, K, Li e Na (HARRIS, 2005; OKUMURA; CAVALHEIRO; NÓBREGA, 2004).

Nas técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma, a amostra é introduzida num plasma gasoso por meio da formação de aerossóis em um sistema de nebulização (no caso de amostras líquidas ou suspensões) e submetida à elevada temperatura do plasma. Ocorre então a evaporação do solvente e constituintes da matriz, seguida da dissociação dos átomos das suas espécies constituintes, que são atomizados e/ou ionizados e excitados. Ao retornar ao estado fundamental, esses elementos emitem radiação em comprimento de onda

específico de forma que a intensidade da radiação emitida se relaciona com a concentração das espécies na amostra, sendo que a detecção dos sinais pode ser sequencial ou simultânea, dependendo da configuração do sistema óptico (JANKOWSKI; RESZKE, 2010; ROSENKRANZ; BETTMER, 2000).

Detalhando um pouco sobre o atomizador, o plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado, ou seja, que contém moléculas neutras do gás em conjunto com elétrons livres e íons positivos em movimento, de modo que a transferência de energia pode ocorrer principalmente por aquecimento, condução e radiação. Para transformar um gás em plasma, é preciso fornecer energia para a produção de íons normalmente através de uma descarga elétrica. Na técnica de ICP OES, o gás argônio é normalmente utilizado para a formação do plasma e o aumento da energia da fonte de radiofrequência gera um aumento da energia cinética dos elétrons produzidos. Esta energia é então transferida através de colisões para outros átomos do gás gerando mais íons e elétrons, causando um efeito cascata capaz de formar e manter o plasma (GINÉ-ROSIAS, 1998). Como o plasma é mantido por gás argônio uma desvantagem das técnicas de emissão óptica que empregam este gás são os altos custos gerados nas análises devido ao elevado consumo (aproximadamente 20 L/min).

Neste sentido, a técnica de MIP OES ganha destaque dentre as técnicas de emissão óptica, já que utiliza ar comprimido para alimentar um gerador de nitrogênio que mantém um plasma de nitrogênio. Isso reduz consideravelmente os custos das análises embora a condição de temperatura desse plasma confira uma sensibilidade inferior àquela obtida com o plasma de argônio (JANKOWSKI; RESZKE, 2010). Nesta técnica, o plasma é formado de modo diferente, onde um magnetron produz as micro-ondas que possuem energia suficiente para promover a ionização dos átomos do gás. Um fluxo de argônio é utilizado para a ignição e é automaticamente substituído por um fluxo de gás nitrogênio que mantém o plasma. Assim como as técnicas de ICP OES e ICP-MS, a MIP OES permite a detecção multi-elementar, o que está associado ao aumento da frequência analítica quando comparadas às técnicas de absorção atômica. Além disso, os limites de detecção obtidos nas análises são menores que os obtidos na F AAS e comparáveis àqueles reportados com uso de ICP OES (GINÉ-ROSIAS, 1998; JANKOWSKI; RESZKE, 2010; WELZ, 1999).

Assim como em F AAS, a amostra é introduzida no plasma através de um nebulizador no qual se dá a formação do aerossol. Ao atingir o plasma, o aerossol se transforma em uma população de átomos, íons e moléculas e o sinal analítico é gerado. Normalmente são

empregados os nebulizadores pneumáticos cuja característica principal é que o gás atinja velocidade elevada para que ocorra queda na pressão e o líquido seja aspirado (GINÉ-ROSIAS, 1998; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

Nesta pesquisa, os teores de Ca, Fe e Mg foram monitorados em amostras de sal de uso culinário empregando a técnica F AAS, enquanto os teores de K e Na foram determinados por F AES. Para determinação dos teores de elementos metálicos em amostras de especiarias e temperos, empregou-se a F AAS para determinação de Ca, Fe e Mg, a GF AAS para determinação de Cr e a F AES para a determinação de K e Na. Já para as amostras de tecidos comestíveis de frango, os teores dos elementos Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni foram determinados por MIP OES. A seleção das técnicas empregadas baseou-se em fatores como disponibilidade, nível de concentração dos analitos nas amostras e composição das matrizes estudadas.

1.1.3 Preparos de Amostra

A maioria das determinações analíticas por espectrometria atômica é realizada na forma de soluções do analito, especialmente na forma aquosa. Algumas amostras são facilmente dissolvidas em água enquanto outras requerem condições de solubilização mais drásticas para a decomposição da matriz e extração dos analitos de interesse. Neste sentido, a escolha adequada do método de preparo da amostra em estudo é um passo crítico da sequência analítica e fundamental para a obtenção de dados confiáveis, com boa precisão e exatidão. A seleção do método de preparo da amostra depende de fatores únicos de cada matriz e deve considerar o estado físico da amostra, o pH, nível esperado de concentração dos analitos de interesse, a representatividade da amostragem, a técnica analítica empregada para a detecção, etc (KORN; MORTE; SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; KRUG, 2008).

Os métodos de preparo de amostra mais usuais para a determinação de analitos inorgânicos baseiam-se em procedimentos de dissolução ou decomposição da matriz através da utilização de reagentes alcalinos ou ácidos minerais. A seleção da combinação ácida e de sua pureza são fundamentais para a obtenção de uma solução de amostra adequada, compatível com a técnica empregada para a detecção. Para as técnicas com atomização em chama ou plasma é desejável que se obtenham soluções límpidas com acidez e viscosidade compatíveis com os padrões empregados para a calibração e com as peças internas dos espectrômetros (KORN; MORTE; SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; KRUG, 2008; TAYLOR; BARLOW; DAY; HILL *et al.*, 2017).

Para a decomposição de amostras sólidas para determinação de metais por espectrometria atômica, os procedimentos de dissolução ou decomposição geralmente empregam os ácidos nítrico (HNO_3), sulfúrico (H_2SO_4), perclórico (HClO_4), fluorídrico (HF) e clorídrico (HCl), combinados ou não, com possibilidade de adição de um agente oxidante auxiliar, como o peróxido de hidrogênio. Em geral, uma suspensão da amostra em ácidos é aquecida em sistema aberto, como as chapas de aquecimento e blocos digestores, ou em sistemas fechados, como os digestores micro-ondas (KORN; MORTE; SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; TAYLOR; BARLOW; DAY; HILL *et al.*, 2017).

Um método simples de preparo de amostras é a dissolução, que consiste na transformação de uma amostra sólida em uma solução geralmente aquosa que pode ou não envolver uma reação química. A dissolução da amostra pode ser utilizada com adição de solventes ou reagentes, como os ácidos e, em geral, são realizadas em temperatura ambiente, mas o aquecimento pode acelerar o processo. A solução obtida é geralmente diluída em água ou em um meio adequado para que a concentração do analito contemple a faixa de trabalho empregada para a calibração ou, ainda, para minimizar os efeitos de matriz (KRUG, 2008).

Para a determinação de macro e micronutrientes metálicos em amostras de sais de uso culinário, alguns trabalhos descrevem a dissolução da amostra em água ou empregando soluções diluídas de HNO_3 (AMORIM; FERREIRA, 2005; CHERAGHALI; KOBARFARD; FAEIZYA, 2010; EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014; MIN HWANG; YANG; HYUN KIM; JAMILA *et al.*, 2016; SHARIATIFAR; MOZAFFARI NEJAD; EBADI FATHABAD, 2017; SOYLAK; MURAT, 2011; SOYLAK; PEKER; TURKOGLU, 2008). Os autores reportaram a obtenção de soluções límpidas e adequadas para as determinações analíticas, com boa precisão e exatidão.

Para determinar os teores de diferentes elementos metálicos em amostras de sais culinários comercializadas em países da Ásia, Europa e América do Sul, Min Hwang e colaboradores recorreram à dissolução com adição de HNO_3 e agitação mecânica para o preparo das amostras e detecção por ICP-MS. (MIN HWANG; YANG; HYUN KIM; JAMILA *et al.*, 2016). Já Eftekhari e colaboradores empregaram apenas a dissolução em água para a determinação de metais em amostras de sais comercializadas no Irã sendo que neste trabalho foi empregada uma técnica eletroanalítica, a voltametria de onda quadrada (EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014).

A decomposição de amostras por via úmida é denominada digestão ou decomposição oxidativa. A digestão consiste na decomposição de compostos inorgânicos e orgânicos de uma matriz empregando, na maioria dos casos, ácidos minerais e aquecimento. Este procedimento pode ser realizado à pressão ambiente, em frascos abertos. Para isso utilizam-se chapas de aquecimento, blocos digestores ou banhos termostatizados (com ou sem agitação) (KRUG, 2008; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2006).

A digestão em frasco aberto pode ser aplicada para decomposição de vários tipos de amostras e apresenta como vantagem a flexibilidade quanto à massa de amostra empregada no procedimento. Além disso, apresenta um custo relativamente baixo quando comparado a sistemas mais robustos de digestão em frasco fechado. Contudo, o procedimento requer treinamento e supervisão constante do analista; geralmente consome grandes quantidades de reagentes, o que pode favorecer a pré-concentração de impurezas, favorece a perda de analitos voláteis, não é aplicável para amostras que apresentam compostos refratários em sua composição e normalmente o tempo gasto no procedimento é elevado (KRUG, 2008).

Já a digestão em frasco fechado, normalmente realizada em frascos de alta pressão (também chamados de bombas de alta pressão), se aplica a amostras de diferentes composições, incluindo as que possuem compostos refratários, apresenta boa frequência analítica, com tempos de digestão mais curtos que aqueles obtidas em sistemas abertos, consomem pequena quantidade de reagentes, reduzindo as contaminações, se adequa melhor à análise de elementos em nível traço, além de minimizar a perda de analitos voláteis. Contudo a massa de amostra utilizada é um limitante, já que pressões elevadas no frasco fechado podem ser geradas pela decomposição da matriz com o aquecimento aplicado (KRUG, 2008).

Atualmente, as digestões em frascos fechados são realizadas utilizando-se digestores micro-ondas. A literatura sobre isso é vasta e reporta métodos de decomposição para diferentes matrizes, incluindo os alimentos, como alternativa aos procedimentos mais "tradicionais" realizados em frascos abertos. A energia micro-ondas é um tipo de radiação eletromagnética, com comprimentos de onda entre 0,1 e 100 cm, de natureza não ionizante e que gera movimentação de espécies em solução através das rotações de dipolo e/ou migração de íons, causadas pela aplicação do campo magnético aplicado às soluções. A interação da radiação micro-ondas com as moléculas da solução causa um aquecimento no meio, o que facilita o ataque ácido e a decomposição da matriz, liberando os constituintes da amostra para a solução (ARRUDA; SANTELLI, 1997; NÓBREGA; PIROLA; FIALHO; ROTA *et al.*,

2012). Para a digestão assistida por radiação micro-ondas de alimentos, os reagentes mais utilizados são HCl, HNO₃ e H₂O₂, diluídos ou misturados em diferentes proporções (ARRUDA; SANTELLI, 1997).

Dentre os trabalhos mais recentes e citados na literatura para preparo de amostras de especiarias e temperos, visando a determinação de elementos metálicos, destaca-se a utilização dos ácidos HNO₃ e HCl concentrados, combinados ou não, com adição de H₂O₂ em alguns estudos. As decomposições são normalmente realizadas em digestores micro-ondas (BUA; ANNUARIO; ALBERGAMO; CICERO *et al.*, 2016; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO *et al.*, 2017; EL-RJOOB; MASSADEH; OMARI, 2008; KHAN; CHOI; NHO; HABTE *et al.*, 2014; KRAUSE; VIEIRA; CUNHA; BRANDAO *et al.*, 2020; NORDIN; SELAMAT, 2013; TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ *et al.*, 2018), em chapa de aquecimento (SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH *et al.*, 2016) ou em bloco digestor (LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010). Tais autores descrevem a obtenção de soluções límpidas e adequadas para determinação de diferentes analitos.

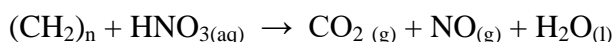
Para a determinação de elementos metálicos em carne de frango, a literatura apresenta métodos baseados na utilização dos ácidos HNO₃, HClO₄ e do reagente oxidante H₂O₂. As digestões são realizadas em chapa de aquecimento (MOTTALIB; ZILANI; SUMAN; AHMED *et al.*, 2018), em bloco digestor (RAMOS; PESTANA; CALDAS; AZEVEDO *et al.*, 2019) e em digestores micro-ondas (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDİ; OTAIF *et al.*, 2018; CAMPOS; OLIVEIRA; IZUMI; SOUSA, 2018; EL BAYOMI; DARWISH; ELSHAHAT; HAFEZ, 2018; GIRI; SINGH, 2019; HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018; KIM; KIM; SHIN; SON, 2016; MAJEWSKA; SZCZERBINSKA; LIGOCKI; BUCLAW *et al.*, 2016; YILMAZ-AKSU; TARHAN; SANDIKCI-ALTUNATMAZ; PASTACI-OZSOBACI *et al.*, 2018).

Alguns destes trabalhos reportam a utilização de reagentes diluídos para digestão em forno micro-ondas. Em 2015, Kim e colaboradores empregaram a mistura HNO₃: H₂O: H₂O₂ na proporção 5: 2: 4 para a digestão de amostras de carne de frango comercializadas na Coreia do Sul, com detecção de Cd e Pb por ICP-MS (KIM; KIM; SHIN; SON, 2016). A mesma mistura, mas nas proporções 5: 1: 1 (HNO₃: H₂O: H₂O₂), foi empregada para a digestão de músculo e vísceras de frango para determinação de diferentes elementos por ICP-MS (HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018).

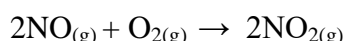
Além dos trabalhos citados para a carne de frango, a literatura apresenta trabalhos que empregam soluções ácidas diluídas para decomposição de outras matrizes que apresentam elevado teor de matéria orgânica (NÓBREGA; PIROLA; FIALHO; ROTA *et al.*, 2012) tais como café (CASTRO; SANTOS; SANTOS; COSTA *et al.*, 2009) como para soja e carne bovina (GONZALEZ; SOUZA; OLIVEIRA; FORATO *et al.*, 2009). As principais vantagens da utilização de soluções ácidas diluídas, especialmente as de HNO₃ que são as mais empregadas, consistem na redução dos custos e da geração de resíduos, além da obtenção de valores mais baixos para o branco analítico, importante para a determinação de elementos em baixas concentrações (GONZALEZ; SOUZA; OLIVEIRA; FORATO *et al.*, 2009; NÓBREGA; PIROLA; FIALHO; ROTA *et al.*, 2012).

Uma das justificativas para a eficiência das digestões assistidas por radiação micro-ondas é baseada no ciclo de regeneração do HNO₃ no frasco reacional, como mostrado nas equações 2 a 5 (CASTRO; SANTOS; SANTOS; COSTA *et al.*, 2009).

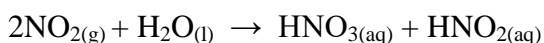
Equação 2 – Reação do ácido nítrico com a matéria orgânica



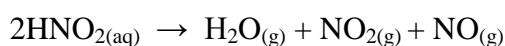
Equação 3 – Reação de transformação de óxido nítrico (NO) em dióxido de nitrogênio (NO₂)



Equação 4 – Reação de desproporcionamento de dióxido de nitrogênio (NO₂) e formação de ácidos nítrico (HNO₃) e nitroso (HNO₂)



Equação 5 – Reação de decomposição de ácido nitroso (HNO₂) em óxido nítrico (NO)



Nesse processo o ácido nítrico diluído reage com a matéria orgânica da amostra gerando óxido nítrico (NO) (Equação 2) que, em seguida, reage com o oxigênio presente na fase gasosa, gerando dióxido de nitrogênio (NO₂) (Equação 3). Este sofre uma reação de

desproporcionamento em meio aquoso gerando ácidos nítrico (HNO_3) e nitroso (HNO_2) (Equação 4). Este último se decompõe em óxido nítrico (NO) (Equação 5), que reage com o oxigênio da fase gasosa (Equação 3), formando assim mais ácido nítrico no meio reacional.

De acordo com Castro e colaboradores, a eficiência da digestão empregando as soluções diluídas de ácido nítrico depende ainda das reações que ocorrem na interface líquido-gás, além da formação de monóxido de nitrogênio (NO) e de sua conversão a dióxido de nitrogênio (NO_2) (CASTRO; SANTOS; SANTOS; COSTA *et al.*, 2009). A utilização de soluções diluídas de ácido nítrico foi avaliada para decomposição das amostras em estudo neste trabalho.

1.2 JUSTIFICATIVA

A carne de frango é um produto importante tanto econômica quanto nutricionalmente. Apesar de alguns estudos reportarem a determinação de elementos metálicos em músculo e vísceras de frango, a literatura ainda carece de informações acerca da influência da cocção sobre o teor de minerais destes alimentos, especialmente em relação à interação entre a matriz alimentícia e os utensílios empregados para o preparo. Poucos estudos avaliam o tipo de panela empregada para cocção, sendo que a maioria destes trabalhos empregaram soluções ácidas como simulacros para alimentos. Não foram encontrados estudos sobre a cocção de tecidos comestíveis de frango simulando condições domésticas, com adição de temperos e emprego de panelas de uso comum, feitas de materiais como alumínio polido, alumínio fundido e ferro.

A literatura ainda carece de informações sobre perfil de elementos metálicos em especiarias e temperos, bem como de estudos analíticos que permitam verificar se estes ingredientes tão utilizados podem influenciar a dieta fornecendo macro e micronutrientes importantes para a saúde. Além disso, também não foram encontrados estudos focados na determinação destes elementos em amostras de temperos prontos que, pela sua praticidade, são bastante utilizados pelos brasileiros.

Um aspecto relevante é a adoção de novos hábitos na culinária, a partir da popularização dos sais *gourmet*. Existe na mídia um grande volume de informações, aceito popularmente, a respeito dos benefícios relacionados ao consumo destes, que seriam fontes de outros minerais e que não estão presentes no sal refinado comum. A literatura científica sobre este assunto é escassa e não havendo estudos sobre amostras comercializadas no Brasil. Outro

ponto que carece de investigação é a possível adulteração de sal comum por adição de corantes alimentícios artificiais vermelhos. Este produto de adulteração seria então comercializado como o autêntico sal do Himalaia a preços abaixo do valor de mercado.

Neste contexto, este trabalho propõe a investigação dessas lacunas da literatura com objetivo de fornecer informações atualizadas sobre a composição mineral de sais, temperos e de tecidos comestíveis de frango preparada de modo doméstico, em diferentes panelas. Além disso, investigar a possível adulteração de amostras de sais por adição de corantes artificiais empregando diferentes técnicas analíticas.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho estão descritos a seguir.

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo geral determinar o conteúdo de metais em amostras de tecidos comestíveis de frango após cocção em diferentes tipos de panelas e os teores de metais em amostras de sais e temperos comercializados no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do trabalho incluem:

- a) desenvolver um método analítico para preparo de amostras de partes comestíveis de tecidos de frango, cruas e cozidas, empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e determinação dos teores de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni por MIP OES;
- b) simular, em laboratório, a cocção doméstica de amostras de partes comestíveis de tecidos de frango, em panelas de alumínio, de alumínio fundido e de ferro, para verificar se ocorre lixiviação dos metais Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni das panelas para as amostras;
- c) desenvolver um método analítico para preparo de amostras de ervas e temperos empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas para determinar os teores totais dos metais Ca, K, Fe, Mg, Na e Zn por F AAS e do metal Cr por GF AAS;
- d) desenvolver um método analítico para preparo de amostras de sal culinário empregando dissolução com ácidos diluídos para determinar os teores totais dos metais Ca, Fe e Mg por F AAS e dos metais K e Na por F AES;
- e) caracterizar amostras de sais *gourmet* empregando a Espectroscopia Raman e estabelecer métodos para detecção de fraudes/adulterações de amostras de sal por adição de corantes artificiais por Espectrofotometria UV-Vis e Espectroscopia Raman;

- f) otimizar as condições instrumentais das técnicas MIP OES, F AAS, GF AAS e F AES para determinar os teores dos metais nas amostras de ervas, sais, temperos e tecidos comestíveis de frango com boa confiabilidade;
- g) avaliar criticamente as possíveis contribuições do tipo de preparo de tecidos comestíveis de frango e o consumo de sais, ervas e temperos para a disponibilidade de minerais na alimentação.

3 METODOLOGIA

A metodologia empregada para a realização deste estudo está descrita nas seções a seguir.

3.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os materiais utilizados neste trabalho foram: micropipetas de volume variável LabMate Pro[®] (20-200, 100-1000 e 500-5000 μL), béqueres e balões volumétricos de volumes variados, tubos tipo Falcon de 15 e 50 mL, colheres de plástico descartáveis e barquinhas de teflon. Todos os materiais e vidrarias utilizados foram lavados com água e detergente neutro, descontaminados em solução de HNO_3 10 % (v/v) por 24h e enxaguados com água deionizada (Elga Veolia, PureLab Option-Q).

Empregou-se, também, soluções padrão monoelementares de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn 1000 mg L^{-1} (Qhemis High Purity, Jundiaí, SP, Brasil) para preparar as soluções usadas para calibração nas determinações por F AAS, F AES e/ou GF AAS. Uma solução padrão de Li 1000 mg L^{-1} foi preparada a partir do sal LiCl 99% (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Para as determinações por MIP OES empregou-se uma solução multi-elementar contendo Al, Ca, Cu, Fe, Mn and Ni (Sigma Aldrich, Berlim, Alemanha) 100 mg L^{-1} que foi utilizada para preparação das soluções usadas para a calibração.

Utilizou-se HNO_3 65% (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) destilado e padrões sólidos dos corantes artificiais E122 (sal dissódico 4- hidroxí-3- [(4-sulfo-1-naftil) azo]-naftaleno-1-sulfonato) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). e E124 (sal tri-sódico 7- hidroxí-8- (4-sulfo-1-naftil azo)-naftaleno 1,3-di-sulfonato) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

Para as cocções utilizou-se fogão doméstico (Atlas, INSTRUTHERM, gás de cozinha (Supergasbras, modelo P13), Termômetro digital infravermelho (INSTRUTHERM, TI 860), alho (Oishii[®]), sal de cozinha (Cisne[®]), óleo de soja (Soya[®]), panelas de alumínio polido, de alumínio fundido e de ferro artesanal e colher de pau, adquiridos no comércio local.

3.2 EQUIPAMENTOS

Para as análises realizadas no Laboratório Baccan de Química Analítica e na Central Analítica, ambos localizados no Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora (*Campus* Juiz de Fora), utilizou-se: balança analítica

(Metler Toledo, ME204), banho ultrassônico (Unique UltraSonic Cleaner, modelo USC 2800), destilador de ácido (Berghof, BSB-939-IR), digestor de amostras por energia micro-ondas (Berghof, modelo SpeedWave Four), Espectrômetro de Absorção Atômica nos modos forno e chama, correção de fundo usando lâmpada de deutério (Thermo Scientific, SOLAAR M5) para o modo chama e gases ar sintético, acetileno (H_2O_2) e óxido nitroso (N_2O) (White Martins), além de tubo de grafite com revestimento pirolítico (Photron PTY LTD).

As análises das amostras de tecidos comestíveis de frango foram realizadas em parceria com o Laboratório de Metrologia Química (LabMeQui), do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas, que dispõe de um Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Induzido por Micro-ondas (Agilent Technologies, Modelo MIP 4200) equipado com câmara ciclônica de passagem dupla e nebulizador de fluxo inerte (OneNeb). O gás nitrogênio empregado para geração do plasma foi produzido *in situ* por um compressor de ar (Agilent, 4107 Nitrogen Generator).

3.3 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS

A aquisição das amostras analisadas neste estudo foi realizada de acordo com o descrito nas seções seguintes.

3.3.1 Amostras de tecidos comestíveis de frango

As amostras de tecidos comestíveis de frango estudadas neste trabalho foram coração, fígado e moela. Aproximadamente 1.000 g de cada tipo de amostra foram adquiridas em dois açougues da cidade de Juiz de Fora, MG, totalizando 2.000 g de cada amostra. As amostras foram separadas em dois grupos: analisadas cruas (grupo 1) e cozidas em 3 diferentes tipos de panelas (grupo 2).

Foram selecionados 3 tipos de panelas comumente utilizadas pelos brasileiros para as cocções das amostras: panela de ferro (P1), panela de alumínio polido (P2) e panela de alumínio fundido (P3). Estas panelas foram adquiridas no comércio da cidade de Juiz de Fora, MG, e utilizadas exclusivamente para este estudo. Foram higienizadas com água e detergente neutro antes do uso, evitando o emprego de produtos abrasivos.

Os procedimentos de cocção das amostras foram realizados no Laboratório de Técnica Dietética, localizado no Departamento de Nutrição do Instituto de Ciências Biológicas da

Universidade Federal de Juiz de Fora, que possui uma infraestrutura adequada para este tipo de ensaio.

Para a panela de ferro, um tratamento prévio chamado “cura” foi realizado seguindo costumes do estado de Minas Gerais. Para isto, passou-se óleo vegetal no interior e no exterior da panela que foi levada ao forno convencional (pré-aquecido por 10 min) a 180 °C por 15 minutos, sendo este procedimento realizado durante uma semana. Após este período, a panela foi lavada novamente com água e detergente neutros, adicionou-se aproximadamente 1,5 L de água de torneira e levou-se para fervura por 15 minutos, procedimento realizado por 11 dias. Após estes procedimentos, com a panela seca, realizaram-se as cocções das amostras. As demais panelas não requereram nenhum tipo de tratamento prévio.

Aproximadamente 200 g de cada corte foram temperados com cerca de 4 g de sal de cozinha e 3 g de alho picado. Adicionou-se na panela aproximadamente 10 g de óleo de soja e aqueceu-se a mesma em fogão doméstico até a temperatura de 250 °C, aferida com termômetro digital infravermelho. Em seguida, adicionou-se a massa de corte cru (temperado) e procedeu-se com a cocção das amostras por 15 minutos, com duas adições de água de torneira, totalizando 140 mL. Após esta etapa, os cortes cozidos bem como líquidos residuais da cocção foram transferidos, sem raspagem do interior da panela, para um processador de alimentos doméstico e processados. O procedimento foi realizado em duplicatas autênticas para cada tipo de amostra.

Em seguida, foram armazenados em frascos plásticos descontaminados e congelados até o momento da secagem para posterior determinação dos analitos por espectrometria de emissão atômica após mineralização em meio ácido. Entre as cocções, realizadas em duplicata, as panelas foram lavadas com água e detergente neutro e secas à temperatura ambiente. Um branco da cocção foi preparado utilizando as mesmas quantidades de todos os ingredientes utilizados para a cocção das amostras e foi submetido às mesmas condições de estocagem, secagem, preparo e análise. Códigos para todas as amostras foram criados como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Código para as amostras de coração, fígado e moela cruas e cozidas nas panelas de ferro (P1), de alumínio polido (P2) e panela de alumínio fundido (P3) analisadas neste trabalho

Amostra	Tratamento	Código
Coração	Cru	HR
	P1	HP1
	P2	HP2
	P3	HP3
Fígado	Cru	LR
	P1	LP1
	P2	LP2
	P3	LP3
Moela	Crua	GR
	P1	GP1
	P2	GP2
	P3	GP3

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

As amostras cruas e cozidas foram levadas para secagem em estufa a vácuo na temperatura de 70 ± 1 °C por 72 h, moídas em processador de alimentos de uso doméstico e armazenadas em temperatura ambiente e em frascos de plástico, previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % v/v, até o momento do preparo.

3.3.2 Amostras de especiarias e temperos

Dada a grande variedade de especiarias e temperos disponíveis no mercado optou-se, neste trabalho, por selecionar aquelas mais utilizadas na culinária dos brasileiros (BRASIL, 2014). Foram adquiridas 3 amostras, de diferentes marcas e lotes, de cada uma das especiarias: alho frito (denominadas A1, A2 e A3), louro em folhas e em pó (denominadas L1, L2 e L3) e pimenta preta em pó (denominadas P1, P2 e P3), bem como 6 amostras de temperos industrializados, aqui denominados “temperos prontos” indicados para preparação de carnes (n=3; TC1, TC2 e TC3) e feijão (n=3; TF1, TF2 e TF3), também de diferentes marcas e totalizando 15 amostras.

Todas as amostras foram individualmente moídas em mixer de uso doméstico e armazenadas em temperatura ambiente em frascos plásticos previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % v/v, até o momento da aplicação do método. Não houve necessidade de secagem em estufa. Para as otimizações instrumentais e do método preparou-se uma amostra mistura, uma para as especiarias (ME) e outra para as amostras de temperos prontos (MTP), contendo cerca de 2g de cada uma das amostras adquiridas.

3.3.3 Amostras de sais *gourmet*

Para este estudo foram adquiridas 24 amostras de sais de uso culinário de diferentes tipos: refinado (SRF; n=1), sal marinho (SM; n=4), sal com teor reduzido de sódio ou sal *light* (SL; n=1), flor de sal (FS; n=1), sal grosso (SG; n=4), sal azul da Pérsia (SAZUL; n=2), sal negro do Havaí (SN; n=3) e sal rosa do Himalaia (SR; n=8). Estas amostras foram adquiridas no comércio brasileiro (cidades de Juiz de Fora, MG, e Rio de Janeiro, RJ) contemplando diferentes marcas e lotes. Uma das amostras de sal rosa do Himalaia foi adquirida na cidade de Orlando, estado da Flórida, Estados Unidos da América. Uma das amostras de sal marinho foi utilizada exclusivamente para os ensaios de adulteração simulada com corantes artificiais, a serem descritos posteriormente.

Como forma de pré-tratamento, todas as amostras foram individualmente moídas em mixer de uso doméstico e armazenadas em temperatura ambiente em frascos plásticos, previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % v/v, até o momento da aplicação do método. Neste caso, preparou-se também uma amostra mistura (MS), contendo aproximadamente 2g de cada amostra adquirida, que foi utilizada em todos os experimentos de otimização.

3.4 METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS COMESTÍVEIS DE FRANGO

As metodologias empregadas nos estudos das amostras de tecidos comestíveis de frango são descritas abaixo.

3.4.1 Determinação de alguns parâmetros de composição proximal

Alguns parâmetros da composição das amostras de tecidos comestíveis de frango (cruas e cozidas nas diferentes panelas), como umidade, proteínas e cinzas, também foram avaliados com base em métodos oficiais do Instituto Adolfo Lutz do Brasil (LUTZ, 2008). Os ensaios foram realizados em parceria com o Laboratório de Composição Química e Valor nutricional de Alimentos, localizado no Departamento de Nutrição do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, que possui uma infraestrutura adequada para este tipo de ensaio.

O teor de umidade foi determinado aquecendo 2,000 g de cada tipo de amostra em um forno a vácuo a 105 °C até peso constante. O teor de proteínas foi avaliado pelo método de

Kjeldahl. Para determinar o teor de cinzas, 1,000 g das amostras foram colocadas em um forno tipo mufla e a incineração foi realizada a 550 °C por 5 h. Todas as medidas foram feitas em duplicatas autênticas.

3.4.2 Preparo das amostras empregando digestão assistida por radiação micro-ondas

Para a digestão dos cortes crus e cozidos em meio ácido, alíquotas de aproximadamente 250 mg de tecido seco foram pesadas em frascos de PTFE e misturadas à 6,00 mL de uma solução 7,00 mol L⁻¹ de HNO₃ destilado. A mistura foi deixada em pré-digestão à temperatura ambiente por cerca de 1h. Em seguida, os frascos foram fechados e as amostras foram levadas para digestão assistida por radiação micro-ondas, seguindo o programa de aquecimento apresentado na Tabela 2. Obteve-se um digerido límpido e amarelado que foi diluído para 25,00 mL em água deionizada.

Tabela 2 – Programa de aquecimento da digestão das amostras de tecidos comestíveis de frango assistida por radiação micro-ondas

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo de rampa (min)	Tempo (min)	P* (%)
1	200	15	30	80
2	50	1	1	0

*Potência máxima aplicada = 1200 W.

Fonte: Adaptado de Manual de Métodos Berghof, 2013.

As concentrações dos analitos Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni foram determinados nas amostras de tecidos comestíveis de frango digeridas em parceria com o Laboratório de Metrologia Química (LabMeQui), do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, da Universidade Federal de Pelotas. O LabMeQui dispõe de um espectrômetro de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), utilizado para as determinações. Num momento anterior, os teores de Fe foram também determinados nestas amostras por F AAS no Laboratório Baccan. Por limitações técnicas a determinação dos outros analitos propostos não pôde ser realizada na ocasião, ficando o resultado obtido para Fe como um parâmetro para comparação das técnicas.

3.5 METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE ESPECIARIAS E TEMPEROS PRONTOS

Para a digestão das amostras de especiarias e temperos prontos, 200 mg de amostras foram pesadas em barquinhas de teflon descontaminadas, transferidas para os frascos de digestão de teflon e misturadas com 6,00 mL de HNO₃ concentrado (14 mol L⁻¹). Esta mistura foi deixada em pré-digestão *overnight* e, em seguida, levada para o digestor micro-ondas seguindo o programa de aquecimento da Tabela 3. Após resfriamento até temperatura ambiente, obteve-se um digerido límpido e amarelado, que foi diluído para 25,00 mL com água deionizada e armazenado em temperatura ambiente (~ 25 °C) até o momento das análises. Os analitos determinados nestas amostras foram Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn empregando a F AAS enquanto os teores de Cr foram determinados por GF AAS, após otimizações das condições instrumentais.

Tanto o tempo de pré-digestão quanto o programa de aquecimento apresentados foram otimizados monitorando, principalmente, as pressões geradas durante a digestão. Isto foi feito para minimizar danos ao equipamento bem como evitar perdas de amostra.

Tabela 3– Programa de aquecimento empregado para a digestão das amostras de especiarias e temperos assistida por radiação micro-ondas

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo de rampa (min)	Tempo (min)	Potência* (%)
1	145	5	5	60
2	170	5	10	70
3	190	5	15	80
4	50	1	10	0

*Potência máxima aplicada = 1200 W.

Fonte: Adaptado de Manual de Métodos Berghof, 2013.

3.6 METODOLOGIAS PARA ESTUDO DAS AMOSTRAS DE SAL CULINÁRIO

As metodologias empregadas no estudo das amostras de sal culinário estão descritas em detalhes nas próximas seções.

3.6.1 Preparo de Amostra para determinação de elementos metálicos por F AAS/F AES

Para determinações dos teores de elementos Ca, Fe, K, Mg e Na por espectrometria atômica, empregou-se a dissolução de aproximadamente 800 mg de amostra em 100,00 mL de solução 1% v/v de HNO₃ destilado. A solução foi levada para sonicação em banho ultrassônico por 5 minutos à temperatura de 25 °C para completar a dissolução. As soluções

foram armazenadas em frascos de plástico descontaminados sob refrigeração (10°C) até o momento das análises. O procedimento foi realizado em triplicata e o método foi avaliado através de figuras de mérito, a serem mencionadas posteriormente.

3.6.2 Método para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectrofotometria UV-Vis

Para investigar a presença de corantes artificiais em amostras comercializadas como sal do Himalaia recorreu-se ao método espectrofotométrico de absorção na região do UV-Vis. O procedimento descrito abaixo é baseado em métodos oficiais e recomendados pela *Food and Agriculture Organization* (FAO, 1999) das Nações Unidas e pelo Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008) para determinação de corantes artificiais em diferentes matrizes.

A seleção dos corantes investigados foi feita por meio de testes preliminares, nos quais prepararam-se misturas individuais de diferentes tipos de corantes, naturais e/ou artificiais, com uma amostra de sal marinho grosso (branco). As misturas adulteradas em laboratório foram comparadas visualmente com as amostras adquiridas no comércio local. As amostras adulteradas em laboratório que apresentavam coloração semelhante às comerciais foram separadas e os corantes utilizados para a adulteração foram selecionados para os estudos posteriores (UV-Vis e espectroscopia Raman), nas concentrações utilizadas para a adulteração.

Os corantes selecionados para a adulteração foram o E122 e o E124. A adulteração em laboratório foi realizada separadamente para cada corante e, para isto, alíquotas da amostra de sal marinho grosso (branco) foram moídas em almofariz de ágata com o corante, na concentração de 50 mg de corante/100g de sal. Estas amostras foram denominadas AD11 e AD12, adulteradas com E122 e E124, respectivamente,

Os analitos investigados foram os corantes E122 e E124 cujos espectros eletrônicos de absorção foram coletados em cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e na faixa de comprimentos de onda entre 350 e 700 nm. Curvas analíticas para calibração foram preparadas na faixa de 0,50-20 mg L⁻¹, para cada um dos corantes, em meio de solução tampão de acetato de amônio 0,02 mol L⁻¹ (pH = 5,6). A absorbância das soluções preparadas foi medida nos comprimentos de onda de máxima absorção, para cada um dos corantes analisados (E122 = 515 nm e E124 = 507 nm) bem como para a solução do branco (solução tampão de acetato de amônio 0,02 mol L⁻¹), e empregadas para construção das curvas

analíticas. As amostras de sal rosa foram preparadas a partir da dissolução de 100 mg de amostra em 100 mL de solução de acetato de amônio $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{pH} = 5,60$. Este procedimento foi realizado em triplicata e as absorvâncias destas soluções foram medidas nas mesmas condições dos padrões da curva analítica.

3.6.3 Caracterização das amostras de sal por Espectroscopia Raman

Para a caracterização molecular das amostras de sal recorreu-se à Espectroscopia Raman. Todos os espectros foram coletados na faixa de números de onda entre $3500\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} e 500 varreduras, sem necessidade de preparo de amostra.

Os espectros FT-Raman das amostras de sal rosa do Himalaia e sal negro do Havaí foram coletados, após moagem em almofariz e pistilo de ágata, com potência do laser igual a 300 mW. Não foram observados modos ativos no Raman para as demais amostras coletadas neste trabalho. Os dados coletados foram comparados com a literatura, isto é, com espectros padrões de substâncias inorgânicas esperadas neste tipo de amostra; assim foi possível identificar os componentes principais dessas amostras. O software Origin Pro 8.0 foi utilizado para construção dos espectros coletados experimentalmente.

3.6.4 Método para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectroscopia Raman

Para verificar se esta técnica espectroscópica pode ser empregada como ferramenta de detecção dos corantes artificiais referidos, os espectros dos corantes sólidos, das amostras adulteradas em laboratório (AD11 e AD12) e das 8 amostras de sal rosa comerciais adquiridas foram coletados na faixa de números de onda entre $3500\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} e 500 varreduras, sem necessidade de preparo de amostra.

Para coleta dos espectros dos padrões sólidos dos corantes E122 e E124 a potência aplicada do laser foi igual a 20 mW. Os espectros das amostras AD11 e AD12, produzidas em uma adulteração simulada em laboratório, como descrito no item 3.5.2, foram coletados com potência do laser igual a 700 mW. A potência do laser aplicada foi selecionada com base na maior relação sinal/ ruído de modo que não houvesse degradação das amostras.

Tanto os espectros dos corantes como os espectros das amostras adulteradas foram comparados com aqueles obtidos para as 8 amostras de sal rosa adquiridas neste projeto.

Todos os dados coletados foram comparados com a literatura. O software Origin Pro 8.0 foi utilizado para construção dos espectros coletados.

3.7 CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS

As condições instrumentais empregadas para todas as análises propostas neste estudo foram otimizadas e estão descritas a seguir.

3.7.1 Condições instrumentais para as determinações de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni nas amostras de tecidos comestíveis de frango por MIP OES

As determinações de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Zn foram determinadas nas amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas por MIP OES. Os analitos foram selecionados em função da falta de informações a respeito, segundo pesquisa na literatura e, também, considerando-se aspectos nutricionais e de segurança alimentar considerados importantes. As medidas foram realizadas em triplicatas autênticas com modo de detecção sequencial, tempo de integração igual a 3 s e velocidade da bomba peristáltica de 15 rpm. A vazão do gás do plasma foi de 20,0 L min⁻¹ e a vazão do gás auxiliar foi de 1,5 L min⁻¹. Parâmetros instrumentais como a vazão de nebulização e a posição de visualização do plasma foram otimizadas automaticamente, para cada analito separadamente, usando o software do espectrômetro (MP Expert). As condições otimizadas são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Condições operacionais para determinação de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni nas amostras de tecidos comestíveis de frango por MIP OES

Analito	Comprimento de onda (nm)	Posição de visualização do plasma (mm)	Vazão de nebulização (L min ⁻¹)
Al	396,152	-10	1,00
Ca	393,366	10	0,60
Cu	324,754	0	0,60
Fe	371,993	0	0,75
Mn	403,076	0	0,85
Ni	352,424	0	0,60

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A faixa de trabalho empregada para a calibração instrumental para todos os analitos determinados por MIP OES foi de 0,50 – 5,0 mg L⁻¹, com soluções preparadas em meio de HNO₃ 0,5 % v/v.

3.7.2 Condições instrumentais para as determinações de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn nas amostras de especiarias, sais e temperos por F AAS, F AES ou GF AAS

Para a seleção dos analitos a serem determinados nas amostras de especiarias, sais e temperos prontos, as soluções aquosas da amostra MS e os digeridos das amostras ME e MTP foram inicialmente analisadas em modo de varredura por ICP-MS, em parceria com a empresa Agilent Technologies Brasil. Com os resultados iniciais, foram selecionados os analitos a serem monitorados bem como a técnica de detecção disponível, em função do nível de concentração dos metais nas amostras.

Para as amostras de especiarias e temperos prontos, os analitos selecionados foram Ca, Fe, Mg e Zn, com detecção por F AAS, Cr com detecção por GF AAS e K e Na, determinados por F AES. Para as amostras de sais, os analitos monitorados foram Ca, Fe e Mg com detecção por F AAS enquanto K e Na foram detectados por F AES.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros instrumentais otimizados para as determinações dos analitos por espectrometria de absorção atômica, tais como comprimento de onda, fenda espectral, corrente da lâmpada de catodo oco, altura do queimador e gases empregados. As condições para o modo chama foram otimizadas de modo automático pelo software do equipamento, empregando uma solução padrão dos analitos na concentração de 5,0 mg L⁻¹ preparada em HNO₃ 2 % v/v. Para as determinações de Cr por GF AAS, os parâmetros instrumentais apresentados na Tabela 5 foram selecionados com base nas informações do manual do espectrômetro.

Tabela 5 – Parâmetros Instrumentais para determinação de Ca, Fe, Mg e Zn por F AAS e de Cr por GF AAS

Analito	Comprimento de Onda (nm)	Fenda Espectral (nm)	Corrente da Lâmpada (mA)	Altura do Queimador (mm)	Gases	Vazão de combustível ou gás de purga (L min ⁻¹)
Ca	422,7	0,5	6	11,0	N ₂ O/ C ₂ H ₂	4,0
Cr	357,9	0,2	6	-	Ar	0,2
Fe	248,3	0,2	6	7,0	ar/ C ₂ H ₂	1,2
Mg	285,2	0,5	4	7,0	ar/ C ₂ H ₂	1,2
Zn	213,9	0,2	5	7,0	ar/ C ₂ H ₂	1,1

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nas determinações por F AAS, os parâmetros otimizados foram a altura do queimador e a vazão de gás combustível (C_2H_2) de forma a obter o melhor sinal analítico. Para as determinações de Cr por GF AAS, alguns parâmetros do programa de aquecimento foram otimizados de modo univariado. Neste caso, o sinal analítico e o perfil de absorção do elemento foram monitorados para seleção das temperaturas ótimas de pirólise e de atomização.

Para as determinações de K e Na por fotometria de chama, empregou-se como gás combustível o GLP na vazão fixa de 5 mL min^{-1} e avaliou-se a necessidade do uso de padrão interno empregando uma solução do elemento Li na concentração de 5 mg L^{-1} nas soluções de padrões de calibração e amostras.

As faixas de trabalho foram selecionadas com base na faixa de trabalho linear dos equipamentos e nas concentrações dos analitos nas amostras, de modo que as concentrações nas soluções de leitura estivessem próximas ao meio das curvas, onde os erros são menores (BRERETON, 2003). Nas determinações dos analitos nas amostras de especiarias e temperos prontos, as faixas avaliadas foram: Ca, Fe e Zn: $0,25\text{-}4,0 \text{ mg L}^{-1}$; Mg: $0,060 - 0,50 \text{ mg L}^{-1}$; Cr: $1,0 - 10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; K $5,0 - 30 \text{ mg L}^{-1}$ e Na: $2,0 - 12 \text{ mg L}^{-1}$. Para as análises das amostras de sal culinário, as faixas de trabalho avaliadas para os analitos selecionados foram: Ca: $0,20 - 1,0 \text{ mg L}^{-1}$; Fe: $0,25 - 4,0 \text{ mg L}^{-1}$; Mg: $0,060 - 0,50 \text{ mg L}^{-1}$; K e Na: $5,0 - 30 \text{ mg L}^{-1}$. Todas as soluções empregadas para calibração foram preparadas em meio de HNO_3 2 % v/v.

3.8 AVALIAÇÃO DAS FIGURAS DE MÉRITO DOS MÉTODOS PROPOSTOS

A exatidão dos métodos propostos neste trabalho foi avaliada seguindo as recomendações da IUPAC (IUPAC, 2014; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002) (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*).

Para avaliar a exatidão dos resultados obtidos por MIP OES, os teores de Fe obtidos por esta técnica foram comparados, por meio de testes estatísticos, com aqueles obtidos por F AAS para algumas amostras selecionadas aleatoriamente (THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

Para avaliar a exatidão do método de digestão em micro-ondas para as amostras de especiarias e temperos prontos, empregaram-se ensaios de adição e recuperação de analitos em dois níveis: Nível 1: Ca, Fe, Mg e Zn: $0,25 \text{ mg L}^{-1}$, Cr: $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, K e Na: $5,0 \text{ mg L}^{-1}$; Nível 2: Ca, Fe, Mg e Zn: $4,0 \text{ mg L}^{-1}$, Cr: $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, K e Na: 30 mg L^{-1} . A exatidão foi

avaliada também pela análise de uma amostra de material de referência certificado (NIST 1573a-folhas de tomate). Todos os procedimentos foram realizados em triplicatas autênticas. Nas determinações de Na e K, tanto para as amostras de sal quanto para as amostras de especiarias e temperos prontos, avaliou-se a necessidade do uso de padrão interno (Li) para correção de variações instrumentais.

Para as amostras de sal também não existe material de referência certificado conhecido e a exatidão foi avaliada através de ensaios de adição e recuperação de analitos, cujos níveis foram selecionados com base na faixa de trabalho empregada para a calibração: Nível 1: Ca 0,20 mg L⁻¹, Fe 0,25 mg L⁻¹, K e Na 5,0 mg L⁻¹, Mg 0,060 mg L⁻¹; Nível 2: Ca 0,40 mg L⁻¹, Fe 1,0 mg L⁻¹, K e Na 10 mg L⁻¹, Mg 0,20 mg L⁻¹; Nível 3: Ca 0,80 mg L⁻¹, Fe 2,0 mg L⁻¹, K e Na 20 mg L⁻¹, Mg 0,40 mg L⁻¹. Neste caso, recorreu-se também à calibração por adição de padrão para confirmar a existência ou não dos efeitos de matriz, que podem também ser avaliados por meio dos resultados dos testes de adição e recuperação.

No caso das determinações dos corantes por Espectrofotometria UV-Vis, avaliou-se a exatidão através da análise das amostras de sal marinho grosso fortificada com os corantes sólidos, separadamente para cada corante, nos níveis de 50mg/100g de sal (vide item 3.5.2).

Em todos os métodos propostos a precisão foi avaliada através do cálculo do desvio-padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*). Os limites de detecção (LOD, do inglês *Limit of Detection*) e quantificação (LOQ, do inglês *Limit of Quantification*) instrumentais foram calculados seguindo as orientações da IUPAC (IUPAC, 2014; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002), onde $LOD = 3sB/S$ e $LOQ = 10sB/S$, em que sB é o desvio-padrão de 10 leituras dos brancos dos métodos e S é o coeficiente angular das curvas analíticas. Os valores de LOD e LOQ dos métodos foram obtidos através da multiplicação dos valores instrumentais para estes parâmetros por um fator de correção, que consiste na razão entre (volume de solução) / (massa de amostra utilizada). Utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) para avaliar as faixas de trabalho e a linearidade das curvas empregadas para calibração/quantificação dos analitos por F AAS, GF AAS e F AES. Naturalmente, todos os pressupostos (homocedasticidade, normalidade e independência, esta garantida pelas análises realizadas em maneira aleatória por sorteio) relacionados à estatística empregada na avaliação dos dados foram também verificados (NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007).

Em F AAS e GF AAS, é comum estimar a sensibilidade dos métodos através do cálculo da concentração e da massa característica, respectivamente. Estes valores correspondem à concentração/massa de analito que gera 1% de absorvância, ou seja, um sinal analítico igual a 0,0044 unidades de medida. Para estimar esses valores, basta dividir este valor pelo coeficiente angular da curva analítica e, no caso da massa característica, é preciso multiplicar o valor encontrado pelo volume de amostra introduzido no atomizador, que neste trabalho foi 20 μL (WELZ, 1999).

4 RESULTADOS

A seguir são apresentados os resultados obtidos neste estudo.

4.1 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA COCÇÃO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS COMESTÍVEIS DE FRANGO

Os resultados relativos à avaliação da cocção das amostras de tecidos comestíveis de frango nas diferentes panelas são descritos abaixo.

4.1.2 Composição Proximal

A Tabela 6 apresenta os teores de cinzas, proteínas e umidade determinados para as amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas nas diferentes panelas. Entre as cocções o maior desvio-padrão relativo (RSD) observado foi de 17 %, valor aceitável em função do nível de concentração dos analitos em estudo (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002).

Tabela 6 – Teores de cinzas, proteínas e umidade obtidos para as amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas nas diferentes panelas

Amostra	Cinzas ^a % m/m	Proteínas ^a % m/m	Umidade ^a %
HR	0,85 ± 0,07	13 ± 1	70 ± 3
HP1	2,8 ± 0,1	15 ± 1	52 ± 1
HP2	2,5 ± 0,1	14 ± 1	57 ± 1
HP3	2,7 ± 0,1	17 ± 1	53 ± 1
LR	1,1 ± 0,1	14 ± 1	77 ± 3
LP1	3,1 ± 0,1	18 ± 1	57 ± 1
LP2	2,5 ± 0,4	18 ± 1	63 ± 1
LP3	3,0 ± 0,1	20 ± 1	59 ± 1
GR	0,73 ± 0,05	14 ± 1	79 ± 1
GP1	3,0 ± 0,1	18 ± 1	63 ± 1
GP2	3,3 ± 0,1	18 ± 1	63 ± 1
GP3	2,7 ± 0,1	17 ± 1	67 ± 1

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($t_{\alpha=0,05; n-2}$) = 6,314.

HR = Coração cru; HP1 = Coração cozido na panela de ferro (P1), HP2= Coração cozido na panela de alumínio polido (P2). HP3= Coração cozido na panela de alumínio fundido (P3). LR = Fígado cru; LP1 = Fígado cozido na panela de ferro (P1), LP2= Fígado cozido na panela de alumínio polido (P2). LP3= Fígado cozido na panela de alumínio fundido (P3). GR = Moela crua; GP1 = Moela cozida na panela de ferro (P1), GP2= Moela cozida na panela de alumínio polido (P2). GP3= Moela cozida na panela de alumínio fundido (P3).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os teores desses parâmetros de composição centesimal foram comparados com aqueles reportados pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, a TACO. Esta tabela é o resultado do projeto, coordenado pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA) da Universidade Federal de Campinas com financiamento do governo federal, teve como objetivo levantar dados sobre a composição dos principais alimentos consumidos pelos brasileiros, como a tecidos comestíveis de frango. Os dados gerados naquele projeto são usados por nutricionistas, profissionais da saúde, Ministério da Saúde e servem de base para composição de dietas balanceadas e rotulagem de alimentos (TACO, 2011).

Os teores de cinzas, proteínas e umidade determinados para as amostras de coração e fígado de frango estão de acordo com os dados relatados na Tabela TACO (TACO, 2011). Contudo, os teores destes parâmetros nutricionais para amostras de moela de frango não foram reportados nesta Tabela e também não foram encontrados dados semelhantes na literatura. Neste sentido, os resultados gerados para este tipo de tecidos comestíveis de frango neste estudo podem ser empregados na área nutricional.

O teor de umidade determinado para a amostra de coração cru (HR) foi igual a 70 %, enquanto os teores para as amostras cozidas foram iguais a 52 %, 57 %, 53 % para HP1, HP2 e HP3, respectivamente. Para as amostras de fígado, o teor de umidade para a amostra crua (LR) foi de 77 % e para as amostras LP1, LP2 e LP3, os teores encontrados foram iguais a 57 %, 63 % e 59 %, respectivamente. Para a amostra de moela crua (GR) o teor de umidade obtido foi de 79 % e para as amostras cozidas nas diferentes panelas (GP1, GP2, GP3), o teor de umidade variou de 63 % (GP1, GP2) a 67 % (GP3). A maior diferença (redução) do teor de umidade (15 %) foi observada entre a amostra crua (GR) e cozida na panela de alumínio fundido (GP3).

Em relação aos teores de proteína, o teor obtido para a amostra de coração crua (HR) foi de 13 % m/m e para as amostras cozidas nas panelas de ferro (HP1), alumínio polido (HP2) e alumínio fundido (HP3) foram iguais a 15 % m/m, 14 % m/m e 17 % m/m, respectivamente. Para a amostra de fígado de frango cru (LR), o teor de proteína determinado foi de 14 % m/m, para as amostras LP1, LP2 o teor foi de 18 % m/m e para LP3, o teor de proteína determinado foi igual 20 % m/m. Já para as amostras de moela, o teor encontrado para proteínas na amostra crua foi equivalente a 14 % m/m, pra as amostras GP1, GP2 o teor foi de 18 % m/m e para a amostra GP3, o teor foi de 17 % m/m. Entre as diferentes panelas, a maior diferença

observada para os teores de proteína foi de 18 % para a amostra de coração e para as amostras de fígado e moela, as maiores diferenças foram de 10 % e 6 %, respectivamente.

Um aumento dos teores de cinzas foi observado após a cocção de todas as amostras nas diferentes panelas. Para a amostra de coração, o maior aumento (~230 %) do teor de cinzas em relação à amostra crua foi observado após cocção da amostra na panela de ferro. Um comportamento similar foi observado para a amostra de fígado e após a cocção na panela de ferro, houve um aumento de aproximadamente 180 % do teor de cinzas em relação à amostra crua. Já para a amostra de moela, o maior aumento (~ 350 %) do teor de cinzas foi observado após a cocção da amostra na panela de alumínio polido. Entre as diferentes panelas, a maior diferença observada para os teores de cinzas foi de 19 % para a amostra de fígado e para as amostras de coração e moela, as maiores diferenças foram de 11 % e 18 %, respectivamente.

Como conclusão geral, a cocção das amostras de coração, fígado e moela promove uma pequena redução do teor de umidade e um aumento dos teores de proteína e de cinzas, independente do tipo de panela empregada. De acordo com a literatura, o aumento dos teores de cinzas pode ser justificado pela incorporação do meio de cozimento à carne e perda de água. Além disso, como o cozimento das amostras promove uma redução dos níveis de umidade, ocorre um aumento da concentração de matéria seca, o que justifica o aumento dos teores de cinzas e proteínas (GOKOGLU; YERLIKAYA; CENGIZ, 2004; ROSA; BRESSAN; BERTECHINI; FASSANI *et al.*, 2006).

Para complementar os resultados obtidos para parâmetros de composição proximal, os teores de alguns elementos metálicos como Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni também foram investigados nas amostras de coração, fígado e moela de frango, cruas e cozidas nas diferentes panelas. Os resultados obtidos são apresentados nas seções seguintes.

4.1.3 Método de preparo das amostras empregando digestão assistida por radiação micro-ondas e determinação de elementos minerais por MIP OES

Os resultados referentes às determinações de elementos minerais por MIP OES nas amostras de tecidos comestíveis de frango são descritos nas seções seguintes.

4.1.3.1 Figuras de mérito

Para avaliar o desempenho da detecção dos metais nas amostras de tecidos comestíveis de frango, os teores de Fe obtidos por F AAS e MIP OES foram comparados para algumas

amostras, selecionadas aleatoriamente, através da utilização do teste t-pareado de Student a 95 % de confiança. Os teores de ferro, expressos como intervalos de confiança, obtidos pelas duas técnicas de detecção empregadas são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Teores de Fe obtidos nas amostras de tecidos comestíveis de frango obtidos por F AAS e MIP OES

Amostra	Teor de Fe ^a mg kg ⁻¹	
	F AAS	MIP OES
GR	141 ± 11	143 ± 8
GP1	115 ± 6	109 ± 6
HR	120 ± 8	138 ± 2
HP1	115 ± 1	129 ± 1
LR	338 ± 15	321 ± 9
LP1	365 ± 10	464 ± 2

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0.05$; $n=3$).

GR = Moela crua; GP1 = Moela cozida na panela de ferro (P1). HR = Coração cru; HP1 = Coração cozido na panela de ferro (P1). LR = Fígado cru; LP1 = Fígado cozido na panela de ferro (P1).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para comparação das concentrações de duas ou mais amostras independentes, como os dados deste estudo, as variações das amostras são combinadas em uma única estimativa conjunta. Como esta estimativa possui um número maior de graus de liberdade, o intervalo de confiança é mais estreito e o teste t-pareado de Student é mais sensível, ou seja, é capaz de detectar pequenas diferenças sistemáticas entre as amostras (BRERETON, 2003; NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007). Os resultados do teste estatístico aplicado indicaram que não existem evidências de diferenças estatisticamente significativas entre as médias obtidas pelas duas técnicas, visto que o valor da estatística ($t_{\text{calculado}} = 0,7393$) é menor que o valor tabelado ($t_{\text{tabelado}} (5; 0.025) = 2,571$) a 95 % de confiança (BRERETON, 2003; NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

Nos tecidos comestíveis de frango, o ferro é encontrado numa forma complexa, está no centro de um anel tetrapirrólico denominado heme. O grupo heme é encontrado em proteínas como a hemoglobina e a mioglobina, por exemplo. (ABBASPOUR; HURRELL; KELISHADI, 2014; LA GUARDIA; GARRIGUES, 2015a).

Espera-se que outros elementos metálicos encontrados nos tecidos comestíveis de frango também estejam ligados a moléculas de proteínas (LA GUARDIA; GARRIGUES,

2015b), como é o caso do ferro heme. Por outro lado, no caso da migração dos metais dos materiais das panelas para os alimentos, espera-se que estejam numa forma química mais simples, na forma de íons por exemplo. Neste sentido, assumiu-se que a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas seja suficiente para romper as ligações químicas entre os metais e as moléculas às quais estejam ligados, levando a uma extração e/ou solubilização completa dos elementos metálicos das amostras.

Além disso, nas técnicas de emissão é comum utilizar uma condição de compromisso, selecionada com base no sinal analítico de alguns constituintes da amostra, como o Fe neste caso. Essa condição geralmente fornece um sinal analítico adequado para outros elementos metálicos (NUNES; SOUSA; SILVA; PEIXOTO *et al.*, 2013; SOUSA; BACCAN; CADORE, 2005). Adicionalmente, os resultados obtidos neste trabalho para os metais determinados foram avaliados com uma abordagem exploratória e comparativa, na qual as informações mais relevantes são as grandezas das diferenças e não os valores em si.

A Tabela 8 apresenta alguns parâmetros de mérito obtidos para avaliação do desempenho do método proposto por MIP OES, como equações das curvas analíticas, linearidade expressa em função do coeficiente de determinação (R^2) e limites de detecção e quantificação.

Tabela 8 – Equações das curvas analíticas, coeficientes de determinação (R^2) e limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) por MIP OES

Analito	Equação da Curva	R^2	LOD mg kg ⁻¹	LOQ mg kg ⁻¹
Al	I = 55805.31 x + 0.05	0,99180	0,054	0,18
Ca	I = 897791.07 x - 82.85	0,99550	0,0033	0,011
Cu	I = 224120.80 x + 9.32	0,99934	0,013	0,045
Fe	I = 19227.63 x - 7.88	0,99949	0,16	0,52
Mn	I = 78821.37 x + 0.10	0,99905	0,038	0,13
Ni	I = 38104.14 x + 1.90	0,99938	0,079	0,26

I = intensidade do sinal (Contagens/s); X = concentração mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os valores obtidos para o coeficiente de determinação (R^2) para todos os analitos ficaram próximo de 1, indicando boa linearidade na faixa de calibração estudada (BRERETON, 2003; NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007; WOOD, 1999). Adicionalmente, os valores obtidos para os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) do método variaram entre 0,003 e 0,16 mg kg⁻¹ e de 0,011 a 0,52 mg kg⁻¹, respectivamente, mostrando

que o método tem uma detectabilidade adequada para a determinação de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni nas amostras de tecidos comestíveis de frango. Os valores de RSD entre as cocções ficaram abaixo de 23 %, indicando boa precisão para os níveis de concentração estudados (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002).

A utilização de soluções diluídas de ácido nítrico para a decomposição de amostras é interessante para análises multi-elementares de rotina, além de ser compatível com os princípios da química verde (ANDRADE KORN; DA BOA MORTE; BATISTA SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; CASTRO; SANTOS; SANTOS; COSTA *et al.*, 2009; KORN; MORTE; SANTOS; CASTRO *et al.*, 2008; NÓBREGA; PIROLA; FIALHO; ROTA *et al.*, 2012). Além disso, usualmente são observados baixos valores para o branco analítico podendo resultar na obtenção de baixos limites de quantificação, o que é interessante para determinação de elementos em nível traço e para fins regulatórios. Embora a eficiência do uso de soluções diluídas de HNO₃ para digestão de diferentes amostras seja bem explicada na literatura (CASTRO; SANTOS; SANTOS; COSTA *et al.*, 2009; GONZALEZ; SOUZA; OLIVEIRA; FORATO *et al.*, 2009; NÓBREGA; PIROLA; FIALHO; ROTA *et al.*, 2012), não foram encontrados trabalhos em que este tipo de preparo foi aplicado em amostras de tecidos comestíveis de frango cozida com temperos e adição de óleo de soja em diferentes panelas, uma matriz complexa, como é reportado neste estudo.

4.1.3.2 Aplicação do método e discussão dos resultados

O método foi aplicado para todas as amostras de tecidos comestíveis de frango, cruas e cozidas nas diferentes panelas. A Tabela 9 apresenta os teores dos metais Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni, expressos como intervalos de confiança, determinados nas diferentes amostras com detecção por MIP OES.

Tabela 9 – Teores de Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni determinados nas amostras de tecidos comestíveis de frango cruas e cozidas após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e detecção por MIP OES

(N=3)

Amostra	Concentração ^a mg kg ⁻¹					
	Al	Ca	Cu	Fe	Mn	Ni
HR	52 ± 1	459 ± 15	10 ± 1	138 ± 2	2,5 ± 0,5	6,3 ± 0,1
HP1	< LOD ^b	167 ± 2	9,4 ± 0,3	129 ± 1	1,4 ± 0,1	< LOD ^c
HP2	< LOD ^b	145 ± 23	10 ± 1	120 ± 6	0,73 ± 0,13	< LOD ^c
HP3	< LOD ^b	188 ± 4	11 ± 1	122 ± 11	0,80 ± 0,04	< LOD ^c
LR	12 ± 1	596 ± 20	16 ± 1	321 ± 9	7,7 ± 0,5	< LOD ^c
LP1	< LOD ^b	326 ± 21	14 ± 1	464 ± 2	9,9 ± 0,1	< LOD ^c
LP2	3,8 ± 0,9	211 ± 16	12 ± 1	224 ± 6	8,0 ± 0,1	< LOD ^c
LP3	20 ± 2	304 ± 22	13 ± 1	313 ± 3	8,6 ± 0,3	< LOD ^c
GR	55 ± 1	554 ± 19	4,1 ± 0,1	153 ± 8	3,7 ± 0,1	6,5 ± 0,1
GP1	1,2 ± 0,2	331 ± 19	4,4 ± 0,3	109 ± 6	2,5 ± 0,1	< LOD ^c
GP2	< LOD ^b	263 ± 7	4,2 ± 0,2	87,4 ± 7,0	1,8 ± 0,1	< LOD ^c
GP3	< LOD ^b	231 ± 8	11 ± 1	142 ± 4	1,1 ± 0,2	< LOD ^c

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0.05$; $n=3$).

^bLOQ para Al = 0,18 mg kg⁻¹.

^cLOQ para Ni = 0,26 mg kg⁻¹.

HR = Coração cru; HP1 = Coração cozido na panela de ferro (P1), HP2= Coração cozido na panela de alumínio polido (P2). HP3= Coração cozido na panela de alumínio fundido (P3). LR = Fígado cru; LP1 = Fígado cozido na panela de ferro (P1), LP2= Fígado cozido na panela de alumínio polido (P2). HP3= Fígado cozido na panela de alumínio fundido (P3). GR = Moela crua; GP1 = Moela cozida na panela de ferro (P1), GP2= Moela cozida na panela de alumínio polido (P2). GP3= Moela cozida na panela de alumínio fundido (P3).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os teores obtidos para os metais determinados nas amostras cruas foram comparados com as concentrações reportadas em trabalhos disponíveis na literatura. Contudo, vale salientar que as amostras são de origens diferentes e os teores dos metais nos tecidos estão diretamente relacionados com a fisiologia do animal, alimentação, etc. (ROSA; BRESSAN; BERTECHINI; FASSANI *et al.*, 2006). Adicionalmente, não foram encontrados trabalhos que determinaram as concentrações dos analitos propostos neste trabalho nestas matrizes após a cocção nem para amostra de moela de frango crua.

Considerando todo o conjunto amostral, os teores de Al variaram de 1,2 a 55 mg kg⁻¹, para as amostras GP1 e GR, respectivamente. A amostra de fígado cozida na panela de ferro (LP1), a amostra de moela cozida nas panelas de alumínio polido (GP2) e alumínio fundido (GP3) e a amostra de coração cozida nas três panelas apresentaram concentrações abaixo do LOQ para este metal (0,18 mg kg⁻¹). Os teores de Al encontrados neste trabalho para as amostras cruas são compatíveis com aqueles reportados na literatura (GIRI; SINGH, 2019; YILMAZ-AKSU; TARHAN; SANDIKCI-ALTUNATMAZ; PASTACI-OZSOBACI *et al.*, 2018). Além disso, vale salientar que mesmo com a utilização de panelas de Al, observou-se lixiviação deste elemento apenas para a amostra de fígado cozida na panela de alumínio fundido. Para as demais amostras os resultados mostraram uma redução dos teores de Al após a cocção, mesmo em panelas feitas com este metal.

Os teores de Ca variaram de 145 a 596 mg kg⁻¹ para as amostras HP2 e LR, respectivamente. Para as amostras de coração e fígado cruas, os teores obtidos para Ca foram iguais a 459 e 596 mg kg⁻¹, respectivamente, sendo estes valores cerca de 10 vezes superiores aos valores reportados pela TACO (TACO, 2011) para estes tecidos de frango. Não foram encontrados outros trabalhos na literatura que focam na determinação de Ca em tecidos de frango.

Em relação aos teores de Cu, a faixa de concentrações observada foi de 4,1 a 16 mg kg⁻¹, para as amostras GR e LR, respectivamente. Os teores deste metal determinados nas amostras cruas são comparáveis com os valores reportados para amostras de tecidos de frango comercializadas na China (HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018), em Bangladesh (MOTTALIB; ZILANI; SUMAN; AHMED *et al.*, 2018) e no Paquistão (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDİ; OTAIF *et al.*, 2018). Por outro lado, o teor encontrado neste trabalho para Cu em fígado de frango cru, 16 mg kg⁻¹, é mais de 10 vezes superior aos reportados por El Bayomi e colaboradores, que encontrou teores de Cu em fígado de frango cru entre 0,15 e 0,26 mg kg⁻¹ (EL BAYOMI; DARWISH; ELSHAHAT; HAFEZ, 2018).

Para o Fe, os teores encontrados para as amostras variaram de 87,4 mg kg⁻¹ para GP2 a 464 mg kg⁻¹ para LP1. Para as amostras cruas, os teores encontrados são semelhantes aos reportados em um estudo desenvolvido na Polônia (MAJEWSKA; SZCZEBINSKA; LIGOCKI; BUCLAW *et al.*, 2016) e aproximadamente 50 % superior aos reportados para amostras comercializadas na Arábia Saudita (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDİ; OTAIF *et al.*, 2018).

Os teores de Mn variaram entre 0,73 a 9,9 para HP2 e LP1 mg kg^{-1} , respectivamente. Estes teores são comparáveis aos reportados no trabalho de Majewska e colaboradores, que avaliaram amostras de tecidos comestíveis de frango comercializadas na Polônia (MAJEWSKA; SZCZERBINSKA; LIGOCKI; BUCLAW *et al.*, 2016) e num estudo focado na determinação de metais em amostras de carne de frango provenientes da Índia (GIRI; SINGH, 2019).

O Ni foi detectado e quantificado apenas nas amostras de coração (HR) e moela crus (GR), com concentrações iguais a 6,3 e 6,5 mg kg^{-1} , respectivamente. Estes teores são próximos dos valores encontrados para amostras analisadas em um estudo realizado na Arábia Saudita (AL BRATTY; ALHAZMI; OGDY; OTAIF *et al.*, 2018) e superiores aos reportados em trabalhos desenvolvidos na China (HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018) e na Turquia (YILMAZ-AKSU; TARHAN; SANDIKCI-ALTUNATMAZ; PASTACIOZSOBACI *et al.*, 2018). Para a amostra de fígado cru (LR) e para todas as amostras cozidas, independente do tipo de panela, os teores ficaram abaixo do LOQ (0,26 mg kg^{-1}) para este metal.

De maneira geral, observou-se que o processo de cozimento das amostras nas diferentes panelas promove mais perdas do que aumento dos teores dos elementos metálicos determinados neste estudo. Um aumento dos teores de Fe, por exemplo, foi observado apenas para a cocção da amostra de fígado na panela de ferro (LP1). As concentrações deste metal na amostra crua (LP) e na amostra cozida na panela de alumínio fundido (LP3) são estatisticamente semelhantes a 95 % de confiança ($t_{\text{calc}} = 2,066 < t_{\text{tab}} (n=3; \alpha = 0,025) = 3,182$). Por outro lado, observou-se uma redução dos teores de para Ca e Ni em todas as amostras após a cocção nas diferentes panelas.

De acordo com a literatura, diferentes fatores podem afetar a migração de metais do material das panelas e utensílios utilizados, como mencionado no item 1. Alguns trabalhos disponíveis na literatura reportam efeitos da cocção sobre os teores de metais em amostras de carnes (GERBER; SCHEEDER; WENK, 2009; HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018; MENEZES; OLIVEIRA; FRANCA; SOUZA *et al.*, 2018)

Para amostras de carne bovina e suína, um estudo observou um aumento dos teores de Fe e uma redução dos teores de Ca após o cozimento das amostras (GERBER; SCHEEDER; WENK, 2009). Contudo, os autores não deixam claro quais os materiais das panelas utilizadas

nas preparações nem relatam se houve adição de temperos. Num trabalho realizado no Brasil, os autores verificaram uma redução dos teores de Ca, Cu e Fe em amostras de peito de frango após diferentes tratamentos térmicos. Esta redução pode estar relacionada à quebra de ligações químicas entre os metais e proteínas e justificada por perdas por dissolução ou lixiviação (HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018; MENEZES; OLIVEIRA; FRANÇA; SOUZA *et al.*, 2018).

Alguns estudos disponíveis na literatura reportam, ainda, uma avaliação do risco de ingestão de metais pelo consumo de alimentos, incluindo a carne de frango (GIRI; SINGH, 2019; HU; ZHANG; CHEN; CHENG *et al.*, 2018; MOTTALIB; ZILANI; SUMAN; AHMED *et al.*, 2018; TYOKUMBUR, 2016). Esta avaliação é baseada nas recomendações da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e, no caso dos metais Cu, Fe, Mn e Ni, considerados não carcinogênicos, a análise de risco é baseada no cálculo do parâmetro Meta de Quociente de Perigo para efeitos não carcinogênicos (THQ, do inglês *Target Hazard Quocient*), como mostrado na Equação 6, onde ED é a duração da exposição, EF é a frequência de exposição, IR é a taxa de ingestão diária do alimento, CM é a concentração do metal na amostra, WAB é a média de peso corporal do indivíduo, Atn é a média de exposição para substâncias não carcinogênicas (ED x EF) e RfD é a dose de referência, que consiste na estimativa da exposição diária a que a população humana pode ser exposta continuamente ao longo da vida sem um risco considerável de efeitos deletérios (USEPA, 2005b).

$$THQ = \frac{ED \times EF \times IR \times CM}{WAB \times Atn \times RfD} \quad \text{Equação 6}$$

O parâmetro THQ foi calculado, de acordo com a Equação 6, considerando ED igual a 30 anos, EF igual a 365 dias/ ano, Atn igual a 1950 dias (30 x 365) e RfD igual a 0,04, 0,7, 0,024 e 0,02 para Cu, Fe, Mn e Ni, respectivamente, de acordo com a orientação da USEPA (USEPA, 2005a). O valor de IR consiste no consumo *per capita* de miúdos de frango no Brasil, valor igual a 0,455 g/ dia, de acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) dos anos de 2017 e 2018, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (IBGE, 2019). O peso médio do brasileiro adulto (WAB), considerando os gêneros masculino e feminino entre 19 e 79 anos é de 67,6 kg, de acordo com a POF 2007-2008 (IBGE, 2009).

Para avaliar o risco potencial à saúde de exposição a vários metais, o Índice de Risco (HI, do inglês *Hazard Index*) também pode ser calculado e consiste no somatório de THQ

para todos os metais determinados na amostra em estudo, assumindo que todos os metais possuem mecanismos de ação semelhantes no organismo. Quando THQ e HI são menores que 1 considera-se a que a exposição é baixa e o consumo do alimento é seguro (USEPA, 2005b).

A Tabela 10 apresenta os valores de THQ e HI calculados de acordo com a Equação 6 para todas as amostras de tecidos comestíveis de frango (cruas e cozidas) estudadas neste trabalho. Para todas as amostras, tanto os valores de THQ quanto os valores de HI ficaram abaixo de 1, indicando pouco risco de exposição aos metais Cu, Fe, Mn e Ni através do consumo das amostras de coração, fígado e moela, cruas e cozidas nas panelas com diferentes composições.

Tabela 10 – Valores de Meta de Quociente de Perigo (THQ) e Índice de Risco (HI) calculados para os metais Cu, Fe, Mn e Ni determinados nas amostras de tecidos comestíveis de frango, cruas e cozidas nas diferentes panelas.

Amostra	THQ				HI
	Cu	Fe	Mn	Ni	
HR	$1,7 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	$7,0 \times 10^{-7}$	$2,1 \times 10^{-6}$	$5,8 \times 10^{-6}$
HP1	$1,6 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-6}$	$3,9 \times 10^{-7}$	-	$3,2 \times 10^{-6}$
HP2	$1,7 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-7}$	-	$3,0 \times 10^{-6}$
HP3	$1,9 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-7}$	-	$3,2 \times 10^{-6}$
LR	$2,7 \times 10^{-6}$	$3,1 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-6}$	-	$7,9 \times 10^{-6}$
LP1	$2,4 \times 10^{-6}$	$4,5 \times 10^{-6}$	$2,8 \times 10^{-6}$	-	$9,6 \times 10^{-6}$
LP2	$2,0 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-6}$	-	$6,4 \times 10^{-6}$
LP3	$2,2 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-6}$	$2,4 \times 10^{-6}$	-	$7,6 \times 10^{-6}$
GR	$6,9 \times 10^{-7}$	$1,5 \times 10^{-6}$	$1,0 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-6}$	$5,4 \times 10^{-6}$
GP1	$7,4 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-6}$	$7,0 \times 10^{-7}$	-	$2,5 \times 10^{-6}$
GP2	$7,1 \times 10^{-7}$	$8,4 \times 10^{-7}$	$5,0 \times 10^{-7}$	-	$2,1 \times 10^{-6}$
GP3	$1,9 \times 10^{-7}$	$1,4 \times 10^{-6}$	$3,1 \times 10^{-7}$	-	$3,5 \times 10^{-6}$

HR = Coração cru; HP1 = Coração cozido na panela de ferro (P1), HP2= Coração cozido na panela de alumínio polido (P2). HP3= Coração cozido na panela de alumínio fundido (P3). LR = Fígado cru; LP1 = Fígado cozido na panela de ferro (P1), LP2= Fígado cozido na panela de alumínio polido (P2). LP3= Fígado cozido na panela de alumínio fundido (P3). GR = Moela crua; GP1 = Moela cozida na panela de ferro (P1), GP2= Moela cozida na panela de alumínio polido (P2). GP3= Moela cozida na panela de alumínio fundido (P3).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nesse contexto, o perfil de resultados gerados neste trabalho é compatível com outros dados apresentados na literatura. Contudo, não foram encontrados trabalhos que avaliam o efeito das panelas de ferro, alumínio polido e alumínio fundido sobre o conteúdo de elementos metálicos em amostras de coração, fígado e moela cozidas com adição de óleo e temperos. Além disso, do ponto de vista nutricional os resultados obtidos permitem estimar que o processo de cozimento das amostras nas diferentes panelas promove mais perdas do que

aumento dos teores dos elementos metálicos determinados neste estudo e que, mesmo nos casos onde há lixiviação, o risco de exposição a metais como Cu, Fe, Mn e Ni através do consumo destes alimentos é baixo. Em adição, ocorre aumento dos teores de proteínas e cinzas após a cocção das amostras de coração, fígado e moela, independente do tipo de panela utilizada para o cozimento.

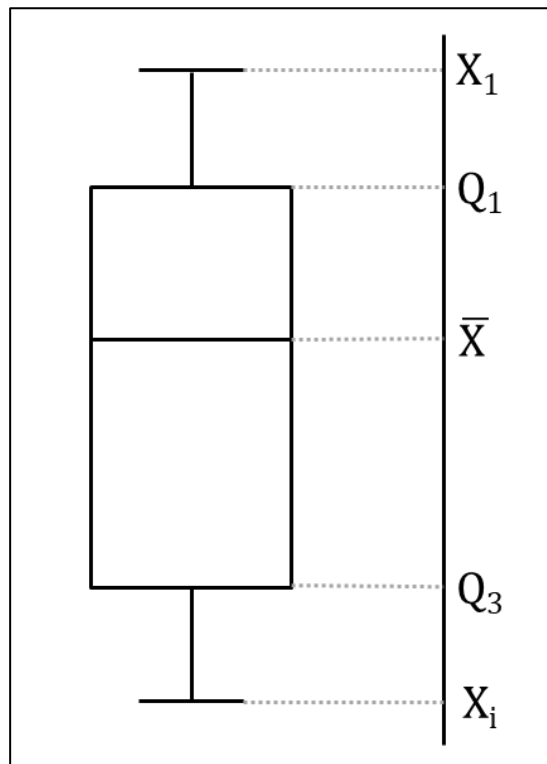
4.1.4 Análise estatística

A análise estatística dos dados gerados nas análises das amostras de tecidos comestíveis de frango está descrita nas seções abaixo.

4.1.4.1 *Box Plot*

Para uma melhor visualização dos dados gerados nas análises das amostras de tecidos comestíveis de frango, cruas e cozidas nas diferentes panelas, foram construídos gráficos de caixas ou *box plot*. O *box plot* é um gráfico que exhibe simultaneamente características importantes dos dados, como tendência central, dispersão e identificação de *outliers*, que são valores discrepantes do conjunto de dados analisado (MONTGOMERY, 2009; SELVAMUTHU; DAS, 2018).

Um *box plot* apresenta três quartis (Q_1 , Q_2 e Q_3), o valor máximo (X_i), o valor mínimo (X_1) e a mediana (\bar{X}) dos dados em uma caixa retangular e podem ser alinhados horizontalmente ou verticalmente, como mostrado no Esquema 1.

Esquema 1 – Representação esquemática de um *box plot*

Fonte: Elaborado pelo autor (2020) e adaptado de Montgomery (2009).

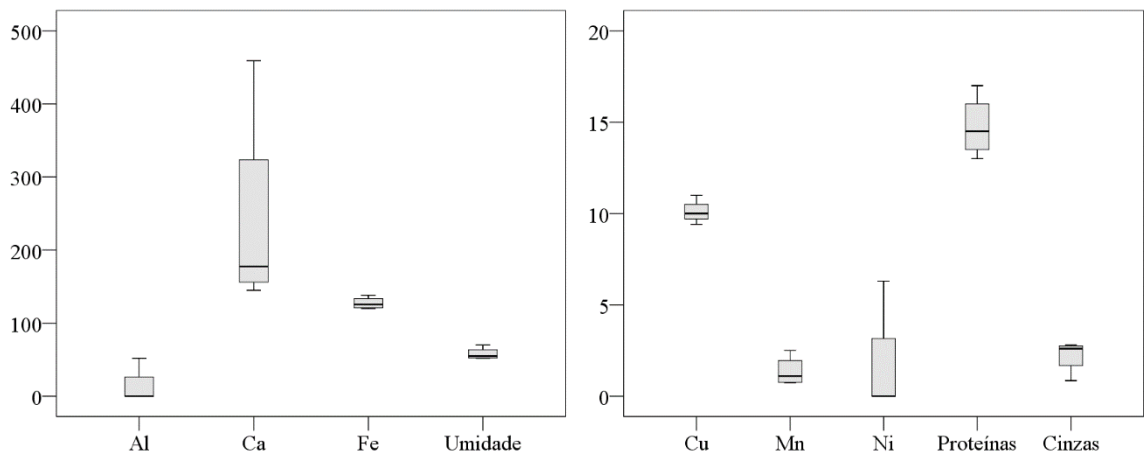
O quartil 2 consiste no valor da mediana (\bar{X}), que é o valor central do conjunto de dados. Para um número de conjunto de dados par, a mediana é obtida pela soma dos dois valores centrais dividida por 2 e, para um conjunto de número ímpar, a mediana é o valor central. Em função do tamanho das caixas, é possível estimar a variação dos dados em torno da mediana (MONTGOMERY, 2009).

O box plot é uma ferramenta estatística bastante utilizada para avaliação de tendências e comparações de grupos de dados de diferentes áreas de pesquisa, pois facilita a visualização de um grande número de dados.

Os Gráficos 1, 2 e 3 apresentam os *box plots* obtidos para as amostras de coração, fígado e moela de frango, cruas e cozidas nas diferentes painéis, respectivamente. Os gráficos foram construídos empregando o software SPSS 2.1 e todas as variáveis avaliadas neste trabalho foram empregadas para a análise dos resultados. O eixo das abscissas corresponde às variáveis estudadas enquanto o eixo das ordenadas apresenta as concentrações das variáveis obtidas para cada tipo de amostra estudada. Neste caso, as dispersões observadas em torno da

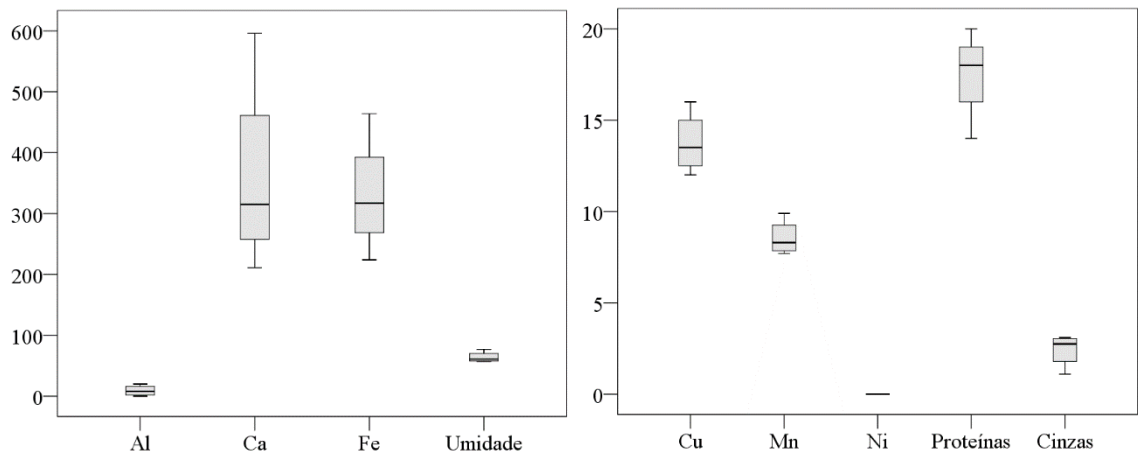
mediana podem indicar quais variáveis apresentam maiores variações para cada tipo de amostra (coração, fígado ou moela) após as cocções.

Gráfico 1 – *Box plot* obtido para as amostras de coração, cruas e cozidas nas diferentes panelas



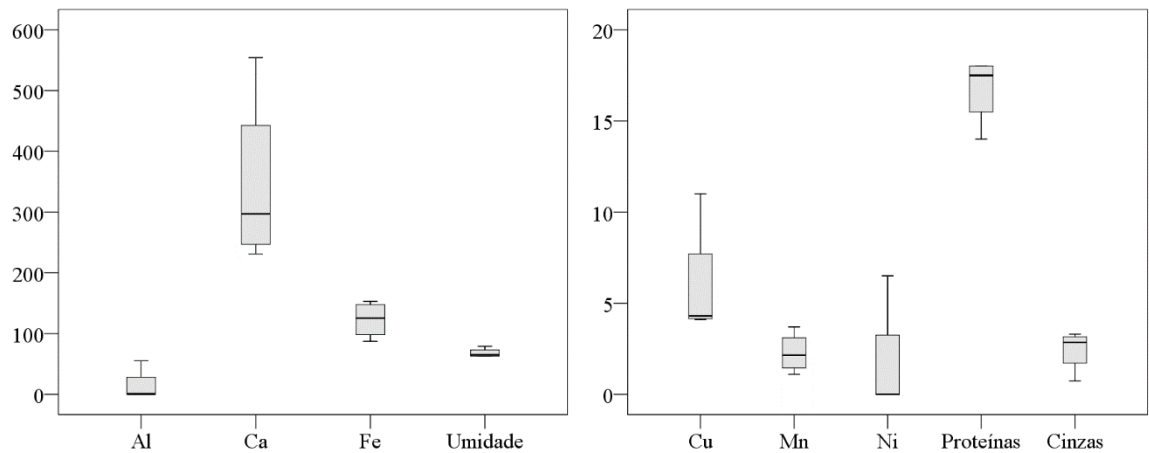
Fonte: Elaborado pelo autor (2020) com o software SPSS 2.1.

Gráfico 2 – *Box plot* obtido para as amostras de fígado, cruas e cozidas nas diferentes panelas



Fonte: Elaborado pelo autor (2020) com o software SPSS 2.1.

Gráfico 3 – *Box plot* obtido para as amostras de moela, cruas e cozidas nas diferentes panelas



Fonte: Elaborado pelo autor (2020) com o software SPSS 2.1.

Pela análise dos gráficos, os teores de Ca apresentam as maiores variações em torno da mediana para os três tipos de tecidos de frango estudados, indicando maiores diferenças entre os teores das amostras cruas e cozidas nas diferentes panelas. Em termos gerais, observou-se que as variáveis Al, Mn e cinzas apresentaram caixas pequenas com pequena dispersão em torno da mediana, o que pode indicar um efeito semelhante dos três tipos de panela sobre os teores destes analitos para todos os tipos de amostra que foram estudados.

Para as amostras de coração, as maiores variações em torno da mediana foram observadas para Ca, seguido por Ni e teor de proteínas, enquanto os teores de Fe apresentaram menores dispersões.

Para as amostras de fígado, as maiores variações foram observadas para Ca, Fe e proteínas e as menores foram observadas para as variáveis Al e umidade.

Finalmente, para as amostras de moela os gráficos mostram maiores variações para Cu, Ni e teor de proteínas e menores dispersões para Al e umidade.

4.1.4.2 *Análise de Componentes Principais*

Outra ferramenta estatística foi aplicada para interpretação dos dados obtidos no trabalho. Realizou-se uma análise exploratória empregando a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), um método quimiométrico não supervisionado usado para facilitar a interpretação de dados multivariados destacando as

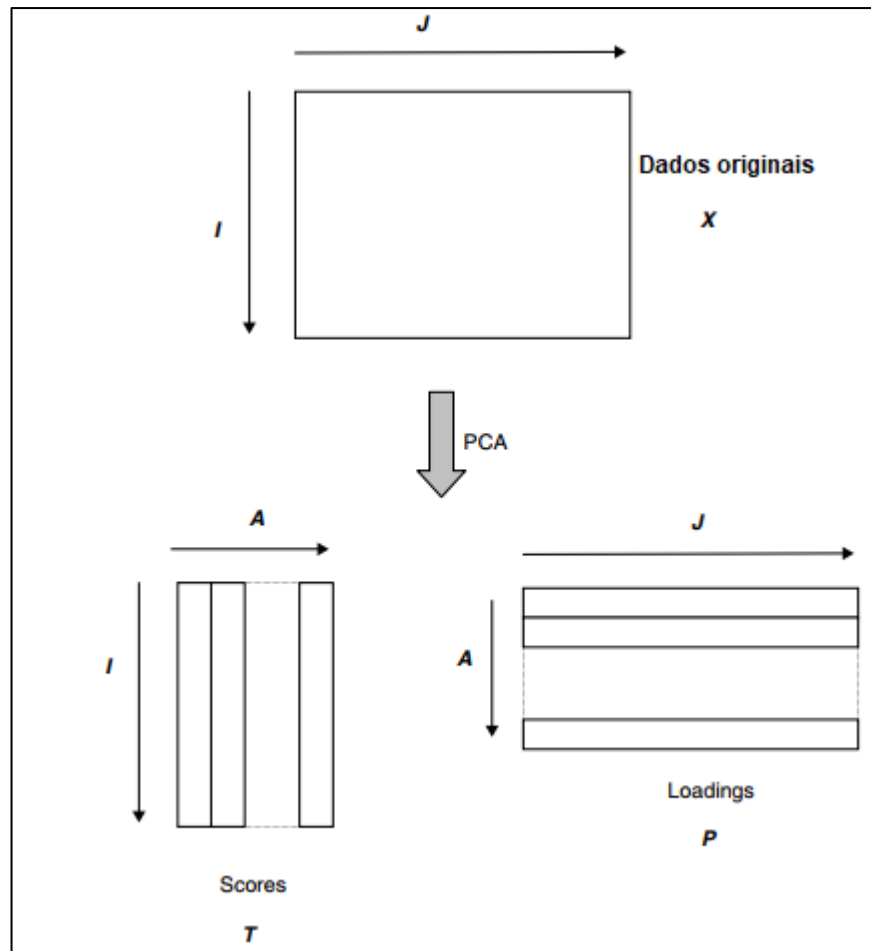
informações mais importantes ou relevantes para aquele conjunto de dados e, ao mesmo tempo, preservando o máximo possível da informação original (BRERETON, 2003; FERREIRA, 2015).

A análise exploratória empregando a PCA promove uma redução da dimensionalidade do conjunto de dados em um novo sistema de eixos que são chamados de componentes principais (PC, do inglês *Principal Components*). Em termos matemáticos, na PCA a matriz X que contém os dados originais, sendo as colunas formadas pelas variáveis (I) e as linhas formadas pelas amostras (J), é decomposta em um produto de duas matrizes, chamadas de *scores* (T) e *loadings* (P), mais uma matriz de erros (E), conforme mostra a Equação 7 (BRERETON, 2003). O Esquema 2 apresenta uma representação esquemática da PCA, onde A é o número de componentes principais ou PCs.

$$X = TP + E$$

Equação 7

Esquema 2 – Representação esquemática da Análise de Componentes Principais (PCA)



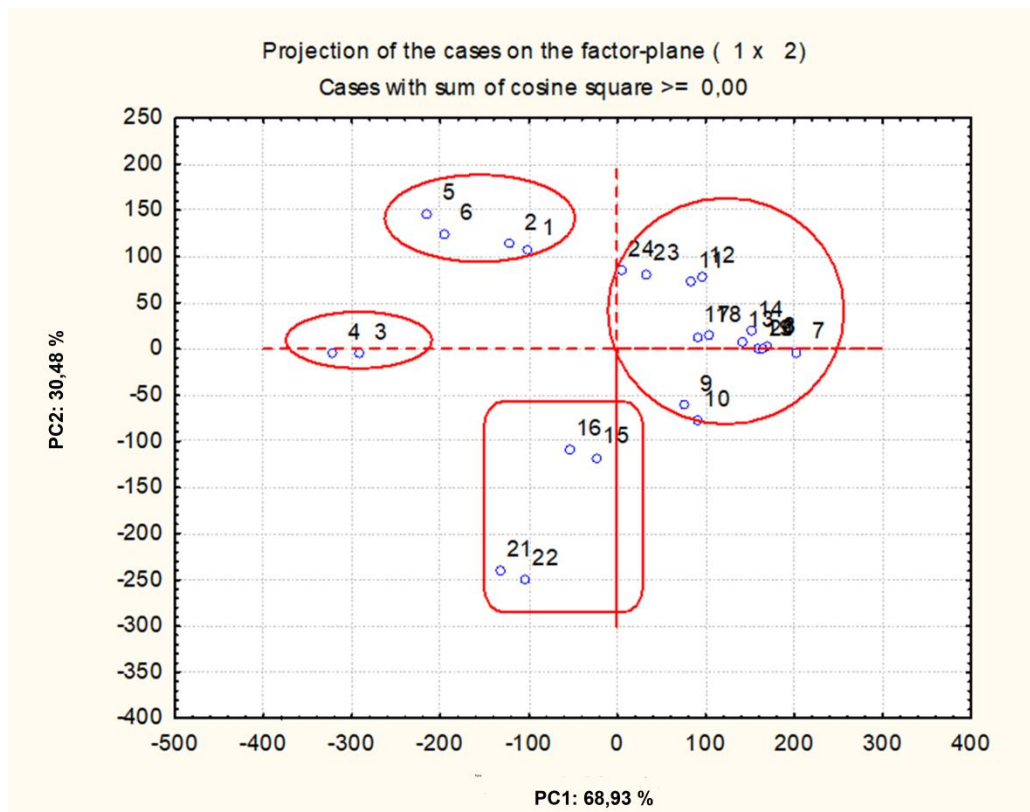
Fonte: Adaptado de BRERETON, 2003.

Cada componente principal é formada pela combinação linear das variáveis originais e os *scores* são os coeficientes desta combinação. Em termos matemáticos, os *loadings* são os cossenos dos ângulos formados entre as variáveis originais e as componentes principais, e representam o quanto a variável original influencia a PC. Os *scores* representam as coordenadas das amostras no novo sistema de eixos, formado pelas componentes principais (BRERETON, 2003). A PC1 é traçada de modo a incluir a maior variância do conjunto de dados, enquanto a PC2 descreve a porcentagem não explicada pela PC1, e etc. As PCs são sempre ortogonais.

Calculou-se a matriz de covariância para os teores das variáveis (minerais e composição nutricional, dados com as replicatas) e os dados ausentes (metais com concentrações abaixo do LOQ) foram substituídos por zero (BRERETON, 2003; FERREIRA, 2015; NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007), empregando o *software* Statistica 7.0. O modelo obtido de

PCA baseado no método da covariância com duas componentes principais apresentou 99,41% de explicação da variância dos dados: PC1 (68,93 %) e PC2 (30,48 %). O Gráfico 4 apresenta o gráfico de *scores* (conjunto de amostras), onde podem ser observados quatro grupos. O gráfico de *loadings* (conjunto de variáveis), mostrado no Gráfico 6, apresenta três grupos.

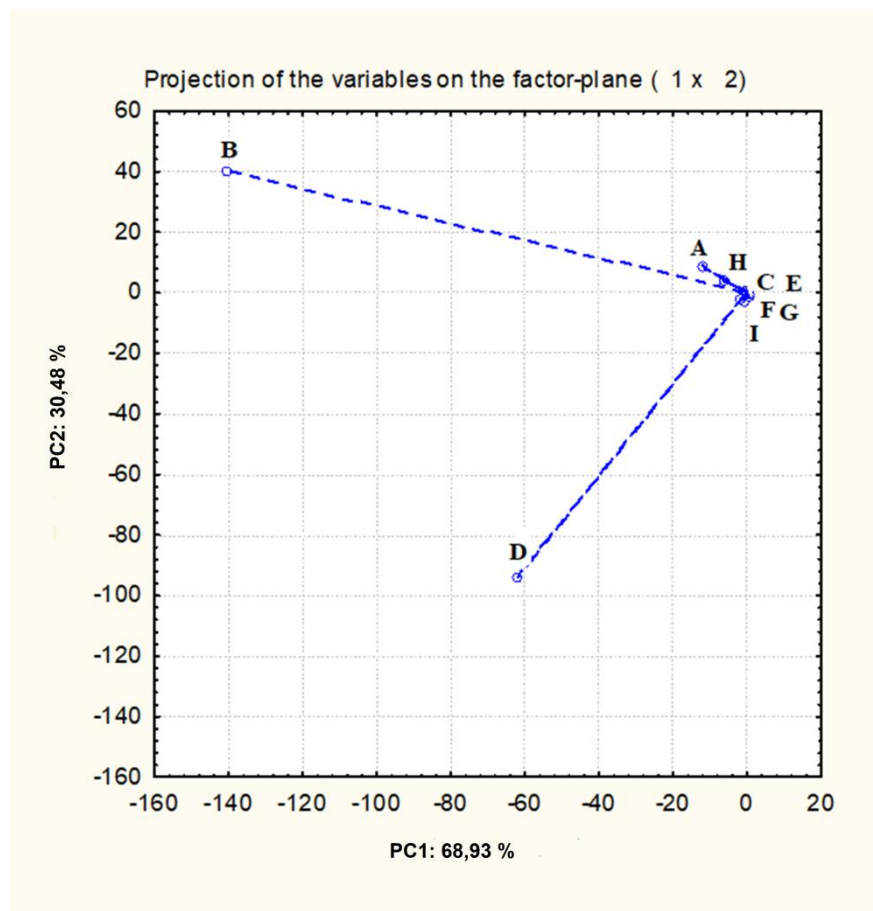
Gráfico 4 – Gráfico de scores do modelo de PCA obtido para o conjunto de dados das amostras de tecidos comestíveis de frango



Legenda: 1,2: HR; 3,4: LR; 5, 6: GR; 7,8: HP2; 9,10: LP2; 11, 12: GP2; 13,14: HP3; 15,16: LP3; 17,18: GP3; 19,20: HP1; 21,22: LP1; 23,24: GP1.

Fonte: Elaborado pelo software Statistica 7.0.

Gráfico 5 – Gráfico de *loadings* do modelo de PCA obtido para o conjunto de dados das amostras de tecidos comestíveis de frango



Legenda: A: Al; B: Ca; C: Cu; D: Fe; E: Mn; F: Ni; G: Proteínas; H: Umidade; I: Cinzas.

Fonte: Elaborado pelo software Statistica 7.0.

A análise conjunta dos gráficos apresentados nos Gráficos 4 e 5 permite observar que a amostra de fígado crua LR (3, 4) não é influenciada pelas variáveis estudadas. Por outro lado, as amostras HR (1, 2) e GR (5, 6), coração e moela crus, respectivamente, são influenciadas pela variável Ca, ou seja, esses dois tipos de amostras de tecidos comestíveis de frango apresentam um perfil semelhante de teores de Ca e estão agrupadas no gráfico de *scores* (Gráfico 4).

Outro grupo observado no Gráfico 5 é formado pelas amostras LP3 (15, 16) e LP1 (21, 22) que são agrupadas pela variável Fe, ou seja, a amostra de fígado de frango cozida nas panelas de ferro (P1) e alumínio fundido (P3) apresentam concentrações de Fe semelhantes. Este resultado evidencia que a cocção em panela de ferro não é significativa para melhorar o

aporte desse nutriente na alimentação como sugerido na cultura popular do interior do país e do estado de Minas Gerais.

Por fim, o último grupo observado no gráfico de *scores* é formado pelas demais amostras separadas e influenciadas pelos teores das demais variáveis estudadas neste trabalho. Com a PCA foi possível verificar similaridades entre os teores das variáveis nas amostras, com destaque para a informação relacionada aos teores de Fe obtidos após a cocção da amostra de fígado nas panelas de ferro e de alumínio fundido, complementando os resultados obtidos com emprego do *box plot*, através dos quais verificou-se que a variável Ca apresentou as maiores variações em torno da mediana para todas as amostras estudadas.

4.2 RESULTADOS PARA AS AMOSTRAS DE ESPECIARIAS E TEMPEROS

Para as demais amostras estudadas neste trabalho, avaliou-se o tipo de preparo de amostra bem como as técnicas de detecção a serem empregados. A seleção da técnica de detecção baseou-se na disponibilidade e no nível de concentração esperada dos analitos nas amostras. Para determinação dos teores de Cr, nas amostras de especiarias e temperos, utilizou-se a GF AAS após digestão das amostras conforme descrito no item 3.5. A técnica foi selecionada em função dos níveis de concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$) deste analito obtido para as amostras em testes preliminares. Por outro lado, os teores de Ca, Fe, Mg e Zn nestas amostras foram determinados por F AAS, enquanto os teores de K e Na por F AES. Para estes analitos, os testes iniciais indicaram teores da ordem de mg kg^{-1} .

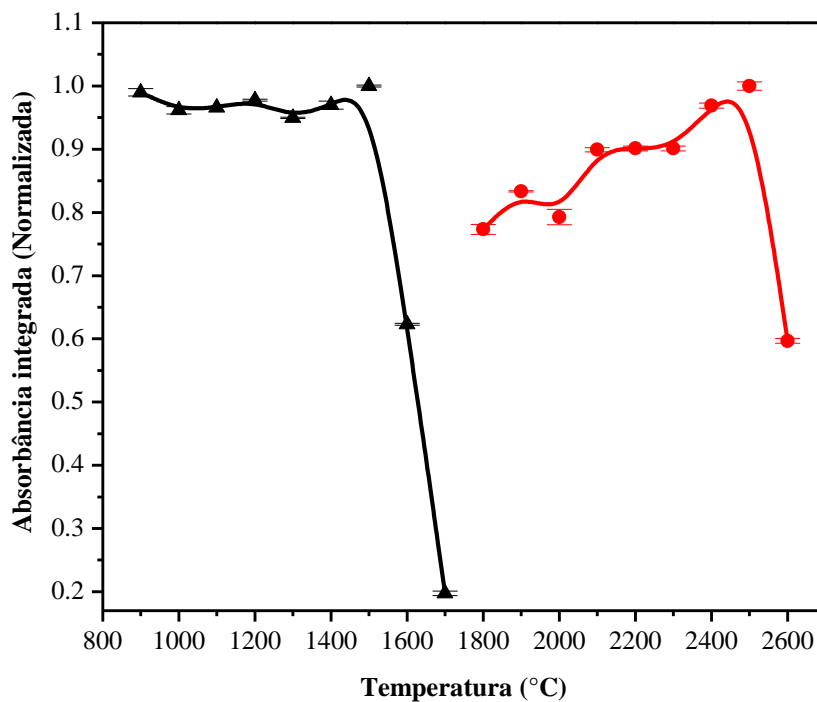
4.2.1 Otimização das condições instrumentais para determinação de Cr por GF AAS

Para as determinações dos teores de Cr nas amostras de especiarias e temperos otimizou-se alguns parâmetros do programa de aquecimento, empregado no modo de atomização eletrotérmica e usando um tubo de grafite pirolítico. Nessa etapa foi usada a amostra ME digerida.

A seleção das temperaturas adequadas de pirólise e atomização foi realizada através de um estudo univariado em que o sinal analítico foi monitorado, bem como o perfil do sinal de absorção do elemento, em função das temperaturas estudadas. Para determinar a temperatura de pirólise, etapa em que ocorre a eliminação da matriz, fixou-se a temperatura de atomização em 2000 °C (temperatura sugerida pelo fabricante do equipamento) e variou-se a temperatura de pirólise com incrementos de 100 °C na faixa entre 900 e 1700 °C. Após estabelecer a

temperatura de pirólise, fixou-se a mesma e variou-se a temperatura de atomização, também em incrementos de 100 °C, na faixa entre 1800 e 2600 °C. A Gráfico 6 apresenta as curvas de pirólise e atomização obtidas para a amostra ME, onde o sinal analítico monitorado é a absorbância que foi normalizada para as diferentes temperaturas.

Gráfico 6– Curvas de Pirólise (▲) e Atomização (●) obtidas para a determinação de Cr na amostra ME (n=3)



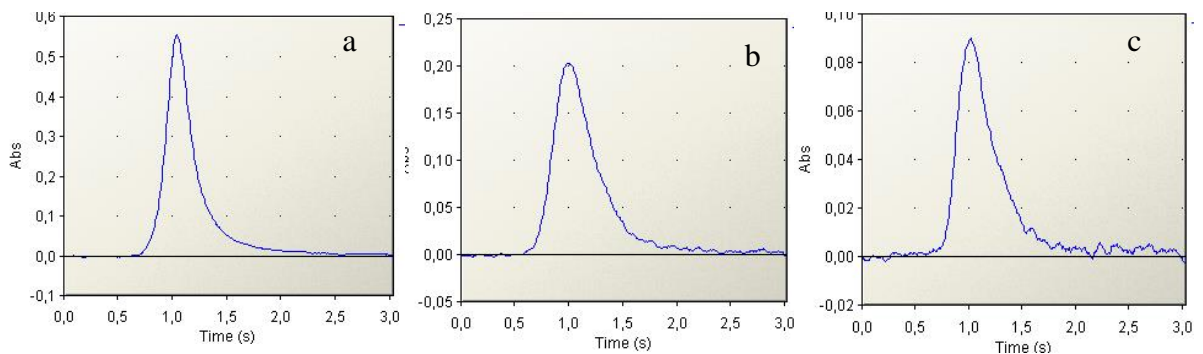
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A temperatura de pirólise selecionada foi aquela em que se obteve o maior sinal analítico antes da atomização do metal e com queda significativa de sinal, que para o Cr na amostra ME foi de 1500 °C. Acima dessa temperatura pode ocorrer volatilização do analito, o que pode ser observado pela diminuição significativa do sinal analítico.

A temperatura de atomização também foi selecionada observando a condição em que se obteve o maior sinal analítico, com atenção à vida útil do tubo de grafite. Esta temperatura foi de a de 2500 °C. A partir de 2600 °C houve queda significativa do sinal. O perfil de atomização para uma das replicatas da amostra ME, obtido nas condições experimentais otimizadas, é mostrado na Figura 1a.

Visando estender o método estabelecido para as amostras de especiarias, bem como suas condições de compromisso e, considerando que as amostras de temperos são constituídas de especiarias, avaliaram-se os perfis/ ordem de grandeza dos sinais de atomização de Cr obtido para duas amostras de temperos prontos, TF1 e TC3, mostrados na Figura 1b e 1c, respectivamente. Os sinais/perfis de atomização obtidos foram considerados adequados, considerando o formato do pico e ordem de grandeza do sinal analítico. Logo, essas condições de temperatura foram empregadas nos próximos testes de avaliação de desempenho do as determinações de Cr nas amostras de especiarias e temperos é apresentado na Tabela 11.

Figura 1 – Sinais de atomização de Cr obtidos para as amostras ME (a), TF1 (b) e TC3(c) empregando o programa de aquecimento otimizado nas análises por GF AAS



Fonte: software Solab.

Tabela 11 – Programa de aquecimento utilizado para a determinação de Cr em amostras de especiarias e temperos após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e detecção por GF AAS

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Tempo de permanência (s)	Vazão de Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	100	10	30	200
Pirólise	1500	150	20	200
Atomização	2500	0	3	0
Limpeza	2600	0	3	200

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Vale salientar que as determinações do analito nas amostras foram realizadas empregando algumas condições STPF (vide item 1.1.2) importantes tais como a utilização de tudo de grafite com revestimento pirolítico, elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite, eletrônica adequada para integração dos sinais de absorvância em área e interrupção do fluxo de gás durante a atomização. Além disso, o aspecto físico do tubo de grafite, empregado

exclusivamente para este estudo, foi monitorado e avaliado entre as análises. Para as leituras das triplicatas, monitorou-se ainda o desvio-padrão relativo, visto que a introdução das amostras no tubo foi realizada manualmente com auxílio de uma micropipeta. Os valores de RSD para todas as leituras, realizadas em triplicata, ficaram abaixo de 15 %.

4.2.2 Figuras de mérito avaliadas para o método de digestão assistida por radiação micro-ondas para determinação de elementos minerais nas amostras de especiarias e temperos

Após a otimização dos parâmetros instrumentais, foram construídas curvas analíticas para determinação dos analitos. A linearidade das curvas analíticas empregadas nas faixas especificadas no item 3.6.2 foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) a 95 % de confiança. Os pressupostos homocedasticidade e normalidade dos dados foram avaliados pelos testes de Cochran e de Shapiro-Wilk, respectivamente. Os valores de $C_{\text{calculado}}$ e de $W_{\text{calculado}}$ para todos os analitos foram menores que os valores tabelados para estes parâmetros estatísticos, indicando que não há evidências de heterocedasticidade e de falta de normalidade dos dados nas faixas estudadas e considerando o nível de 95 % de confiança (BRERETON, 2003).

Após a avaliação dos pressupostos, realizou-se a ANOVA e, para todos os analitos, não foram observadas evidências de falta de ajuste ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$) para as curvas analíticas nas faixas estudadas, indicando que as mesmas podem ser utilizadas para calibração e previsão das concentrações dos analitos nas amostras (BRERETON, 2003). A Tabela 12 apresenta os parâmetros avaliados nos testes estatísticos realizados bem como as equações das curvas analíticas. Detalhes dos cálculos realizados estão apresentados no APÊNDICE A.

Tabela 12 – Análise de variância (ANOVA), testes de Cochran e de Shapiro-Wilk para as curvas analíticas. $W_{\text{tabelado}} = 0,874$; $C_{\text{tabelado}} = 0,6838$; $F_{\text{tabelado}}(3,10) = 3,71$

Analito	Equação da curva analítica	R ²	C _{calculado}	W _{calculado}	F _{calculado}
Ca	Y = 0,2723 X + 0,0115	0,99932	0,5803	1,321	1,87
Cr	Y = 0,0416X + 0,0012	0,99527	0,5570	1,009	1,57
Fe	Y = 0,0579 X + 0,0061	0,99099	0,5808	0,953	2,17
K	Y = 0,9849 X - 0,3756	0,99600	0,4119	1,480	2,99
Mg	Y = 0,6178 X + 0,0215	0,99229	0,5689	0,9589	2,70
Na	Y = 0,9585 X - 0,2248	0,99679	0,4232	1,369	1,67
Zn	Y = 0,2204 X + 0,0018	0,99979	0,4323	1,220	3,08

Y = sinal analítico: absorbância para Ca, Cr, Fe, Mg e Zn e intensidade para K e Na; X = concentração $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr e mg L^{-1} para Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nas determinações de K e Na, avaliou-se a necessidade de uso de padrão interno, que consistiu na adição de Li na concentração final de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ nas soluções de leitura. Aplicou-se um teste t de Student com variância agrupada, no nível de 95 % de confiança, a fim de comparar as médias obtidas para as amostras ME e MTP, por calibração aquosa e com padronização interna. Estes dados são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Teores de K e Na obtidos após digestão assistida por radiação micro-ondas nas amostras ME e MTP (n=3) empregando calibração aquosa ou calibração com padronização interna. Detecção por F AES.

Amostra	Analito	Teor total ^a mg kg^{-1}		t _{calculado} ^b
		Calibração aquosa	Calibração com padronização interna	
ME	K	19869 ± 39	20687 ± 41	2,811
	Na	520 ± 13	620 ± 15	9,881
MTP	K	7809 ± 40	8357 ± 20	17,82
	Na	196601 ± 37	224135 ± 89	4,721

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; n=3).

^bt_{tabelado} = 2,776 (95 % de confiança).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Como os valores obtidos para o parâmetro t calculado são maiores que os tabelados, existem evidências de diferença significativa entre as médias de K e Na, para ambas as amostras mistura, obtidas pelas duas formas de calibração. Neste caso, então, selecionou-se a calibração com uso de padrão interno Li na concentração de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ para as demais

determinações desses elementos por fotometria de chama. Variações instrumentais bem como temperatura da chama, vazão da solução e eficiência da nebulização afetam as intensidades das linhas de emissão em chama. O uso do padrão interno permite “compensar” essas variações visto que a razão das intensidades da linha do analito e do padrão interno (sempre de concentração conhecida), é empregada para determinação dos teores nas amostras (OKUMURA; CAVALHEIRO; NÓBREGA, 2004).

Para avaliar a exatidão do método proposto de digestão para as amostras de especiarias e temperos, recorreu-se aos ensaios de adição e recuperação de analitos empregando as amostras ME e MTP, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente. Os valores de recuperação obtidos para a amostra ME variaram de (94 ± 1) a (107 ± 3) %, para Fe e K, respectivamente. Os valores obtidos indicam boa exatidão do método de digestão (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999). O método também apresentou boa exatidão para MTP visto que os valores de recuperação obtidos também foram adequados, com faixas entre (91 ± 3) a (109 ± 4) %, respectivamente (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999).

Tabela 14 – Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após digestão assistida por radiação micro-ondas da amostra ME (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).

Analito	Teor total ^a mg kg ⁻¹	Recuperação ^b %	
		Nível 1	Nível 2
Ca	6445 ± 90	98 ± 1	104 ± 1
Cr	1,88 ± 0,27	99 ± 2	102 ± 2
Fe	337 ± 5	94 ± 1	102 ± 6
K	20842 ± 40	99 ± 2	107 ± 3
Mg	2435 ± 61	102 ± 1	105 ± 1
Na	634 ± 15	95 ± 2	98 ± 1
Zn	36 ± 3	104 ± 1	94 ± 3

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0.05$; $n=3$).

^b Recuperação = $[(C_{\text{encontrada}} - C_{\text{real}}) / C_{\text{adicionada}}] \times 100$.

Nível 1: Ca, Fe, Mg e Zn: 0,25 mg L⁻¹, Cr: 2,0 µg L⁻¹, K e Na: 5,0 mg L⁻¹.

Nível 2: Ca, Fe, Mg e Zn: 4,0 mg L⁻¹, Cr: 10 µg L⁻¹, K e Na: 30 mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 15 – Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após digestão assistida por radiação micro-ondas da amostra MTP (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).

Analito	Teor total ^a mg kg ⁻¹	Recuperação ^b %	
		Nível 1	Nível 2
Ca	1889 ± 9	101 ± 1	105 ± 1
Cr	0,045 ± 0,005	96 ± 3	98 ± 2
Fe	9,0 ± 1,4	97 ± 1	92 ± 6
K	8467 ± 42	103 ± 3	102 ± 1
Mg	232 ± 13	96 ± 3	99 ± 2
Na	239372 ± 3	93 ± 2	109 ± 4
Zn	< LOQ ^c	92 ± 2	91 ± 3

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; $n=3$).

^b Recuperação = $[(C_{\text{encontrada}} - C_{\text{real}}) / C_{\text{adicionada}}] \times 100$.

^cLOQ Zn = 8,1 mg kg⁻¹.

Nível 1: Ca, Fe, Mg e Zn: 0,25 mg L⁻¹, Cr: 2,0 µg L⁻¹, K e Na: 5,0 mg L⁻¹.

Nível 2: Ca, Fe, Mg e Zn: 4,0 mg L⁻¹, Cr: 10 µg L⁻¹, K e Na: 30 mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A exatidão do método de digestão assistida por radiação micro-ondas foi avaliada também pela análise de material de referência certificado (NIST 1573a-folhas de tomate), cujos resultados são apresentados na Tabela 16. As recuperações variaram de (93± 1) % a (107 ± 5) % para Zn e K, respectivamente. Aplicou-se, ainda, um teste t de Student não pareado com variância agrupada no nível de 95 % de confiança para comparação da média obtida neste trabalho com o valor certificado. Para todos os analitos não existem evidências de diferenças significativas entre esses valores, visto que os valores de t calculados são menores que o valor tabelado ($t_{\text{calculado}}$: Ca: 2,211; Cr: 2,183; Fe: 2,921; K: 2,875; Mg: 0,236; Na: 0,961; Zn: 2,453; $t_{\text{tabelado}}(3; 0,025) = 3,182$), indicando que o método apresenta exatidão adequada (BRERETON, 2003).

Tabela 16 – Teores de Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn e valores de recuperação determinados em material de referência certificado (NIST 1573a) após digestão assistida por radiação micro-ondas (n=2). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).

Analito	Teor total certificado ^a	Teor encontrado	Recuperação ^c %
	mg kg ⁻¹ ou % m/m	mg kg ⁻¹ ou % m/m	
Ca ^b	5,05 ± 0,09	4,79 ± 0,27	95 ± 1
Cr	1,99 ± 0,06	1,87 ± 0,04	94 ± 2
Fe	368 ± 7	347 ± 14	94 ± 1
K ^b	2,70 ± 0,05	2,90 ± 0,14	107 ± 5
Mg ^b	1,20 ± 0,10	1,19 ± 0,02	99 ± 1
Na	136 ± 4	134 ± 1	99 ± 1
Zn ^b	30,9 ± 0,7	28,83 ± 1,81	93 ± 1

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; $n=3$).

^bTeores de Ca, K, Mg, Zn expressos em % m/m

^cRecuperação = $(C_{\text{encontrada}}/C_{\text{certificada}}) \times 100$.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Outros parâmetros de mérito são mostrados na Tabela 17. Os limites de detecção e quantificação instrumentais variaram de 0,0002 a 0,20 mg L⁻¹ e de 0,0006 a 0,69 mg L⁻¹, respectivamente. Após a aplicação do fator de correção (FC = 0,025 L/ 0,00025 kg = 100), conforme item 3.7, obtiveram-se valores para LOD e LOQ do método em faixas que variaram de 0,018 a 20 mg kg⁻¹ e de 0,061 a 69 mg kg⁻¹, para Cr e K, respectivamente. O valor de massa característica obtido para o Cr, 2,13 pg, é compatível com a literatura (BUA; ANNUARIO; ALBERGAMO; CICERO *et al.*, 2016; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO *et al.*, 2017; EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014). Os valores de concentração característica obtidos para os analitos determinados por F AAS variaram de 0,006 a 0,09 mg L⁻¹, para Mg e Fe, respectivamente. Apesar de serem um pouco maiores do que se poderia esperar (WELZ, 1999), não limitam a aplicação do método para as amostras coletadas, visto que os teores detectados nas amostras ficaram acima desses valores de massa/concentração característica.

Tabela 17 – Valores de LOD e LOQ, instrumentais e do método, e valores de concentração característica (C_0) para Ca, Fe, Mg e Zn (F AAS) e massa característica para Cr (GF AAS)

Analito	LOD _{instrumental} mg L ⁻¹	LOQ _{instrumental} mg L ⁻¹	LOD _{método} mg kg ⁻¹	LOQ _{método} mg kg ⁻¹	C ₀ mg L ⁻¹
Ca	0,025	0,082	2,5	8,2	0,04
Cr	0,0002	0,0006	0,018	0,061	2,13 ^a
Fe	0,020	0,068	2,0	6,8	0,09
Mg	0,0074	0,0248	0,74	2,48	0,006
K	0,20	0,69	20	69	Não se aplica
Na	0,18	0,60	18	60	Não se aplica
Zn	0,0081	0,27	8,1	27	0,04

^aMassa característica = 2,13 picogramas.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Estes resultados indicam, em conjunto, um bom desempenho analítico para o método proposto (THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999), que foi considerado adequado e, portanto, aplicado para as demais amostras de especiarias e temperos adquiridas neste trabalho.

4.2.3 Aplicação do método de digestão assistida por radiação micro-ondas

O método de digestão foi aplicado ao conjunto de 15 amostras de especiarias e temperos prontos e os teores dos analitos Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn determinados nestas amostras são apresentados na Tabela 18. Foram necessárias diferentes diluições (fatores de diluição: 2, 5, 10, 20, 100) para determinação dos analitos nas faixas de trabalho selecionadas. O valor máximo obtido para RSD foi de 13 %, considerado adequado em relação ao nível de concentrações observadas, indicando uma boa precisão para as análises também na etapa de aplicação (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999).

Os teores encontrados são compatíveis com aqueles reportados na literatura para algumas amostras de especiarias (KHAN; CHOI; NHO; HABTE *et al.*, 2014; LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010; SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH *et al.*, 2016). Entretanto, não foram encontrados estudos acerca da avaliação destes elementos em amostras de temperos industrializados, aqui chamados de temperos prontos, o que mostra a relevância dos dados gerados neste trabalho.

Dentre as amostras de especiarias das diferentes marcas observou-se, em alguns casos, variações expressivas nos teores dos metais monitorados. No caso das amostras de alho e pimenta, por exemplo, a variação nos teores de Zn foi de 47 e 77 %, respectivamente. Para as

amostras de louro, a maior variação, 50 %, foi observada para os teores de Fe. Já para as amostras de temperos prontos, as maiores variações foram observadas para os analitos Ca (98 %) e K (88 %), em temperos prontos para preparação de carnes e feijão, respectivamente.

Considerando as médias, a ordem decrescente de concentração dos analitos avaliados para as amostras de alho é: $K > Mg > Ca > Na > Fe > Zn > Cr$; para as amostras de louro: $Mg > Ca > K > Na > Fe > Zn > Cr$; para pimenta preta: $Mg > K > Ca > Na > Fe > Zn > Cr$. Dentre as amostras de temperos prontos, a ordem crescente seria: tempero para carnes: $Na > K > Ca > Mg > Zn > Fe > Cr$; tempero para feijão: $Na > Mg > K > Ca > Fe > Cr > Zn$, sendo que os teores observados para Zn ficaram abaixo do limite de quantificação do método. Comparando estas tendências, observa-se que as amostras de temperos prontos, tanto para carnes quanto para feijões, apresentam os maiores teores de Na dentre o grupo amostral selecionado para este estudo.

Considerando o seu consumo, um alimento pode ser considerado fonte de um nutriente quando a sua ingestão fornece ao menos 15 % do valor de ingestão diária recomendada (IDR) (BRASIL, 2005a; PHILIPPI, 2003) para este nutriente. Para adultos, os valores de IDR para os minerais Ca, Cr, Fe, Mg e Zn correspondem a 1000 mg, 35 mg, 14 mg, 260 mg, e 7 mg, respectivamente. Considerando o consumo de 1g/dia, nenhuma das amostras analisadas pode ser considerada fonte dos demais metais determinados neste trabalho.

Adicionalmente, a recomendação da Organização Mundial da Saúde para ingestão máxima de sódio (WHO, 2012a) é de 2000 mg / dia e, a utilização das amostras de temperos prontos nas preparações culinárias, na quantidade de 5g (meio cubo – ou tablete? - ou um sachê), pode fornecer de 40 a 60 % deste valor, o que é preocupante visto que o consumo elevado deste elemento está associado à doenças cardíacas e hipertensão, problemas de saúde que atingem pessoas em todo o mundo (OTT; KOPP; DAHLMANN; SCHMID *et al.*, 2018). Neste sentido, os resultados obtidos neste trabalho indicam que a utilização e ingestão dos temperos prontos na alimentação devem ser evitadas, sendo preferível as ervas e especiarias frescas.

Tabela 18 – Teores totais de metais determinados após digestão assistida por radiação micro-ondas nas amostras de especiarias e temperos prontos (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe, Mg e Zn), F AES (K e Na) e GF AAS (Cr).

Amostra	Código	Teor total ^a mg kg ⁻¹						
		Ca	Cr	Fe	K	Mg	Na	Zn
Alho	A1	748 ± 90	0,356 ± 0,031	45 ± 2	13282 ± 93	7659 ± 92	501 ± 52	26 ± 1 ^b
	A2	601 ± 19	0,597 ± 0,029	39 ± 1	14887 ± 12	11605 ± 40	606 ± 18	11 ± 1 ^b
	A3	832 ± 70	0,589 ± 0,019	48 ± 1	13669 ± 225	9680 ± 64	739 ± 10	14 ± 1 ^b
Louro	L1	9543 ± 76	0,503 ± 0,005	63 ± 1	4792 ± 34	8611 ± 111	46 ± 1 ^b	47 ± 1
	L2	9700 ± 36	0,661 ± 0,016	201 ± 5	6991 ± 52	13030 ± 172	286 ± 29	50 ± 1
	L3	5634 ± 89	0,816 ± 0,019	163 ± 17	7434 ± 71	10848 ± 57	47 ± 5 ^b	54 ± 8
Pimenta preta	P1	4100 ± 32	0,261 ± 0,013	138 ± 12	12601 ± 115	15543 ± 138	193 ± 17	9 ± 1 ^b
	P2	3993 ± 30	0,364 ± 0,022	69 ± 6	14411 ± 122	16531 ± 36	185 ± 1	51 ± 3
	P3	4341 ± 23	0,699 ± 0,014	87 ± 9	12086 ± 163	17865 ± 76	175 ± 18	81 ± 5
Tempero pronto para carne	TC1	5989 ± 2	0,021 ± 0,003 ^b	38 ± 1	22153 ± 57	3268 ± 137	268545 ± 136	<LOD
	TC2	531 ± 12	0,092 ± 0,005	16 ± 1	701 ± 35	1210 ± 47	162788 ± 842	64 ± 5
	TC3	2068 ± 16	0,061 ± 0,003	62 ± 1	4465 ± 86	5530 ± 39	161406 ± 337	27 ± 4
Tempero pronto para feijão	TF1	459 ± 28	< LOD	27 ± 2	870 ± 28	1451 ± 83	185310 ± 834	<LOD
	TF2	344 ± 62	< LOD	17 ± 1	722 ± 10	749 ± 22	158959 ± 123	<LOD
	TF3	961 ± 24	0,118 ± 0,005	30 ± 1	3260 ± 79	3509 ± 74	162028 ± 211	<LOD

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0.05$; n=3).

^bValor estimado (entre LOD e LOQ); ^cValores de LOD: 0,018 e 8,1 mg kg⁻¹ para Cr e Zn, respectivamente. Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.3 RESULTADOS PARA AS AMOSTRAS DE SAL CULINÁRIO

Os resultados relativos às determinações analíticas para as amostras de sal culinários são descritos abaixo.

4.3.1 Determinação de elementos metálicos por F AAS e F AES após dissolução ácida

Os resultados relativos às determinações de elementos metálicos nas amostras de sal culinários são descritos nas seções a seguir.

4.3.1.1 Figuras de Mérito

Assim como nas determinações de metais nas amostras de especiarias e temperos, a linearidade das curvas analíticas preparadas para quantificação dos metais nas amostras de sais culinários também foi avaliada através da ANOVA a 95 % de confiança.

Os valores de $C_{\text{calculado}}$ e de $W_{\text{calculado}}$ para todos os analitos foram menores que os valores tabelados para estes parâmetros estatísticos, indicando que não há evidências de heterocedasticidade e de falta de normalidade, respectivamente, dos dados nas faixas estudadas e considerando o nível de 95 % de confiança (BRERETON, 2003).

Os resultados da ANOVA indicam que, para todos os analitos, não foram observadas evidências de falta de ajuste ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$) para as curvas analíticas nas faixas estudadas, indicando que as mesmas podem ser utilizadas para calibração e previsão das concentrações dos analitos nas amostras (BRERETON, 2003). A Tabela 19 apresenta os parâmetros avaliados nos testes estatísticos realizados bem como as equações das curvas analíticas. As curvas analíticas para Fe e Mg contemplam a mesma faixa de calibração empregada para a quantificação destes metais nas amostras de especiarias e temperos, cujos resultados da ANOVA já foram apresentados na Tabela 12, seção 4.4.2. Detalhes dos cálculos realizados estão apresentados no APÊNDICE A.

Tabela 19 – Análise de variância (ANOVA), testes de Cochran e de Shapiro-Wilk para as curvas analíticas. $W_{\text{tabelado}} = 0,874$; $C_{\text{tabelado}} = 0,6838$; $F_{\text{tabelado}}(3,10) = 3,71$

Analito	Equação da curva analítica	R ²	C _{calculado}	W _{calculado}	F _{calculado}
Ca	Y = 0,2143 X -0,8920	0,99870	0,6003	1,179	1,34
K	Y = 1,2143 X -0,8920	0,99740	0,4009	1,490	2,01
Na	Y = 1,3811 X - 0,9675	0,99620	0,4190	1,342	1,99

Y = sinal analítico: absorvância para Ca e intensidade de emissão para K e Na;

X = concentração mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Os resultados dos ensaios de adição e recuperação realizados para a amostra MS, usado para avaliar a exatidão do método proposto, são apresentados na Tabela 20. Os valores de recuperação obtidos foram considerados satisfatórios, com variação entre (94 ± 3) e (109 ± 2) %, indicando boa exatidão (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999). Além disso, os valores de RSD ficaram abaixo de 3% para todos os analitos, indicando também que o método de dissolução, incluindo a proporção amostra/ ácido diluído, apresenta boa precisão (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002; WOOD, 1999).

Tabela 20 – Valores de recuperação obtidos para as determinações de metais após dissolução da amostra MS (n=3). Técnicas utilizadas: F AAS (Ca, Fe e Mg) e F AES (K e Na).

Detecção por F AAS (Ca, Fe e Mg) e F AES (K e Na)

Analito	Teor total ^a mg kg ⁻¹	Recuperação ^b %		
		Nível 1	Nível 2	Nível 3
Ca	2712 ± 18	104 ± 3	107 ± 3	103 ± 2
Fe	98 ± 2	102 ± 8	98 ± 2	98 ± 2
Mg	950 ± 16	108 ± 4	98 ± 3	94 ± 3
K	10001 ± 100	109 ± 2	96 ± 1	105 ± 11
Na	296222 ± 100	100 ± 3	95 ± 1	109 ± 3

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0.05$; n=3).

^bRecuperação = $[(C_{\text{encontrada}} - C_{\text{real}}) / C_{\text{adicionada}}] \times 100$.

^cNível 1: Ca 0,20 mg L⁻¹, Fe 0,25 mg L⁻¹, K e Na 5,0 mg L⁻¹, Mg 0,060 mg L⁻¹.

Nível 2: Ca 0,40 mg L⁻¹, Fe 1,0 mg L⁻¹, K e Na 10 mg L⁻¹, Mg 0,20 mg L⁻¹.

Nível 3: Ca 0,80 mg L⁻¹, Fe 2,0 mg L⁻¹, K e Na 20 mg L⁻¹, Mg 0,40 mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para confirmar a inexistência de possíveis efeitos de matriz nas determinações dos analitos, recorreu-se ao método de calibração por adição de padrão. Para isto, as curvas analíticas para cada analito foram preparadas em triplicatas autênticas empregando a mesma faixa de trabalho usada para a calibração aquosa. A Tabela 21 apresenta os teores dos metais

Ca, Fe e Mg determinados na amostra MS obtidos pelos diferentes métodos de calibração com detecção por F AAS. As médias obtidas pelos diferentes métodos de calibração foram comparadas pelo teste t de Student, aplicado à 95 % de confiança, e os resultados indicam que as médias são estatisticamente semelhantes, visto que $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$. Estes resultados indicam que não existem evidências de efeito de matriz nas determinações destes metais (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

Tabela 21 – Comparação dos teores de Ca, Fe e Mg obtidos após dissolução da amostra MS (n=3) empregando calibração aquosa e calibração por adição de padrão empregando teste t de Student a 95 % de confiança ($t_{\text{tabelado}} = 2,776$). Detecção por F AAS

Analito	Teor total ^a mg kg ⁻¹		
	Calibração aquosa	Calibração por adição de padrão	$t_{\text{calculado}}$
Ca	2712 ± 18	2757 ± 19	0,4833
Fe	98 ± 2	101 ± 1	1,401
Mg	950 ± 16	945 ± 14	0,2089

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; $n=3$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

No caso das determinações de K e Na por fotometria de chama avaliou-se também a necessidade do uso do padrão interno, através da adição de Li na concentração final de 5 mg L⁻¹ nas soluções de leitura, tanto aos padrões quanto às amostras. Para a comparação dos resultados obtidos para K e Na pelos três métodos de calibração empregou-se a ANOVA (*one-way*) e, para ambos os analitos, as médias obtidas são estatisticamente semelhantes num nível de 95 % de confiança, com p-valor acima de 0,050 (BRERETON, 2003). A Tabela 22 apresenta os teores dos analitos K e Na obtidos pelos três diferentes métodos de calibração. Assim, com base nestes resultados, selecionou-se a calibração aquosa sem padrão interno como método de calibração para determinação de K e Na nas amostras de sais culinários, considerando-se a sua facilidade operacional, viabilidade e frequência analítica, fatores que são adequados para análises de rotina que se propõe neste trabalho.

Tabela 22 – Teores de K e Na obtidos após dissolução da amostra MS (n=3) empregando calibração aquosa, calibração por adição de padrão e calibração com padronização interna.

Detecção por F AES				
Teor total ^a mg kg ⁻¹				
Analito	Calibração aquosa	Calibração por adição de padrão	Calibração com padronização interna	p-valor
K	10001 ± 100	10426 ± 180	11024 ± 140	0,082
Na	296222 ± 100	307566 ± 200	315207 ± 110	0,110

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; $n=3$).

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Vale salientar que as análises das amostras de sal foram realizadas cerca de um ano antes das análises das amostras de especiarias e temperos, situação em que foi necessário empregar o padrão interno. Naturalmente, o equipamento encontrava-se em diferentes condições e as soluções de amostras apresentam características diferentes. Estes fatores podem justificar as diferentes abordagens, tomadas em função de uma análise crítica e cautelosa dos resultados obtidos nos dois casos.

Outras figuras de mérito avaliadas, tais como LOD e LOQ são listados na Tabela 23. Os valores obtidos para LOD e LOQ instrumentais variaram de 0,0008 mg L⁻¹ a 0,18 mg L⁻¹ e de 0,026 mg L⁻¹ a 0,61 mg L⁻¹, respectivamente. Após a aplicação do fator de correção (FC = 0,100 L/ 0,0008 kg = 125), conforme se obtiveram os valores de LOD e LOQ do método, os valores variaram de 1,0 a 22 mg kg⁻¹ e de 3,3 a 76 mg kg⁻¹, para Fe e K, respectivamente. Os valores de concentração característica também foram determinados e são um pouco maiores que os reportados na literatura (WELZ, 1999). Porém, estes valores não limitaram a aplicação do método para as amostras coletadas visto que os teores dos analitos não estão na faixa de traços.

Tabela 23 – Valores de LOD e LOQ, instrumentais e do método, e valores de concentração característica (C_0) para Ca, Fe e Mg (F AAS)

Analito	LOD _{instrumental} mg L ⁻¹	LOQ _{instrumental} mg L ⁻¹	LOD _{método} mg kg ⁻¹	LOQ _{método} mg kg ⁻¹	C ₀ mg L ⁻¹
Ca	0,038	0,13	4,8	16	0,04
Fe	0,0008	0,026	1,0	3,3	0,09
Mg	0,018	0,058	2,2	7,3	0,006
K	0,18	0,61	22	76	Não se aplica
Na	0,15	0,50	19	63	Não se aplica

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Através dos parâmetros avaliados para o método concluiu-se que a dissolução empregando soluções diluídas de ácido nítrico pode ser utilizada para determinar as concentrações de Ca, Fe, K, Mg e Na em amostras de sais de uso culinário com boas exatidão, precisão e detectabilidade e, ainda, que o método se adequa às análises de rotina.

O método de dissolução dos sais com ácido diluído apresentou, ainda, sensibilidade e detectabilidade semelhantes àquele desenvolvido para digestão assistida por radiação micro-ondas para decomposição das amostras de especiarias e temperos na determinação dos mesmos elementos metálicos (Ca, Fe, K, Mg e Na). Os valores de concentração característica e limites de detecção e quantificação para estes analitos, determinados pelos diferentes métodos, foram semelhantes e estão na mesma ordem de grandeza. Além disso, os dois métodos apresentaram boa exatidão e precisão.

4.3.1.2 Aplicação do método de dissolução para determinação de Ca, Fe e Mg por F AAS e de K e Na por F AES nas amostras de sal culinário

O método foi aplicado para o conjunto de amostras de sais culinários adquirida e os teores dos metais avaliados são apresentados na Tabela 24. Assim como para as amostras de especiarias e temperos, foram necessárias diferentes diluições (fatores de diluição: 5, 50, 150) para determinação dos analitos nas diferentes amostras considerando as faixas de trabalho selecionadas. As concentrações obtidas neste trabalho são compatíveis com os valores reportados por outros autores (DA-COL; BUENO; MELQUIADES, 2015; DRAKE; DRAKE, 2010; EFTEKHARI; MAZLOOMI; AKBARZADEH; RANJBAR, 2014; MIN HWANG; YANG; HYUN KIM; JAMILA *et al.*, 2016; PAPP, 2016; SOYLAK; MURAT, 2011) para amostras de sais refinado, grosso, marinho, rosa do Himalaia e sal com teor de sódio reduzido. Entretanto, vale ressaltar que tais dados referem-se a amostras originárias e comercializadas em outros países, e/ou com um número modesto de amostras de cada tipo de sal. Além disso,

para as amostras de sal negro e sal azul não foram encontrados estudos que tratam deste tipo de determinação, mostrando mais uma novidade dos resultados aqui apresentados.

Os teores de Ca variaram de 151 a 3079 mg kg⁻¹ para as amostras SG3 e SR10, sal grosso e sal rosa, respectivamente. As concentrações de Fe determinadas nas amostras de sais culinários variaram na faixa de 3 a 26 mg kg⁻¹, amostras de sal rosa SR8 e SR6, respectivamente. Esse analito apresentou teores abaixo do limite de quantificação do método para as amostras de sais refinado, light, marinho, flor de sal, grosso e azul da Pérsia. Nas amostras de sal negro, os teores deste metal variaram de 354 a 621 mg kg⁻¹ para as amostras SN3 e SN2, respectivamente. Para o Mg, os teores variaram entre 20 e 2661 mg kg⁻¹, para as amostras SG3 e SR9, sal grosso e sal rosa, respectivamente. Para estes três metais, Ca, Fe e Mg, observou-se grande variação entre os teores observados para o mesmo tipo de sal, o que pode se relacionar aos diferentes tipos e origens das amostras.

Para K e Na, as variações observadas para os teores nos grupos do mesmo tipo de sal foram menores que as observadas para os demais metais. Os teores de K variaram de 0,073 a 18 % m/m para as amostras SRF1 e SL1, sal refinado e sal *light*, respectivamente. Já os teores de Na variaram de 12 a 38 % m/m, para as amostras de sal *light* SL1 e sal grosso SG4, respectivamente.

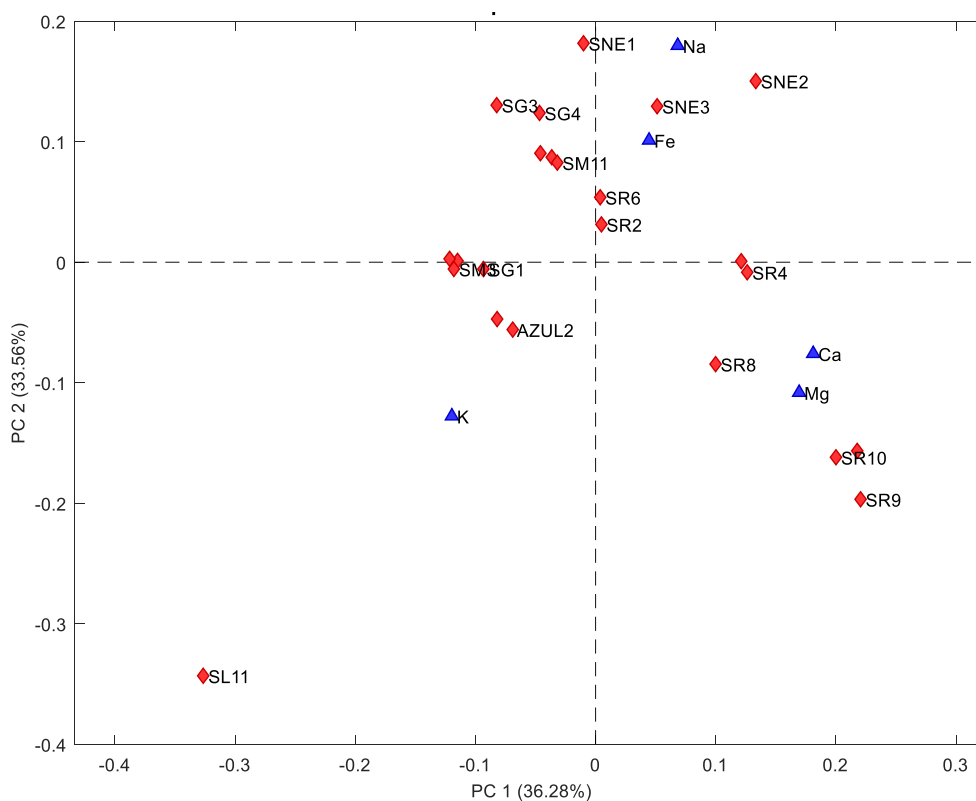
Tabela 24 – Teores de metais determinados nas amostras de sais de uso culinário após dissolução ácida (n=3). Técnicas Analíticas: F AAS (Ca, Fe e Mg) e F AES (K e Na)

Amostra	Código	Teor total ^a				
		Ca mg kg ⁻¹	Fe mg kg ⁻¹	Mg mg kg ⁻¹	K % m/m	Na % m/m
Sal refinado	SRF1	669 ± 16	< LOQ ^b	80 ± 4	0,073 ± 0,001	35 ± 2
Sal <i>light</i>	SL1	288 ± 30	< LOQ	240 ± 4	18 ± 1	12 ± 1
Sal marinho	SM1	497 ± 33	< LOQ	375 ± 19	0,088 ± 0,001	35 ± 1
	SM2	230 ± 33	< LOQ	94 ± 11	0,10 ± 0,01	25 ± 1
	SM3	275 ± 32	< LOQ	53 ± 6	0,10 ± 0,01	24 ± 1
Flor de sal	FS1	439 ± 35	< LOQ	364 ± 22	0,084 ± 0,001	35 ± 1
	SG1	507 ± 35	< LOQ	96 ± 13	0,087 ± 0,001	25 ± 1
Sal grosso	SG2	177 ± 2	< LOQ	68 ± 12	0,085 ± 0,003	25 ± 1
	SG3	151 ± 2	< LOQ	20 ± 4	0,093 ± 0,003	37 ± 1
	SG4	557 ± 50	< LOQ	51 ± 6	0,10 ± 0,01	38 ± 1
Sal azul da Pérsia	SAZUL1	1113 ± 29	< LOQ	236 ± 14	6,7 ± 0,5	31 ± 1
	SAZUL2	1254 ± 33	< LOQ	270 ± 12	6,6 ± 0,2	31 ± 2
Sal negro do Havái	SNE1	644 ± 20	496 ± 21	85 ± 3	0,35 ± 0,01	34 ± 1
	SNE2	1639 ± 29	621 ± 27	734 ± 4	0,64 ± 0,02	35 ± 1
	SNE3	1355 ± 35	354 ± 7	300 ± 12	0,68 ± 0,03	36 ± 1
Sal rosa do Himalaia	SR2	934 ± 14	< LOQ	548 ± 35	0,18 ± 0,02	33 ± 1
	SR3	2256 ± 72	7 ± 1	679 ± 13	0,16 ± 0,01	34 ± 1
	SR4	1665 ± 50	23 ± 1	1229 ± 55	0,22 ± 0,01	34 ± 1
	SR6	726 ± 10	26 ± 1	623 ± 38	0,15 ± 0,01	34 ± 2
	SR7	2604 ± 44	18 ± 3	1842 ± 28	0,32 ± 0,04	27 ± 1
	SR8	1935 ± 37	3 ± 1 ^b	1028 ± 30	0,18 ± 0,01	27 ± 1
	SR9	1786 ± 35	< LOQ	2661 ± 36	0,36 ± 0,01	25 ± 1
	SR10	3079 ± 52	< LOQ	1317 ± 40	0,28 ± 0,01	25 ± 1

^aExpresso como Média ± Intervalo de Confiança = $\frac{t \times S}{\sqrt{N}}$, S é o desvio-padrão, N é o número de replicatas e t é o parâmetro de Student ($\alpha = 0,05$; $n=3$). ^bLOQ Fe = 3,3 mg kg⁻¹. ^cValor estimado (entre LOD e LOQ do método). Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para facilitar a interpretação do conjunto de dados e avaliar possíveis relações entre os analitos, realizou-se uma análise exploratória empregando a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) com o software MATLAB R2015a. O autoescalamento, tipo de pré-processamento usualmente empregado para dados discretos, foi aplicado ao conjunto de dados deste estudo para atribuir pesos iguais a todas as variáveis, ou seja, macro e microconstituintes, cujos teores apresentavam diferentes ordens de grandeza. Neste caso, cada dado das colunas (concentrações dos metais) é subtraído do valor médio da coluna e o resultado é dividido pelo desvio-padrão da mesma (FERREIRA, 2015). Os dados foram normalizados com média zero e variância igual a 1. O modelo de PCA obtido com três componentes principais apresentou 88,27 % de explicação da variância dos dados: PC1 (36,28 %), PC2 (33,56 %) e PC3 (18,43%). Os gráficos *biplot* de PC1 x PC2 são apresentados no Gráfico 7.

Gráfico 7 – Gráfico biplot de PC1 x PC2 obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário



Fonte: Elaborado pelo software MATLAB R2015a.

Analisando o Gráfico 7, nota-se que as amostras de sal rosa do Himalaia SR3, SR4, SR7, SR8, SR9 e SR10 apresentam teores similares de Ca e Mg e formam um dos grupos

observados na PCA. As concentrações de Na nas amostras SR7, SR8, SR9 e SR10 são aproximadamente 28 % menores que aqueles encontrados nas demais amostras de sal rosa do Himalaia, sendo que, no geral, os teores obtidos para todas as amostras deste grupo se aproximam daqueles encontrados para as amostras de sal refinado, grosso e marinho.

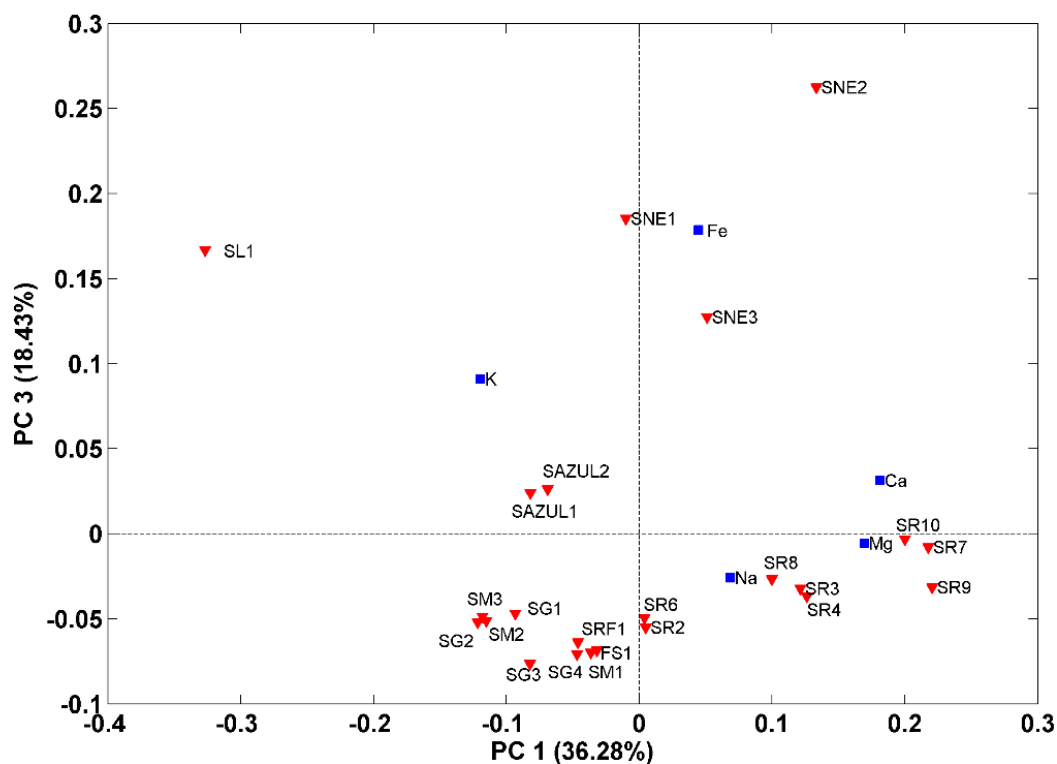
Ao se realizar uma busca sobre os benefícios do sal rosa do Himalaia, uma série de *sites* e *blogs* afirmam que estas amostras são excelentes fontes de minerais como Ca, Fe, Mg, Mn bem como apresenta teores reduzidos de Na, sendo então indicados em substituição ao sal refinado comum. Contudo, os resultados deste trabalho indicam que existe uma variação dos teores dos analitos determinados nas 8 amostras de sal rosa do Himalaia de diferentes marcas e lotes, com valores de RSD iguais a 14%, 34%, 42%, 58% e 114 % para Na, K, Ca, Mg e Fe, respectivamente. Em outras palavras, é justamente para os micronutrientes que a variação é maior e os resultados indicam não existir um padrão de composição.

A PCA indica ainda que as amostras de sal azul, SAZUL1 e SAZUL2, e a amostra com teor reduzido de sódio, SL1, apresentam teores similares de K formando um segundo grupo. No caso da amostra de sal *light*, o teor elevado de K é justificado pela substituição do cloreto de sódio por cloreto de potássio (DA-COL; BUENO; MELQUIADES, 2015), o que justifica ainda os reduzidos teores de Na observados, quando comparados com amostras de sal comum. A literatura da área da saúde indica que uma dieta rica em potássio favorece a redução da pressão arterial minimizando a ocorrência de doenças cardíacas (BRASCHI; NAISMITH, 2008; HOUSTON, 2011).

As três amostras de sal negro do Havaí, SNE1, SNE2 e SNE3, apresentaram concentrações similares de Fe e Na formando o terceiro grupo observado no Gráfico 7. Além disso, os teores de Fe obtidos nas mesmas foram os maiores dentro do grupo de amostras de sais culinários analisadas.

Os gráficos *biplot* de PC1 x PC3 são apresentados no Gráfico 8, onde é possível observar que o teor de Fe é a variável mais importante para a componente principal 3 (PC3), e é importante para separar as amostras que apresentam os maiores teores deste elemento. Contudo, é possível ter acesso a essa informação usando apenas PC1 e PC2.

Gráfico 8 – Gráfico *biplot* de PC1 x PC3 obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário

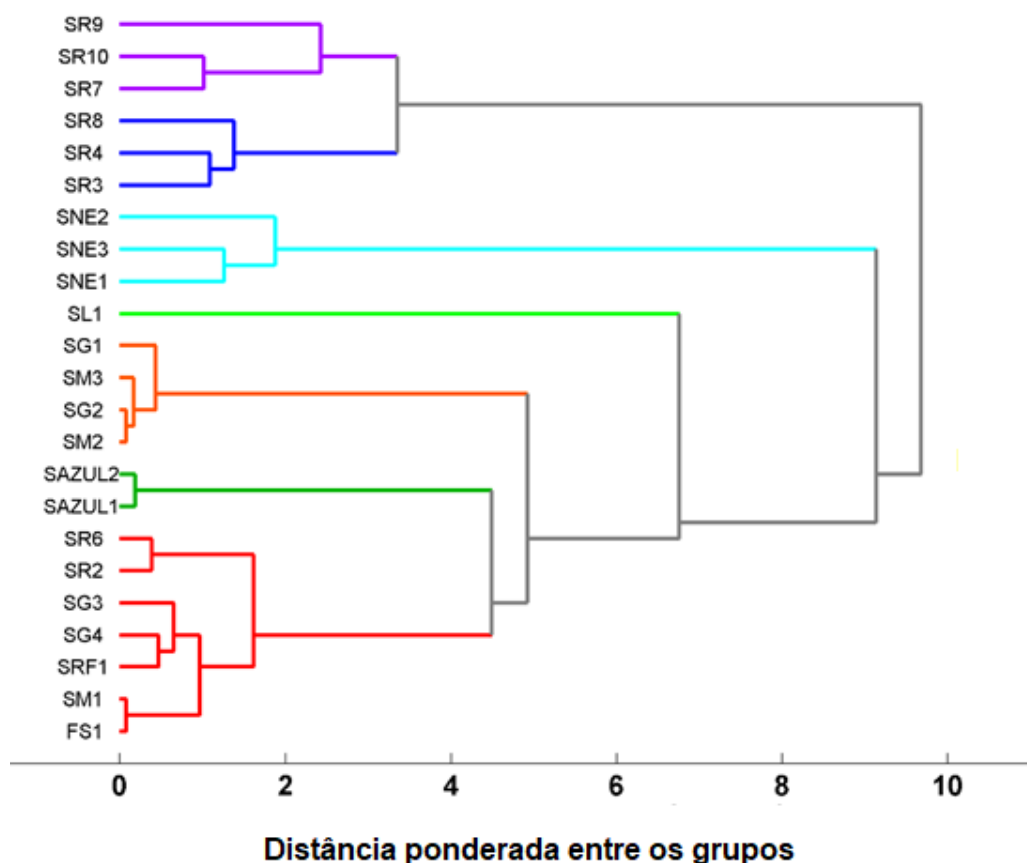


Fonte: Elaborado pelo software MATLAB R2015a.

O Gráfico 9 apresenta o dendrograma obtido na HCA para o grupo de amostras de sais estudadas. O objetivo desta ferramenta estatística é classificar os indivíduos ou amostras em grupos mutuamente excludentes, com base na similaridade entre eles, neste caso as concentrações dos metais Ca, Fe, K, Mg e Na. O algoritmo usado por esta técnica é baseado no cálculo da distância euclidiana entre os dados das variáveis de interesse. (BRERETON, 2003). O modelo de HCA apresentado no Gráfico 10 foi obtido com base no método de Ward, que é baseado no cálculo do quadrado da distância euclidiana entre duas amostras k e l , d_{jl} , como mostrado na Equação 8, onde existem J medidas e x_{kj} é a j -ésima medida da amostra k .

$$d_{kl} = \sum_{j=1}^J (x_{kj} - x_{lj})^2 \quad \text{Equação 8}$$

Gráfico 9 – Dendrograma obtido através da PCA para os teores dos metais determinados nas amostras de sal culinário



Fonte: Elaborado pelo software MATLAB R2015a.

O dendrograma obtido para o conjunto de dados corrobora os resultados obtidos pela PCA. A maioria das amostras foi agrupada de acordo com o tipo de sal e o dendrograma do Gráfico 9 sugere 6 grupos, formados por amostras que apresentam similaridades. O grupo formado pelas amostras de sal comum (refinado, marinho e grosso), forma um grupo com as amostras de sal rosa do Himalaia.

Como mencionado na seção 4.2.3, os valores de IDR para Ca, Fe e Mg para adultos são iguais a 1000 mg, 14 mg e 260 mg, respectivamente (BRASIL, 2005a). A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012a) recomenda uma ingestão diária de sal abaixo de 5g (Na < 2000mg/dia) e, considerando estes valores, nenhuma das amostras de sal rosa do Himalaia, sal negro do Havá ou sal azul da Pérsia podem ser consideradas fontes destes elementos. Para

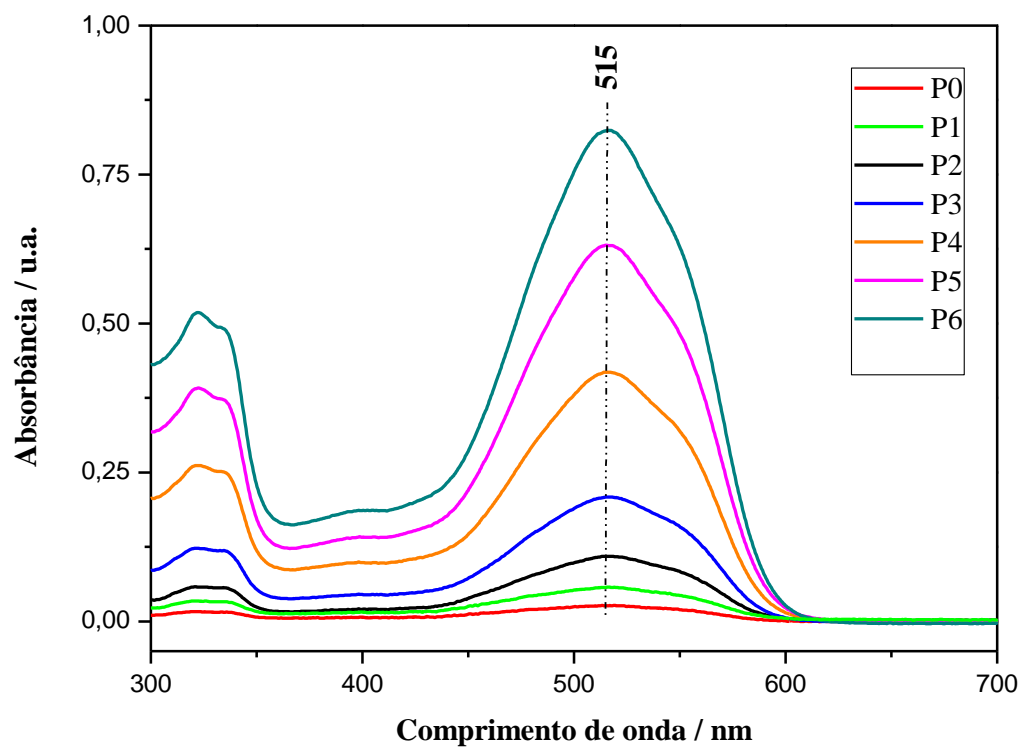
atingir os valores de IDR, as quantidades destes sais que deveriam ser incluídas na dieta excedem as recomendações de ingestão de sal/sódio, o que pode acarretar problemas de saúde, tais como hipertensão arterial (OTT; KOPP; DAHLMANN; SCHMID *et al.*, 2018). Contudo, é preciso lembrar que uma alimentação balanceada deve incluir outros alimentos fonte desses minerais.

Foram encontrados poucos estudos acerca dos teores de metais nas amostras selecionadas para este estudo. Assim, este trabalho contribui para a obtenção de informações atualizadas e confiáveis sobre a composição mineral dos sais, amplamente consumidos no mundo.

4.3.2 Determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia por Espectrofotometria UV-Vis (Método de Referência)

Os espectros eletrônicos de absorção das soluções dos padrões dos corantes E122 e E124, empregados para construção das curvas analíticas, são apresentados nos Gráficos 10 e 11, respectivamente, com monitoramento da absorbância nos comprimentos de onda de máxima absorção para cada corante.

Gráfico 10 – Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções padrão do corante E122

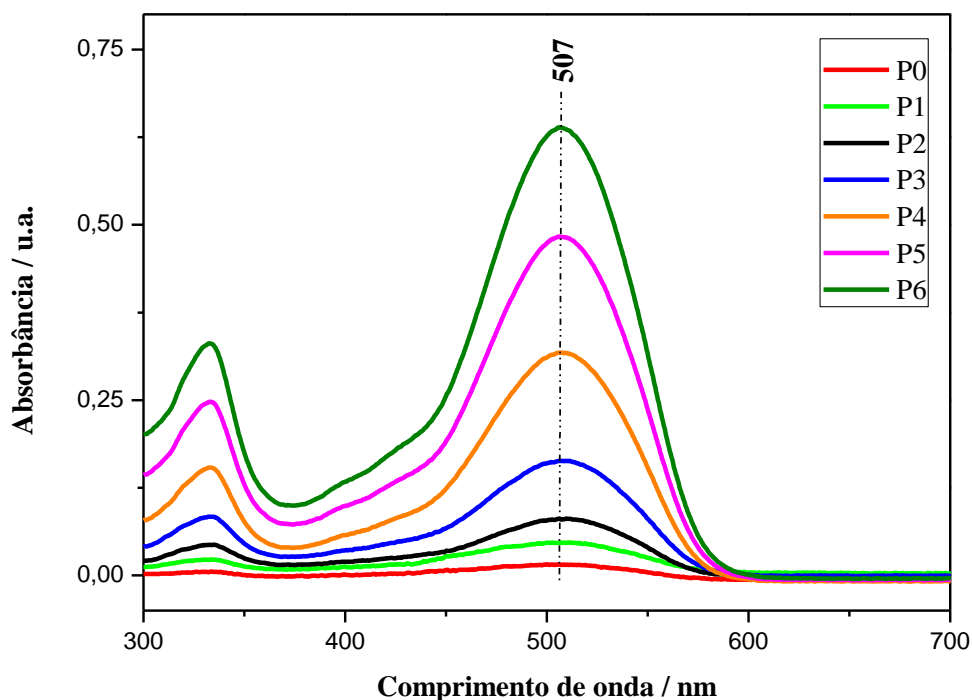


Legenda: P0: 0,50 mg L⁻¹, P1: 1,0 mg L⁻¹, P2: 2,0 mg L⁻¹, P3: 5,0 mg L⁻¹, P4: 10 mg L⁻¹, P5: 15 mg L⁻¹ e P6: 20 mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 11 – Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções padrão do corante

E124



Legenda: P0: 0,50 mg L⁻¹, P1: 1,0 mg L⁻¹, P2: 2,0 mg L⁻¹, P3: 5,0 mg L⁻¹, P4: 10 mg L⁻¹, P5: 15 mg L⁻¹ e P6: 20 mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A linearidade das curvas analíticas construídas para as determinações dos corantes foi avaliada através dos coeficientes de determinação, R^2 , que foram iguais a 0,9998 para E122 e E124. Estes valores foram considerados adequados visto que os valores estão próximos da unidade, indicando boa relação linear entre a concentração dos corantes e o sinal analítico (BRERETON, 2003; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

O método apresentou, ainda, boa exatidão com valores de recuperação iguais a $(102 \pm 12) \%$ para E122 e $(109 \pm 1) \%$ para E124. A precisão também foi considerada adequada visto que os valores de RSD para todas as medidas realizadas em triplicata ficaram abaixo de 5 % (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

Os limites de detecção e quantificação do método também foram obtidos como descrito no item 3.9. Para o LOQ os valores foram iguais a 1,6 e 5,3 mg/100g, para E122 e E124, respectivamente. Não existe legislação brasileira que determine os limites de corantes

artificiais em amostras de sal *gourmet*, que seria naturalmente colorido. Contudo, existe uma regulamentação para alguns corantes em alguns temperos, tais como molhos e sachês, cujos valores permitidos são iguais a 50mg/100g. Neste sentido, o método de referência apresenta detectabilidade compatível com a legislação visto que os valores de LOD e LOQ obtidos estão abaixo do valor preconizado pela ANVISA (BRASIL, 2007).

A Tabela 25 apresenta as curvas analíticas obtidas bem como os coeficientes de determinação de limites de detecção e quantificação.

Tabela 25 – Equações das curvas analíticas, coeficientes de determinação (R^2) e limites de detecção e quantificação obtidos nas determinações dos corantes E122 e E124 pelo método de espectrofotometria de absorção no UV-Vis

Corante	Equação da Curva	R^2	LOD mg/100g	LOQ mg/100g
E122	$Y = 42,831 X + 0,0033$	0,9998	1,6	5,3
E124	$Y = 33,805 X + 0,0007$	0,9998	1,3	4,3

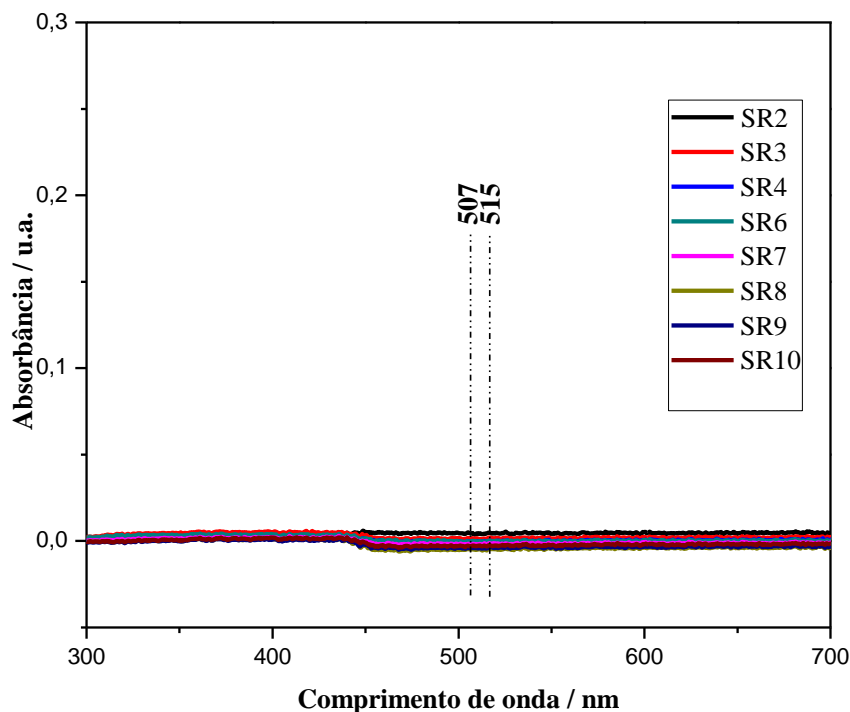
Y = sinal analítico: absorbância.

X = concentração mg L⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Através dos parâmetros avaliados para o método, concluiu-se que o mesmo é adequado para a determinação dos corantes E122 e E124 em amostras de sal. O método foi então aplicado ao conjunto de 8 amostras de sal rosa do Himalaia adquiridas neste estudo e os teores dos dois corantes ficaram abaixo dos limites de detecção. Os espectros de absorção eletrônica, mostrados no Gráfico 12, não apresentam bandas nas regiões características de absorção dos corantes E122 (507 nm) e E124 (515 nm), com sinais de absorbância próximos ao do ruído, mostrando que apesar da coloração rosada, estas amostras não possuem quantidades expressivas destes corantes, caso tenham sido adicionados dos mesmos.

Gráfico 12 – Espectros de absorção eletrônica obtidos para as soluções das amostras comercializadas como sal rosa do Himalaia.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

De acordo com a literatura (GHAZI; ALI; SAHRAEYAN; HANIF, 2014) a coloração destas amostras pode estar relacionada com a presença de compostos de ferro e manganês, analitos que não foram detectados em todas as amostras em estudo pelo método de F AAS. Contudo, a elucidação a respeito da origem da coloração deste tipo de sal *gourmet* está fora da proposta deste estudo. Por outro lado, as informações aqui levantadas indicam que apesar da falta de perfil de composição dos metais avaliados e variação de preço de venda, não há evidências técnicas de fraude, contradizendo com base no conjunto de amostras estudado, as informações veiculadas na mídia.

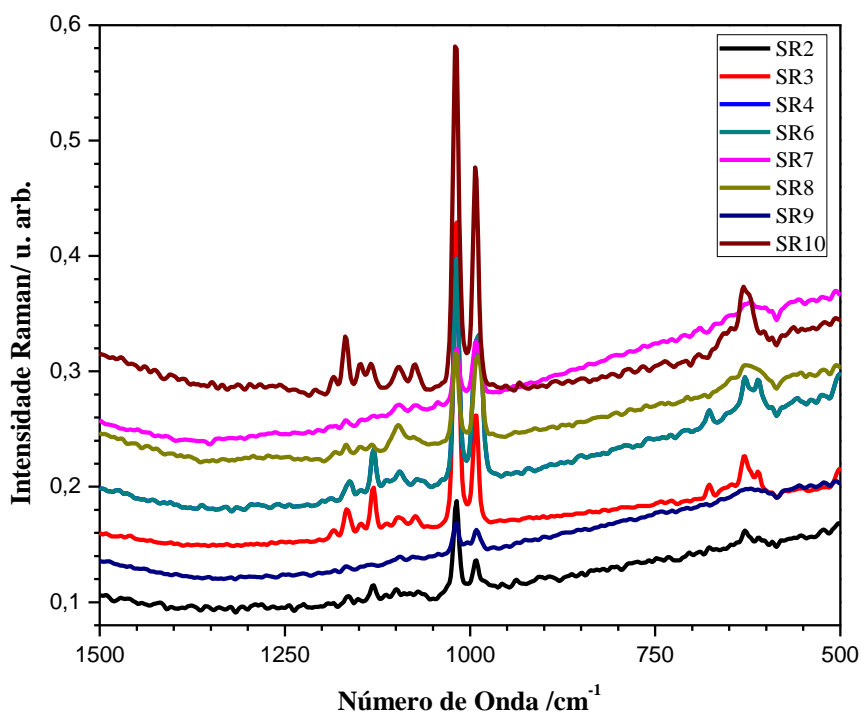
4.3.3 Espectroscopia Raman para caracterização das amostras e como técnica alternativa para determinação de corantes artificiais em amostras de sal rosa do Himalaia (Método proposto)

Os espectros FT-Raman das amostras de sal são mostrados nos Gráficos 13 e 14, onde se nota algumas diferenças no perfil espectral das amostras de sal rosa do Himalaia e sal negro do Havaí, respectivamente, justificadas por suas diferentes composições químicas e coloração das amostras.

Para sugerir uma tentativa de atribuição dos modos vibracionais observados, comparou-se os dados tanto com a literatura quanto com espectros de compostos inorgânicos, em sua maioria sais, que foram coletados neste estudo. Espectros FT-Raman de carbonatos, cloretos, fosfatos, sulfatos, iodatos, iodetos dos metais determinados por espectrometria atômica foram coletados e comparados com os espectros das amostras de sais culinários. Esta etapa requereu grande esforço visto a complexidade das matrizes em estudo.

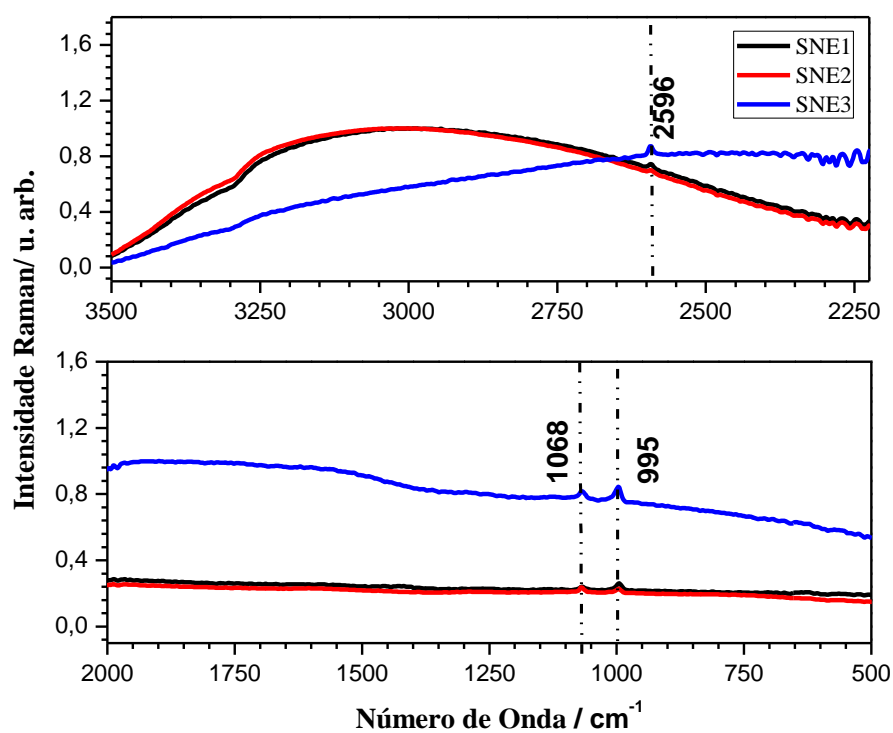
As bandas observadas nas regiões entre $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas aos modos vibracionais característicos de íons de enxofre oxigenados de sais inorgânicos (DEGEN; NEWMAN, 1993). Por outro lado, as bandas nas regiões de 611 e 670 cm^{-1} estão relacionadas às vibrações características de óxidos de ferro (FARIA; VENÂNCIO SILVA; DE OLIVEIRA, 1998). A banda observada na região de 2596 cm^{-1} nos espectros FT-Raman das amostras de sal negro é atribuída ao estiramento da ligação S-H (NAKAMOTO, 2009) e, de acordo com a literatura, este tipo de sal é formado naturalmente em regiões vulcânicas, o que justifica esta tentativa de atribuição.

Gráfico 13– Espectros FT-Raman das amostras de sal rosa do Himalaia



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 14 – Espectros FT-Raman das amostras de sal negro do Havai

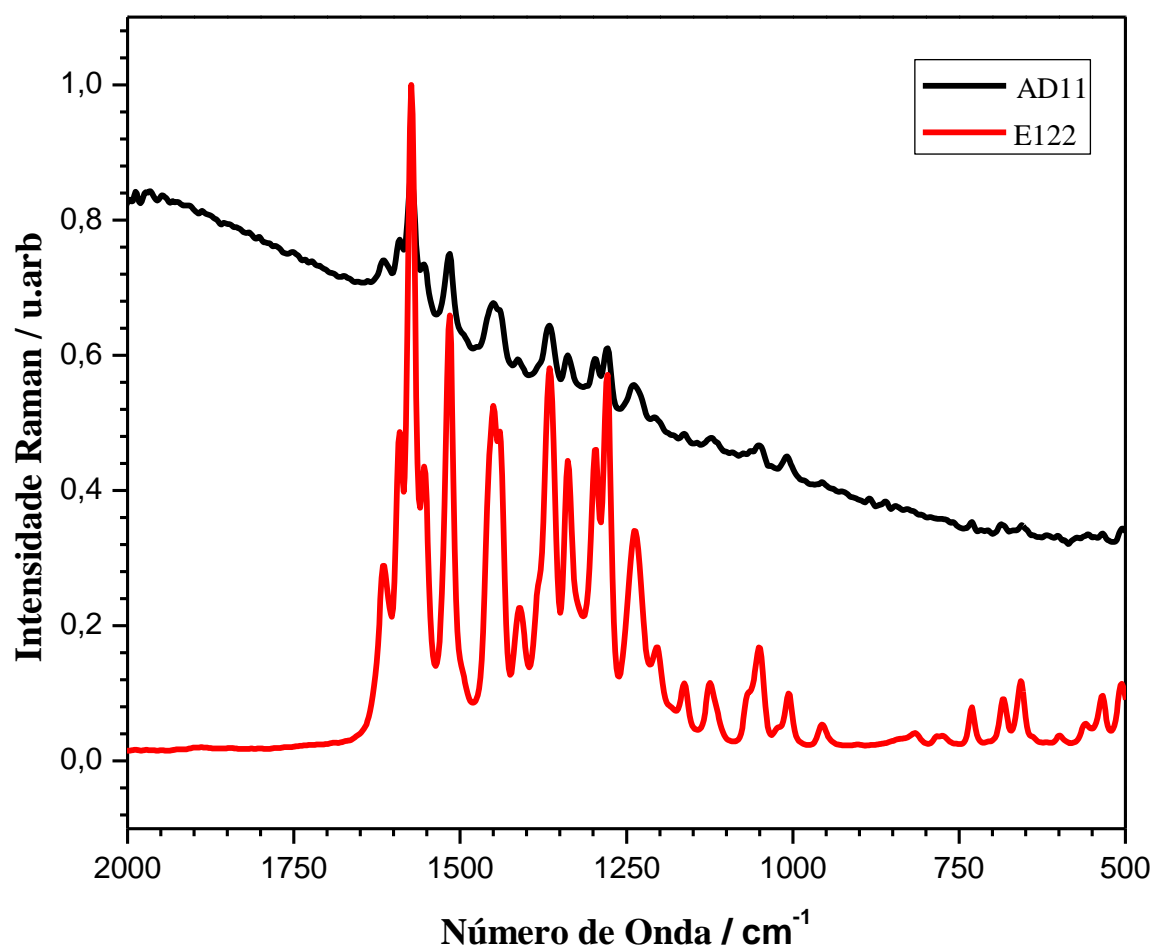


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

É importante enfatizar que as amostras de sal rosa do Himalaia e negro do Havaí são formadas naturalmente e podem apresentar estruturas cristalinas complexas com morfologias heterogêneas e, portanto, sob forte influência da matriz no padrão espectral Raman de espécies de ferro e enxofre. Adicionalmente, outros estudos mostraram que amostras extraídas de diferentes regiões podem apresentar diferentes compostos tais como cloreto de sódio, polihalitas, etc. (PAPP, 2016).

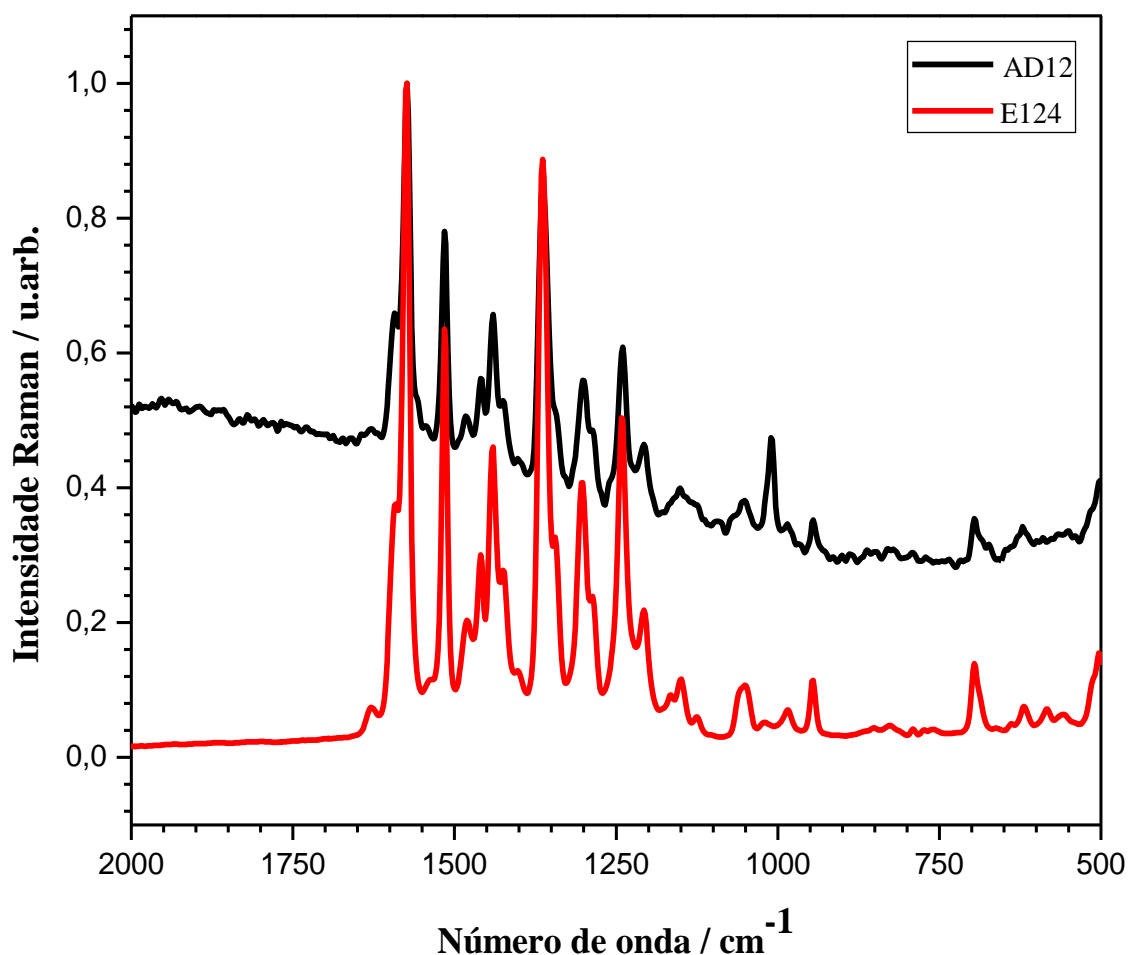
Outra abordagem empregando a espectroscopia Raman foi avaliar o potencial desta técnica espectroscópica como ferramenta de detecção de fraudes ou adulterações de amostras de sal por adição dos corantes artificiais E122 e E124. Para isto, coletaram-se os espectros FT-Raman dos padrões dos corantes bem como das amostras adulteradas por adição destes compostos, em laboratório. O Gráfico 15 apresenta o espectro FT-Raman da amostra adulterada no laboratório por adição do corante E122, denominada AD11, e o Gráfico 16 mostra o espectro obtido para a amostra AD12, também adulterada, no laboratório, por adição do corante E124.

Gráfico 15– Espectros FT-Raman do padrão do corante E122 e amostra adulterada AD11



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 16 – Espectros FT-Raman do padrão do corante E124 e amostra adulterada AD12



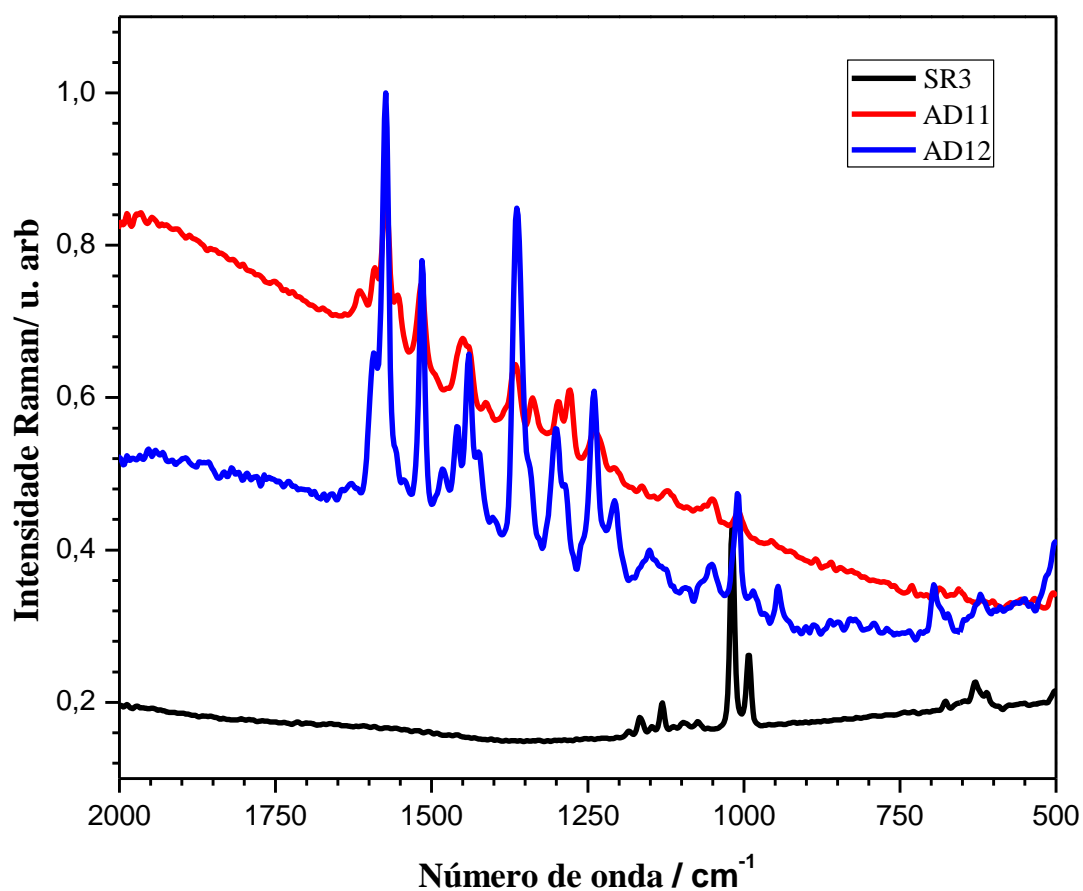
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Observando os espectros das amostras adulteradas em laboratório, é possível perceber que os perfis espectrais são semelhantes aos dos corantes analisados. Além disso, apresenta os modos vibracionais que são característicos destes compostos (ALMEIDA; STEPHANI; SANTOS; OLIVEIRA, 2010; SNEHALATHA; RAVIKUMAR; HUBERT JOE; SEKAR *et al.*, 2009). Assim, conclui-se que a Espectroscopia Raman pode ser empregada para monitorar a presença dos corantes E122 e E124 em amostras de sal nos níveis estudados.

O Gráfico 17 mostra uma comparação dos espectros FT-Raman das amostras adulteradas e da amostra comercializada como sal rosa do Himalaia SR3 que, dentre as amostras adquiridas, apresenta o espectro mais complexo, com um maior número de modos vibracionais observados. Nota-se que os perfis espectrais são bem diferentes e que esta

amostra, bem como as outras 7 analisadas, não apresenta bandas nas regiões características de modos vibracionais dos corantes E122 e E124.

Gráfico 17 – Espectros FT-Raman das amostras adulteradas AD11 e AD12 e da amostra comercial de sal rosa do Himalaia SR3



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Em termos de detectabilidade, os modos característicos dos corantes são observados nos espectros Raman quando estes estão em concentração maior ou igual a 50 mg / 100g (LOD), indicando que esta técnica também seria adequada para verificação de adulterações com os mesmos. Em conclusão, não existem evidências de adulteração das amostras comerciais em níveis superiores a esta concentração de modo que estes resultados são compatíveis com aqueles observados pelo método espectrofotométrico de referência.

5 CONCLUSÕES

Avaliaram-se possíveis contribuições do tipo de preparo (cocção) de diferentes amostras de tecidos comestíveis de frango e da utilização de sais, especiarias e temperos para a disponibilidade de minerais na alimentação. Para isto, diferentes abordagens e técnicas analíticas de caracterização, tais como a espectrometria atômica e a espectroscopia Raman foram utilizadas. Diferentes métodos foram otimizados e os seus desempenhos avaliados através de algumas figuras de mérito. As amostras foram adquiridas na cidade de Juiz de Fora, MG e uma das amostras de sal rosa do Himalaia foi adquirida na cidade de Orlando, FL, nos Estados Unidos da América.

Para avaliar a influência de diferentes panelas nas concentrações de elementos metálicos e na composição nutricional de alguns tipos de amostras de frango, um procedimento de cocção doméstica simulada em laboratório foi aplicado para amostras de coração, fígado e moela. O cozimento das amostras foi realizado com adição de especiarias em três tipos de panelas normalmente empregadas no Brasil: panela de ferro, alumínio e panela de alumínio fundido. Os teores dos metais Al, Ca, Cu, Fe, Mn e Ni foram determinados nas amostras cruas e cozidas por espectrometria de emissão óptica em plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), após digestão assistida por radiação micro-ondas empregando soluções diluídas de ácido nítrico. O método apresentou detectabilidade, exatidão e precisão adequadas e foi então aplicado para o conjunto de 12 amostras.

Quanto às determinações analíticas observou-se que, no geral, a cocção das amostras de tecidos comestíveis de frango promove redução dos teores de umidade e aumento dos teores de proteínas e cinzas, independente do tipo de panela empregada no preparo. Em relação aos metais, observaram-se em geral mais diminuições do que aumentos dos teores dos elementos determinados neste estudo. Observou-se a diminuição das concentrações de Ca e Ni em todas as amostras após a cocção nas diferentes panelas. E o aumento foi observado nos teores de Fe após a cocção da amostra de fígado na panela de ferro.

Através de ferramentas estatísticas, observou-se que as amostras de coração e moela cruas apresentam teores de Ca próximos, enquanto as amostras de fígado cozidas nas panelas de ferro e de alumínio fundido apresentaram teores comparáveis de Fe. Este resultado pode indicar que o nível de concentração de ferro neste tipo de carne pode ser alcançado com o

cozimento nos dois tipos de panela e não apenas com utilização da panela de ferro, como sugerido na cultura popular do interior do país, inclusive no estado de Minas Gerais.

Os teores dos metais Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn foram determinados nas amostras de especiarias e temperos prontos por espectrometria de emissão (F AES) e absorção atômica (F AAS ou GF AAS). Para a extração dos metais e digestão da amostra, otimizou-se um método de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas. As figuras de mérito avaliadas indicaram boas precisão e exatidão e o método foi aplicado para o conjunto de 15 amostras.

Observou-se uma grande variação dos teores de Fe e Zn em amostras de especiarias e de Ca e K em amostras de temperos prontos, considerando as diferentes marcas e lotes. Alho, louro e pimenta preta possuem quantidade de Mg que pode contribuir com o aumento deste mineral nos alimentos em que são preparados com estes condimentos. Outro resultado relevante é que as amostras de temperos prontos apresentam os maiores teores de Na dentre o grupo de amostras analisado e o seu consumo pode fornecer quantidades expressivas deste elemento, o que merece atenção visto que seu consumo em excesso aumenta o risco de ocorrência de doenças cardíacas.

No caso das amostras de sal de uso culinário, estabeleceu-se um método de dissolução ácida para determinação de Ca, Fe, K, Mg e Na por espectrometria atômica (F AES e F AAS), que também apresentou boas detectabilidade, exatidão e precisão. Dentre as 23 amostras de sal analisadas, os sais *gourmet* apresentam uma variedade de minerais que não foram encontrados nas amostras de sal refinado comum. Porém, os níveis de concentração encontrados para estes elementos são relativamente baixos e, considerando a ingestão diária recomendada de sal, estas amostras não podem ser consideradas fontes significativas de micro (Fe) e macronutrientes (Ca, Mg, K). Em outras palavras, para alcançar a ingestão diária recomendada para estes elementos através da ingestão das amostras analisadas, as quantidades a serem incluídas na dieta excederiam as recomendações de ingestão de sal da Organização Mundial da Saúde. Além disso, os teores de sódio obtidos nas amostras de sal *gourmet* estão no mesmo nível que o encontrado nas amostras de sal de mesa.

Empregando a espectroscopia Raman foi possível identificar a presença de compostos de ferro e enxofre nas amostras de sal rosa do Himalaia e sal negro do Havaí, complementando a caracterização das mesmas. Em relação à autenticidade das amostras de sal rosa do Himalaia, a presença de alguns corantes artificiais foi investigada usando

espectrofotometria UV-Vis e as concentrações determinadas nas 8 amostras analisadas ficaram abaixo do limite de detecção. Por ser uma técnica não destrutiva, a espectroscopia Raman foi utilizada como método alternativo para verificar a presença de corantes nessas amostras. Os dados obtidos confirmam que não há evidências de adulteração e estes resultados corroboram aqueles encontrados pelo método de referência, baseado na espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e visível.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

A proposta original deste trabalho incluiu a avaliação da influência do uso de temperos sobre os teores bioacessíveis dos metais Ca e Fe em amostras de carne bovina. Contudo, devido à suspensão das atividades presenciais em função da pandemia de Covid-19, esta parte do projeto não pôde ser concluída. Mesmo assim, os procedimentos e resultados parciais obtidos são apresentados a seguir, juntamente com uma proposta para a sua finalização.

Para avaliar a influência da adição de especiarias sobre os teores bioacessíveis de Ca e Fe em amostras de carne bovina, otimizou-se um procedimento de cocção, em laboratório (Laboratório de Técnica Dietética e Nutrição-Departamento de Nutrição-Instituto de Ciências Biológicas-UFJF) e sob condições controladas, para simular cocções domésticas usuais. O tipo de amostra selecionada foi o músculo bovino, alimento rico em proteína e importantes em termos nutricionais (SHAH; BOSCO; MIR, 2014). Adquiriu-se um total de 4,000 kg de músculo bovino cortado em cubos, sendo 2,000 kg adquiridos em um açougue (Amostra 1) e 2,000 kg em um supermercado (Amostra 2), ambos da cidade de Juiz de Fora, MG. Isto foi feito para garantir que as amostras eram provenientes de animais diferentes. Para evitar perdas de minerais, as amostras foram compradas e levadas para o laboratório para a realização dos experimentos no mesmo dia.

Adquiriu-se uma panela de pressão com revestimento antiaderente que foi empregada para todas as cocções. Esta panela foi lavada com água e detergente neutro evitando produtos e utensílios abrasivos. Cada amostra foi separada em dois grupos, sendo um grupo 1 cozido com adição de temperos e o grupo 2 sem a adição de temperos. Dentre as especiarias estudadas, definiram-se as seguintes combinações/quantidades para cocção de músculo bovino: sal (SRF1; m= 5g), alho (A2; m=4g) e pimenta preta (P1; m=1g). Estas quantidades foram determinadas após experimentos piloto das duas preparações, seguindo modo de preparo habitual do laboratório para adição de sal.

Para a cocção das amostras de músculo bovino do grupo 1, em que houve a adição de temperos, a panela de pressão foi aquecida em fogão de uso doméstico por 4 minutos (290 °C) com posterior adição de óleo de soja (20g). Aqueceu-se por 5 minutos e adicionou-se a carne, que foi selada, dos dois lados e sem mexer, por 7 minutos (200 °C). Após este tempo, acrescentou-se o sal e a pimenta. O alho foi misturado à água filtrada (500g) em um copo de plástico e esta mistura foi adicionada à panela, que foi fechada. A pressão foi alcançada após 6 minutos e deixou-se cozinhar sob pressão por mais 20 minutos em fogo baixo (200 °C). Após este tempo, desligou-se o fogo e, após o alívio da pressão (7 minutos), a panela foi aberta. O mesmo procedimento foi realizado para as amostras do grupo 2 com exceção das etapas de adição de temperos. Para os 2 grupos, as cocções foram realizadas em triplicatas e as amostras, bem como os líquidos residuais das cocções foram transferidas para um mixer de uso doméstico e processadas. Em seguida foram transferidas para frascos plásticos descontaminados e refrigeradas em ultra freezer à temperatura de - 80 °C.

Devido a problemas técnicos no digestor micro-ondas e no espectrômetro de absorção atômica, ambos disponíveis no Departamento de Química da UFJF, uma parceria foi firmada com o Laboratório de Espectroanalítica Aplicada (LESPA) do Departamento de Química da Universidade Federal Fluminense, que dispõe de um digestor Speed Wave 4, modelo semelhante ao utilizado como descrito nos itens 3.4.2 e 3.5, e de um espectrômetro AA240FS Varian, usado no modo chama.

Para determinação dos teores totais, as amostras foram levadas para secagem em estufa a 70 °C e moídas em mixer de uso doméstico. Em seguida, uma amostra mistura (MC) foi preparada pela mistura de 2g de cada uma das amostras, totalizando 24g, e foi utilizada nas etapas de otimização subsequentes. Para determinação dos teores totais, as amostras foram levadas para digestão ácida assistida por radiação micro-ondas. Para isto, 250 mg da amostra MC foi pesada em frasco PTFE e foram adicionados 7,00 mL de solução de HNO₃ 14,00 mol L⁻¹. A mistura foi deixada em pré-digestão por 1h e em seguida levada para digestão assistida por radiação micro-ondas seguindo o programa de aquecimento mostrado na Tabela 3, apresentada no item 3.5 desta tese. Ao final do programa, obteve-se uma solução límpida dos digeridos que foram avolumados para 20,00 mL com água deionizada. O procedimento foi realizado em triplicata.

Para avaliação da exatidão do procedimento de digestão, foram realizados ensaios de adição e recuperação em dois níveis: para Ca, nos níveis 0,35 e 0,80 mg L⁻¹ e, para o Fe, nos

níveis 0,80 e 1,2 mg L⁻¹. Os valores de recuperação para o Ca foram iguais a (90 ± 1) % para o nível baixo e igual a (93 ± 8) % para o nível alto. Para o Fe, as recuperações foram iguais a (106 ± 4) % e (109 ± 3) %, para os níveis baixo e alto, respectivamente, indicando boa exatidão do método (THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002). A precisão foi monitorada pelo RSD, cujos valores ficaram abaixo de 12 % para todas as medidas, valores aceitáveis de acordo com a literatura (JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2002).

Com a suspensão das atividades, não foi possível finalizar esta parte do estudo. Neste sentido, sugere-se que o mesmo seja futuramente finalizado da seguinte forma:

- a) aplicação do método analítico para digestão das amostras de músculo bovino cozidas (com e sem especiarias/temperos prontos) empregando digestão ácida assistida por radiação micro-ondas;
- b) aplicar/adaptar um método de bioacessibilidade *in vitro* para determinar os teores bioacessíveis dos minerais Ca e Fe nas amostras do item a;
- c) avaliar os teores totais e bioacessíveis dos metais Ca e Fe encontrados nas amostras de músculo bovino cozido com e sem temperos e verificar se existem diferenças estatisticamente significativas. Para isto, algumas ferramentas estatísticas poderão ser utilizadas, tais como teste de Tukey para comparação das médias e Análise de Componentes Principais (PCA).

REFERÊNCIAS

- AARON, K. J.; SANDERS, P. W. Role of Dietary Salt and Potassium Intake in Cardiovascular Health and Disease: A Review of the Evidence. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 88, n. 9, p. 987-995, 2013.
- ABBASPOUR, N.; HURRELL, R.; KELISHADI, R. Review on iron and its importance for human health. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 19, n.2. p. 164-174, 2014.
- ABDELGHANI, J. I.; AL-DEGS, Y. S.; EL-SHEIKH, A. H.; FASFOUS, II, AL-ASAFRAH, A. A. Quick monitoring of coloring agents in highly consumed candies using multivariate calibration. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 4228-4236, 2020.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal, **Relatório Anual**. Edição 2019. São Paulo, 2019. Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>. Acesso em 20 jan. 2020.
- AKSUNER, N.; TIRTOM, V. N.; HENDEN, E. Arsenic and antimony determination in refined and unrefined table salts by means of hydride generation atomic absorption spectrometry—comparison of sample decomposition and determination methods, **Turkish Journal of Chemistry**, v. 35, n. 6, p. 871-880, 2011.
- AL BRATTY, M.; ALHAZMI, H. A.; OGDY, S. J.; OTAIF, J. A. *et al.* Determination of Heavy Metals in Various Tissues of Locally Reared (Baladi) Chicken in Jazan Region of Saudi Arabia: Assessment of Potential Health Risks. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 50, n. 4, p. 1509-1517, 2018.
- AL JUHAIMAN, L. A. Estimating Aluminum leaching from Aluminum cook wares in different meat extracts and milk. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 14, n. 1, p. 131-137, 2010.
- ALMEIDA, M. R.de ; OLIVEIRA, K. s.; STEPHANI, R.; OLIVEIRA, L. F. C.de. Application Of Ft-Raman Spectroscopy And Chemometric Analysis For Determination Of Adulteration In Milk Powder. **Analytical Letters**, v. 45, n. 17, p. 2589-2602, 2012.
- ALMEIDA, M. R.de; STEPHANI, R.; SANTOS, H. F.dos; OLIVEIRA, L. F. C. D.de Spectroscopic and Theoretical Study of the “Azo”-Dye E124 in Condensate Phase: Evidence of a Dominant Hydrazo Form. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 114, n. 1, p. 526-534, 2010.
- ALP, H.; BASKAN, D.; YASAR, A.; YAYLI, N. OCAK, U., OCAK, M.. Simultaneous Determination of Sunset Yellow FCF, Allura Red AC, Quinoline Yellow WS, and Tartrazine in Food Samples by RP-HPLC. **Journal of Chemistry**, v. 2018, p. 6, 2018.
- AMORIM, F. A. C.; FERREIRA, S. L. C. Determination of cadmium and lead in table salt by sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 65, n. 4, p. 960-964, 2005.
- AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, p. 1784-1790, 2008.

ANDOH, S. S.; NUUTINEN, T.; MINGLE, C.; ROUSSEY, M. Qualitative analysis of Sudan IV in edible palm oil. **Journal of the European Optical Society-Rapid Publications**, v. 15, n. 1, p. 5, 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relação de corantes permitidos no Brasil**. Brasília D.F. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2954708/Cap%C3%ADtulos+do+Volume+1+-+13+Subst%C3%A2ncias+corantes.pdf/30224e2c-f071-46c0-b415-7e3b0db90823>. Acesso em: 22 abr. 2020.

ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, p. 638-643, 1997.

ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 4, p. 353-362, 2005.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. 1st ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

BISGIN, A. T. Simultaneous Preconcentration and Determination of Brilliant Blue and Sunset Yellow in Foodstuffs by Solid-Phase Extraction Combined UV-Vis Spectrophotometry. **Journal of Aoac International**, v. 101, n. 6, p. 1850-1856, 2018.

BISGIN, A. T. Simultaneous Extraction and Determination of Allura Red (E129) and Brilliant Blue FCF (E133) in Foodstuffs by Column Solid-Phase Spectrophotometry. **Journal of Aoac International**, v. 102, n. 1, p. 181-188, 2019.

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.

BRASCHI, A.; NAISMITH, D. J. The effect of a dietary supplement of potassium chloride or potassium citrate on blood pressure in predominantly normotensive volunteers. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1284-1292, 2008.

BRASIL. Resolução RDC nº 28, de 28 de março de 2000. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 21-24, 30 mar. 2000.

BRASILa. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 372, 23 set. 2005.

BRASILb. Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 378, 23 set. 2005.

BRASIL. Resolução RDC No. 4, de 15 de janeiro de 2007. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 47, 17 jan. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira** / Ministério da Saúde, Secretaria de

Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BRERETON, R. G. **Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant**. 1st ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2003.

BROWN, R. J. C.; MILTON, M. J. T. Analytical techniques for trace element analysis: an overview. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 3, p. 266-274, 2005.

BUA, D. G.; ANNUARIO, G.; ALBERGAMO, A.; CICERO, N., DUGO, G. Heavy metals in aromatic spices by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance**, v. 9, n. 3, p. 210-216, 2016.

BULSKA, E.; RUSZCZYŃSKA, A. Analytical Techniques for Trace Element Determination. **Physical Sciences Reviews**, v. 2, n. 5, p. 1-14, 2017.

CAMPOS, N. S.; OLIVEIRA, K. S.; ALMEIDA, M. R.DE; STEPHANI, R. OLIVEIRA, L.F.C.de. Classification of Frankfurters by FT-Raman Spectroscopy and Chemometric Methods. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 18980-18992, 2014.

CAMPOS, N. S.; LOURDES, Â. M. F. O.; ALVARENGA, F. B. M.; SABARENSE, C. M. OLIVEIRA, M.A.L.de, SOUSA, R.A.de Multivariate approach to assess in vitro Fe bioaccessibility in chicken meat. **Food Science and Technology**, v. 38, n.1, p. 157-163, 2018.

CAMPOS, N. S.; OLIVEIRA, M. A. L. de; IZUMI, C. M. S.; SOUSA, R. A.de. Alkaline Solubilization of Chicken Tissues Monitored by Raman Spectroscopy Followed by Pb Determination by GF AAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n.2, p. 353-362, 2018.

CARIDI, F.; MESSINA, M.; BELVEDERE, A.; D'AGOSTINO, M., MARGUCCIO, S., SETTINERI, L., BELMUSTO, G. Food Salt Characterization in Terms of Radioactivity and Metals Contamination. **Applied Sciences-Basel**, v. 9, n. 14, p. 9, 2019.

CASTRO, J. T.; SANTOS, E. C.; SANTOS, W. P. C.; COSTA, L. M., KORN, M., NÓBREGA, J.A., KORN, M.G.A. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 78, n. 4, p. 1378-1382, 2009.

CHAN, C. L.; GAN, R. Y.; SHAH, N. P.; CORKE, H. Polyphenols from selected dietary spices and medicinal herbs differentially affect common food-borne pathogenic bacteria and lactic acid bacteria. **Food Control**, v. 92, p. 437-443, 2018.

CHERAGHALI, A. M.; KOBARFARD, F.; FAEIZYA, N. Heavy Metals Contamination of Table Salt Consumed in Iran. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 2, p. 129-132, 2010.

CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Revista Analytica**, v. 5, p. 8, 2003.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 5^a ed. São Paulo: Manole, 2016.

DA-COL, J. A.; BUENO, M. I. M. S.; MELQUIADES, F. L. Fast and Direct Na and K Determination in Table, Marine, and Low-Sodium Salts by X-ray Fluorescence and Chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 2406-2412, 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Minerals. *In: Food Chemistry*. 4^a ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2008. cap. 8.

DEB-CHOUDHURY, S.; HAINES, S.; HARLAND, D.; CLERENS, S., VAN KOTEN, C., DYER, J. Effect of cooking on meat proteins: mapping hydrothermal protein modification as a potential indicator of bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 32, p. 8187-8196, 2014.

DEGEN, I. A.; NEWMAN, G. A. Raman spectra of inorganic ions. **Spectrochimica Acta**, v. 49A, n. 5/6, p. 29, 1993.

DILRUKSHI, P. G. T.; MUNASINGHE, H.; SILVA, A. B. G.; DE SILVA, P. Identification of synthetic food colours in selected confectioneries and beverages in jaffna district, sri lanka. **Journal of Food Quality**, v. 2019, p. 1-9, 2019.

DONG, X. L.; ZHANG, J.; ZHAO, Y. L.; ZUO, Z. T. WANG, Y.Z., ZHANG, J.Y. Multivariate analyses of major and trace elements in 19 species of herbs consumed in Yunnan, China. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 7, p. 1666-1676, 2017.

DRAKE, S. L.; DRAKE, M. A. Comparison of salty taste and time intensity of sea and land salts from around the world. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, n. 1, p. 25-34, 2010.

EFTEKHARI, M. H.; MAZLOOMI, S. M.; AKBARZADEH, M.; RANJBAR, M. Content of toxic and essential metals in recrystallized and washed table salt in Shiraz, Iran. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 10, 2014.

EL BAYOMI, R. M.; DARWISH, W. S.; ELSHAHAT, S. S. M.; HAFEZ, A. E. HUMAN Health risk assessment of heavy metals and trace elements residues in poultry meat retailed in Sharkia Governorate, Egypt. **Slovenian Veterinary Research**, v. 55, n. 20, p. 211-219, 2018.

EL-RJOOB, A. W. O.; MASSADEH, A. M.; OMARI, M. N. Evaluation of Pb, Cu, Zn, Cd, Ni and Fe levels in *Rosmarinus officinalis labiatae* (Rosemary) medicinal plant and soils in selected zones in Jordan. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 140, n. 1-3, p. 61-68, 2008.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, part B, p. 811-819, 2015.

ESQUIVEL-PEÑA, V.; MUNGUÍA-ACEVEDO, N. M.; RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL, E.; AGUILAR, J. C., DE GYVES, J. On the control of interferences in the potentiometric fluoride analysis of table salt samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 47, p. 60-68, 2016.

ESTEKI, M.; SHAHSAVARI, Z.; SIMAL-GANDARA, J. Use of spectroscopic methods in combination with linear discriminant analysis for authentication of food products. **Food Control**, v. 91, p. 100-112, 2018.

EWA, B.; ANNA, R. Analytical Techniques for Trace Element Determination. **Physical Sciences Reviews**, v. 2, n. 5, p. 1-14, 2017.

EXLEY, C. The toxicity of aluminium in humans. **Morphologie**, v. 100, n. 329, p. 51-55, 2016.

FAO, The Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Recommended Methods for Analysis and Sampling**. World Health Organization, Geneva. 1999. Disponível em: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B234-1999%252FCXS_234e.pdf. Acesso em 20 ago. 2016.

FAO, The Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Combined compendium of food additive specifications**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006.

FAO, The Food and Agriculture Organization of the United Nations, CODEX ALIMENTARIUS International food standards. **Codex standard for food grade salt**, CODEX STAN 150-1985, 2012. Disponível em http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B150-1985%252FCXS_150e.pdf. Acesso em: 20 ago. 2016.

FARIA, D. L. A.de; VENÂNCIO SILVA, S.; DE OLIVEIRA, M. T. Raman microspectroscopy of some iron oxides and oxyhydroxides. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 28, n. 11, p. 873-878, 1998.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria**. 1ª ed. Campinas: Editora Unicamp, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, **Code of Federal Regulations**, title 21, parts 73, 74, and 82 and section 101.22(k). Washington, D. C.: U.S. Government Printing Office 2012. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=101.22>. Acesso em: 20 ago. 2016.

GAMELA, R. R.; COSTA, V. C.; PEREIRA, E. R. Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction procedure for the determination of Ca, Fe, K, Mg, Mn, P, and Zn in Pepper samples by ICP OES. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 69-77, 2020.

GARRIDO, C.; CLAVIJO, E.; COPAJA, S.; GOMEZ-JERIA, J., CAMPOS-VALLETTE, M. Vibrational and electronic spectroscopic detection and quantification of carminic acid in candies. **Food Chemistry**, v. 283, p. 164-169, 2019.

GERBER, N.; SCHEEDER, M. R. L.; WENK, C. The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 148-154, 2009.

GHAZI, S.; ALI, S.; SAHRAEYAN, M.; HANIF, T. An overview of tectonosedimentary framework of the Salt Range, northwestern Himalayan fold and thrust belt, Pakistan. *Pakistan Arab J Geosci*, v. 8, 1635–1651, 2015.

GINÉ-ROSIAS, M. F. **Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES)**. Piracicaba: CENA/USP, 1998.

GIRI, S.; SINGH, A. K. Heavy metals in eggs and chicken and the associated human health risk assessment in the mining areas of Singhbhum copper belt, India. *Archives of Environmental & Occupational Health*, v. 74, n. 4, p. 161-170, 2019.

GOKHALE, A. S.; MAHONEY, R. R. Cooking chicken breast reduces dialyzable iron resulting from digestion of muscle proteins. *International Journal of Food Science*, v. 2014, p.1-6, 2014.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P.; CENGIZ, E. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, v. 84, n. 1, p. 19-22, 2004.

GOMES, M. S.; TREVIZAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico. *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1577-1581, 2008.

GONZALEZ, M. H.; SOUZA, G. B.; OLIVEIRA, R. V.; FORATO, L. A., NÓBREGA, J.A., Nogueira, A. R. A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, v. 79, n. 2, p. 396-401, 2009.

GORAN, G. V.; TUDOREANU, L.; ROTARU, E.; CRIVINEANU, V. Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation method. *Meat Science*, v. 118, p. 117-121, 2016.

GUKOWSKY, J. C.; XIE, T. Y.; GAO, S. Y.; QU, Y. Q., HE, L. L. Rapid identification of artificial and natural food colorants with surface enhanced Raman spectroscopy. *Food Control*, v. 92, p. 267-275, 2018.

HARRIS, D. **Análise Química Quantitativa**. 6th ed. Rio de Janeiro: S.A., 2005.

HE, M.; KE, C.-H.; WANG, W.-X. Effects of cooking and subcellular distribution on the bioaccessibility of trace elements in two marine fish species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 6, p. 3517-3523, 2010.

HOUSTON, M. C. The importance of potassium in managing hypertension. *Current Hypertension Reports*, v. 13, n. 4, p. 309-317, 2011.

HU, Y. N.; ZHANG, W. F.; CHEN, G.; CHENG, H. F., TAO, S. Public health risk of trace metals in fresh chicken meat products on the food markets of a major production region in southern China. *Environmental Pollution*, v. 234, p. 667-676, 2018.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **POF: Pesquisa de Orçamentos Familiares 2007-2008**. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Brasília, DF., 2009. Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/educacao/9050-pesquisa-de-orcamentos-familiares.html?edicao=9058&t=sobre>. Acesso em: 25 mai. 2020.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **POF: Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018**. Avaliação Nutricional da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos no Brasil. Brasília, DF., 2019. Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/educacao/24786-pesquisa-de-orcamentos-familiares-2.html?edicao=27139&t=downloads>. Acesso em: 25 mai. 2020.

INGUGLIA, E. S.; ZHANG, Z. H.; TIWARI, B. K.; KERRY, J. P., BURGESS, C. M. Salt reduction strategies in processed meat products - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 70-78, 2017.

INSTITUTE OF MEDICINE, U. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. Washington DC: National Academy Press:, 2001.

ISMAIL, A. A. A.; ISMAIL, Y.; ISMAIL, A. A. Chronic magnesium deficiency and human disease; time for reappraisal? **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 111, n. 11, p. 759-763, 2017.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**. Prague: IUPAC, 2014.

JANKOWSKI, K. J.; RESZKE, E. **Microwave Induced Plasma Analytical Spectrometry**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2010. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1039/9781849732147>. Acesso em: 20 ago. 2018.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. **Regulamento (CE) N.º 1333/2008** do parlamento europeu e do conselho de 16 de dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares., 2008. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&from=EN>. Acesso em: 21 ago. 2016.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. **Decisão da comissão de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados**, 2002. Disponível em: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed928116-a955-4a84-b10a-cf7a82bad858/language-en> Acesso em: 16 ago. 2016.

JOSHI, R.; LOHUMI, S.; KIM, M. S.; QIN, J. W., BAEK, I., CHO, B. K. Raman spectral analysis for non-invasive detection of external and internal parameters of fake eggs. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 303, p. 11, 2020.

KAEFER, C. M.; MILNER, J. A. The role of herbs and spices in cancer prevention. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, n. 6, p. 347-361, 2008.

KARAVOLTOSOS, S.; SAKELLARI, A.; BAKEAS, E.; BEKIARIS, G., PLAVSIC, M., PROESTOS, C., ZINELIS, S., KOUKOULAKIS, K., DIAKOS, I., DASSENAKIS, M.,

KALOGEROPOULOS, N. Trace elements, polycyclic aromatic hydrocarbons, mineral composition, and FT-IR characterization of unrefined sea and rock salts: environmental interactions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, 10857–10868, 2020.

KHAN, N.; CHOI, J. Y.; NHO, E. Y.; HABTE, G., JAMILA, N., HONG, J. H., RYU, K. Y., PARK, K. S., KIM, K. S. Determination of macronutrients in spices by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 47, n. 14, p. 2394-2405, 2014.

KIM, D. G.; KIM, M.; SHIN, J. Y.; SON, S. W. Cadmium and lead in animal tissue (muscle, liver and kidney), cow milk and dairy products in Korea. **Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance**, v. 9, n. 1, p. 33-37, 2016.

KORN, M. D. A.; MORTE, E. S. D.; SANTOS, D.dos; CASTRO, J. T., BARBOSA, J.T.P., TEIXEIRA, A.P., FERNANDES, A.P., WELZ, B., SANTOS, W.P.C.dos; SANTOS, E.B.G.N.dos, KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 67-92, 2008.

KRAUSE, M.; VIEIRA, L. V.; CUNHA, T. P.; BRANDAO, G. P., FILGUEIRAS, P. R., CARNEIRO, M. T. W. D. Multi-element evaluation in black pepper (*piper nigrum l.*) according to the processing. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 1, p. 135-142, 2020.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: Edit SBQ, 2016.

LA GUARDIA, M.de; GARRIGUES, S. **Handbook of Mineral Elements in Food**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015.

LA GUARDIA, M.de; GARRIGUES, S. Meat *In: Handbook of Mineral Elements in Food* 1st ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2015b. cap. 26, p. 599-619.

LEMOS, V. A.; SANTOS, L. N.; BEZERRA, M. A. Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 277-281, 2010.

LIMCHOOWONG, N.; SRICHAROEN, P.; TECHAWONGSTIEN, S.; KONGSRI, S., CHANTHAI, S. A green extraction of trace iodine in table salts, vegetables, and food products prior to analysis by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 4, p. 540-546, 2017.

LIPSKIKH, O. I.; KOROTKOVA, E. I.; DOROZHKO, E. V.; DERINA, K. V., VORONOVA, O. A. Voltammetric Determination of Carmoisine in Soft Drinks. **Inorganic Materials**, v. 53, n. 14, p. 1427-1431, 2017.

LUTZ, Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 16 ago. 2016.

MAJEWSKA, D.; SZCZERBINSKA, D.; LIGOCKI, M.; BUCLAW, M., SAMMEL, A., TARASEWICZ, Z., ROMANISZYN, K., MAJEWSKI, J. Comparison of the mineral and fatty acid profiles of ostrich, turkey and broiler chicken livers. **British Poultry Science**, v. 57, n. 2, p. 193-200, 2016.

MARANGONI, F.; CORSELLO, G.; CRICELLI, C.; FERRARA, N., GHISELLI, A., LUCCHIN, L., POLI, A. Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: an Italian consensus document. **Food & nutrition research**, v. 59, p. 27606-27606, 2015.

MATOS-REYES, M. N.; CERVERA, M. L.; CAMPOS, R. C.; LA GUARDIA, M. de. Total content of As, Sb, Se, Te and Bi in Spanish vegetables, cereals and pulses and estimation of the contribution of these foods to the Mediterranean daily intake of trace elements. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 188-194, 2010.

MENEZES, E. A.; OLIVEIRA, A. F.; FRANCA, C. J.; SOUZA, G. B., NOGUEIRA, A. R. A. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork and chicken after thermal processing. **Food Chemistry**, v. 240, p. 75-83, 2018.

MERTZ, W. Chromium in Human Nutrition: A Review. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 4, p. 626-633, 1993.

MIN HWANG, I.; YANG, J.-S.; HYUN KIM, S.; JAMILA, D. N., KHAN, D. N., KIM, K. SEO, H. Y. Elemental Analysis of Sea, Rock, and Bamboo Salt by Inductively Coupled Plasma – Optical Emission and Mass Spectrometry, **Analytical Letters**, v. 49, n. 17, p. 2807-2821, 2016.

MOHAMED, S. Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 2, p. 114-128, 2014.

MONTGOMERY, D. C. **Introduction to Statistical Quality Control**. 7^a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.

MORRIS, R. C.; SCHMIDLIN, O.; FRASSETTO, L. A.; SEBASTIAN, A. Relationship and Interaction between Sodium and Potassium. **Journal of the American College of Nutrition**, v 25, n. sup3, p. 262S-270S, 2006.

MOTTALIB, M. A.; ZILANI, G.; SUMAN, T. I.; AHMED, T., ISLAM, S. Assessment of Trace Metals in Consumer Chickens in Bangladesh. **Journal of Health and Pollution**, v. 8, n. 20, p. 10, 2018.

MÜHLEN, C. V.; LANÇAS, F. M. Cromatografia unificada. **Química Nova**, v. 27, n.5, p. 747-753, 2004.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part A: Theory and applications in inorganic chemistry**. 6^a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2009.

NETO, B. B.; SCARMINO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3^a ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007.

NORDIN, N.; SELAMAT, J. Heavy metals in spices and herbs from wholesale markets in Malaysia. **Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance**, v. 6, n. 1, p. 36-41, 2013.

NUNES, A. M.; SOUSA, R. A. de; SILVA, C. S. da; PEIXOTO, R. R. A., VIEIRA, M.A. RIBEIRO, A.S., CADORE, S. Fast determination of Fe, Mg, Mn, P and Zn in meat samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after alkaline solubilization. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 32, n. 1, p. 1-5, 2013.

NÓBREGA, J. A.; PIROLA, C.; FIALHO, L. L.; ROTA, G., JORDÃO, C. E. K. M. A. C., POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? **Talanta**, v. 98, p. 272-276, 2012.

OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NÓBREGA, J. A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 832-836, 2004.

OLIVEIRA, K. S.; CALLEGARO, L. D.; STEPHANI, R.; ALMEIDA, M. R. de, OLIVEIRA, L. F. C.de. Analysis of spreadable cheese by Raman spectroscopy and chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 194, p. 441-446, 2016.

OPARA, E. I.; CHOCHAN, M. Culinary Herbs and Spices: Their Bioactive Properties, the Contribution of Polyphenols and the Challenges in Deducing Their True Health Benefits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 19183-19202, 2014.

ORNELAS; H., L.; KAJISHIMA, S.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. **Técnica Dietética - Seleção e Preparo de Alimentos**. 8^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2006.

OTT, C.; KOPP, C.; DAHLMANN, A.; SCHMID, A., LINZ, P., CAVALLARO, A., HAMMON, M., DITTING, T., VEELKEN, R., UDER, M., TITZE, J., SCHMIEDER, R. E. Impact of renal denervation on tissue Na⁺ content in treatment-resistant hypertension. **Clinical Research in Cardiology**, v. 107, n. 1, p. 42-48, 2018.

PAPP, Z. Morphological and Microchemical Characterization of Himalayan Salt Samples. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 3, n. 61, p. 169-174, 2016.

PARK, J.; BRITTIN, H. C. Iron content, sensory evaluation, and consumer acceptance of food cooked in iron utensils. **Journal of Food Quality**, v. 23, n. 2, p. 205-215, 2000.

PERELLÓ, G.; MARTÍ-CID, R.; LLOBET, J. M.; DOMINGO, J. L. Effects of Various Cooking Processes on the Concentrations of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead in Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 23, p. 11262-11269, 2008.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética**. Barueri: Editora Manole, 2003.

PHILIPPI, S. T. **Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição**. 2^a ed. Barueri: Manole, 2014.

PINTO, A.; BOEIRA, A. C. S.; LISBOA, M. T.; MEDINA, A. L., RIBEIRO, A. S., VIEIRA, M. A. Development of an analytical method for the determination of metals in chicken breast by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.30, n. 11, p. 2395-2403, 2019.

PISTE, P.; SAYAJI, D.; AVINASH, M. Calcium and its Role in Human Body. **Int J Res Pharm Biomed Sci**, v. 4, p. 2229-3701, 2012.

POPICHAK, K. A.; AFZALI, M. F.; KIRKLEY, K. S.; TJALKENS, R. B. Glial-neuronal signaling mechanisms underlying the neuroinflammatory effects of manganese. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 324, 2018.

QUINTAES, K. Food utensils and nutritional implications. **Revista de Nutrição**, v. 13, p. 151-156, 2000.

QUINTAES, K. D.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F. M.; MORGANO, M. A., HAJISA, N. M. D., NETO, J. T. Mineral migration and influence of meal preparation in iron cookware on the iron nutritional status of vegetarian students. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 125-141, 2007.

QUINTAES, K.; AMAYA-FARFAN, J.; TOMAZINI, F.; MORGANO, M., MANTOVANI, D. Migração de minerais de panelas brasileiras de aço inoxidável, ferro fundido e pedra-sabão (esteatito) para simulantes de alimentos. **Ciencia e Tecnologia De Alimentos**, v.24, n.3, pp.397-402, 2004.

QUINTAES, K. D.; HAJ-ISA, N. M. A.; NETTO, J. T.; AMAYA-FARFAN, J. Soapstone utensils may improve iron status in adult women. A preliminary study. **Archivos Latinoamericanos De Nutricion**, v. 61, n. 4, p. 429-432, 2011.

RAMOS, B. D.; PESTANA, I. A.; CALDAS, D.; AZEVEDO, L. S., ALMEIDA, M. G., SOUZA, C. M. M. de. Exposure to toxic and essential trace elements through the intake of processed and meat cuts (beef and chicken) in southeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 8, p. 8, 2019.

REINHOLDS, I.; BARTKEVICS, V.; SILVIS, I. C. J.; VAN RUTH, S. M., ESSLINGER, S. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 44, p. 56-72, 2015.

RONAGHY, H. A. The Role of Zinc in Human Nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 54, p. 237-254, 1987.

ROOHANI, N.; HURRELL, R.; KELISHADI, R.; SCHULIN, R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 18, n. 2, p. 144-157, 2013.

ROSA, F. C.; BRESSAN, M. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J., VIEIRA, J. O. E., FARIA, P. B., SAVIAN, T. V. Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 707-714, 2006.

ROSENKRANZ, B.; BETTMER, J. Microwave-induced plasma-optical emission spectrometry - fundamental aspects and applications in metal speciation analysis. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 2-3, p. 138-156, 2000.

Sal Rosa do Himalaia (FALSO X VERDADEIRO), 2016. Publicado pelo canal Perla S. S. Furlan. Disponível em <https://www.youtube.com/watch?v=H2gdQIBurH8>. Acesso em 01 set. 2017.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. São Paulo: Editora Unesp, 2008.

SEDDIGI, Z. S.; KANDHRO, G. A.; SHAH, F.; DANISH, E., SOYLAK, M. Assessment of metal contents in spices and herbs from Saudi Arabia. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 2, p. 260-269, 2016.

SELVAMUTHU, D.; DAS, D. **Introduction to Statistical Methods, Design of Experiments and Statistical Quality Control**. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1736-1>. Acesso em: 23 set. 2019.

SETTLE, F. A. **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. New Jersey: Prentice Hall, 1997.

SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.

SHARIATIFAR, N.; MOZAFFARI NEJAD, A. S.; EBADI FATHABAD, A. Assessment of heavy metal content in refined and unrefined salts obtained from Urmia, Iran. **Toxin Reviews**, v. 36, n. 2, p. 89-93, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.

SLAVIN, W. The present and future of graphite furnace atomic absorption spectroscopy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 6, n. 8, p. 194-201, 1987.

SMITH, G. P. S.; HOLROYD, S. E.; REID, D. C. W.; GORDON, K. C. Raman imaging processed cheese and its components. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 48, n. 3, p. 374-383, 2017.

SNEHALATHA, M.; RAVIKUMAR, C.; HUBERT JOE, I.; SEKAR, N., JAYAKUMAR, V. S. Spectroscopic analysis and DFT calculations of a food additive carmoisine. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 72, n. 3, p. 654-662, 2009.

SOUSA, R. A.de.; BACCAN, N.; CADORE, S. Determination of metals in Brazilian coconut water using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n.2, p. 540-544, 2005.

SOYLAK, M.; MURAT, I. Determination of Copper, Cobalt, Lead, and Iron in table salt by FAAS after separation using violuric acid and multiwalled carbon nanotubes. **Food Anal. Methods**, v. 5, n. 5, p. 1003-1009, 2012.

SOYLAK, M.; PEKER, D. S. K.; TURKOGLU, O. Heavy metal contents of refined and unrefined table salts from Turkey, Egypt and Greece. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 143, n. 1, p. 267-272, 2008.

STRAZZULLO, P.; LECLERCQ, C. Sodium. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 5, n. 2, p. 188-190, 2014.

STRELKOVA, K. V.; VARYGINA, O. V.; CHERNOVA, R. K. A potentiometric sensor for determining E133 dye in beverages. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 72, n. 7, p. 777-782, 2017.

SUN, Z. L.; DU, J. L.; YAN, L.; CHEN, S., YANG, Z. L., JING, C. Y. Multifunctional Fe₃O₄@SiO₂-Au Satellite Structured SERS Probe for Charge Selective Detection of Food Dyes. **Acs Applied Materials & Interfaces**, v. 8, n. 5, p. 3056-3062, 2016.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. Campinas, SP.: Unicamp, 2011.

TAYLOR, A.; BARLOW, N.; DAY, M. P.; HILL, S., PATRIARCA, M., WHITE, M. Atomic spectrometry update: review of advances in the analysis of clinical and biological materials, foods and beverages. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, n. 3, p. 432-476, 2017.

TAYLOR, C.; DOYLE, M.; WEBB, D. "The safety of sodium reduction in the food supply: A cross-discipline balancing act"-Workshop proceedings. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 10, p. 1650-1659, 2018.

TEFERA, M.; CHANDRAVANSI, B. S. Assessment of metal contents in commercially available Ethiopian red pepper. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 3, p. 989-1000, 2018.

THOMPSON, M.; ELLISON STEPHEN, L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

TOKALIOGLU, S.; CICEK, B.; INANC, N.; ZARARSIZ, G., OZTURK, A. Multivariate Statistical Analysis of Data and ICP-MS Determination of Heavy Metals in Different Brands of Spices Consumed in Kayseri, Turkey. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 9, p. 2407-2418, 2018.

TURCK, D.; BRESSON, J.-L.; BURLINGAME, B.; DEAN, T., FAIRWEATHER-TAIT, S., HEINONEN, M., HIRSCH-ERNST, K.I., MANGELSDORF, I., MCARDLE, H., NEUHÄUSER-BERTHOLD, M., NOWICKA, G., PENTIEVA, K., SANZ, Y., SIANI, A., SJÖDIN, A., STERN, M., TOMÉ, D., VAN LOVEREN, H., VINCETI, M., WILLATTS, P. AGGETT, P., MARTIN, A., PRZYREMBEL, H., BRÖNSTRUP, A., CIOK, J., GÓMEZ RUIZ, J. A., DE SESMAISONS-LECARRÉ, A., NASKA, A. Dietary reference values for potassium. **EFSA Journal**, v. 14, n. 10, p. 1-56, 2016.

TYOKUMBUR, E. T. Evaluation of cadmium (Cd) in domestic chicken meat and offal and associated health risk assessment in ibadan. **International Journal of Pure and Applied Zoology**, v. 4, n. 2, p. 203-209, 2016.

USDA, United States Department of Agriculture **Food Data Central**, 2020. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/782230/nutrients>. Acesso em: 28 abr. 2020.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. **Regional Screening Levels (RSLs)-generic table**. 2005a. Disponível em: <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls>. Acesso em: 26 mai. 2020.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. **Guidelines for Carcinogen Risk Assessment** (EPA/630/P-03/001F). Washington, DC, 2005b. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/cancer_guidelines_final_3-25-05.pdf. Acesso em: 25 mai. 2020.

WELZ, B. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3^a ed. New York: Wiley-VCH., 1999.

WEN, S.; ZHOU, G.; LI, L.; XU, X., YU, X., BAI, Y., LI, C. Effect of Cooking on in Vitro Digestion of Pork Proteins: A Peptidomic Perspective. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 250-261, 2015.

WHO, World Health Organization. **Sodium intake for adults and children**. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2012a. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241504836>. Acesso em: 29 set. 2016.

WHO, World Health Organization. **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 1996. Disponível em: <https://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241561734/en/#:~:text=These%20include%20essential%20elements%2C%20such,essential%20functions%20at%20low%20levels> . Acesso em: 30 set. 2016.

WHO, World Health Organization. **Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2011. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44515/WHO_TRS_960_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em 25 set. 2016.

WHO, World Health Organization. **Potassium intake for adults and children**. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2012b. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241504829>. Acesso em: 29 set. 2016.

WHO, World Health Organization. **Human Vitamin and Mineral Requirements**. Bangkok: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2004. Disponível em: <https://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241546123/en/>. Acesso em: 13 ago. 2017.

WOOD, R. How to validate analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9, p. 624-632, 1999/09/01/ 1999.

XIE, Y. F.; CHEN, T.; GUO, Y. H.; CHENG, Y. L., QIAN, H., YAO, W. R. Rapid SERS detection of acid orange II and brilliant blue in food by using Fe₃O₄@Au core-shell substrate. **Food Chemistry**, v. 270, p. 173-180, 2019.

YAMJALA, K.; NAINAR, M. S.; RAMISETTI, N. R. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review. **Food Chemistry**, v. 192, p. 813-824, 2016./

YILMAZ-AKSU, F.; TARHAN, D.; SANDIKCI-ALTUNATMAZ, S.; PASTACI-OZSOBACI, N., BARUTCU, U. B., OR, M. E. Levels of arsenic, boron, nickel, silicium, cadmium, lead and aluminium in cattle (liver) and chicken (liver and heart) offals retailed in turkey. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 27, n. 9, p. 5987-5992, 2018.

ZAMBELLI, B.; CIURLI, S. Nickel and Human Health. *In: Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases*. Metal Ions in Life Sciences: Springer, Dordrecht, 2013. v. 13, cap. 10, p. 321–357.

ZHANG, R.; ZHANG, M. X.; ZHANG, Y.; YAN, H., LI, X., XIE, W. H. The simultaneous detection of food dyes from different samples in a 96-well plate by spectrophotometry. **Analytical Methods**, v. 11, n. 45, p. 5793-5802, 2019.

APÊNDICE A – Análise de Variância (ANOVA)

Para avaliar o modelo matemático obtido para as curvas analíticas construídas nas faixas de concentrações indicadas no item 3.7.2, empregou-se a análise de variância (ANOVA), conforme descrito na Tabela 26.

Tabela 26– Tabela de análise da variância para o ajuste de um modelo pelo método dos mínimos quadrados.

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática
Modelo	$SQ_{reg} = \sum n_i [(y_e)_i - y_m]^2$	$p - 1$	$MQ_{reg} = SQ_{reg} / (p - 1)$
Residual	$SQ_{res} = \sum \sum [(y_{ij} - (y_e)_i)]^2$	$n - p$	$MQ_{res} = SQ_{res} / (n - p)$
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum n_i [(y_e)_i - y_{im}]^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = SQ_{faj} / (m - p)$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum \sum (y_{ij} - y_{im})^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = SQ_{ep} / (n - m)$
Total	$SQ_t = \sum \sum (y_{ij} - y_m)^2$	$n - 1$	

n_i = número de repetições no nível i ; m = número de níveis distintos da variável x ; $n = \sum n_i$ = número total de medidas; p = número de parâmetros do modelo. O índice i indica o nível da variável x ; o índice j refere-se às medidas repetidas da variável y em um dado nível de x ; O segundo somatório das expressões para SQ_r , SQ_{ep} e SQ_t vai de $j = 1$ até $j = n_i$. Os demais somatórios vão de $i = 1$ até $i = m$; y_m é a média de todos os valores de y ; y_{im} é a média das determinações repetidas no nível i .

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A significância da regressão linear foi avaliada através do cálculo do valor $F_{calculado, reg}$ conforme descrito na Equação 9 e sua comparação com o valor $F_{tabelado}$. Se $F_{calculado, reg} < F_{tabelado}$, há evidência de forte relação linear entre as variáveis estudadas. O mesmo raciocínio é realizado para avaliação da falta de ajuste, com $F_{calculado, reg}$ de acordo com a Equação 10. Se $F_{calculado, faj} < F_{tabelado}$ não existem evidências de falta de ajuste entre os pontos experimentais, no nível de confiança selecionado. Todos os testes estatísticos foram realizados considerando o nível de 95 % de confiança ($\alpha = 0,05$).

$$F_{calculado, reg} = \frac{MQ_{reg}}{MQ_{res}} \quad \text{Equação 9}$$

$$F_{calculado, faj} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}} \quad \text{Equação 10}$$

Os testes foram realizados e as Tabelas 27 a 36 com os resultados da ANOVA bem como as curvas analítica (Figuras 17 a 26) e gráficos de resíduos (Gráficos 5 a 14), para os analitos

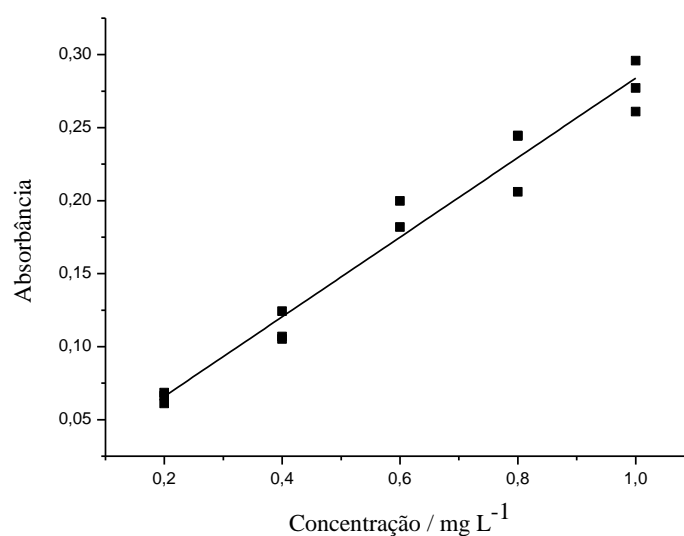
Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na e Zn, determinados por espectrometria atômica, nas faixas de concentrações descritas no item 3.7.2, são apresentadas a seguir.

Tabela 27– Tabela de análise da variância para a curva analítica de Ca. Faixa de concentração 0,20 – 1,0 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	8,91 x 10 ⁻²	1	8,91 x 10 ⁻²	4,67	4,0 x 10 ²
Residual	2,89 x 10 ⁻³	13	2,22 x 10 ⁻⁴		
Falta de Ajuste	8,27 x 10 ⁻⁴	3	2,76 x 10 ⁻⁴	3,71	1,34
Erro Puro	2,06 x 10 ⁻³	10	2,06 x 10 ⁻⁴		
Total	9,20 x 10 ⁻²		R ²	0,99870	
% explicação do modelo		99,08	R ² máximo	0,999756	

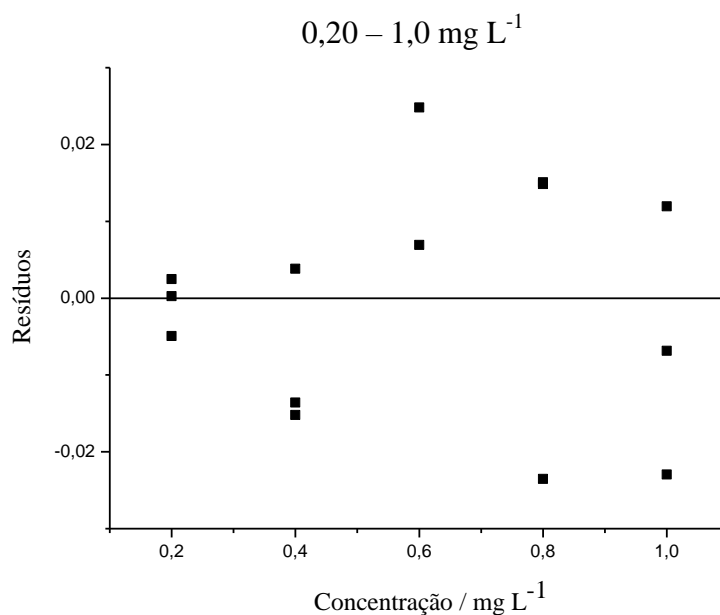
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 18 – Curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,20 – 1,0 mg L⁻¹



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 19 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Ca na faixa de concentrações



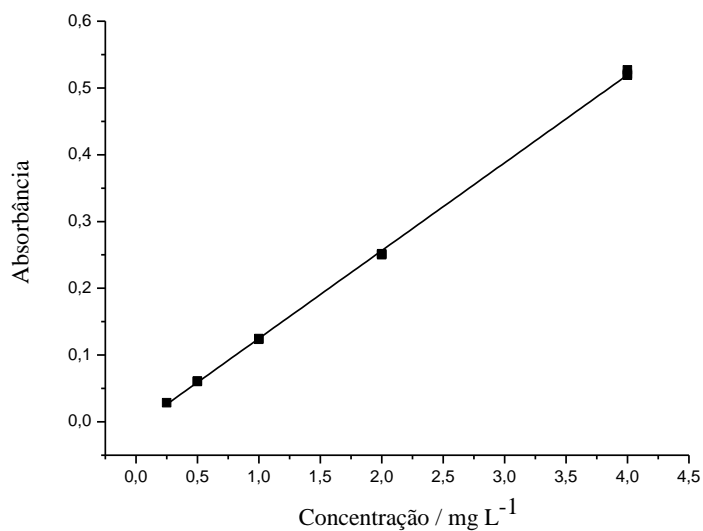
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 28 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de Ca. Faixa de concentração

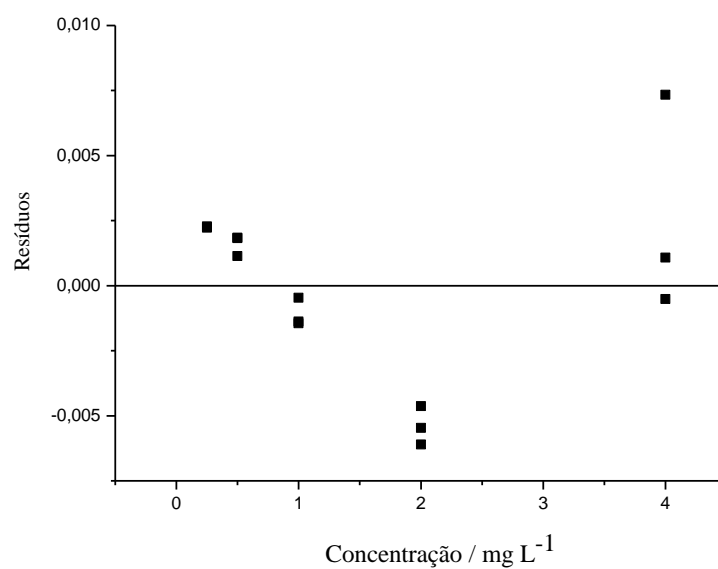
0,25 – 4,0 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	4,70 x 10 ⁻¹	1	4,70 x 10 ⁻¹	4,67	1,91 x 10 ⁴
Residual	3,24 x 10 ⁻⁴	13	2,49 x 10 ⁻⁵		
Falta de Ajuste	2,45 x 10 ⁻⁵	3	6,8 x 10 ⁻⁶	3,71	1,87
Erro Puro	3,64 x 10 ⁻⁵	10	3,64 x 10 ⁻⁶		
Total	4,77 x 10 ⁻¹		R ²	0,99932	
% explicação do modelo		99,94	R ² máximo	0,99992	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 20 – Curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 21 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Ca na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

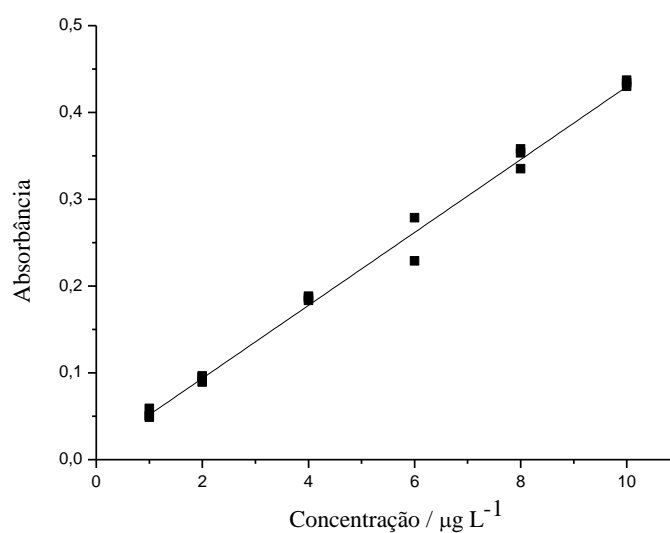
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 29 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de Cr. Faixa de concentração
1,0 – 10 $\mu\text{g L}^{-1}$

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{tabelado}	$F_{\text{calculado}}$
Modelo	$4,3 \times 10^{-1}$	1	$4,3 \times 10^{-1}$	4,67	$2,556 \times 10^3$
Residual	$3,23 \times 10^{-3}$	13	$1,70 \times 10^{-4}$		
Falta de Ajuste	$1,16 \times 10^{-3}$	3	$2,32 \times 10^{-4}$	3,71	1,57
Erro Puro	$2,07 \times 10^{-3}$	10	$1,48 \times 10^{-4}$		
Total	$\times 10^{-1}$		R^2	0,99527	
% explicação do modelo		99,73	R^2 máximo	0,99952	

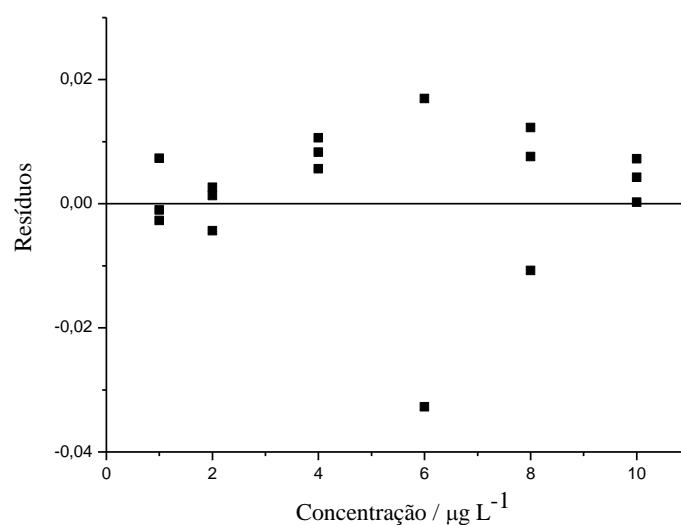
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 22– Curva analítica para o Cr na faixa de concentrações 1,0 – 10 $\mu\text{g L}^{-1}$



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 23 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Cr na faixa de concentrações
1,0 – 10 $\mu\text{g L}^{-1}$

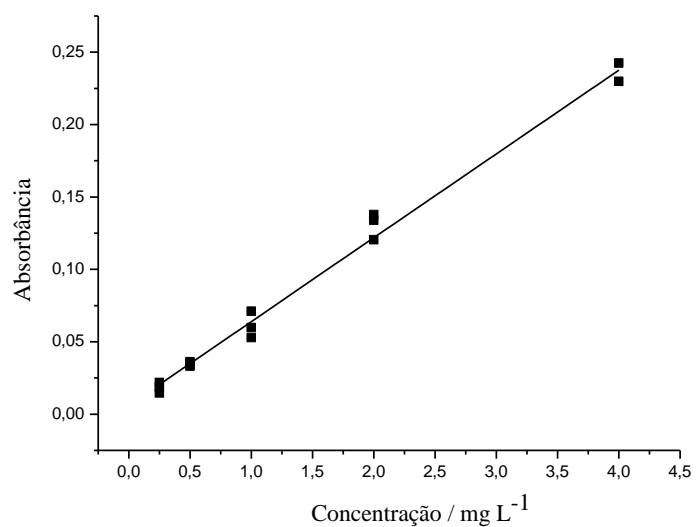


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

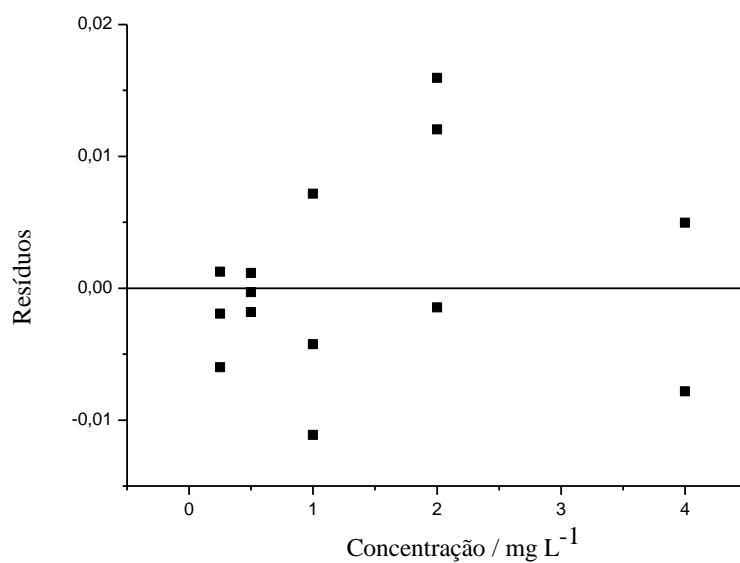
Tabela 30 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de Fe. Faixa de concentração
0,25 – 4,0 mg L^{-1}

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F_{tabelado}	$F_{\text{calculado}}$
Modelo	$9,34 \times 10^{-2}$	1	$9,34 \times 10^{-2}$	4,67	$1,54 \times 10^3$
Residual	$7,88 \times 10^{-4}$	13	$6,06 \times 10^{-5}$		
Falta de Ajuste	$3,10 \times 10^{-4}$	3	$1,03 \times 10^{-4}$	3,71	2,17
Erro Puro	$4,77 \times 10^{-4}$	10	$4,77 \times 10^{-5}$		
Total	$9,42 \times 10^{-6}$		R^2	0,99099	
% explicação do modelo		99,67	R^2 máximo	0,99493	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 24– Curva analítica para o Fe na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 25 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Fe na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

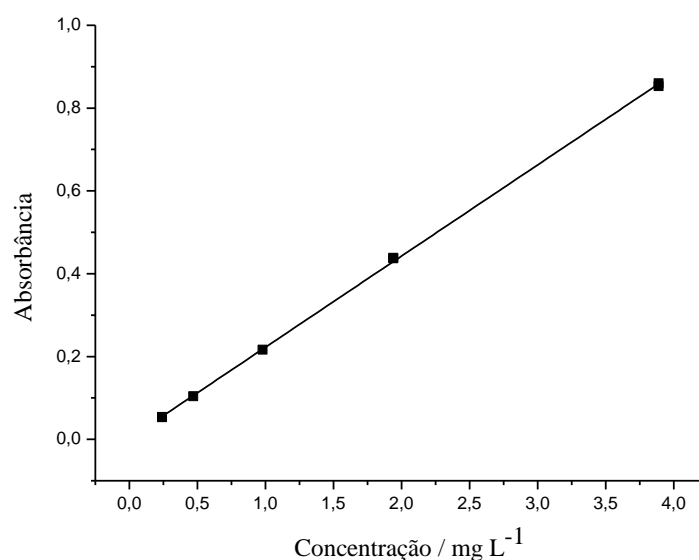
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 31– Tabela de análise da variância para a curva analítica de Zn. Faixa de concentração 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	1,56	1	1,56	4,67	7,91 x 10 ⁴
Residual	3,15 x 10 ⁻⁴	13	1,97 x 10 ⁻⁵		
Falta de Ajuste	2,40 x 10 ⁻¹	3	6,00 x 10 ⁻²	3,71	3,08
Erro Puro	2,33 x 10 ⁻¹	10	1,95 x 10 ⁻²		
Total	9,42 x 10 ⁻⁶		R ²	0,99979	
% explicação do modelo		99,98	R ² máximo	0,99999	

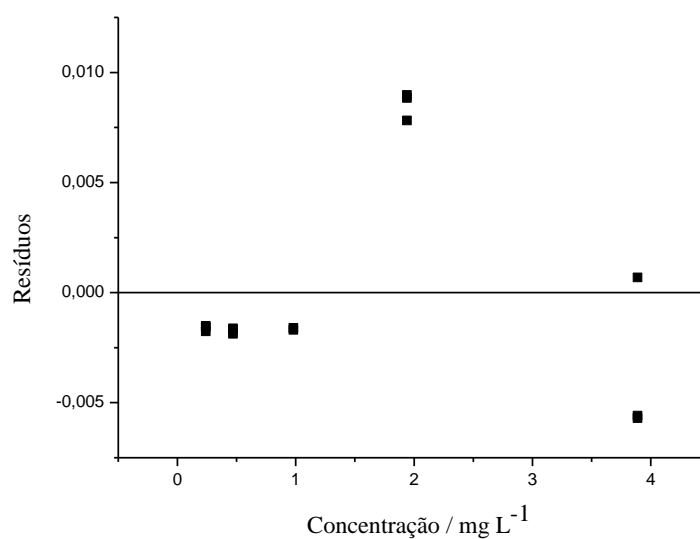
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 26 – Curva analítica para o Zn na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 27 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Zn na faixa de concentrações 0,25 – 4,0 mg L⁻¹

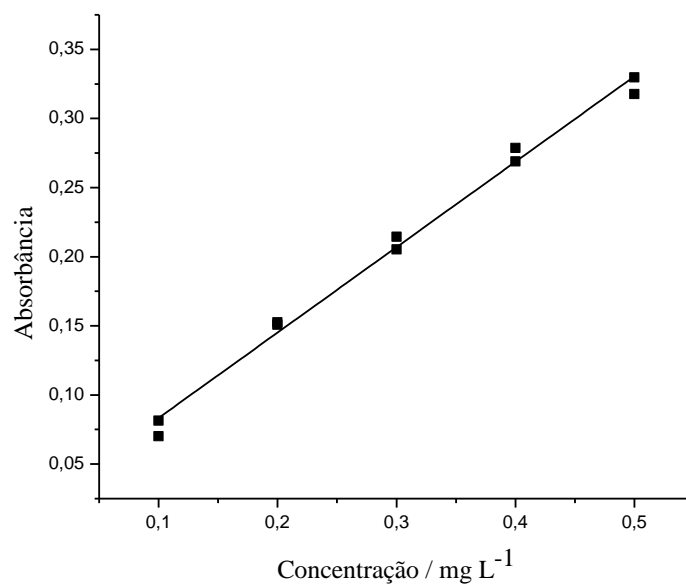


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

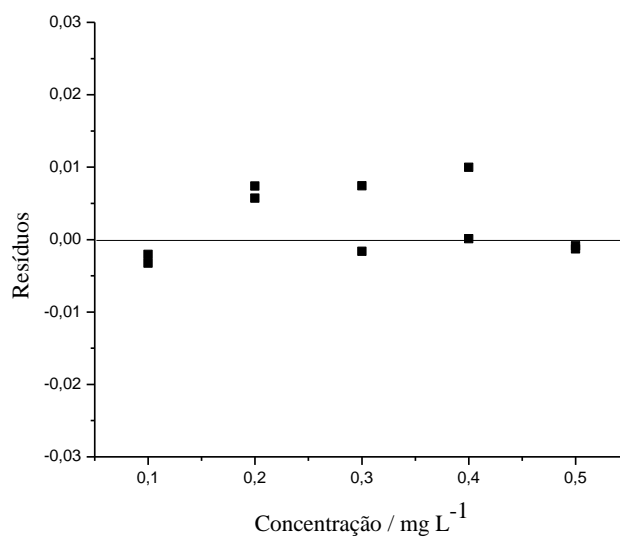
Tabela 32– Tabela de análise da variância para a curva analítica de Mg. Faixa de concentração 0,06 – 0,5 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	7,63 x 10 ⁻²	1	7,63 x 10 ⁻²	4,67	1031
Residual	5,92 x 10 ⁻⁴	13	7,41 x 10 ⁻⁵		
Falta de Ajuste	3,66 x 10 ⁻⁴	3	1,22 x 10 ⁻⁴	3,71	2,70
Erro Puro	2,26 x 10 ⁻⁴	10	4,53 x 10 ⁻⁵		
Total	7,69 x 10 ⁻²		R ²	0,99229	
% explicação do modelo		99,52	R ² máximo	0,99721	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 28 – Curva analítica para o Mg na faixa de concentrações 0,06 – 0,5 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 29 – Gráfico de resíduos para a curva analítica para o Mg na faixa de concentrações 0,06 – 0,5 mg L⁻¹

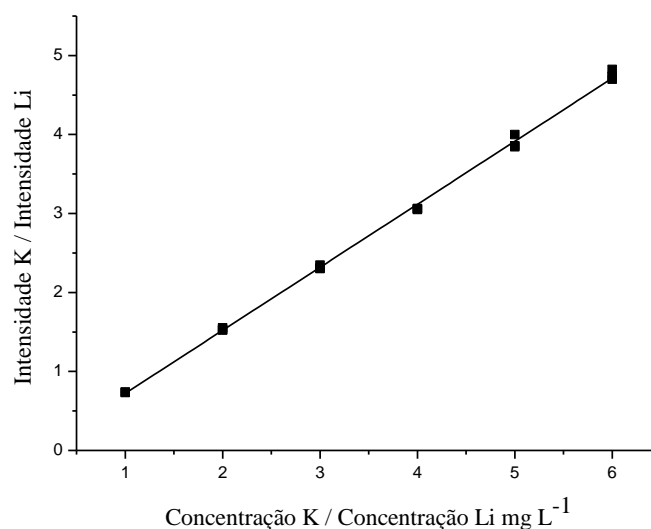
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 33 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	3,34 x 10 ¹	1	3,34 x 10 ¹	4,54	1,29 x 10 ⁴
Residual	4,16 x 10 ⁻²	16	3,60 x 10 ⁻³		
Falta de Ajuste	9,92 x 10 ⁻¹	4	2,48 x 10 ¹	3,26	0,12
Erro Puro	2,48 x 10 ⁻¹	12	2,07		
Total	3,36 x 10 ¹		R ²	0,99600	
% explicação do modelo		100,10	R ² máximo	0,99871	

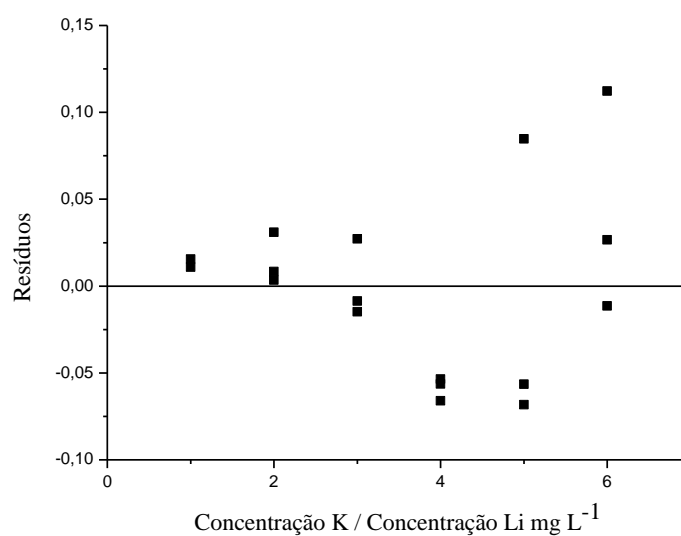
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 30 – Curva analítica para o K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 31 – Gráfico de resíduos para o K com adição de padrão interno. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

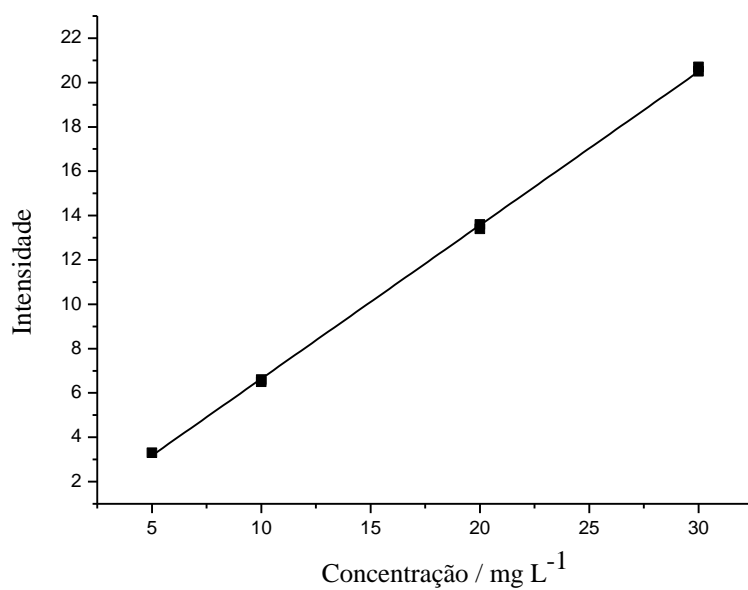


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

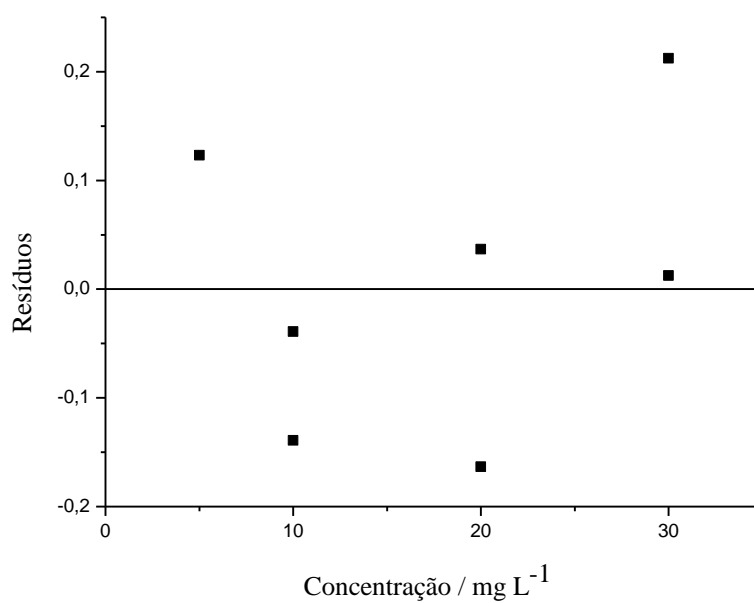
Tabela 34 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	5,30 x 10 ²	1	5,30 x 10 ²		
Residual	1,86 x 10 ⁻¹	10	1,86 x 10 ⁻²	4,96	2,86 x 10 ⁴
Falta de Ajuste	1,26 x 10 ¹	2	6,02 x 10 ⁻²		
Erro Puro	4,19 x 10 ⁻²	8	1,20 x 10 ⁻²	4,46	4,19
Total	5,36 x 10 ²		R ²		0,99740
% explicação do modelo		99,97	R ² máximo		0,99987

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 32 – Curva analítica para o K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 33 – Gráfico de resíduos para o K. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

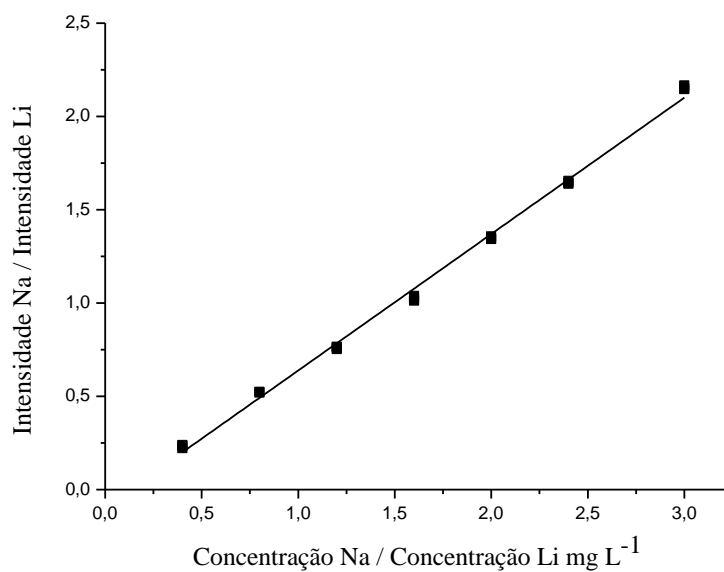
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 35 – Tabela de análise da variância para a curva analítica de Na com adição de padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	8,01	1	8,01	4,45	1,29 x 10 ⁴
Residual	2,75 x 10 ⁻²	17	1,45 x 10 ⁻³		
Falta de Ajuste	1,88 x 10 ⁻¹	5	5,70	2,96	0,10
Erro Puro	3,76 x 10 ⁻²	14	3,62 x 10 ⁻¹		
Total	8,03		R ²	0,99679	
% explicação do modelo		100,01	R ² máximo	0,99968	

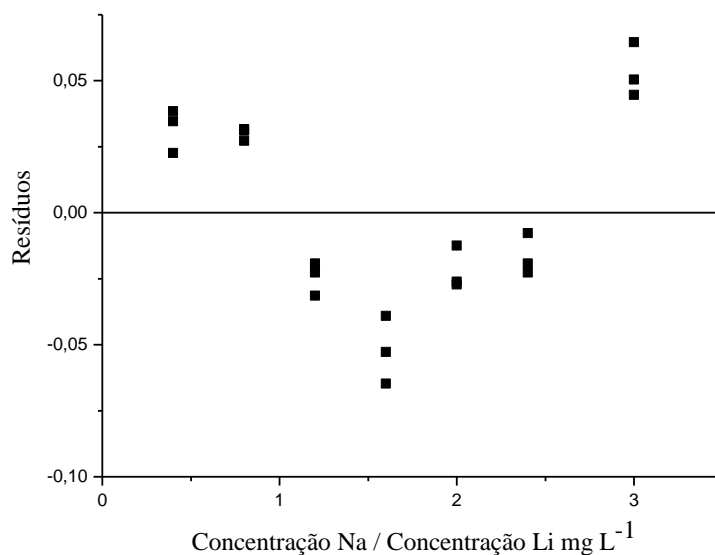
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 34 – Curva analítica para o Na com adição de padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L⁻¹



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 35 – Gráfico de resíduos para o Na com padrão interno. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L⁻¹

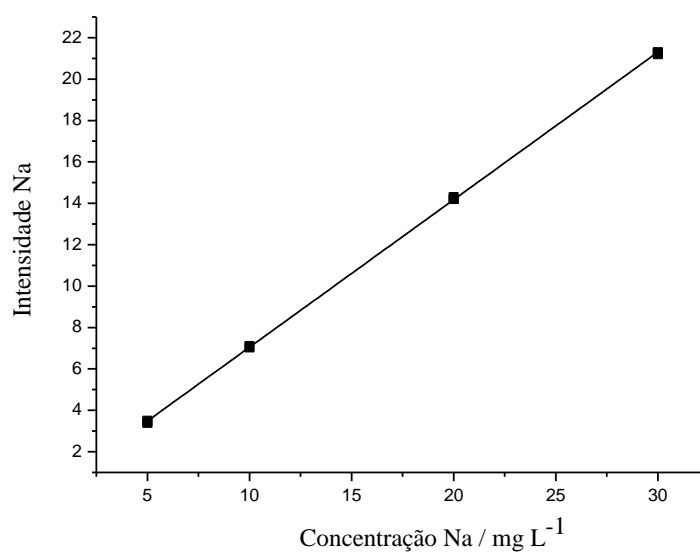


Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

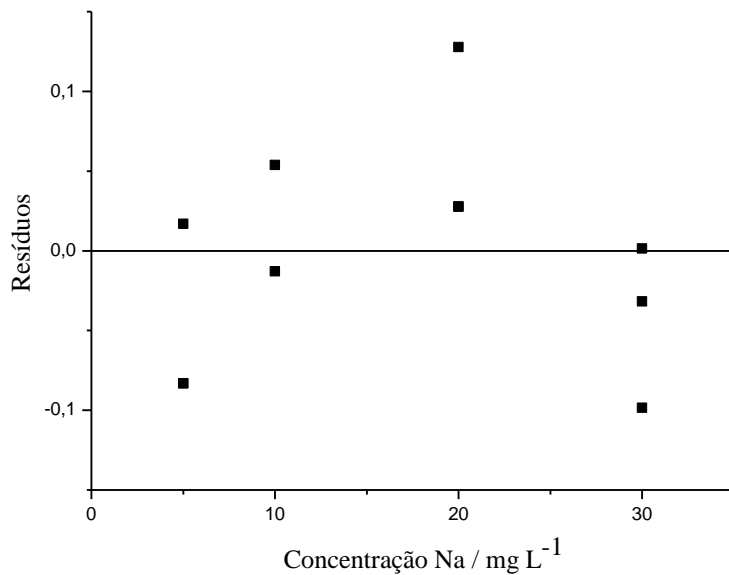
Tabela 36– Tabela de análise da variância para a curva analítica de Na. Faixa de concentração 5,0 – 30 mg L⁻¹

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F _{tabelado}	F _{calculado}
Modelo	5,68 x 10 ²	1	5,68 x 10 ²	4,96	4,77 x 10 ⁴
Residual	1,19 x 10 ⁻¹	10	1,19 x 10 ⁻²		
Falta de Ajuste	4,90 x 10 ⁻²	2	2,45 x 10 ⁻²	4,46	3,80
Erro Puro	1,63 x 10 ⁻²	8	4,30 x 10 ⁻³		
Total	5,70 x 10 ²		R ²	0,99790	
% explicação do modelo		99,98	R ² máximo	0,99989	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 36 – Curva analítica para o K. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Gráfico 37 – Gráfico de resíduos para o K. Faixa de concentração 2,0 – 12 mg L⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

APÊNDICE B – Formação Acadêmica e Produção Bibliográfica

Formação acadêmica

Bacharelado em Ciências Exatas, 2009-2013, Universidade Federal de Juiz de Fora.

Bacharelado em Química, 2009-2013, Universidade Federal de Juiz de Fora.

Mestrado em Química, Área de Concentração Química Analítica, 2014-2016, Universidade Federal de Juiz de Fora.

Participação em Eventos

19º Encontro Nacional de Química Analítica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2018, Caldas Novas.

XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2018, Juiz de Fora.

XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2017, Itajubá.

XXXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2015, Águas de Lindóia.

IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015, Juiz de Fora.

III Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015, Fortaleza.

XXVI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2012, Ouro Preto.

I Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2011, Belo Horizonte.

Produção Técnica

CAMPOS, N.S.; LOPES, A.M. O.; REIS, F. D. **Como determinar metais em amostras do cotidiano?** Curso ministrado na Semana da Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2019, Juiz de Fora.

ALMEIDA, N.S.C.; LISBOA, T.P.; SOUSA, R.A. Entrevista no Programa Mesa de Debates, TVE, 2018, Juiz de Fora.

SOUSA, R.A.; CAMPOS, N.S.; LOPES, A.M.O.; ORLANDO, R. **Preparação de amostras para análise elementar.** Apostila didática para a disciplina Química Analítica Avançada, do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, 2015.

CAMPOS, N.S.; OLIVEIRA, K.S.; STEPHANI, R.; OLIVEIRA, L.F.C.de. Espectroscopia Raman e Quimiometria - Emergentes ferramentas analíticas para produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, p. 108 - 114, 01 jul. 2014.

Premiação

Desafio das 500 palavras. Melhor trabalho na categoria pesquisa: **Sal rosa do Himalaia, sal azul da Pérsia, sal negro do Havaí, sal marinho...afinal, qual a diferença?** Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2019.

Artigos Publicados em Periódicos

CAMPOS, N.S.; ALVARENGA, F.B.M.; SABARENSE, C.M.; TIMM, J.G.; VIEIRA, M.A.; SOUSA, R.A. Evaluation of the cooking pot type influence on the contents of metallic elements in edible chicken tissues by mip-oes. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 23, e2019308, 2020.

OLIVEIRA, A.M.F.; CAMPOS, N.S.; DELBEM, I.D.; CUIN, A.; SOUSA, R.A.; CIMINELLI, V.S.T.; SILVA, J.C.J. Chemical Characterization and Human Health Risk Assessment Analysis of Cd, Cr, Fe, Mn and Zn Contents in Street Dust from Different Urban Sites in Minas Gerais State, Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 7, p. 36-50, 2020.

PEREIRA, J.P.F.; CAMPOS, N.S.; OLIVEIRA, A.M. F.; SOUSA, R.A.; PAULA, J.C.J.; SILVA, P.H.F. Determinação da composição, partição e bioacessibilidade de cálcio em queijos Minas Padrão comerciais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, p. 226-234, 2019.

PEREIRA, J.P.F.; MAGESTE, A.C.; CAMPOS, N.S.; SOUSA, R.A.; FRANCISQUINI, J.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F.; NUNES, R.M.; MARTINS, M.F.; SILVA, P.H.F. Calcium partition in Minas Padrão cheese and its bioaccessibility during ripening time. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 39, p. 859-866, 2019.

ALMEIDA, N.S.C.; PESSANHA, P.V.A.; SANT'ANA, A.C.; SIMÕES, B.E.S.; ALMEIDA, M.R.. SABARENSE, C.M.; SOUSA, R.A. Chemical characterization of different gourmet table salts by Atomic Spectrometry and FT-Raman Spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 11, p. 774-782, 2019.

REIS, C.M.R.dos; CAMPOS, N.S.; UETA, M.T.; SILVA, J.C.J.da; CECCARELLI, P.S.; ALLEGRETTE, S.M. Evaluation of Trace Elements in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes, Prochilodontidae) from the Mogi Guaçu River Infected for *Acanthocephala Neoechynorhyncus Curemai* Noronha, 1973 (*Acanthocephala*). **Journal Of Environmental & Analytical Toxicology**, v. 07, p. 1-4, 2017.

REIS, C.M.R.dos; CAMPOS, N.S.; UETA, M.T.; SILVA, J.C.J.da; ALLEGRETTE, S.M. Avaliação de parâmetros ecológicos da parasitofauna de duas espécies de peixes do Rio Mogi Guaçu, Região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira De Zoociências**, v. 18, p. 91-106, 2017.

CAMPOS, N.S.; OLIVEIRA, A.M.F.; ALVARENGA, F B.M.; SABARENSE, C.M.; DE OLIVEIRA, M.A.L.; SOUSA, R.A. Multivariate approach to assess in vitro Fe bioaccessibility in chicken meat. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 38, p. 157-163, 2017.

CAMPOS, N.S.; OLIVEIRA, M.A.L.; IZUMI, C.M.; SOUSA, R.A.de. Alkaline Solubilization of Chicken Tissues Monitored by Raman Spectroscopy Followed by Pb Determination by GF AAS. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 353-362, 2017.

OLIVEIRA, M.A.L.de; PORTO, B.L.S.; BASTOS, C.; SABARENSE, C.M.; VAZ, F.A.S.; NEVES, L.N.O.; DUARTE, L.M.; CAMPOS, N.S.; CHELLINI, P.R.; SILVA, P.H.F.da;

SOUSA, R.A.de; MARQUES, R.; SATO, R.T.; GRAZUL, R.M.; LISBOA, T.P.; MENDES, T.O; RIOS, V.C. Analysis of amino acids, proteins, carbohydrates and lipids in food by capillary electromigration methods: a review. **Analytical Methods (Print)**, v. 8, p. 3649-3680, 2016.

CAMPOS, N.S.; OLIVEIRA, K.S.; ALMEIDA, M.R.; STEPHANI, R.; OLIVEIRA, L.F.C. de. Classification of Frankfurters by FT-Raman Spectroscopy and Chemometric Methods. **Molecules**, v. 19, p. 18980-18992, 2014.

CAMPOS, N.S.; STEPHANI, R.; SOUSA, R.A.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F.O.; OLIVEIRA, L.F.C. Lactose Quantification in Dairy Products by Accu-Chek Glucometer. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 1677-1686, 2014.