

Ministério da Educação
Universidade Federal de Pelotas
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Curso de Bacharelado em Química



Trabalho de Conclusão de Curso

**Avaliação da Fração Bioacessível de Elementos Majoritários em Creme de Leite por
MIP OES**

João Vitor Alves Soares de Paulo

Pelotas, março de 2024.

João Vitor Alves Soares de Paulo

**Avaliação da Fração Bioacessível de Elementos Majoritários em Creme de Leite por
MIP OES**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em
Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mariana Antunes Vieira

Pelotas, março de 2024.

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a monografia de conclusão de curso para obtenção do título de Bacharel em Química pela Universidade Federal de Pelotas

**Avaliação da Fração Bioacessível de Elementos Majoritários em Creme de Leite por
MIP OES**

Elaborado por

João Vitor Alves Soares de Paulo

Data da defesa: 15/03/2024

Comissão examinadora:

.....

Prof.^a Dr.^a Mariana Antunes Vieira (Orientadora)

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

.....

Prof.^a Dr.^a Adriane Medeiros Nunes (Membro da CEM)

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

.....

Dr.^a Daisa Hakbart Bonemann (Convidada)

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Pelotas, março de 2024.

RESUMO

PAULO, João Vitor Alves Soares de. **Avaliação da Fração Bioacessível de Elementos Majoritários em Creme de Leite por MIP OES**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Bacharelado em Química) – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

O creme de leite, produzido a partir da gordura do leite, é uma importante fonte de nutrientes. Sua utilização se faz presente em diversas receitas do cotidiano da população, principalmente daquelas que buscam uma alimentação mais saudável, não proveniente de animais por escolha pessoal ou devido a intolerância à lactose. Isso levou ao surgimento de uma variedade de produtos, sendo encontrados cremes de leite de diferentes origens (animal ou vegetal), com ou sem lactose e em diferentes embalagens. Com essa variação e alimentação frequente, faz-se necessária um estudo para a compreensão de quanto dos minerais presentes nesse alimento como Ca, Fe, Na, Mg, K, Mn, Cu e Zn, estão sendo ingeridos. Desta forma, esse trabalho tem como objetivo a quantificação de Al, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn presentes na fração bioacessível de amostras de creme de leite por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES). Para obter a fração bioacessível, foram realizados ensaios de simulação *in vitro* da digestão gastrointestinal, posteriormente separadas as frações bioacessível e não bioacessível para análise. A fração não bioacessível foi submetida ainda a uma decomposição ácida utilizando bloco digestor com sistema de refluxo. Por fim, através do balanço de massas foram obtidas recuperações na faixa de 81 a 117%, evidenciando boa exatidão do método de simulação gastrointestinal, quantificando os analitos Al, Fe, K, Mg e Zn e avaliando as frações bioacessíveis obtidas para as variadas amostras em uma faixa de 77% a 88% para Al, 53% e 119% para Fe, 21% a 97% para K, 27% a 117% para Mg e 22% a 101% para Zn, além de determinar a contribuição das mesmas para a alimentação diária da população.

Palavras-chave: Derivado lácteo. Quantificação elementar. Bioacessibilidade. Decomposição ácida. Concentração bioacessível. Contribuição para ingestão.

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. Introdução..... | 10 |
| 2. Objetivos | 11 |
| 2.1. Objetivos gerais | 11 |
| 2.2. Objetivos específicos | 11 |
| 3. Revisão da Literatura | 11 |
| 3.1. Creme de leite | 11 |
| 3.2. Bioacessibilidade | 14 |
| 3.3. Preparo de amostra..... | 16 |
| 3.4. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma induzido por Micro-ondas (MIP OES)..... | 20 |
| 4. Materiais e Métodos | 23 |
| 4.1. Instrumentação..... | 23 |
| 4.2. Materiais e Reagentes | 24 |
| 4.3. Amostras | 24 |
| 4.4. Fração bioacessível e não-bioacessível..... | 25 |
| 4.5. Parâmetros de mérito | 26 |
| 5. Resultados e Discussão | 28 |
| 5.1. Parâmetros de mérito | 28 |
| 5.2. Avaliação da fração bioacessível..... | 29 |
| 5.3. Contribuição para ingestão diária | 36 |
| 6. Conclusão..... | 39 |
| 7. Referência Bibliográficas | 40 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---------------------|--|
| %FB | Fração bioacessível em porcentagem |
| a | inclinação da curva analítica |
| BEC | Concentração equivalente do fundo |
| C _{padrão} | Concentração de um padrão da curva analítica |
| CT | Concentração total |
| F AAS | Espectrometria de Absorção Atômica em Chama |
| F AES | Espectrometria de Emissão Atômica em Chama |
| FB | fração bioacessível |
| GF AAS | Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite |
| I _{branco} | Intensidade do sinal de emissão do branco analítico |
| ICP MS | Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado |
| ICP OES | Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado |
| IDF | Federação Internacional de Laticínios |
| I _{padrão} | Intensidade do sinal de emissão do padrão da curva escolhido |
| LD | limites de detecção |
| LQ | limites de quantificação |
| MAPA | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento |
| MIP OES | Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas |
| PP | polipropileno |
| PTFE | politetrafluoretileno |
| R ² | coeficiente de correlação linear |
| RSD | Desvio padrão da leitura do branco |
| SRB | Razão entre o sinal de emissão e sinal de fundo |
| TBCA | Tabela Brasileira de Composição de Alimentos |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Composição química de creme de leite (25%, UHT, lata), para uma porção de 100g. | 13 |
| Tabela 2. Identificação das amostras de Creme de Leite..... | 25 |
| Tabela 3. Parâmetros de mérito para os elementos de interesse obtidos a partir das leituras por MIP OES. | 28 |
| Tabela 4. Resultados da concentração bioacessível (CB), concentração não bioacessível (CNB) e recuperação em % (R) para a amostra 8CAC. Valores em mg kg ⁻¹ (n = 3)..... | 29 |
| Tabela 5. Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB) e fração bioacessível (FB) para cremes de leite em caixa de origem animal. e Valores em mg/kg. (n= 3) | 30 |
| Tabela 6. Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB) e fração bioacessível (FB) para cremes de leite de origem animal em lata, em caixa sem lactose e de origem vegetal. Valores em mg/kg. (n= 3) | 32 |
| Tabela 7. Contribuição da concentração bioacessível (CB) de creme de leite de origem animal em caixa em % para a IDR dos analitos, considerando uma porção diária de 200 g. | 36 |
| Tabela 8. Contribuição da concentração bioacessível (CB) de creme de leite de origem animal em lata, em caixa sem lactose e de origem vegetal em % para a IDR dos analitos, considerando uma porção diária de 200 g. | 37 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Visão geral de uma digestão <i>in vitro</i> simulada. | 15 |
| Figura 2. Modelo esquemático do sistema de dedo frio. a: dedo frio; b: tubo digestor; c: dedo frio acoplado ao tubo digestor. | 18 |
| Figura 3. Diagrama esquemático do sistema de refluxo com auxílio do dedo frio acoplado ao tubo de decomposição. 1: entrada de água; 2: saída de água; 3: encaixe de politetrafluoretileno (PTFE); 4: ranhura para alívio de pressão; 5: frasco de reação. | 19 |
| Figura 4. Imagem do MIP OES com seus principais componentes. | 21 |
| Figura 5. Sistema de introdução de amostra para o modo convencional. | 22 |
| Figura 6. Diagrama esquemático de um espectrômetro de emissão óptica com plasma de micro-ondas. | 22 |
| Figura 7. Gráfico de colunas agrupadas da fração bioacessível em porcentagem das amostras de creme de leite para cada analito. | 34 |

1. Introdução

Dentre os diversos alimentos presentes no cotidiano da população, o leite é uma fonte de nutrição necessária desde o nascimento, sendo consumido frequentemente ao longo da vida com uma ampla variedade de formas de consumo e pela produção de seus derivados (Tuzzi 2019).

A demanda pelos produtos é evidenciada pela indústria de laticínios ser o terceiro seguimento mais importante da indústria alimentícia brasileira, tendo em 2018 faturamento de 68,7 bilhões de reais, estimando-se um consumo em cerca de 166,4 litros por habitante (ABIA 2023; Tuzzi 2019; Siqueira 2019).

Assim como ocorre com o leite, a produção e o consumo significativos de seus derivados são observados na sociedade. Entre esses derivados, o creme de leite se destaca como um ingrediente frequente na alimentação diária de muitas pessoas, em virtude de sua notável versatilidade. Esse produto é amplamente utilizado em uma variedade de receitas, tanto doces quanto salgadas. Apesar de sua composição ser similar à do leite, uma vez que é derivada de sua gordura, o creme de leite se diferencia principalmente pela sua concentração dessa gordura em diferentes teores, suprimindo a procura de consumidores por uma ampla faixa de teores.

O creme de leite é uma fonte concentrada de energia devido ao seu teor relativamente alto de gordura. Suas características nutricionais variam dependendo do teor de gordura presente no produto. Em geral, o creme de leite é uma fonte significativa de gorduras saturadas, que podem contribuir para o aumento do colesterol sanguíneo se consumidas em excesso. Além disso, o creme de leite pode conter pequenas quantidades de vitaminas lipossolúveis, como as vitaminas A e D, dependendo da fortificação do produto. Além disso, contém minerais como Ca, Fe, Mg, K, Na e Zn, proteínas e carboidratos também estão presentes em sua composição. No entanto, o teor destes três últimos nutrientes é relativamente baixo em comparação com outros alimentos

Além disso, algumas restrições alimentares por parte da população surgiram e devido ao grande consumo de creme de leite, buscaram-se alternativas para produção do mesmo com baixo teor ou sem lactose, devido a necessidade de diversas pessoas incapazes de metabolizar o dissacarídeo, surgindo os produtos zero lactose ainda provenientes do leite de vaca, bem como os produtos à base de vegetais, como soja, caju e coco (Ligtowler 1998).

Neste contexto é importante averiguar quais as diferenças em termos de composição elementar existem entre as variedades de creme de leite e se este alimento contribui com os

nutrientes necessários para o bom funcionamento do organismo humano. Sendo assim, é necessário a realização do estudo de bioacessibilidade, que propõe a simulação de uma determinada amostra em meio ao sistema digestivo humano, seguindo então da quantificação dos nutrientes de interesse por um instrumento de análise.

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo avaliar a bioacessibilidade de elementos majoritários como Al, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn em amostras de creme de leite de diferentes variedades, utilizando como técnica de quantificação, a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).

2.2. Objetivos específicos

- Aplicar o método de digestão *in vitro* para o preparo de amostras de creme de leite para posterior determinação da fração bioacessível dos elementos Al, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn por MIP OES;
- Obter resultados com boa precisão e exatidão;
- Avaliar os resultados obtidos quanto a bioacessibilidade dos elementos investigados;
- Comparar as concentrações obtidas para os elementos com os valores de recomendações diárias e os limites de ingestão encontrados na literatura.

3. Revisão da Literatura

3.1. Creme de leite

Definido pela portaria n° 147 de Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (1996), o creme de leite é um produto lácteo formado da emulsão de gordura em água, gordura essa retirada do leite através de processamentos adequados sendo denominada de creme. Desta forma a diferença significativa em relação ao leite é a proporção de gordura e soro, sendo o creme rico em gordura (Santiago, 2020; Flauzino, 2007).

A proporção de gordura é o principal fator de caracterização do creme de leite, podendo ser identificado com creme de baixo teor de gordura ou leve quando contém de 10% - 19,9%,

creme contendo de 20% - 49,9% e de alto teor de gordura ou creme para bater sendo acima de 50%. Ainda é possível encontrar como duplo creme para cremes com teor superior a 40% (MAPA,1996; Flauzino, 2007).

Outra nomenclatura presente em cremes de leite é com relação ao processo em que é submetido, podendo ser:

- Creme pasteurizado, aquele submetido ao procedimento de pasteurização mediante tratamento térmico tecnologicamente adequado;
- Creme esterilizado, o submetido ao processo de esterilização mediante um tratamento térmico tecnologicamente adequado;
- Creme UHT o que foi submetido ao tratamento térmico de ultra alta temperatura mediante procedimento tecnologicamente adequado.

O processamento de cremes de leite se baseia em uma sequência de etapas, iniciada pela separação da gordura do leite, onde através de um processo de desnatação do leite, é separada em uma centrifuga por maior da densidade, sendo obtido por uma saída o leite desnatado e por outra a gordura do leite. Seguido da separação tanto o leite como o creme passam pelo processo de padronização, onde ocorre o ajuste de teor de gordura, posteriormente então ocorre o tratamento térmico, mais comumente sendo realizada a UHT/UAT (ultra alta temperatura) ou a pasteurização, podendo por fim passar por um processo de homogeneização, porém este não é obrigatório, e então feito o envase do produto em embalagens adequadas para o consumo (Early, 1998; Smiddy, 2009).

Os diferentes tratamentos térmicos têm o mesmo objetivo a deteriorização de micro organismos, enzimas e agentes patogênicos, através da utilização de altas temperaturas. A grande diferença do processo de pasteurização para o UHT é o tempo e a temperatura, sendo recomendado pela Federação Internacional de Laticínios (IDF) para o tratamento de pasteurização a utilização de 75°C por 15s para cremes de abaixo de 20% de gordura e 80°C por 15s para cremes acima de 20% de gordura considerando 100g de creme de leite. O tratamento por UHT, por outro lado, utiliza de temperatura mais elevada cerca de 135 a 150°C por poucos segundos (Early, 1998; IDF, 1996).

Durante o processamento do creme pasteurizado não é permitida a adição de aditivos ou coadjuvantes, já para o creme UHT (Ultra High Temperature) é permitido a utilização de agentes espessantes e/ou estabilizantes permitidos pela legislação não podendo ser superior a 0,5% (m/m) do produto final, o mesmo para presença de sais estabilizantes, porém não sendo permitidos acima de 0,2% (m/m) do creme final. O creme UHT/UAT pode ser encontrado

também como "Creme Longa Vida" e no Brasil o creme de leite UHT/UAT é o mais encontrado, seguido do creme de leite pasteurizado, ambos na sua versão não fermentada. (Santiago, 2020; MAPA,1996).

Com base em suas características sensoriais, o creme de leite possui coloração branca ou levemente amarelada, sabor e odor característicos, suave, não sendo rançoso ou ácido, e não apresentando falta de sabor ou odor estranho (MAPA,1996).

O creme de leite é uma fonte de nutrientes, tendo em sua composição carboidratos, proteínas, lipídeos, minerais e vitaminas. Dentre os minerais é fonte de Ca, Fe, Na, Mg, P, K, Mn, Cu e Zn. A Tabela 1 apresenta a composição nutricional de creme de leite com teor de 25% de gordura em lata referente a proporção de 100 g do produto retirada da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA).

Tabela 1. Composição química de creme de leite (25%, UHT, lata), para uma porção de 100g.

| Componentes | Quantidade |
|--------------------------------|-------------------|
| Carboidrato total | 4,16 g |
| Carboidrato disponível | 4,16 g |
| Proteína | 1,95 g |
| Lipídios | 23,7 g |
| Ácidos graxos saturados | 14,5 g |
| Ácidos graxos monoinsaturados | 6,39 g |
| Ácidos graxos poli-insaturados | 0,58 g |
| Ácidos graxos trans | 0,80 g |
| Cálcio | 82,7 mg |
| Ferro | 0,30 mg |
| Sódio | 51,7 mg |
| Magnésio | 7,54 mg |
| Fósforo | 118 mg |
| Potássio | 118 mg |
| Manganês | 0,01 mg |
| Zinco | 0,29 mg |
| Cobre | 0,02 mg |
| Vitamina A (RE) | 142 mcg |
| Vitamina A (RAE) | 138 mcg |
| Vitamina D | 1,05 mcg |
| Alfa-tocoferol (Vitamina E) | 0,61 mg |
| Riboflavina | 0,10 mg |
| Vitamina B12 | 0,12 mcg |

Fonte: TBCA

3.2. Bioacessibilidade

A determinação da concentração total de elementos presentes em alimentos muitas vezes não representa de fato resultados suficientemente esclarecedores, pois a concentração presente na matriz do alimento não será necessariamente totalmente liberada durante a digestão para o organismo humano (Souza et al., 2018).

Para que ocorra o aproveitamento dos nutrientes presentes em um alimento, é necessário que estejam biodisponíveis, assim serão realmente absorvidos e desempenharam suas funções biológicas.

Com o objetivo de avaliar o comportamento dos analitos para além da concentração total, podem ser realizados estudos de bioacessibilidade e biodisponibilidade, desenvolvidos para que possa ser melhor avaliada a relação que os componentes presentes no alimento têm com o organismo durante a digestão. A bioacessibilidade é o estudo sobre a interação da matriz do alimento com o sistema gastrointestinal, sendo liberado a fração bioacessível, a qual os analitos se tornam disponíveis para serem absorvidos pelo organismo. Todavia o estudo de biodisponibilidade se propõe a avaliar qual a concentração que o analito terá para ser absorvido pelo corpo e realizar as funções fisiológicas (Do Nascimento da Silva et al., 2013; Minekus et al., 2014; Souza et al., 2018). A realização destes estudos consiste em abordagens diferentes sendo para a biodisponibilidade o método *in vivo* e para a bioacessibilidade o método *in vitro*.

Testes *in vivo* são realizados com humanos ou animais que possuam sistema digestivo semelhante, geralmente os estudos são feitos analisando o sangue da cobaia ou por balanço de massas, entretanto por serem métodos invasivos, de elevado custo, necessitar de longos períodos de análise, dependerem de fatores fisiológicos específicos de espécies animais e seguir uma linha tênue entre os princípios de ética, demonstra diversas limitações. Em contra partida os testes *in vitro* partem do conceito de simulação das condições fisiológicas e das etapas que ocorrem em meio a digestão: fase oral, gástrica e intestinal. Entretanto para uma boa repetibilidade e reprodutibilidade do método é importante seguir o método proposto e controlar os fatores que podem influenciar seu resultado como, a temperatura, pH, movimentos peristálticos e a composição química da saliva, do suco gástrico, do suco duodenal e do suco biliar (Cardoso et al. 2015; Do Nascimento da Silva et al., 2015; Peixoto et al., 2016; Souza et al., 2018).

A fase oral simula o processo de mastigação e envolve o contato do alimento com a saliva artificial com pH médio de 6,7, onde a α -amilase atua na quebra das ligações glicosídicas

das moléculas de amido em maltose, seguida pela fase gástrica que ocorre pela adição de pepsina antes da acidificação das amostras para o pH 3. Em condições ácidas, a maioria das proteínas e carboidratos sofrem degradação gerando aminoácidos, oligopeptídios e polipeptídios. Por fim fase intestinal se dá pela adição de pancreatina e sais biliares, que agem na digestão intestinal dos lipídios, com reajuste para pH 7. Devido ao aumento significativo do pH durante a fase intestinal, as enzimas gástricas são inativadas ao fim do processo (Minekus et al., 2014; Thakur et al., 2020).

A literatura apresenta diferentes métodos *in vitro* para avaliar a bioacessibilidade de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos, sendo observada a falta de padronização das condições, influenciando todo o processo de simulação, desta forma não sendo possível a comparações entre resultados de diferentes métodos. Com o objetivo de minimizar esse problema, foi proposto um método de simulação *in vitro* estática da digestão gastrointestinal de alimentos para padronização e publicado em protocolo por Brodkorb et al. (2019), por meio de consenso internacional dentro da rede COST INFOGEST, sendo a partir de então o método de ampla utilização, o Método então padronizado pode ser observado na Figura 1 (Brodkorb et al., 2019; Minekus et al., 2014).



Figura 1. Visão geral de uma digestão *in vitro* simulada.

Fonte: Texto adaptado de Brodkorb et al. (2019) e Minekus et al. (2014).

3.3. Preparo de amostra

A quantificação elementar em amostras segue uma sequência analítica, que consiste em etapas que devem ser consideradas para a realização das análises. Dentro dessa sequência temos a etapa de preparo de amostras com matrizes complexas, como em alimentos. É considerada uma das etapas mais importantes, pois é nesta etapa onde é feito o tratamento adequado da amostra para que a mesma possa ser analisada pelo instrumento escolhido. Além disso a etapa em que demanda mais tempo do analista, podendo ocorrer os maiores erros e contaminações da análise (Krug, 2019).

Neste contexto a etapa deve ser definida e realizada com cuidado, considerando os métodos disponíveis, a concentração dos analitos a serem analisados, a natureza amostra e de sua matriz, a técnica definida para as quantificações e a precisão e exatidão desejadas. A conversão da amostra em uma solução ou suspensão adequada para que seja analisada, garante a preservação da espécie química de interesse para sua quantificação (Krug, 2019; Gomes, 2021; Oliveira, 2003). Esta etapa tende a ocasionar cerca de 30% dos erros de análise e demanda cerca de 60% do tempo durante a sequência analítica (Krug, 2019; Oliveira, 2003).

O preparo de amostra para análises elementares costuma ser um processo que permite o despreendimento dos analitos de sua matriz, levando a oxidação da matriz e a convertendo em CO_x , H_2O , NO_x e N_2 , enquanto outros elementos são convertidos em espécies inorgânicas simples (Korn et al., 2008; Krug, 2010).

Dentre os métodos de preparo de amostras de matriz orgânica, geralmente são utilizadas decomposições, ocorrendo a quebra das ligações e liberando os analitos de sua matriz, decomposições essas que podem ocorrer por via seca ou via úmida. A decomposição por via seca é considerada um processo mais simples, devido a amostra ser submetida a um processo de calcinação em elevadas temperaturas a tornando solúvel, entretanto a via seca pode acarretar perda de analitos por volatilização, riscos de contaminação, alto gasto de energia e tempo elevado para a queima de determinadas amostras (Krug, 2019; Gomes, 2021).

A decomposição por via úmida utiliza de métodos que consistem na destruição ou separação por meio de rompimentos das ligações da matriz orgânica utilizando reagentes e uma fonte externa de energia, no qual esses reagentes costumam ser ácidos como HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , entre outros, ou a mistura deles, sendo possível também a adição de agentes oxidantes como o H_2O_2 que auxiliam na decomposição (Oliveira, 2003; Krug, 2019).

A utilização de HNO_3 é frequente e se mostra uma boa escolha, pois é eficiente para a oxidação da matéria orgânica e apresenta vantagens, como o fácil manuseio e sua obtenção em alto grau de pureza, a possibilidade de perdas por volatilização devido à alta temperatura são reduzidas e tem baixo nível de interferências na maioria das técnicas analíticas. Seu potencial oxidativo ainda pode ser melhor explorado em sistemas fechados onde pode alcançar temperaturas acima de 120°C (Mitra, 2003; Krug, 2010).

Dentre os métodos de decomposição ainda podemos dividi-los em sistemas fechado e abertos, os quais utilizam de diversas fontes de energia, podendo ser térmica de equipamentos como bloco digestor e a chapa de aquecimento, radiação micro-ondas, ondas ultrassônicas, entre outras (Oliveira, 2003; Krug, 2016).

Os métodos que utilizam de sistema aberto em sua maioria apresentam baixo custo e são considerados simples, por outro lado também apresentam elevado teor de carbono residual, elevado risco de contaminação do ambiente e perdas de ácido e analitos por volatilização, causando aumentos no sinal do branco e no tempo de decomposição, demonstrando baixa eficiência (Krug, 2016).

A utilização de sistemas fechados para o preparo de amostras, ganhou destaque devido as desvantagens de sistemas abertos. Por ser um sistema fechado, não são perdidos analitos por volatilização, nem os agentes oxidantes, entretanto explosões devido a pressão dentro dos fracos durante a decomposição ou para abri-los após a decomposição são desvantagens, assim como a massa de amostra limitada para a utilização desses métodos e principalmente o custo elevado. A evolução dos métodos e equipamentos mais sofisticados tornam a prática mais segura, porém aumentam ainda mais os custos para a rotina de laboratório (Oliveira, 2003; Krug, 2016).

Como alternativa viável, Ferreira et al. (2013) apresentaram um novo sistema utilizando tubos digestores em bloco digestor, denominado “dedo frio”, que consiste em um recipiente na região superior do tubo digestor, onde é colocado água, para que durante a decomposição o vapor condense na superfície do dedo frio, evitando a perda por volatilização dos analitos e reagentes durante o processo de digestão. Desta forma a adição de reagentes durante a decomposição não é necessária, diminuindo riscos de contaminação e utilizando menos reagentes. Todavia, o sistema também apresentava suas desvantagens, não permitindo refluxo da água, o que acarretava o aumento de temperatura da mesma, tornando a condensação ineficiente. Outra desvantagem era a falta de alívio de pressão. O sistema de dedo frio pode ser observado na Figura 2.

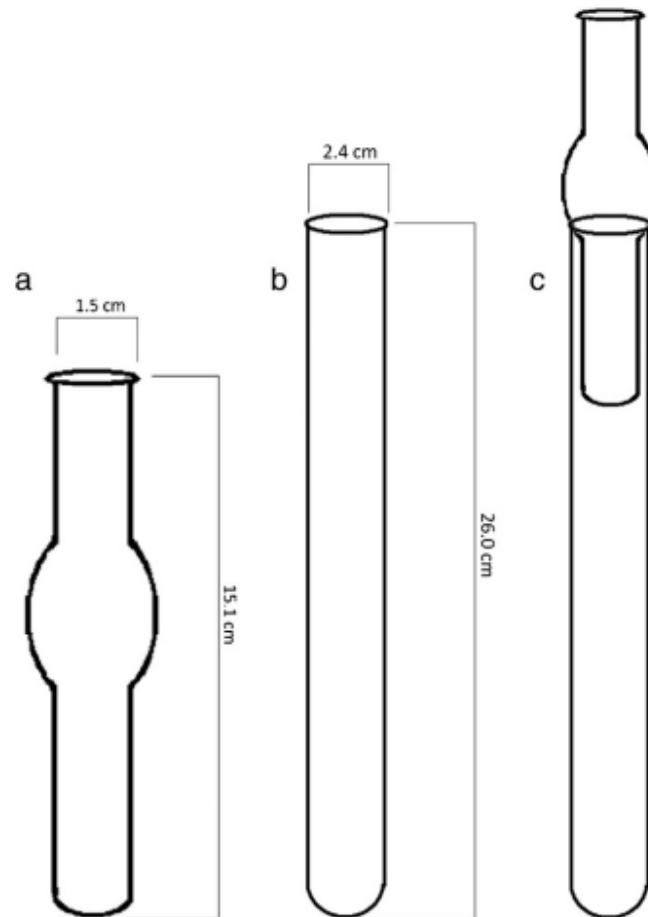


Figura 2. Modelo esquemático do sistema de dedo frio. a: dedo frio; b: tubo digestor; c: dedo frio acoplado ao tubo digestor.

Fonte: Adaptado de Ferreira et al., 2013.

Neste contexto, Oreste et al. (2013), desenvolveram um novo sistema de refluxo, que consiste na circulação de água contínua aumentando o resfriamento da superfície e a condensação dos reagentes de forma eficiente.

O sistema é composto por um tubo de vidro com mangueiras acoplada em suas extremidades propiciando a circulação de água, sendo essa mantida em 15 °C por um banho termostaticado, desta forma é possível a utilização de elevadas temperaturas ainda condensando os reagentes, outro componente do sistema é um encaixe de politetrafluoretileno (PTFE) com ranhura lateral, o qual une o dedo frio ao tubo digestor, diminuindo os riscos de contaminação pelo ambiente e aliviando a pressão, sendo considerado um método semi-aberto, o sistema pode ser observado na Figura 3.

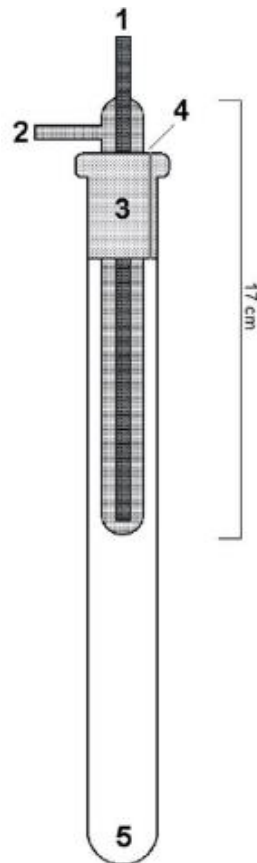


Figura 3. Diagrama esquemático do sistema de refluxo com auxílio do dedo frio acoplado ao tubo de decomposição. 1: entrada de água; 2: saída de água; 3: encaixe de politetrafluoretileno (PTFE); 4: ranhura para alívio de pressão; 5: frasco de reação.

Fonte: Adaptado de Oreste et al., 2013.

O sistema proposto por Oreste et. al (2013) com as modificações do dedo frio foi utilizado para decomposição de amostras biológicas e teve sua eficiência comprovada para a quantificação de analitos voláteis como o Hg, evidenciando a não perda de volatilização durante o preparo de amostras (Oreste et al., 2013; Bonemann et al., 2021). Desde então, diversas amostras contendo diferentes matrizes foram decompostas usando este sistema de forma eficiente: goma xantana (Souza et al., 2015), leite em pó (Oreste et al., 2016), arroz (Oliveira et al., 2016), cerveja (Leão et al., 2018), silagem de colostro (Pereira, 2016), requeijão (Diniz et al., 2017), tomate e derivados (Bonemann et al., 2020), entre outros.

Trabalhos encontrados na literatura como a composição de silagem de colostro (Pereira, 2016) e de requeijão (Diniz, 2017), utilizando o sistema de refluxo modificado, evidenciam sua aplicação na decomposição de amostras com matrizes e teor de gordura semelhantes à de creme de leite como preparo de amostra eficiente para subsequente determinação elementar.

3.4. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma induzido por Micro-ondas (MIP OES)

Tendo em vista a quantificação elementar de analitos em diversas amostras, a escolha da técnica utilizada para a análise é uma etapa de grande importância, pois cada uma apresenta suas características, sendo assim umas mais vantajosas em relação a outras a depender do objetivo do analista. Desta forma para escolha alguns aspectos são importantes como sensibilidade, detectabilidade, precisão e custo.

Existem diferentes técnicas já descritas na literatura e comumente para a análise elementar de alimentos encontramos técnicas analíticas como, a Espectrometria de Emissão Atômica em Chama (F AES), Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (F AAS), Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF AAS), Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP MS), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) (Bressy, et al., 2013; Gonzales e la Guardia, 2013; Alves et al., 2018; Muller, 2020).

Técnicas de absorção atômica como GF AAS e F AAS, utilizam lâmpadas de cátodo vazio com comprimento de onda específico para cada elemento, como fonte de radiação, devido a isso são técnicas mono elementares, demandando diferentes lâmpadas para análise de diferentes analitos, assim como um maior tempo de análise em comparação a outras técnicas (Balaram, 2020; Gomes, 2021; Gonzales e de la Guardia, 2013).

Por outro lado, as técnicas que utilizam plasma destacam-se devido a possibilidade de quantificação de mais de um elemento por análise, ou seja, são técnicas multielementares, diminuindo o tempo de análises e por vezes apresentando maior sensibilidade. Dentre elas temos a ICP OES e a ICP-MS, entretanto a utilização de gás argônio dessas técnicas eleva o custo de operação sendo essa sua principal desvantagem (Chalyavi et al., 2017; Junior et al., 2017).

Como alternativa a essa desvantagem, a técnica de MIP OES, foi lançada em 2011, e tem o seu plasma mantido com nitrogênio, esse então de elevada pureza gerado por um gerador de nitrogênio acoplado a um compressor de ar.

A técnica de MIP OES consiste na formação de micro-ondas induzidas na região do plasma com frequência na região de GHz, essas então transmitem a energia para os elétrons presentes nas moléculas dos gases introduzidos, desta forma a energia promove a perturbação

do sistema causando colisões ionizantes e tornando o gás do sistema parcialmente ionizado, originando assim o plasma induzido por micro-ondas (Agilent Technologies, 2016; Muller et al., 2020).

A utilização de nitrogênio para o mantimento do plasma não é a única possibilidade, podendo ser utilizado gases como Ar e He ou a misturas de gases como Ar/He ou N₂/O₂ na geração do plasma, sendo em sequência substituído o gás de ignição pelo N₂ de alta pureza retirado do ar atmosférico e assim persistindo durante a utilização, devido a essas características o custo diminui significativamente, tornando a técnica de alta frequência analítica por ser multielementar e de baixo custo operacional em comparação a outras técnicas de plasma (Agilent Technologies, 2016; Muller et al., 2020; Bonemann et al., 2021; Louzada et al., 2022).

Com base na Figura 4, mostra a composição básica do equipamento de MIP OES, constituído por um sistema de introdução de amostra, um gerador de micro-ondas como fonte de excitação, um sistema de alimentação de gás de plasma e um sistema óptico, para controle e obtenção dos dados (Agilent Technologies, 2016).

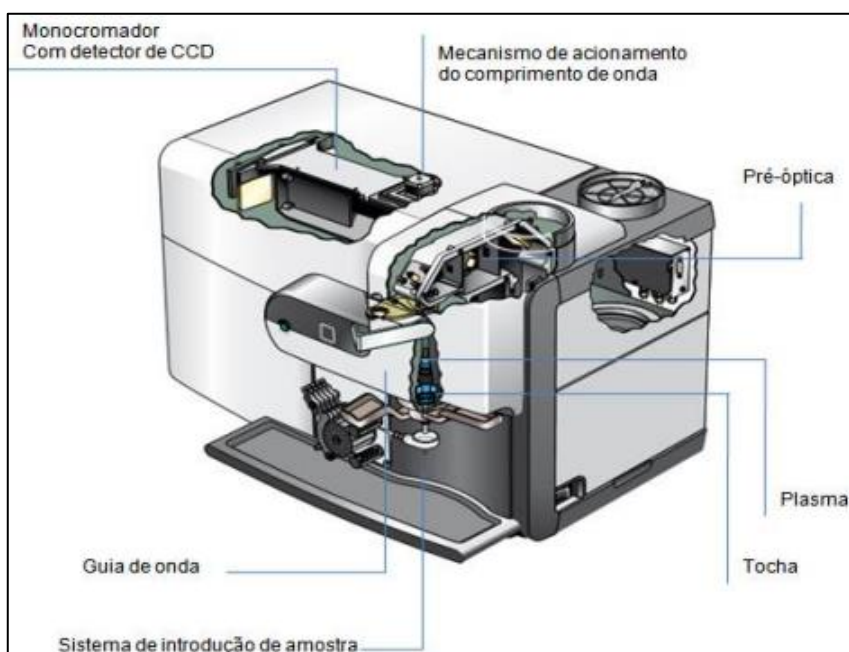


Figura 4. Imagem do MIP OES com seus principais componentes.

Fonte: Adaptado de Agilent Technologies (2016).

O sistema utilizado para a introdução da amostra no plasma é apresentado na Figura 5, onde a amostra é aspirada por um capilar pela ação de uma bomba peristáltica, levando a solução ao nebulizador pneumático onde a amostra é convertida em aerossol.

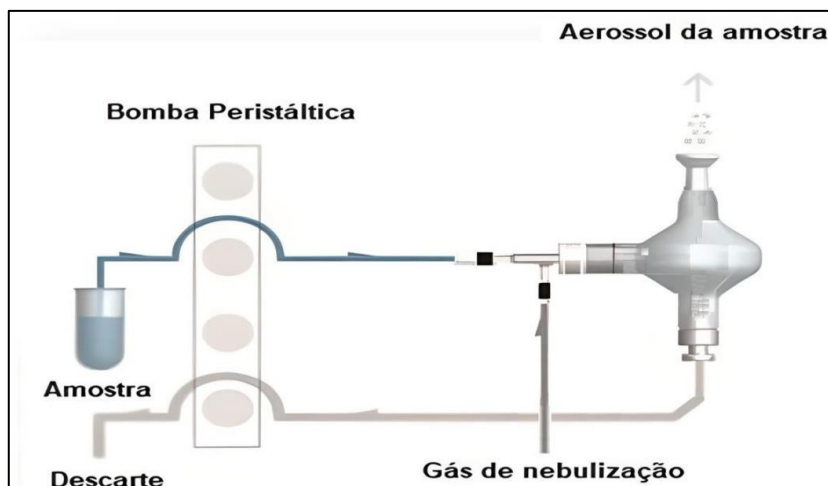


Figura 5. Sistema de introdução de amostra para o modo convencional.

Fonte: Adaptado de Agilent Technologies (2016).

A amostra ao passar pelo nebulizador, se transforma em um aerossol e o nebulizador condensa as gotículas de maior diâmetro seguindo para um caminho de descarte, enquanto as gotículas mais finas são arrastadas pelo nitrogênio até a tocha, onde o plasma atomiza e ioniza a amostra, emitindo radiação que passa pelo detector de dispositivo de carga acoplada (CCD) de baixo ruído e amplo alcance, sendo então medido simultaneamente as intensidades, gerando espectros e sinais de fundo garantido a precisão e melhorando os limites de detecção (Jankowski & Reszke, 2010; Agilent Technologies, 2016). A Figura 6 apresenta um diagrama esquemático de funcionamento de um espectrômetro de MIP OES.

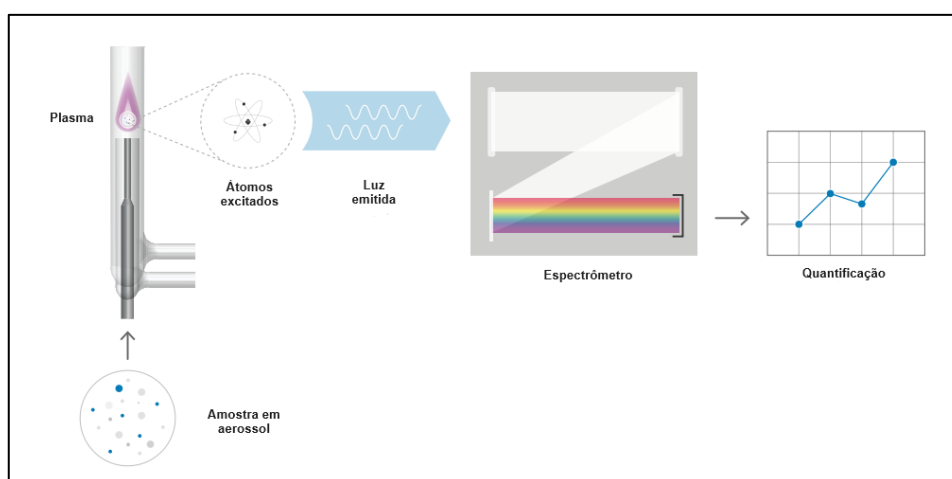


Figura 6. Diagrama esquemático de um espectrômetro de emissão óptica com plasma de micro-ondas.

Fonte: Adaptado de Agilent Technologies (2016).

Neste contexto a técnica de MIP OES em comparação ao ICP OES, pela utilização de um N₂ ao invés do Ar, diminui o custo operacional, mas acaba apresentando maiores limites de detecção em função da menor energia disponível, porém sensibilidade superior em comparação ao F AAS. Desta forma a técnica de MIP OES apresenta-se viável para determinações multielementares em diferentes amostras (agrícolas, alimentícias, ambientais, farmacêuticas, dentre outras), com grande quantidade de leituras em menor tempo, custo reduzido, boa sensibilidade e limites de detecção (Muller et al. 2020).

4. Materiais e Métodos

4.1. Instrumentação

A determinação da concentração dos elementos foi realizada utilizando o espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) modelo Agilent 4200 (Agilent Technologies, Austrália), equipado com um nebulizador OneNeb séries 2, uma câmara de nebulização ciclônica, uma bomba peristáltica, uma mangueira, com uma extremidade para o descarte de resíduos e na outra um capilar para a introdução das amostras. O plasma gerado é ativado utilizando um pequeno fluxo de gás Ar (argônio) com pureza de 99,996% (Agilent Technologies) e mantido com gás nitrogênio, este é obtido na atmosfera através de um compressor modelo MSV 12 (Schulz, Brasil) e convertido por um gerador de nitrogênio modelo 4107 (Agilent Technologies, Austrália). A medição das amostras foi realizada em triplicata, de forma que, a bomba peristáltica em uma velocidade de 15 rpm, realiza-se a aspiração de cada amostra em 15 s, estabilizando por 15 s e pôr fim a leitura de cada analito por mais 3 s. As leituras passam por correção automática dos sinais de fundo por meio de uma subtração dos valores de intensidade dos brancos da curva de calibração.

As pesagens das amostras foram realizadas em uma balança analítica modelo AR2140 (Ohaus Adventurer, EUA) com resolução de 0,01 g e tara máxima de 210 g.

Para obter a fração bioacessível, foi utilizado um banho Dubnoff com agitação e aquecimento modelo Q226M2 (Quimis, Brasil), um pHmetro modelo pHs-3B (PHtec, Brasil) e uma centrífuga de velocidade máxima de 10.000 rpm modelo 5804R (Eppendorf, Alemanha).

A fração não-bioacessível foi decomposta através da utilização de bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Brasil), com sistema de refluxo.

4.2. Materiais e Reagentes

Todos os reagentes utilizados possuem grau de pureza analítico e as soluções foram preparadas com água deionizada, obtida por meio de um destilador de vidro modelo MA-075 (Marconi, Brasil) seguido de sua deionização realizada em uma coluna com resina mista catiônica e aniônica modelo CS 1800 (Permuton, Brasil).

No estudo de bioacessibilidade, foram utilizados os seguintes reagentes: α - Amylase a partir de *Aspergillus oryzae*, Pepsina, Bile e Pancreatina (Sigma, EUA), KCl (Merck), KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich), NaHCO_3 (Synth), NaCl (Merck), $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (Sigma), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (Synth), $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (Vetec), NaOH (Vetec), HCl (Qhemis).

Para decomposição da fração não-bioacessível, foi utilizado HNO_3 65% (v/v) (Synth), este bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Brasil) e H_2O_2 35% (v/v) (Synth). As filtrações foram realizadas utilizando papel filtro quantitativo faixa azul com 8 μm de porosidade e papel filtro quantitativo faixa preta com 28 μm .

A curva de analítica foi preparada a partir de uma solução estoque multielementar n° 6 para ICP (Sigma-Aldrich, Alemanha) contendo 100 mgL^{-1} de cada um dos analitos, em meio de HNO_3 2% (v/v).

4.3. Amostras

As amostras de creme de leite foram compradas no comércio local de Pelotas/RS, sendo escolhidas 14 amostras, divididas em 8 amostras de creme de leite em caixa de diferentes marcas, 2 de creme de leite zero lactose, 2 de creme de leite vegetal e 2 de creme de leite em lata. As mesmas foram homogeneizadas manualmente, armazenadas em frascos de polipropileno (PP) de 50 mL, identificadas e mantidas a $-16 \text{ }^\circ\text{C}$ em um refrigerador, até a realização do estudo. Cada amostra foi identificada conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Identificação das amostras de Creme de Leite.

| Amostras | | | | |
|----------------------|--------------|------------------|---------------|----------------|
| Identificação | Marca | Embalagem | Origem | Lactose |
| 1CAC | 1 | Caixa | Animal | Com |
| 1LAC | 1 | Lata | Animal | Com |
| 2CAC | 2 | Caixa | Animal | Com |
| 3CAC | 3 | Caixa | Animal | Com |
| 3CAS | 3 | Caixa | Animal | Sem |
| 3CVS | 3 | Caixa | Vegetal | Sem |
| 3LAC | 3 | Lata | Animal | Com |
| 4CAC | 4 | Caixa | Animal | Com |
| 5CAC | 5 | Caixa | Animal | Com |
| 5CAS | 5 | Caixa | Animal | Sem |
| 6CAC | 6 | Caixa | Animal | Com |
| 7CAC | 7 | Caixa | Animal | Com |
| 8CAC | 8 | Caixa | Animal | Com |
| 9CVS | 9 | Caixa | Vegetal | Sem |

4.4. Fração bioacessível e não-bioacessível

Para avaliar a bioacessibilidade dos analitos nas amostras de creme de leite, é necessário conhecer a concentração total dos analitos.

Desta forma, para a determinação da concentração total dos analitos Al, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn, as amostras de creme de leite foram decompostas a partir do método relatado na literatura por Pereira et al. (2016): pesaram-se 1 g de cada amostra e foram adicionados 5 mL de HNO₃ e 10 esferas de vidro em tubos de digestão. Em seguida, os tubos foram levados para o bloco digestor com sistema de refluxo e lá permaneceram por 2 horas a uma temperatura de 200 °C. Após, os tubos foram retirados para resfriamento, adicionando 1 mL de H₂O₂ e colocados novamente no bloco digestor a 150 °C por mais 30 minutos. Ao final, as soluções resultantes foram avolumadas a 25 mL com água deionizada para posterior análise pela técnica de MIP OES. A decomposição e quantificação da concentração total das amostras de creme de leite, foram realizadas em um trabalho anterior.

Para avaliar a bioacessibilidade dos elementos nas amostras de creme de leite, o método de digestão *in vitro* descrito por Minekus et al. (2014) foi aplicado, assim simulando o sistema digestivo humano em 3 diferentes etapas: a fase oral, a fase gástrica e a fase intestinal. O procedimento utilizado é descrito a seguir:

Inicialmente foram pesados aproximadamente 3 g das amostras em frascos de PP e adicionados 4 mL de saliva sintética, 1 mL de CaCl_2 7,5 mmol/L e por fim ajustado o pH a 7 com adição de NaOH 1 mol/L, em seguida colocada no banho Dubnoff com aquecimento a 37 °C e agitação por 10 minutos.

Após, foram retiradas do banho e foram adicionados 9,1 mL de suco gástrico sintético, 700 µL de CaCl_2 2 mmol/L e ajustado o pH a 3,0 com HCl 1 mol/L, então colocadas novamente ao banho por 2 horas.

Para simulação da fase intestinal, as amostras foram retiradas do banho e adicionados 18,5 mL de suco intestinal, 1,35 mL de CaCl_2 9 mmol/L e NaOH 1 mol/L para ajuste do pH a 7,0 e então devolvidas ao banho de agitação onde permaneceram por mais 2 horas.

Por fim, as amostras foram retiradas do banho e imersas em um banho de gelo por 20 minutos. Após, foram centrifugadas por 10 min a 10.000 rpm e então foi retirado o sobrenadante (fração bioacessível) para posterior diluição e determinação dos analitos. Já a fração não bioacessível, ou seja, o sólido restante na centrifugação foi decomposto a partir do mesmo método utilizado para a quantificação da concentração total. Ao fim do processo, as soluções resultantes foram avolumadas a 15 mL com água deionizada e posteriormente diluídas para determinação dos analitos por MIP OES.

Cabe salientar que a quantificação total, a etapa de simulação do processo digestivo e a decomposição do sólido obtido, foram todas realizadas em triplicatas para cada amostra, bem como a realização de brancos durante os processos para descontar possíveis analitos presentes nos reagentes utilizados durante o processo.

4.5. Parâmetros de mérito

A utilização do método proposto para a decomposição da matéria orgânica a fim de quantificar a concentração total e para a decomposição da fração não-bioacessível dos analitos em amostras de creme de leite, teve seus parâmetros de mérito avaliados para garantir a sua adequação ao objetivo do trabalho.

Os parâmetros de mérito avaliados foram: a linearidade e os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) para cada analito. Desta forma, a linearidade foi obtida a partir da realização de curvas de calibração, com faixa linear de 0,1 a 5,0 mg L⁻¹, com os padrões de calibração preparados em condições semelhantes a solução resultante das amostras, assim, possuindo um caráter ácido proporcional. Os valores de LD e LQ foram obtidos a partir dos cálculos utilizando as equações representadas de 1 a 4 (Sousa, 2007; Montaser,1992).

$$LD = \frac{3 \times RSD_{\text{Branco}} \times BEC}{100}$$

Equação 1

$$LQ = \frac{10 \times RSD_{\text{Branco}} \times BEC}{100z}$$

Equação 2

$$BEC = \frac{C_{\text{Padrão}}}{SBR}$$

Equação 3

$$SBR = \frac{I_{\text{Padrão}} - I_{\text{Branco}}}{I_{\text{Branco}}}$$

Equação 4

Sendo:

RSD: Desvio padrão da leitura do branco (n=10)

BEC: Concentração equivalente do fundo

C_{padrão}: Concentração de um padrão da curva analítica

I_{padrão}: Intensidade do sinal de emissão do padrão da curva escolhido

I_{branco}: Intensidade do sinal de emissão do branco analítico

SRB: Razão entre o sinal de emissão e sinal de fundo.

5. Resultados e Discussão

5.1. Parâmetros de mérito

Com a realização das curvas de calibração e dos cálculos utilizando os valores de intensidade dos brancos do método proposto, foram obtidos os parâmetros de mérito apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de mérito para os elementos de interesse obtidos a partir das leituras por MIP OES.

| Elementos | Faixa linear (mg L ⁻¹) | a (L mg ⁻¹) | R ² | LD _(m) (mg kg ⁻¹) | LQ _(m) (mg kg ⁻¹) |
|-----------|---------------------------------------|----------------------------|----------------|---|---|
| Al | 0,1 – 5,0 | 65226,51 | 0,999 | 0,150 | 0,502 |
| Cu | 0,1 – 5,0 | 228557,83 | 0,999 | 0,079 | 0,266 |
| Fe | 0,1 – 5,0 | 18413,05 | 0,999 | 0,340 | 1,134 |
| K | 0,1 – 5,0 | 48713,89 | 0,999 | 0,959 | 3,198 |
| Mg | 0,1 – 5,0 | 413630,17 | 0,993 | 0,126 | 0,422 |
| Mn | 0,1 – 5,0 | 85650,99 | 0,999 | 0,006 | 0,021 |
| Zn | 0,1 – 5,0 | 25954,98 | 0,998 | 0,185 | 0,618 |

a: inclinação da curva analítica; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; R²: coeficiente de correlação linear.

Os resultados obtidos apresentam uma correlação linear adequada entre a intensidade e os valores de concentração, evidenciado pelos coeficientes de correlação linear para todos os analitos com $R^2 > 0,99$, representando menor dispersão dos dados, obtendo boa precisão e exatidão para quantificação dos analitos. Os limites de detecção e quantificação obtidos apresentam valores baixos, onde o maior valor para LQ foi de 3,198 mg/kg para K e o menor de 0,021 mg/kg para Mn, os valores apresentaram sensibilidade adequada para a análise de Al, Fe, K, Mg, Mn e Zn em amostras de creme de leite por MIP OES, atendendo o objetivo do trabalho para a avaliação da fração bioacessível. o analito Cu obteve LQ próximo, porém acima do esperado encontrar em amostras de creme de leite com base na literatura disponível, entretanto devido as diferentes variedades de creme de leite foram realizadas as leituras para a análise visto que não se encontra informações sobre as mesmas na literatura.

5.2. Avaliação da fração bioacessível

A etapa de determinação da concentração total dos analitos e a decomposição da fração não bioacessível, além de trazer informações comparativas a fração bioacessível, também auxilia para comprovar a exatidão do ensaio de bioacessibilidade, sendo realizado um balanço de massas conforme a equação 5, relatado por Souza et al. (2019) e Bonemann et al. (2021).

$$REC(\%) = \frac{(CB - CNB)}{CT} \times 100$$

Equação 5

Onde:

CB = Concentração da fração bioacessível;

CNB = Concentração da fração não bioacessível;

CT = Concentração total.

Desta forma, utilizando a amostra 8CAC, foram realizados os cálculos de balanço de massas para comprovação da exatidão do método para avaliação da fração bioacessível. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da concentração bioacessível (CB), concentração não bioacessível (CNB) e recuperação em % (R) para a amostra 8CAC. Valores em mg kg⁻¹ (n = 3)

| Analito | Creme de Leite | | | |
|---------|----------------|-----------------|----------------|-----|
| | 8CAC | | | |
| | CT | CB | CNB | R |
| Al | 1,134 ± 0,017 | <LD | 3,095 ± 0,149 | 111 |
| Cu | <LD | <LD | <LD | - |
| Fe | 1,169 ± 0,033 | 1,391 ± 0,042 | <LD | 118 |
| K | 1478,4 ± 103,0 | 1445,19 ± 22,43 | 270,83 ± 20,04 | 97 |
| Mg | 96,400 ± 2,497 | 68,846 ± 0,210 | 19,363 ± 1,667 | 108 |
| Mn | <LD | <LD | <LD | - |
| Zn | 3,543 ± 0,056 | 1,758 ± 0,026 | <LD | 81 |

%R: Recuperação em porcentagem

Os resultados obtidos comprovam a exatidão da bioacessibilidade, obtendo recuperação na faixa de 81 a 118 % para os elementos Al, Fe, K, Mg e Zn, entretanto os analitos Cu e Mn

apresentaram valores abaixo do LD, assim então não sendo possível a avaliação de sua bioacessibilidade.

Após a comprovação da exatidão do método, o mesmo foi aplicado para as amostras de diferentes variedades de creme de leite. Os valores obtidos para a fração bioacessível, concentração da fração bioacessível e para a concentração total dos analitos em todas as amostras de creme de leite de origem animal em caixa estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB) e fração bioacessível (FB) para cremes de leite em caixa de origem animal. Valores em mg/kg. (n= 3)

| Analito | Creme de Leite | | | | | |
|---------|----------------|-----------------|-----|-----------------|-----------------|-----|
| | 1CAC | | | 2CAC | | |
| | CT | CB | %FB | CT | CB | %FB |
| Al | 3,091 ± 0,287 | 2,716 ± 0,328 | 88 | 3,458 ± 0,149 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 2,274 ± 0,120 | 1,195 ± 0,005 | 53 | 1,909 ± 0,143 | <LQ | - |
| K | 1184,4 ± 45,1 | 782,84 ± 4,90 | 66 | 1031,17 ± 50,85 | 712,42 ± 54,052 | 69 |
| Mg | 101,44 ± 8,10 | 62,43 ± 6,07 | 61 | 85,049 ± 4,721 | 94,882 ± 4,312 | 112 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 5,494 ± 0,453 | 1,190 ± 0,009 | 22 | 5,365 ± 0,531 | <LQ | - |
| | 3CAC | | | 4CAC | | |
| Al | 3,069 ± 0,011 | <LD | - | 1,664 ± 0,074 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 1,569 ± 0,633 | <LQ | - | 2,123 ± 0,079 | <LQ | - |
| K | 1396,5 ± 128,1 | 845 ± 79,538 | 60 | 1085,34 ± 55,07 | 823,98 ± 14,93 | 76 |
| Mg | 99,139 ± 5,957 | 37,64 ± 3,38 | 38 | 106,901 ± 6,550 | 69,353 ± 6,191 | 65 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 4,859 ± 0,471 | 1,759 ± 0,026 | 36 | 10,493 ± 0,185 | 3,563 ± 0,048 | 34 |
| | 5CAC | | | 6CAC | | |
| Al | 3,479 ± 0,098 | <LD | - | 3,139 ± 0,227 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | <LQ | <LQ | - | 1,809 ± 0,171 | <LQ | - |
| K | 1395,0 ± 11,0 | 1204,77 ± 54,22 | 86 | 1465,3 ± 79,3 | 959,96 ± 102,95 | 65 |
| Mg | 133,33 ± 4,73 | 123,11 ± 2,52 | 92 | 113,05 ± 3,92 | 46,585 ± 2,250 | 41 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 7,246 ± 0,133 | 1,881 ± 0,172 | 26 | 5,338 ± 0,529 | 1,178 ± 0,006 | 22 |
| | 7CAC | | | 8CAC | | |
| Al | 2,796 ± 0,008 | <LD | - | 1,134 ± 0,017 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 1,177 ± 0,003 | <LQ | - | 1,169 ± 0,033 | 1,391 ± 0,042 | 119 |
| K | 1768,8 ± 157,0 | 1206,4 ± 112,1 | 68 | 1478,4 ± 103,0 | 1445,2 ± 22,4 | 97 |
| Mg | 81,392 ± 0,660 | 35,151 ± 3,412 | 43 | 96,400 ± 2,497 | 68,846 ± 0,210 | 71 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 2,157 ± 0,065 | 1,792 ± 0,009 | 83 | 3,543 ± 0,056 | 1,758 ± 0,026 | 50 |

%FB: Fração bioacessível em porcentagem

A amostra 1CAC foi a única que apresentou concentração bioacessível para o Al, sendo sua fração bioacessível de 88% o que é uma exceção, tendo em vista que as demais amostras apresentaram valores abaixo do LD, porém quantificadas sua concentração total e não bioacessível, o que indica que há tendência deste analito ser excretado durante o processo gastrointestinal.

Dentre as frações bioacessíveis encontradas para Fe, temos abaixo do LQ as amostras 2CAC, 3CAC, 4CAC, 5CAC, 6CAC e 7CAC, evidenciando a tendência de pouca bioacessibilidade deste elemento em cremes de leite em caixa, com exceção das amostras 1CAC e 8CAC, que apresentaram razão bioacessível de 53% e 119%, respectivamente.

O analito K apresentou as maiores concentrações em todas as amostras e sua bioacessibilidade variou entre as amostras em caixa de diferentes fabricantes, ficando em torno de 60 a 97%, apresentando bioacessibilidade elevada, podendo ser grande fonte do analito para alimentação diária.

As amostras de creme de leite em caixa apresentaram valores com grande variabilidade entre os fabricantes para Mg, com valores entre 38% a 112%, indicando que o processo de fabricação realizado deve influenciar diretamente na bioacessibilidade do analito, desta forma a contribuição de cremes de leite em caixa para a ingestão do analito ocorre de maneira variada.

Para o elemento Zn, as amostras 7CAC e 8CAC foram as amostras em caixa de origem animal com maior bioacessibilidade, sendo seus valores de 83% e 50% respectivamente, exceções em comparação as outras amostras de creme de leite em caixa, que exibiram baixa bioacessibilidade não ultrapassando 36%, exibindo a dificuldade de desprendimento do analito da matriz do creme de leite em caixa comum durante a ingestão.

Assim como as amostras de creme de leite de origem animal em caixa, o ensaio de bioacessibilidade foi aplicado em amostras de cremes de leite de origem animal em lata e sem lactose, assim como os de origem vegetal. Os resultados obtidos referentes a estas amostras estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB) e fração bioacessível (FB) para cremes de leite de origem animal em lata, em caixa sem lactose e de origem vegetal. Valores em mg/kg. (n= 3)

| Analito | Creme de Leite | | | | | |
|-----------|-----------------|----------------|-----|-----------------|------------------|-----|
| | 1LAC | | | 3LAC | | |
| | CT | CB | %FB | CT | CB | %FB |
| Al | 1,553 ± 0,027 | <LD | - | 1,496 ± 0,069 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 1,443 ± 0,130 | 1,557 ± 0,176 | 108 | 1,695 ± 0,013 | 1,394 ± 0,028 | 82 |
| K | 1178,3 ± 2,1 | 1017,63 ± 45,8 | 86 | 1403,73 ± 56,69 | 911,001 ± 11,736 | 65 |
| Mg | 74,053 ± 3,761 | 74,21 ± 0,80 | 100 | 57,218 ± 3,982 | 15,283 ± 0,559 | 27 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 3,451 ± 0,032 | 3,099 ± 0,161 | 90 | 5,120 ± 0,289 | 3,432 ± 0,186 | 67 |
| | 3CAS | | | 5CAS | | |
| Al | 2,554 ± 0,109 | <LD | - | 5,249 ± 0,219 | 3,939 ± 0,018 | 75 |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 2,025 ± 0,113 | 1,155 ± 0,011 | 57 | 1,761 ± 0,123 | 1,829 ± 0,180 | 104 |
| K | 1236,02 ± 35,27 | 757,81 ± 24,95 | 61 | 1612,1 ± 103,0 | 1364,9 ± 30,4 | 85 |
| Mg | 70,465 ± 2,045 | 55,69 ± 3,16 | 79 | 88,626 ± 0,210 | 97,885 ± 9,035 | 110 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 1,404 ± 0,028 | 1,413 ± 0,108 | 101 | 4,984 ± 0,259 | 4,186 ± 0,224 | 84 |
| | 3CVS | | | 9CVS | | |
| Al | 2,512 ± 0,109 | <LD | - | 3,366 ± 0,210 | <LD | - |
| Cu | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Fe | 3,501 ± 0,108 | 3,360 ± 0,194 | 96 | 3,779 ± 0,168 | 3,434 ± 0,299 | 91 |
| K | 242,01 ± 17,77 | 50,297 ± 4,705 | 21 | 356,56 ± 34,15 | <LD | - |
| Mg | 29,516 ± 0,631 | 24,272 ± 1,943 | 82 | 20,808 ± 1,025 | 24,340 ± 0,186 | 117 |
| Mn | <LD | <LD | - | <LD | <LD | - |
| Zn | 5,012 ± 0,291 | 1,170 ± 0,006 | 23 | 1,266 ± 0,084 | 1,171 ± 0,028 | 93 |

%FB: Fração bioacessível em porcentagem

Dentro os valores apresentados, a amostra 5CAS foi a única com concentração bioacessível quantificada para Al, com 75% de bioacessibilidade, e as demais amostras de diferentes variedades assim como a grande maioria das amostras de creme de leite de origem animal em caixa, apresentaram valores abaixo do LD para concentração bioacessível, o mesmo identificado até na outra amostra de creme de leite sem lactose de origem animal analisada.

Para o analito Fe, as amostras de creme de leite em lata 1LAC e 5LAC apresentaram alta bioacessibilidade, com frações bioacessíveis acima de 80%, destoando das amostras de mesma origem em caixa. Além disso as amostras sem lactose de origem vegetal apresentaram alta bioacessibilidade para o alimento, entretanto as frações bioacessíveis de creme de leite sem lactose de origem animal divergiram, obtendo 57% para 3CAS e 104% para 5CAS, o que indica que cremes de leite de origem vegetal tendem a apresentar matriz com menor resistência ao desprendimento do analito que as de origem animal sendo elas com ou sem lactose.

As amostras de creme de leite em lata e em caixa sem lactose não apresentaram diferença significativa com relação às em caixa para o analito K, porém uma diferença significativa entre as frações bioacessíveis entre os fabricantes, indicando a influência do processo de produção. As amostras de origem vegetal foram as com menor bioacessibilidade para o analito, de forma que a amostra 3CVS apresentou apenas 21% e a 9CVS ficou abaixo do limite de detecção, indicando que grande parte do analito está presente na fração não bioacessível e tende a ser excretada durante a digestão.

Para as amostras de creme de leite vegetal, foi evidenciada alta bioacessibilidade para o analito Mg com valores de 82% e 117% para as amostras 3CVS e 9CVS, respectivamente. As amostras sem lactose de origem animal também apresentaram alta bioacessibilidade com 79% e 110% e para as amostras em lata 100% para a amostra 1LAC e para a amostra 3LAC foi obtido o menor valor entre todas as amostras com 27% de bioacessibilidade. Desta forma, cremes de leite sem lactose, seja de origem vegetal ou animal, tendem a apresentar maior desprendimento do analito, enquanto as demais são significativamente influenciadas pelo processo de produção.

Com relação ao analito Zn, as amostras sem lactose apresentaram maior bioacessibilidade sendo acima de 80% com exceção da amostra 3CVS que apresentou baixa bioacessibilidade, podendo ser atribuído a matriz do vegetal base para sua produção apresentar uma matriz mais complexa para a liberação do analito em meio a digestão. As amostras em lata 1LAC e 3LAC apresentaram 90% e 67%, respectivamente em suas frações bioacessíveis, com variação grande de bioacessibilidade.

Para melhor visualização das possíveis tendências das diferentes variedades de creme de leite foi construído um gráfico com as frações bioacessíveis das diferentes amostras para cada analito, com exceção do Cu e do Mn, que apresentaram valores abaixo do limite de detecção. O gráfico com as frações bioacessíveis para cada analito está apresentado na Figura 7.

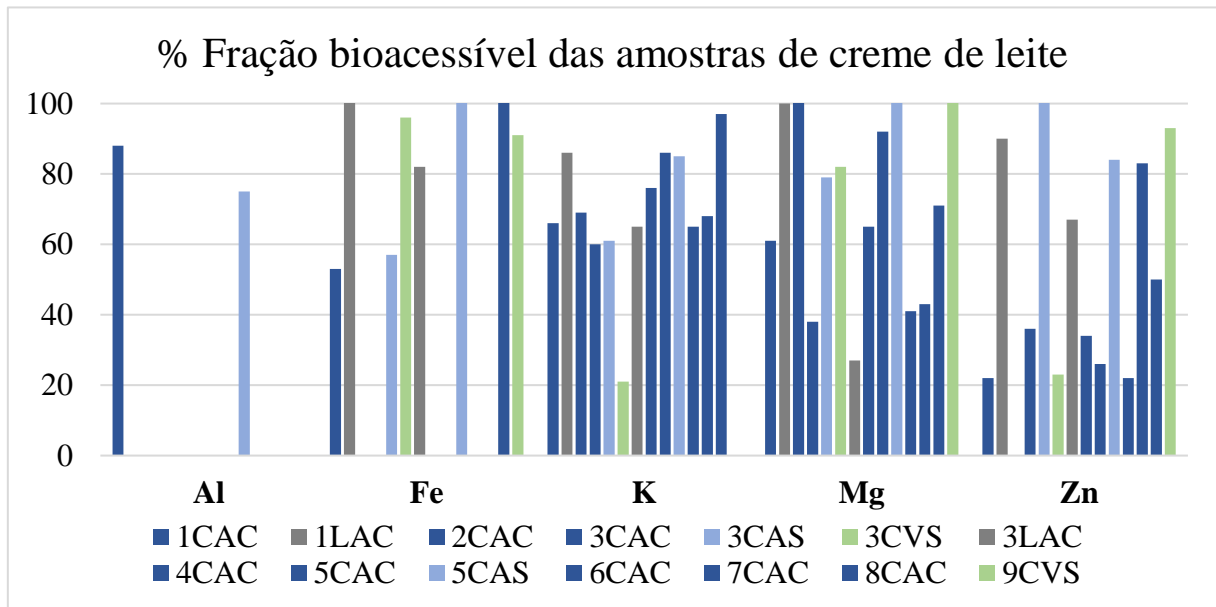


Figura 7. Gráfico de colunas agrupadas da fração bioacessível em porcentagem das amostras de creme de leite para cada analito.

Para o Al, as amostras 1CAC e 5CAS foram exceções, sendo as únicas quantificadas e dentre elas a amostra sem lactose apresentou menor bioacessibilidade em relação a com lactose.

A diferença de bioacessibilidade para o analito Fe, entre as amostras de diferentes embalagens do mesmo fabricante, caso das amostras 1CAC e 1LAC e as amostras 3CAC e 3LAC, pode ser atribuída ao Fe presente na lata, geralmente não presente na maioria das caixas, podendo assim ter se difundido da embalagem no creme de leite, estando presente no alimento livre da matriz do alimento, aumentando sua bioacessibilidade. Além disso as amostras de origem vegetal apresentaram maior bioacessibilidade que as amostras de origem animal, indicando a maior dificuldade de desprendimento do analito da matriz de origem animal.

O analito K, tem sua bioacessibilidade influenciada principalmente pelo processo de produção de cremes de leite de origem animal, devido à grande variedade encontrada, porém apesar de sua variação tendem a grande bioacessibilidade do analito. Em contrapartida os cremes de leite de origem vegetal apresentaram baixa bioacessibilidade indicando influência direta da origem na disponibilidade do analito.

Para o analito Mg, a influência da produção de cada fabricante é ainda mais expressiva, com diferença significativa entre os valores obtidos de sua bioacessibilidade podendo ser baixa ou elevada, entretanto esse comportamento não é evidenciado em cremes de leite sem lactose independente de sua origem, que tendem a apresentar alta bioacessibilidade para o analito.

Em geral, os cremes de leite em caixa dos variados tipos apresentam baixa bioacessibilidade para Zn, porém algumas exceções foram evidenciadas podendo ser de seus processos de fabricação, além disso as amostras em lata apresentaram alta bioacessibilidade, comportamento semelhante encontrado ao analito Fe, podendo ser atribuído a possível liberação do analito da embalagem no alimento aumentado a bioacessibilidade do analito ao fim do processo.

5.3. Contribuição para ingestão diária

Tendo conhecimento da concentração total e da bioacessibilidade das amostras para cada analito, foram realizados cálculos considerando a concentração bioacessível das amostras para cada analito e a ingestão diária recomendada (IDR), obtendo então a contribuição que a concentração bioacessível desses analitos tem para alimentação de adultos. A porção de amostra considerada para a avaliação foi de 200g, o encontrado em uma unidade de creme de leite e os valores de IDR utilizados foram de 8,58 mg para Al; 0,9 mg para Cu; 14 mg para Fe; 4700 mg para K; 260 mg para Mg; 2,3 mg para Mn e 7 mg para Zn, todos os valores para adultos (ANVISA, 2005). Os resultados referentes as contribuições de cada amostra podem ser observados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Contribuição da concentração bioacessível (CB) de creme de leite de origem animal em caixa em % para a IDR dos analitos, considerando uma porção diária de 200 g.

| Analito | IDR mg/dia | Creme de Leite | | | | | | | |
|-----------|---------------|----------------|------|--------|------|--------|------|--------|-------|
| | | 1CAC | | 2CAC | | 3CAC | | 4CAC | |
| | | CB | % | CB | % | CB | % | CB | % |
| Al | 8,58 | 0,543 | 6,33 | - | - | - | - | - | - |
| Cu | 0,9 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fe | 14 | 0,239 | 1,71 | 0,1634 | 1,17 | 0,0468 | 0,33 | 0,1678 | 1,20 |
| K | 4700 | 156,57 | 3,33 | 142,48 | 3,03 | 169 | 3,60 | 164,79 | 3,51 |
| Mg | 260 | 12,485 | 4,80 | 18,97 | 7,30 | 7,528 | 2,90 | 13,87 | 5,33 |
| Mn | 2,3 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Zn | 7 | 0,238 | 3,40 | 0,1146 | 1,64 | 0,3518 | 5,03 | 0,7126 | 10,18 |
| | | 5CAC | | 6CAC | | 7CAC | | 8CAC | |
| Al | 8,58 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cu | 0,9 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fe | 14 | - | - | - | - | - | - | 0,2782 | 1,99 |
| K | 4700 | 240,95 | 5,13 | 191,99 | 4,08 | 241,28 | 5,13 | 289,03 | 6,15 |
| Mg | 260 | 24,62 | 9,47 | 9,317 | 3,58 | 7,0302 | 2,70 | 13,76 | 5,30 |
| Mn | 2,3 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Zn | 7 | 0,3762 | 5,37 | 0,2356 | 3,37 | 0,3584 | 5,12 | 0,3516 | 5,02 |

O analito Al para as amostras de creme de leite em caixa, tende a não contribuir para IDR com exceção da amostra 1CAC que apresentou contribuição de 6% da ingestão diária recomendada. A baixa contribuição do analito é um bom sinal, tendo em vista que o Al é um elemento considerado tóxico dependendo da concentração em que se encontra.

Para o Fe, foi observado uma baixa contribuição em todas as amostras de creme de leite em caixa, sendo a amostra com maior contribuição a 8CAC com aproximadamente 2% de contribuição e a de menor a amostra 3CAC com menos de 1%, além das amostras 5CAC, 6CAC e 7CAC que não apresentaram contribuição significativa.

Para K, a contribuição das amostras em caixa ficou em torno de 3 a 6 %, destacando-se a amostra 8CAC com maior contribuição para a IDR deste analito.

Com relação aos analitos Mg e Zn, as amostras em caixa apresentaram grande variação entre suas contribuições para o IDR, de forma que para Mg a amostra 7CAC teve a menor contribuição com 2,7% e a maior contribuição para a IDR do analito foi de 9,5% proveniente da amostra 5CAC, já para o analito Zn obteve a maior contribuição entre todos os analitos com 10,2% da IDR pela amostra 4CAC, porém a amostra 2CAC apresentou a menor contribuição para o analito com 1,6% de sua IDR.

A contribuição das amostras de creme de leite de origem animal em lata, em caixa sem lactose e de origem vegetal para a IDR dos analitos está exposta abaixo na Tabela 6.

Tabela 8. Contribuição da concentração bioacessível (CB) de creme de leite de origem animal em lata, em caixa sem lactose e de origem vegetal em % para a IDR dos analitos, considerando uma porção diária de 200 g.

| Analito | IDR mg/dia | Creme de Leite | | | | | |
|---------|---------------|----------------|------|--------|-------|--------|------|
| | | 1LAC | | 3CAS | | 3CVS | |
| | | CB | % | CB | % | CB | % |
| Al | 8,58 | - | - | - | - | - | - |
| Cu | 0,9 | - | - | - | - | - | - |
| Fe | 14 | 0,311 | 2,22 | 0,231 | 1,65 | 0,672 | 4,80 |
| K | 4700 | 203,52 | 4,33 | 151,56 | 3,22 | 10,05 | 0,21 |
| Mg | 260 | 14,84 | 5,71 | 11,139 | 4,28 | 4,85 | 1,87 |
| Mn | 2,3 | - | - | - | - | - | - |
| Zn | 7 | 0,6198 | 8,85 | 0,2826 | 4,04 | 0,234 | 3,34 |
| | | 3LAC | | 5CAS | | 9CVS | |
| Al | 8,58 | - | - | 0,7878 | 9,18 | - | - |
| Cu | 0,9 | - | - | - | - | - | - |
| Fe | 14 | 0,2788 | 1,99 | 0,3658 | 2,61 | 0,686 | 4,91 |
| K | 4700 | 182,20 | 3,88 | 272,99 | 5,81 | - | - |
| Mg | 260 | 3,056 | 1,18 | 19,577 | 7,53 | 4,868 | 1,87 |
| Mn | 2,3 | - | - | - | - | - | - |
| Zn | 7 | 0,6864 | 9,81 | 0,83 | 11,96 | 0,2342 | 3,35 |

Para Al, a única amostra com contribuição significativa é a amostra 5CAS, com 9,2% de contribuição para a IDR.

As amostras de creme de leite em lata apresentaram contribuições semelhantes por volta de 2% de IDR para o analito, igualando a maior concentração do analito em amostras em caixa, as amostras sem lactose também apresentaram valores próximos sendo para 3CAS uma contribuição de 1,7% e da amostra 5CAS 2,6%. As amostras de creme de leite de origem vegetal apresentaram os maiores valores de contribuição para a IDR com contribuições próximas a 5% de ingestão diária.

A contribuição das amostras de origem vegetal para o analito K ficou abaixo de 1%, entretanto as amostras em lata e em caixa sem lactose, apresentaram contribuições semelhantes às encontradas para as amostras em caixa, contribuindo entre 3,2 a 5,8 % da IDR para o analito.

Com relação ao analito Mg as amostras de creme de leite em lata e em caixa sem lactose, apresentaram variação significativa entre as amostras, sendo observada a tendencia de se obter uma contribuição maior do analito em creme de leite em caixa sem lactose, onde as amostras obtiveram contribuição de 4,3 e 7,5%. Já as amostras de origem vegetal se mostraram mais constantes apresentando valores de contribuição próximos a 2%.

Os valores de contribuição para o analito Zn em amostras creme de leite de origem vegetal apresentaram contribuição de cerca de 3,3% comparável as contribuições para a ingestão diária das amostras em caixa, entretanto as amostras de creme de leite em lata exibiram a tendencia a maiores contribuições para o analito, de forma que a contribuição foi de 8,9% e 9,8% para as amostras 1LAC e 3LAC respectivamente. As amostras de creme de leite sem lactose em caixa apresentaram o mesmo comportamento das amostras em caixa com lactose, porém o valor obtido para a contribuição da amostra 5CAS foi de aproximadamente 12%, a maior contribuição para o analito.

6. Conclusão

A aplicação do método de digestão *in vitro* e do método de decomposição utilizados para o presente estudo possibilitou a quantificação e avaliação dos analitos Al, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn presentes na fração bioacessível de amostras de creme de leite em caixa e em lata de origem animal, com e sem lactose e em amostras de creme de leite de origem vegetal em caixa.

As amostras apresentaram valores abaixo do limite de detecção para determinação da concentração total dos analitos Cu e Mn, assim não sendo avaliada sua bioacessibilidade. Para o analito Al apenas as amostras 1CAC e 5CAS foram quantificadas a concentração bioacessível, as demais amostras de variedades de creme de leite apresentam baixa bioacessibilidade, pois estiveram abaixo do LQ na concentração bioacessível, mas foram quantificadas sua concentração total e não bioacessível, além de apresentarem valores abaixo do limite de detecção em sua concentração bioacessível. Os demais analitos foram avaliados e foi possível identificar tendências entre os subgrupos de amostras para alguns analitos, destacando se a baixa bioacessibilidade em amostras de creme de leite de origem animal em caixa, alta bioacessibilidade para os de origem vegetal em caixa e os de origem animal em lata para Fe. Outro exemplo é a alta bioacessibilidade apresentada para cremes de leite sem lactose de origem vegetal e animal para a maioria dos analitos.

Por fim a contribuição das amostras de creme de leite foi avaliada em relação ao IDR de cada analito, sendo destacada a contribuição de mais relevância para os analitos das amostras 8CAC, 5CAS e 4CAC, contudo a amostra que mais contribuiu para a IDR de um analito foi a 5CAS com aproximadamente 12% da ingestão diária recomendada para Zn. Ao fim do estudo pode se comprovar a contribuição que as amostras podem ter na alimentação diária de adultos, porém não contribui de forma expressiva sendo necessário a ingestão de diferentes alimentos para atingir as recomendações de ingestão dos analitos determinados.

7. Referência Bibliográficas

ABIA – Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. O setor: Relatório anual. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z2023417RelatorioAnual2023interativoFINAL.pdf>. Acesso em: janeiro, 2024.

AGILENT TECHNOLOGIES. Flexible sample introduction with the Multimode Sample Introduction System. Technical Overview, 4 p, 2016.

AGILENT TECHNOLOGIES. Microwave plasma atomic emission spectroscopy (MP-AES) - Application e Handbook, 167 p, 2016.

ALVES, M. M.; MEDINA, A. L.; PINTO, A. M. T.; ANTUNES, A. C. N.; FILHO, P. J. S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Evaluation of the concentration of Cu, Zn, Pb and Cr in different fish species from the São Gonçalo Channel in Pelotas-RS, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 29, n. 2, p. 285-296, 2018.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005: “Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais”. Disponível em: Acesso em: fevereiro, 2024.

BALARAM, V. Microwave plasma atomic emission spectrometry (MP-AES) and its applications – A critical review. *Microchemical Journal*, v. 159, n. 105483, 2020.

BONEMANN, D.H.; LUCKOW, A. C. B.; PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; CADORE, S.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in tomatoes and their derivatives by MIP OES. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 96, p. 103716, 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Creme de Leite. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. *Diário Oficial da União*, 11/03/1996, Seção 1, p. 3977-3978.

BRESSY, F. C.; BRITO, G. B.; BARBOSA, I. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of

maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchemical Journal*, v. 109, p. 145-149, 2013.

BRODKORB, A.; EGGER, L.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; ASSUNÇÃO, R.; BALLANCE, S., BOHR, T.; BOURLIEU-LACANAL, C.; BOUTROU, R., CARRIÈRE, F.; CLEMENTE, A.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EDWARDS, C.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A. R.; MARTINS, C.; MARZE, S.; McClements, D. J.; MÉNARD, O.; MINEKUS, M.; PORTMANN, R.; SANTOS, C. N.; SOUCHON, I.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIES, W.; RECIO, I. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, v. 14, n. 4, p. 991-1014, 2019.

CARDOSO, C.; AFONSO, C.; LOURENÇO, H.; COSTA, S.; NUNES, M. L. Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk-benefit evaluation of food. *Trends in Food Science & Technology*, v. 41, n. 1, p. 5- 23, 2015.

CHALYAVI, N.; DOIDGE, P. S.; MORRISON, R. J. S.; PARTRIDGE, G. B. Fundamental studies of an atmospheric-pressure microwave plasma sustained in nitrogen for atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 32, p. 1988-2002, 2017.

DINIZ, L. M. N.; CARRASCO, T. S.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M. Use of MIP OES and F AAS/AES for determination of Ca, L, Na and Mg in brazilian cream cheese. *Química Nova*, v. 40, p. 711-718, 2017.

DO NASCIMENTO DA SILVA, E.; FARIAS, L. O.; CADORE, S. The total concentration and bioaccessible fraction of nutrients in purées, instant cereals and infant formulas by ICP OES: a study of Dietary Recommended Intakes and the importance of using a standardized in vitro digestion method. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 68, p. 65-72, 2018

Early, R. Liquid milk and cream. *The Technology of Dairy Products*. 2^a ed., p. 1–49, Blackie Academic and Professional, Melbourne, 1998.

FERREIRA, S. L. C.; SILVA, L. O. B.; SANTANA, F. A.; S. JUNIOR, M. M.; MATOS, G. D.; SANTOS, W. N. L. A review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. *Microchemical Journal*, v. 106, p. 307-310, 2013.

FLAUZINO, R. D. Influência da temperatura e do teor de gordura nos parâmetros reológicos do leite condensado e creme de leite. São José do Rio Preto, 2007. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/90794/flauzino_rd_me_sjrp.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso: dezembro de 2023.

GOMES, C. G. Prospecção de Metais em Diferentes etapas do Consumo de café Comercial por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Pelotas, 2021.

GONZÁLVIZ, A.; DE LA GUARDIA, M. Comprehensive Analytical Chemistry – Chapter 3 – Mineral Profile. v. 60, p. 51-76, 2013.

IDF (1996) UHT Cream, Document No. 315, pp. 4–34, International Dairy Federation, Brussels. Juffs, H. S., Smith, S. R. J. & Moss, D. C. (1980) Keeping quality of whipping cream stored in dispensers pressurized with nitrous oxide. Australian Journal of Dairy Technology, 35, 132–136.

JANKOWSKI, K. J.; RESZKE, E. Microwave induced plasma analytical spectrometry. Royal Society of Chemistry, 2010, 264 p.

JÚNIOR, A. de F. S.; MATOS, R. A.; ANDRADE, E. M. J.; SANTOS, W. N. L.; MAGALHÃES, H. I. F.; COSTA, F. do N.; KORN, M. G. A. Multielement determination 98 of macro and micro contents in medicinal plants and phytomedicines from Brazil by ICP OES. Journal of the Brazilian Chemical Society, v 28, n. 2, p. 376-384, 2017.

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

KRUG, F. J. ROCHA, F. R. P.; Métodos de preparo de amostras para análise elementar. 2ª ed. SBQ, p. 185-202, 2019.

KRUG, F. J.; Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª d. Piracicaba, p.340, 2010.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar. 1ª ed., SBQ, 2016, 572 p.

LEÃO, P. R. P.; MEDINA, A. L.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Decomposição de amostras de cerveja com sistema de refluxo para determinação monoelementar por FAAS/AES e determinação multielementar por MIP OES. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 21, p. 01-11, 2018.

LIGHTOWLER, H. and DAVIES, J. (1998), "The vegan dairy", *Nutrition & Food Science*, Vol. 98 No. 3, pp. 153-157.

LOUZADA, A. R. R.; OLIZ, L. O.; GOMES, C. G.; BONEMANN, D.; SCHERDIEN, S. H.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Assessment of total concentration and bioaccessible fraction of minerals in peaches from different cultivars by MIP OES. *Food Chemistry*, v. 391, p. 1-10, 2022.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIE, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MARCIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIES, W.; BRODKORB, A.; A standardized static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Function*, v. 5, p. 1113-1124, 2014.

MITRA, S. *Sample preparation techniques in analytical chemistry*. John Wiley & Sons, New Jersey, 2003, 472 p

MONTASER, A; GOLIGHTLY, DW. "Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry", 2 nd ed, VHC Publishers, New York, 1992.

MÜLLER, A.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L. Advances of nitrogen microwave plasma for optical emission spectrometry and applications in elemental analysis: a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 35, p. 2113-2131, 2020.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, p. 174-182, 2003.

OLIVEIRA, R. M.; ANTUNES, A. C. N.; VIEIRA, M.A.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GF AAS. *Microchemical Journal*, v. 124, p. 402- 409, 2016.

ORESTE, E. Q.; OLIVEIRA, R. M.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. *Microchemical Journal*, v. 109, p. 5-9, 2013.

ORESTE, E. Q.; SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; LISBOA M. T. L.; CIDADE, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of Ca, Cu, Fe, K, and Na in milk powder samples by ICP-OES. *Food Analytical Methods*, n. 9, p. 777-784, 2016.

PEIXOTO, R. R. A.; DEVESA, V.; VÉLEZ, D.; CERVERA, M. L.; CADORE, S. Study of the factors influencing the bioaccessibility of 10 elements from chocolate drink powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 48, p. 41-47, 2016.

PEREIRA, C. C., VITOLA, H. R. S., de SOUZA, A. O., MEDINA, A. L., GULARTE, M. A., & RIBEIRO, A. S.; Decomposition method in semi-closed system with cold finger for evaluation of Ca, K, Na, Mg, Zn and Fe in colostrum silage by F AAS and F AES. *Microchemical Journal*, v. 129, p. 293-296, 2016.

SANTIAGO, Maria Vitória Gonçalves. Aplicação de resíduos lácteos vencidos na obtenção de biogás em reatores anaeróbios em batelada. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

SIQUEIRA, B. kenny. O Mercado Consumidor de Leite e Derivados, Circulação Técnica, Embrapa, 2019. 17 p. il. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 120). Acesso em: janeiro, 2024

SOUSA, Rafael Arromba de. Determinação por ICP OES de espécies metálicas em adoçantes dietéticos. 2007. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS.

SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; HELING, A. I.; ORESTE, E. Q.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in infant cereals by MIP OES. *Journal of Food Composition and Analysis*, n. 77, p. 60-65, 2019.

SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; JADO, B. M.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; NUNES, A. M. Determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS. *Química Nova*, v. 38, p. 209- 213, 2015.

SOUZA, L. A.; SOUZA, T. L.; SANTANA, F. B.; ARAUJO, R. G. O.; TEIXEIRA, L. S. G.; SANTOS, D. C. M. B.; KORN, M. G. A. Determination and in vitro bioaccessibility evaluation of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P and Zn in linseed and sesame. *Microchemical Journal*, v. 137, p. 8-14, 2018.

SMIDDY, M.A.; KELLY, A.L.; HUPPERTZ, T. Cream and related products, IN: Dairy fats and related products, Tamime, A.Y.(Ed.). John Wiley and Sons, 2009. Cap. 4

THAKUR, N.; RAIGOND, P.; SINGH, Y.; MISHRA, T.; SINGH, B.; LAL, M. K.; DUTT, S. Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends in Food Science & Technology*, v. 97, p. 366-380, 2020.

Tuzzi, A. B., de Lara, J. S., Ferreira, J. V. T., Martini, K. J., & Granosik, T. C. . Modernização do consumo de leite e derivados: Uma revisão da literatura científica. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto Federal de Santa Catarina, Brasil 2019.

ZACARCHENCO, P. B.; SPADOTI, L. M.; SILVA, A. T.; FERNA, A. G. Creme de leite: aspectos de mercado, tecnológicos e legais. Disponível em: <https://cienciadoleite.com.br/noticia/246/creme-de-leite-aspectos-de-mercado-tecnologicos-e-legais>. Acesso: dezembro de 2024.

