



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA

LAÍS ARAÚJO SOUZA

Determinação e avaliação da bioacessibilidade de minerais em amostras de linhaça e gergelim por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

Salvador

2015

LAÍS ARAÚJO SOUZA

Determinação e avaliação da bioacessibilidade de minerais em amostras de linhaça e gergelim por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Andrade Korn

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniele Cristina M. B. Santos

Salvador

2015

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Souza, Laís Araújo .

Determinação e avaliação da bioacessibilidade de minerais em amostras de linhaça e gergelim por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado / Laís Araújo Souza. - 2015.

84 f. : il.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Maria das Graças Andrade Korn.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a. Daniele Cristina M. B. Santos

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2015.

1. Linhaça. 2. Gergelim. 3. Nutrição - Avaliação. 4. Alimentos - Teor mineral.
5. Análise espectral I. Korn, Maria das Graças Andrade. II. Santos, Daniele Cristina M. B. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDD – 613.2
CDU - 543.42:543.63

A cada dia que vivo mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca e que, esquivando-nos do sofrimento, perdemos também a felicidade.

(Caio Fernando Abreu)

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq e a FAPESB pelos investimentos nos projetos de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA pela oportunidade e aos funcionários do PPGQUIM pela disponibilidade e atenção.

A professora Maria das Graças pela oportunidade e por ter confiado em mim.

A professora Daniele Muniz, em especial, pela disposição e valiosas contribuições no trabalho desenvolvido.

A professora Wagna Piler e ao professor Rennan Araújo pelos auxílios prestados durante a realização deste trabalho.

Aos professores da UNEB e da UFBA pela contribuição na minha formação.

Ao professor Madson Pereira pelo estímulo proporcionado na iniciação científica.

Aos colegas de laboratório do GPQA pelo acolhimento e colaboração.

Aos colegas do GRPQQ por toda ajuda.

Agradeço a Deus pelo dom da vida.

A minha mãe, Maria Noélia, pelos ensinamentos e confiança.

Ao meu pai, Dilton Sérgio, pela dedicação e incentivo.

Ao meu irmão, Bruno, confidente, pelo apoio.

Aos meus avós, Neuza, Antônio, Cardoso e Badinha (*in memoriam*), pela torcida.

A toda a minha família.

A Rodolfo pelo amor e companheirismo.

Ao meu grande amigo, Daniel Levi, pela sua sincera amizade.

Aos amigos e colegas da UNEB, sempre atenciosos.

RESUMO

A linhaça (*Linum usitatissimum L.*) e o gergelim (*Sesamum indicum L.*) são alimentos funcionais amplamente consumidos pela população e prescritos por nutricionistas devido às quantidades recomendadas desses elementos ingeridos nas dietas que deve suprir alguma necessidade do indivíduo. O objetivo deste trabalho foi propor estratégias analíticas para determinação de micronutrientes em amostras de linhaça e gergelim, empregando diferentes procedimentos de preparo de amostras e determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). As amostras linhaça (marrom e dourada) e gergelim (branco, cru e preto) foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Salvador, BA e Rio de Janeiro, RJ e os elementos determinados foram Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn. As condições otimizadas para o procedimento proposto, empregando aquecimento condutivo em bloco digestor, foram: cerca de 500 mg de amostra, 5,0 mL de HNO₃ destilado, 1,0 mL de H₂SO₄, 3,0 mL de H₂O₂, temperatura máxima de 250°C e tempo total de 2h. A eficiência do procedimento de decomposição das amostras foi avaliada a partir dos baixos teores de carbono residual (< 2% m m⁻¹) e acidez residual (1,11 mol L⁻¹). A exatidão do método foi verificada com material de referência certificado de farinha de soja (NIST 3234), apresentando percentuais de recuperação dos elementos de 89 a 113%. O método proposto apresentou boa precisão (RSD < 10%) e baixos limites de detecção (0,0001 a 0,22 mg L⁻¹). As faixas de concentração, em µg g⁻¹, para os analitos nas amostras de linhaça foram: Ca (1533 - 3163), Cu (10,6 - 21,6), Fe (36,5 - 86,8), K (6636 - 10238), Mg (2093 - 3024), Mn (18,5 - 49,4), P (6102 - 11771) e Zn (19,8 - 59,8) e nas amostras de gergelim foram: Ca (570 - 9501), Cu (13,3 - 19,4), Fe (41,3 - 114,8), K (4570 - 6209), Mg (2287 - 3145), Mn (9,0 - 28,6), P (4767 - 11364) e Zn (46,0 - 88,3). Ferramentas estatísticas como a análise de componente principal (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram aplicadas e foi observada uma tendência de similaridade entre as amostras com uma pequena dispersão entre as variedades estudadas. Os teores dos micronutrientes para a maioria das amostras estão concordes com os valores da Tabela de Composição de Alimentos (TACO). Para avaliar a bioacessibilidade foram realizados procedimentos de extração utilizando o método *in vitro* SBET (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*). As faixas de bioacessibilidade, em %, para os analitos nas amostras de linhaça foram: Ca (50 - 123), Cu (34 - 78), Fe (21 - 64), K (40 - 83), Mg (66 - 118), Mn (24 - 94), P (31 - 83) e Zn (46 - 116) e para as amostras de gergelim foram: Ca (36 - 115), Cu (20 - 108), Fe (16 - 87), K (63 - 119), Mg (64 - 126), Mn (32 - 105), P (24 - 73) e Zn (47 - 108). Os resultados obtidos neste trabalho trazem informações inéditas sobre a composição em termos de micronutrientes e bioacessibilidade para as amostras de linhaça e gergelim, contribuindo, assim, para a tabela de composição mineral dos alimentos.

Palavras-chave: linhaça, gergelim, aquecimento condutivo, bioacessibilidade, ICP OES

ABSTRACT

Linseed (*Linum usitatissimum L.*) and sesame (*Sesamum indicum L.*) are functional foods widely consumed by humans and prescribed by nutritionists. Also, those elements are important because they are required to maintain human body homeostasis. This study aiming to development of analytical strategies to quantifying micronutrients in flaxseed and sesame samples applying different sample preparation procedures and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) for the measurements. The linseed samples (brown and gold) and sesame (white, raw and black) were purchased in commercial establishments in Salvador (Bahia) and Rio de Janeiro (Rio de Janeiro) cities. Moreover, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P and Zn were determined. The optimized conditions for the proposed procedure, employing conductive heating by digester block, were: samples mass of 500 mg, 5.0 mL of distilled HNO₃, 1.0 mL of H₂SO₄, 3.0 mL of H₂O₂ and maximum heating temperature equal to 250 °C during 2 hours. The decomposition procedure efficiency of that sample was evaluated from residual low carbon content (< 2% m m⁻¹) and residual acidity (1.11 mol L⁻¹). The method accuracy was verified with soy flour certified reference material (NIST 3234) showing recovery percents of elements from 89 to 113%. The proposed method showed good precision (RSD <10%) and low detection limits (from 0.0001 to 0.22 mg L⁻¹). The concentration ranges in µg g⁻¹ for the analytes in linseed and sesame samples were: Ca (1533 to 3163), Cu (10.6 to 21.6), Fe (36.5 to 86.8), K (6636 to 10238), Mg (2093 to 3024), Mn (18.5 to 49.4), P (6102 to 11771) and Zn (19.8 to 59.8); and Ca (570 to 9501), Cu (13.3 to 19.4), Fe (41.3 to 114.8), K (4570 to 6209), Mg (2287 to 3145), Mn (9.0 to 28.6), P (4767 to 11364) and Zn (46.0 to 88.3), respectively. Statistical methods such as Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA) were applied and was observed a similarity tendency between samples with a small dispersion among the studied varieties. The micronutrients content in samples was in agreement with those shown in TACO (Brazilian food composition table). To evaluate the bioaccessibility extraction procedures were performed using the in vitro method SBET (Simple Bioaccessibility Extraction Test). The analytes bioaccessibility ranges (%) in linseed and sesame samples were: Ca (50 to 123), Cu (34 to 78) Fe (21 to 64) K (40 to 83), Mg (66 to 118), Mn (24 to 94), P (31 to 83), Zn (46 to 116); and Ca (36 to 115), Cu (20 to 108), Fe (16 to 87), K (63 to 119), Mg (64 to 126), Mn (32 to 105), P (24 to 73), Zn (47 to 108), respectively. Finally, these results obtained in this work bring new information about the composition in terms of micronutrients and bioaccessibility for linseed and sesame samples, therefore contributing to feed mineral composition tables.

Keywords: linseed, sesame, conductive heating, bioaccessibility, ICP OES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Grãos de linhaça dourada e marrom.	15
Figura 2.	Três variedades de gergelim: cru, preto e branco.	18
Figura 3.	Aspecto visual dos digeridos obtidos para os procedimentos BD1 e BD2 no bloco digestor nas amostras de linhaça e gergelim, respectivamente.	35
Figura 4.	Valores médios (n=3) de RCC obtidos nos procedimentos de decomposição de linhaça em bloco digestor.	36
Figura 5.	Valores médios (n=3) de RCC obtidos nos procedimentos de decomposição de gergelim em bloco digestor.	37
Figura 6.	Gráfico de <i>Scores</i> PC1 x PC2 para as amostras de linhaça analisadas.	52
Figura 7.	Dendograma obtido para amostras de linhaça submetidas à HCA.	53
Figura 8.	Gráfico de <i>Scores</i> PC1 x PC2 x PC3 em três dimensões para as amostras de gergelim analisadas.	55
Figura 9.	Dendograma obtido para as amostras de gergelim submetidas à HCA.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição química da linhaça.	15
Tabela 2.	Métodos de extração <i>in vitro</i> para determinação da bioacessibilidade.	24
Tabela 3.	Identificação e estados de origem das amostras de linhaça.	29
Tabela 4.	Identificação e estados de origem das amostras de gergelim.	30
Tabela 5.	Parâmetros instrumentais para as determinações por ICP OES.	32
Tabela 6.	Procedimentos de decomposição avaliados no bloco digestor.	34
Tabela 7.	Limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para a determinação dos analitos por ICP OES, após decomposição em bloco digestor.	39
Tabela 8.	Curvas analíticas para as amostras de linhaça e gergelim por ICP OES.	40
Tabela 9.	Resultados do teste de repetitividade nas amostras de linhaça marrom para determinações por ICP OES (n=10).	41
Tabela 10.	Resultados do teste de repetitividade nas amostras de gergelim cru para determinações por ICP OES (n=10).	41
Tabela 11.	Determinação da composição do material de referência certificado NIST CRM 3234 por ICP OES após decomposição em bloco digestor (média \pm IC, n=3).	42
Tabela 12.	Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras de linhaça decompostas em bloco digestor (média \pm desvio padrão, n=3).	47
Tabela 13.	Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras de gergelim decompostas em bloco digestor (média \pm desvio padrão, n=3).	48
Tabela 14.	IDR de nutrientes e contribuição das amostras de linhaça.	49
Tabela 15.	IDR de nutrientes e contribuição das amostras de gergelim.	50
Tabela 16.	Pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais nas amostras de linhaça.	51
Tabela 17.	Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais nas amostras de gergelim.	54
Tabela 18.	Limite de detecção e quantificação para a determinação dos analitos por ICP OES após extração pelo método <i>in vitro</i> SBET.	57

Tabela 19.	Curvas analíticas de calibração para determinação dos analitos nas amostras de linhaça por ICP OES, após extração pelo método <i>in vitro</i> SBET.	58
Tabela 20.	Resultados do teste de repetitividade nas amostras de linhaça marrom no tempo de moagem de 10 segundos para determinações por ICP OES (n=10).	59
Tabela 21.	Resultados do teste de repetitividade nas amostras de gergelim cru no tempo de moagem de 10 segundos para determinações por ICP OES (n=10).	59
Tabela 22.	Bioacessibilidade, em %, para as amostras de linhaça em diferentes tempos de moagem e farinha.	64
Tabela 23.	Bioacessibilidade, em %, para as amostras de gergelim em diferentes tempos de moagem e farinha.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	American Association of Official Analytical Chemists
CCD	Dispositivo de carga acoplada do inglês: “ <i>Charge-coupled device</i> ”
CRM	Material de Referência Certificado do inglês: “ <i>Certified reference material</i> ”
CV	Coeficiente de Variância
FMIC	Combustão iniciada por micro-ondas com radiação focalizada do inglês: “ <i>Focused microwave induced combustion</i> ”
FOSHU	Foods for Specified Health Use
HCA	Análise de agrupamento hierárquico do inglês: “ <i>Hierarchical cluster analysis</i> ”
HPLC-DAD-ESI/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de arranjo de fotodiodos e espectrometria de massas do inglês: “High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Photodiode Array Detector and Mass Spectrometer”
IC	Intervalo de confiança
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado do inglês: “ <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> ”
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado do inglês: “Inductively coupled plasma optical emission spectrometry”
IDR	Ingestão Diária Recomendada
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
LMT	Limite Máximo de Tolerância
LOD	Limite de detecção do inglês: “ <i>Limit of detection</i> ”
LOQ	Limite de quantificação do inglês “ <i>Limit of quantification</i> ”
PBET	<i>Physiological Based Extraction Test</i>
RCC	Teor de carbono residual do inglês “ <i>Residual carbon content</i> ”
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SBET	<i>Simple Bioaccessibility Extraction Test</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

SUMÁRIO

1.	Introdução	13
1.1	Alimentos funcionais	13
1.2	Linhaça	14
1.3	Gergelim	17
1.4	Procedimentos para preparo de amostra	19
1.5	Bioacessibilidade	21
1.6	Técnicas espectroanalíticas	24
1.7	Ferramentas estatísticas aplicadas à química	25
2.	Objetivos	27
2.1	Objetivo geral	27
2.2	Objetivos específicos	27
3.	Experimental	28
3.1	Reagente e soluções	28
3.2	Amostras e material de referência certificado	28
3.3	Instrumentação e materiais	30
3.3.1	Trituração das amostras utilizando moinho analítico	30
3.3.2	Decomposição das amostras em sistemas com aquecimento condutivo em bloco digestor	30
3.3.3	Extração das amostras utilizando método <i>in vitro</i> SBET (Simple Bioaccessibility Extraction Test)	31
3.3.4	Determinação do analitos	31
3.4	Procedimentos experimentais	33
3.4.1	Decomposição das amostras em bloco digestor	33
3.4.2	Extração das amostras utilizando método <i>in vitro</i> SBET (Simple Bioaccessibility Extraction Test)	33

3.4.3	Otimização do procedimento de preparo de amostra de linhaça e gergelim em bloco digestor	33
3.4.4	Determinação da acidez e carbono residual dos digeridos	
4.	Apresentação e discussão dos resultados	35
4.1	Avaliação do procedimento de decomposição em bloco digestor	35
4.1.1	Otimização do procedimento para decomposição das amostras	35
4.1.2	Validação do procedimento proposto	38
4.1.2.1	Limites de detecção e de quantificação	38
4.1.2.2	Linearidade e faixa dinâmica linear	39
4.1.2.3	Precisão	40
4.1.2.4	Exatidão	42
4.1.3	Aplicação do método proposto nas amostras de gergelim e linhaça	43
4.1.4	Aplicação de ferramentas estatísticas para avaliação dos micronutrientes nas amostras de linhaça e gergelim	51
4.2	Avaliação da bioacessibilidade utilizando método <i>in vitro</i> SBET	57
4.2.2	Validação do procedimento de extração	57
4.2.2.1	Limites de detecção e de quantificação	57
4.2.2.2	Linearidade e faixa dinâmica linear	58
4.2.2.3	Precisão	58
4.2.3	Aplicação do procedimento de extração utilizando método <i>in vitro</i> SBET nas amostras de linhaça e gergelim	60
5.	Considerações finais	68
6.	Referências	70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Linhaça

A linhaça, semente da planta do linho, de nome científico *Linum usitatissimum* L., é uma planta pertencente à família *Linaceae*, de cultura antiga que tem sido utilizada em alimentos para consumo humano e animal, fibras e tecidos (NOVELLO *et al.*, 2012).

O linho é uma planta originária do Oeste asiático e do mediterrâneo, sendo cultivada principalmente no Canadá, Argentina, Estados Unidos, Rússia e Ucrânia (NOGUEIRA, 2010). Dentre os produtores mundiais, o Canadá representa 40% da produção mundial de linhaça, no qual é considerado o maior produtor (ALVARENGA, 2012). No Brasil, os grãos de linhaça são cultivados no estado do Rio Grande do Sul, nos seguintes locais, São Miguel das Missões, Santa Rosa, Três de Maio, Santa Bárbara, dentre outros (MARQUES, 2008).

A semente linhaça é uma planta herbácea que pode ser caracterizada por apresentar uma altura que varia de 30 a 130 cm e o linho possui talos eretos, folhas estreitas e flores de coloração azul (MARQUES, 2008; ZURAVSKI, 2013). Esta semente é considerada um alimento funcional pelos seus diversos benefícios à saúde humana, comprovados cientificamente (NOVELLO *et al.*, 2012; RIBEIRO, 2012). A linhaça é geralmente encontrada em duas variedades, podendo ser marrom ou dourada, mas não diferem muito em relação a sua composição química, pois ambas são ricas em lipídios, proteínas e fibras alimentares (NOVELLO *et al.*, 2012). As faixas da composição química da linhaça são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química da linhaça.

Composição	Faixa (%)
Umidade	4 – 8
Proteínas	20 – 25
Lipídios	30 – 40
Fibra alimentar	20 – 28
Conteúdo mineral	3 – 4

Alvarenga (2012), Nogueira (2010), Ribeiro (2012) e Zuravisk (2013).

A variedade de linhaça marrom é cultivada em regiões de clima quente e úmido, como no Brasil, e são utilizados agrotóxicos no seu plantio, enquanto que na variedade dourada são cultivadas em regiões frias, como no Norte dos Estados Unidos e Canadá. No cultivo da linhaça dourada não são utilizados agrotóxicos, por isso, podem ser consideradas orgânicas (NOGUEIRA, 2010; NOVELLO *et al.*, 2012; ALVARENGA, 2012; ZURAVISK, 2013). A figura 1 apresenta a imagem dos grãos de linhaça dourada e marrom.

Figura 1. Grãos de linhaça dourada e marrom.



Fonte: http://www.atletesplus.com/materia_saude.php?id=32

Os grãos de linhaça dourada e marrom podem ser encontrados em supermercados na forma de semente ou farinha, podendo ser consumidos em uma pequena porção diária de aproximadamente 15g (equivalente a uma colher de sopa), juntamente com outros alimentos, como pães, bolos e biscoitos (RIBEIRO, 2012). Essa porção, devidamente avaliada pelos pesquisadores, é suficiente para obtenção dos benefícios proporcionados pelos constituintes da linhaça (COUTO, 2011).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos envolvendo a semente ou óleo de linhaça, visando à determinação de ácido linolênico, lignanas e fibras, essas combinações funcionais estão relacionadas com o seu potencial benéfico à saúde, sendo considerado, portanto, uma importante fonte de estudos (MACIEL, 2006). Outros trabalhos, como o de Cupersmid *et al.* (2012), avaliaram a composição da linhaça (umidade, energia, lipídios, proteínas, carboidratos e fibra alimentar), além da quantidade de ácidos graxos presentes na semente de linhaça (ômega-3, ômega-6, monoinsaturados e saturados). Nestes trabalhos, conclui-se que o consumo de linhaça pela população é de extrema importância para redução do risco, principalmente de doenças cardiovasculares.

No Brasil, Barroso *et al.* (2014), determinaram nas sementes de linhaça marrom e dourada a composição centesimal, capacidade antioxidante total e compostos fenólicos totais, e nos óleos de linhaça foram determinados índice de acidez e peróxido, matéria insaponificável, composição em ácidos graxos, tocoferóis, capacidade antioxidante total, compostos fenólicos totais e estabilidade oxidativa. Os autores constataram nas determinações realizadas que não houve diferença significativa quando comparado os resultados da semente de linhaça marrom e dourada. Esses resultados são concordantes com os apresentados por Marques (2008), no qual foram realizados testes *in vivo* com ratos *wistar* machos.

De modo geral, notou-se que há poucas informações técnicas a respeito da linhaça (COSMO *et al.*, 2014). Observou-se que ainda faltam informações na literatura quando se trata da determinação de micronutrientes nesse tipo de matriz. A importância da determinação de micronutrientes nesse alimento é devido à quantidade recomendada desses elementos em dietas prescritas por nutricionistas com o objetivo de suprir algum déficit do organismo (CORINO *et al.*, 2014).

Na base literária foram encontrados três trabalhos que analisaram as amostras de linhaça, visando à determinação de metais. Estes trabalhos foram realizados na Turquia por Tokalioglu (2012), na Índia por Katare *et al.* (2012) e na Venezuela por Cuevas e Sangronis (2012). Tokalioglu (2012) empregou forno de micro-ondas para o preparo das amostras e como técnica de determinação a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). O autor avaliou 30 ervas medicinais, dentre elas a semente de linhaça, visando a determinação de Cr, Mn,

Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb, para posterior comparação dos resultados obtidos entre as ervas amplamente consumidas nessa região. A sequência de diminuição dos níveis médios de metal em ervas medicinais foi: Fe > Sr > Mn > Zn > Rb > Cu > Ni > Cr > Co > Pb. Katare *et al.* (2012) determinou proteína, carboidrato, fibra, celulose, lignana, fenólicos, vitaminas e minerais tais como Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na e Zn em amostras de linhaça. As maiores concentrações dos teores dos minerais em mg/100gm foram encontradas para Ca (236), P (622) e K (831) e as menores concentrações em mg/100gm foram observadas para Cu (1), Fe (5), Mn (3) e Zn (4). Cuervas e Sangronis (2012) avaliaram a qualidade microbiológica, composição química e as propriedades antioxidantes da semente de linhaça marrom e dourada cultivada na Venezuela e comparou-se com uma variedade canadense. A determinação dos minerais foi realizada por ICP OES, destacando com altas concentrações Ca, Mg e K em ambas sementes com diferenças significativas no conteúdo de Fe, P, Zn, Cu e Mn.

1.2 Gergelim

O gergelim, semente de sésamo, de nome científico *Sesam umindicum L.*, é uma importante oleaginosa, pertencente à família *Pedaliaceae*. Esta espécie é a nona oleaginosa mais cultivada no mundo e uma das mais antigas utilizadas pela humanidade (COSTA *et al.*, 2007).

A semente de gergelim tem seu local de origem incerto, podendo ser situado entre a Ásia (Afeganistão, Índia, Irã e China) e África (Etiópia, Centro Básico) com aproximadamente 90% da área plantada (MAGALHÃES *et al.*, 2010). No Brasil, os grãos de gergelim são cultivados principalmente no Nordeste do país, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Bahia, e no Centro-Sul, no estado de São Paulo (CORSO, 2008).

A semente de sésamo tem um tamanho diminuto de 2 a 4 mm de comprimento e até 2 mm de largura, possui uma forma achatada e sua coloração varia do branco ao preto (QUEIROGA *et al.*, 2012).

O gergelim, assim como a linhaça, também é considerado um alimento funcional, devido a sua capacidade de atuar no metabolismo e na fisiologia humana,

proporcionando algum benefício à saúde (CORSO, 2008). O gergelim é comumente comercializado na forma de semente ou farinha, podendo ser consumido em três variedades: branco, cru e preto. Esses três tipos de gergelim são representados na Figura 2.

Figura 2. Três variedades de gergelim: cru, preto e branco.



Fonte: <http://belezaesaude.com/gergelim/>

O sésamo é composto de 55% de lipídios e 20% de proteínas, além de fornecer uma boa fonte de óleo comestível, chegando a representar 44 a 58% da semente (CORSO, 2008). A semente serve como um alimento nutritivo para os seres humanos e é amplamente utilizado na panificação e confeitaria. Algumas características nutracêuticas desta semente são a capacidade antioxidante, os efeitos hepatoprotetores e também tem sido associadas com a prevenção de hipertensão (LIU *et al.*, 2011).

Muitos trabalhos utilizando a semente de gergelim podem ser encontrados na literatura, sendo a maioria deles visando a determinação de lignana, proteína, óleo e propriedades antioxidantes (MOHDALY *et al.*, 2011). Dentre os trabalhos tem-se o de Kim *et al.* (2014), realizado na República da Coreia, no qual foi feita uma comparação e avaliação da composição dos constituintes (lignana, proteína e óleo) presentes nas sementes de gergelim branca e preta, bem como os efeitos antioxidantes e extração da lignana, utilizando a técnica espectroscópica RMN (Ressonância Magnética Nuclear) e HPLC-DAD-ESI/MS (Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de arranjo de fotodiodos e espectrometria de

massas). Observou-se que o teor total de lignana na semente de gergelim branca foi duas vezes maior do que na de gergelim preta. Também foram encontrados maiores valores para o gergelim branco em relação ao preto, quando comparados os efeitos antioxidantes.

Com base na investigação feita na literatura, notou-se que, de forma similar a linhaça, ainda há uma escassez de dados quanto à determinação de micronutrientes em sementes de gergelim. Somente um trabalho foi encontrado, realizado por Queiroga *et al.* (2012), na cidade de Campina Grande, PB. Os autores fizeram a avaliação da qualidade das sementes de gergelim submetidas a diferentes processos de despliculação manual, físico e mecânico, comparando com a semente com casca. Determinou-se a composição química: teor de água, óleo, proteína e cinzas, bem como a composição mineral: P, K, Ca e S. Houve diferença significativa entre os três métodos de despliculação e houve superioridade nos valores de P e K quando passado pelo processo de despliculação e comparado com a semente com casca.

1.3 Linhaça e gergelim como alimentos funcionais

Nos últimos anos, tem se observado o aumento do interesse dos consumidores na relação dieta e saúde pelo aumento da demanda por alimentos funcionais. O conceito de alimentos funcionais surgiu, inicialmente, no Japão em meados da década de 80. Estes se referem aos alimentos processados compostos de ingredientes que auxiliam nas funções específicas do corpo, ou seja, são “Alimentos para o uso específico de saúde”, termo introduzido em 1991 pelo Ministério da Saúde e do Bem-estar Social do Japão como “*Foods for Specified Health Use*” (FOSHU). FOSHU é definido como os alimentos funcionais que apresentam algum efeito benéfico específico à saúde humana devido a sua composição química (MORAES e COLLA, 2006; COUTO, 2011) e, que se assemelham com alimentos tradicionais, mas possuem algum benefício fisiológico comprovado (SHAHID, 2009).

De acordo com a definição, o alimento funcional é uma parte da dieta humana que proporciona benefícios à saúde, como a redução do risco de doenças crônicas, a melhoria da saúde do coração, aumento do sistema imune, a redução dos sintomas da menopausa, melhoria da saúde gastrointestinal, preservação da saúde do

trato urinário, influências anti-inflamatórias, diminuição da pressão arterial, proteção da visão, antibacteriana e antiviral e o declínio da osteoporose, além das suas funções nutricionais básicas. Estes alimentos não são medicamentos, como comprimidos ou cápsulas, mas são consumidos como parte de uma dieta diária normal (GRAJEK, OLEJNIK e SIP, 2005).

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (1999), a definição de alegação de propriedade funcional está relacionada com o papel metabólico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e nas demais funções do corpo humano. Bem como, a alegação de propriedade de saúde que afirma a existência de relação entre o alimento com as condições relacionadas à saúde.

Segundo o SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas), o consumo de alimentos funcionais tem crescido nos últimos anos. De acordo com uma avaliação da agência de pesquisa Euromonitor, o mercado de nutrientes e bebidas ligadas à saúde e ao bem-estar cresceu 82% entre 2004 e 2009, no Brasil. Conseqüentemente, os produtores brasileiros estão investindo cada vez mais nesses alimentos que estão virando tendência. Segundo o Euromonitor, o mercado de alimentação saudável deve superar os R\$40 bilhões neste ano (BRASIL, 2014).

De acordo com informações divulgadas pelo SEBRAE (BRASIL, 2014), houve um aumento no cultivo de crucíferas como brócolis, couve-flor, alho e cebola. Dentre os frutos, destaca-se o açaí, que segundo estudos tem alta atividade oxidante. Além desses produtos, outros alimentos que até pouco tempo eram desconhecidos, tem ganhado espaço na mesa dos brasileiros e nas lavouras. É o caso da linhaça (*Linum usitatissimum L.*) e do gergelim (*Sesamum indicum L.*).

1.4 Procedimentos para preparo de amostra

A determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em amostras de alimentos tornou-se uma prática constante nos laboratórios de Química Analítica, devido à capacidade nutricional destes elementos, que são ingeridos diariamente pela população para suprir necessidades fisiológicas dos indivíduos. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos analíticos e técnicas analíticas empregadas,

bem como o procedimento de preparo da amostra para determinação dos micronutrientes devem estar de acordo com as exigências atuais da química, tais como: a capacidade de obter resultados confiáveis, mínimo consumo de reagentes e uma menor geração de resíduos (KRUG, 2010; SANTOS, 2012).

Geralmente, as técnicas analíticas utilizadas para determinação dos elementos requerem a introdução da amostra na forma líquida. Para tanto, deve-se utilizar procedimentos analíticos de preparo de amostra que submeta a amostra à decomposição total ou parcial da matéria orgânica, no intuito de deixar o analito disponível para determinação. Dois tipos de procedimentos são comumente empregados para decomposição, podendo ser por via seca ou por via úmida. Os procedimentos por via úmida apresentam como principal vantagem em relação aos procedimentos por via seca, o emprego de menores temperaturas, diminuindo, assim, os riscos de perdas por volatilização (KRUG, 2010).

A decomposição da matéria orgânica por via úmida pode ser feita em sistemas fechados, no qual, atualmente emprega-se forno de micro-ondas com cavidade ou sistemas abertos, com aquecimento condutivo em placa de aquecimento ou bloco digestor. Neste tipo de decomposição, seja por sistema aberto ou fechado, a amostra é aquecida na presença de um ácido mineral oxidante concentrado (HNO_3 , H_2SO_4 ou HClO_4), podendo ser uma mistura de ácidos ou mistura de um ácido com peróxido de hidrogênio (agente oxidante auxiliar) (KRUG, 2010).

A decomposição por via úmida em sistemas abertos, seja utilizando chapa elétrica ou bloco digestor, tem sido bastante utilizada na digestão de amostras de alimentos com alto teor de carboidratos e/ou gorduras, como mostra nos trabalhos de Akinyele e Shokunbi (2015), Bjelková, Gencurová e Griga (2011), Dasbasiet *al.* (2015), Hajiaghababaeiet *al.* (2013), Pereira *et al.* (2009), Trevizanet *al.* (2008) e dos Santos *et al.* (2008). O ácido mais utilizado nos trabalhos apresentados foi o ácido nítrico concentrado, no entanto, o ponto de ebulição deste ácido é baixo à pressão atmosférica, em torno de 120°C . Por conta disso, é recomendada a adição de ácido sulfúrico, cujo ponto de ebulição é aproximadamente 330°C , para aumentar a temperatura do meio e possibilitar a decomposição de material gorduroso (KRUG, 2010; SANTOS, 2012).

Momen *et al.* (2006), avaliaram quatro procedimentos de digestão para determinação multielementar de elementos tóxicos e nutrientes em amostras de leguminosas utilizando como técnica de determinação a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Dentre os procedimentos estudados a mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ se mostrou mais eficiente do que a mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, visto que a presença de H_2O_2 é muito importante para a digestão de amostras de alimentos com alto teor de gordura e carboidratos.

Knorr (2011) utilizou a combustão iniciada por micro-ondas com radiação focalizada (FMIC) para decomposição de condimentos de origem vegetal para posterior determinação de metais por ICP OES. A autora avaliou quatro misturas ácidas nos procedimentos de digestão: (i) $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$, (ii) $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, (iii) HNO_3 14 mol L^{-1} e (iv) HNO_3 4 mol L^{-1} . Observou-se que os resultados obtidos para a decomposição utilizando a mistura $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, como ou sem a presença de H_2SO_4 foram maiores do que os resultados obtidos para as decomposições utilizando apenas HNO_3 (14 e 4 mol L^{-1}). Por conta disso, os resultados obtidos com o uso da mistura $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$ foram utilizados para comparação com os resultados obtidos para os demais métodos de decomposição.

1.5 Bioacessibilidade

A simples presença do nutriente nos alimentos ingeridos em dietas não garante sua total utilização pelo organismo, isto é, a concentração de um nutriente em um determinado alimento não é um indicador confiável para avaliar este alimento sob os aspectos nutricionais. (COZZOLINO, 2005). Consequentemente, os termos biodisponibilidade e bioacessibilidade de um nutriente foram propostos pela comunidade científica (FENNEMA *et al.*, 2008).

A biodisponibilidade refere-se à proporção do nutriente em um determinado alimento que é digerido, absorvido e metabolizado pelo organismo (COZZOLINO, 2005). A bioacessibilidade é definida como a quantidade de nutriente em um alimento que é liberado no trato gastrointestinal durante a digestão (RUBY *et al.*, 1999). Essa fração bioacessível é liberada para absorção pelo organismo, mas, nem todo conteúdo desse nutriente presente no alimento é liberado durante a digestão. Sendo o conteúdo liberado a fração bioacessível para absorção, no entanto, somente uma

parte do total bioacessível estará realmente disponível para ser usado nas funções fisiológicas do organismo, ou seja, sua biodisponibilidade (OOMEN *et al.*, 2005). A biodisponibilidade influencia no efeito benéfico de um nutriente em níveis fisiológicos, assim como pode afetar a natureza e a gravidade da toxicidade quando a ingestão for excessiva (COZZOLINO, 2005).

Alguns métodos empregados para estimar a bioacessibilidade de micronutrientes contam com diferentes abordagens, podendo ser testes *in vivo* ou *in vitro*. Os testes *in vivo* são feitos para simular uma exposição ao material a ser investigado e fazem uso de cobaias, como ratos, macacos e coelhos, sendo a fração bioacessível determinada pela análise das unhas, pelos e sangue desses animais após administração da dieta. Esses testes requerem a presença de profissionais especializados e de uma infraestrutura adequada, além de serem de alto custo e exigirem maior tempo de execução. Já os testes *in vitro*, são extrações que simulam as condições fisiológicas durante a digestão humana, levando em consideração as três áreas do sistema digestivo: boca, estômago e intestino. Esses testes podem ser atrativos devido a maior velocidade analítica e baixo custo (BOSSO e ENZWEILER, 2008; OOMEN *et al.*, 2002).

Os métodos *in vitro* podem produzir resultados para a avaliação de risco à saúde da população e seu desenvolvimento, validação e padronização é algo que demanda estudos (INTAWONGSE e DEAN, 2006). Muito desses métodos tem sido aplicados em amostras alimentares, como peixe, carne de porco, queijo, pão, frutas e vegetais, mas ainda é ausente no meio científico a avaliação da bioacessibilidade de vários elementos químicos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos funcionais, dentre eles as sementes de linhaça e gergelim amplamente consumidas pela população e prescrito por nutricionistas.

Um dos métodos empregados para estimar a bioacessibilidade dos elementos é conhecido como ensaio SBET (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*), utilizado para simular as condições gástricas do estômago, devido ao baixo pH do meio, levando em consideração a temperatura corpórea e o tempo de digestão, mas não leva em consideração o compartimento intestinal. Nesse método utiliza-se apenas glicina, que é o aminoácido mais simples produzido pelo corpo humano, e ácido clorídrico. Outro método também empregado para determinar o teor bioacessível é o ensaio PBET (*Physiological Based Extraction Test*) que simula parâmetros gastroin-

testinais de humanos (RUBY *et al.*, 1999). Neste método, utiliza-se uma solução gástrica preparada com pepsina, malato, citrato, ácido acético, ácido láctico e ácido clorídrico. Para a simulação do trato intestinal utilizam-se sais de bile, pancreatina e bicarbonato de sódio saturado.

A importância da avaliação da bioacessibilidade de micronutrientes nas amostras de linhaça e gergelim está relacionada com as quantidades recomendadas de ingestão desses elementos em dietas, que deve suprir alguma necessidade do indivíduo (COZZOLINO, 2005). Dessa forma, permite-se obter informações nutricionais inéditas e importantes para a Tabela de Composição Química de Alimentos. Na literatura existem algumas metodologias *in vitro* para avaliação da bioacessibilidade de metais, como apresentado na Tabela 2.

A Tabela 2 apresenta trabalhos realizados desde 1996 até o presente ano que utilizaram os métodos de extração *in vitro* para determinação da bioacessibilidade de diversos elementos químicos. Nota-se que ao longo dos anos houve um crescente aumento do número de elementos a serem determinados por cada trabalho, mostrando a necessidade de investigação tanto de elementos essenciais como os potencialmente tóxicos. Muitos desses trabalhos fizeram uso de métodos como SBET e PBET que simulam as condições dos suco gástrico e intestinal, respectivamente. No entanto, observa-se, ainda, diferentes modos de preparo da amostra visto que ambos os trabalhos visam a simulação do sistema gastrointestinal.

Dentre os 8 trabalhos investigados, a maioria empregou ICP OES e ICP-MS como técnicas para determinação dos analitos. Essas técnicas são bastante utilizadas por apresentarem elevada sensibilidade, baixos limites de detecção, velocidade analítica, capacidade de análise multielementar (sequencial ou simultânea) e uma ampla faixa linear de trabalho (SKOOG, 2006).

Tabela 2. Métodos de extração *in vitro* para determinação da bioacessibilidade.

Analito	Preparo da amostra	Técnica Analítica	Referência
Cr, Cu, Ni, Pb e Zn	KCl, Na ₂ PO ₄ , KSCN, Na ₂ SO ₄ , NaCl, NaOH, HCl, CaCl ₂ e NH ₄ Cl	ICP OES	ROSENDE <i>et al.</i> , 2014
Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, V e Zn	H ₂ O, HCl, pepsina, NaHCO ₃ e pancreatina.	ICP-MS	MOREDA-PINEIRO <i>et al.</i> , 2012
Cu, Fe, Mo, Mn e Zn	Pepsina, NaCl, NaOH, sais de bile, amilase e pancreatina.	DF-SP- ICP-MS	KHOUZAMA, POHL E LOBINSKI, 2011
Cu e Fe	NaCl, HCl, pepsina, NaOH, NaHCO ₃ , K ₂ HPO ₄ , sais de bile e pancreatina.	SIMAAS	NASCIMENTO, NAO-ZUKA e OLIVEIRA, 2010
Se e Hg	Pepsina, NaCl, pancreatina e sais de bile.	LC-ICP-MS	CABANERO, MADRID e CAMARA, 2004
Al	Pepsina, HCl, pancreatina, extrato de bile e NaHCO ₃	ETAAS	CABRERA <i>et al.</i> , 2002
As, Cd e Pb	Glicina	ICP OES	OOMEN <i>et al.</i> , 2002
As e Pb	Pepsina, ac. málico, ac. acético e ac. láctico	ICP OES	RUBY <i>et al.</i> , 1999

1.6 Técnicas espectroanalíticas

A técnica ICP OES é uma técnica moderna que vem sendo bastante utilizada nas análises de amostras de alimentos para determinação de diversos elementos (DILEK *et al.*, 2011; HAJIAGHABABAEI *et al.*, 2013; MARIN *et al.*, 2010; TREVIZAN *et al.*, 2008 e XIE *et al.*, 2013). Sua elevada sensibilidade é devido ao plasma ser

uma fonte de alta temperatura que reduz o efeito de matriz e produz uma sensibilidade adequada para a maioria dos elementos, alcançando, assim, limites de detecção da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$. Essa técnica tem capacidade de realizar a determinação de mais de 70 elementos químicos em diferentes linhas espectrais em apenas um minuto por análise, apresentando assim, a alta velocidade analítica (SKOOG, 2006).

1.7 Ferramentas estatísticas aplicadas à Química

A análise multivariada é uma importante ferramenta estatística e pode ser definida como o conjunto de métodos e técnicas que fazem uso simultâneo de todas as variáveis na interpretação teórica dos dados. A análise do conjunto de dados envolve um grande número de variáveis, sendo vantajoso o uso da análise multivariada pela capacidade de reduzir os dados e tornar as interpretações mais simples (FERREIRA, 2012).

Dentre os métodos de análise multivariada, aqueles que desejam verificar como um conjunto de amostras se relaciona ou o quanto se assemelha de acordo com as variáveis utilizadas, tem-se dois métodos que se destacam: a análise de agrupamentos hierárquica (*HCA* - do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) e a análise de componentes principais (*PCA* - do inglês *Principal Component Analysis*) (FERREIRA, 2012). Esses dois métodos são classificados como exploratórios ou não supervisionados, uma vez que as informações em relação à identidade das amostras não são levadas em consideração (FERREIRA, 2012; SANTOS, 2012).

Segundo Vicini (2012), a análise de componentes principais possibilita a investigação de um grande número de dados disponíveis e também possibilita a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, sem que as informações tenham perdas significativas. De acordo com Varella (2008), a PCA transforma um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão (componentes principais) e cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais.

As primeiras componentes principais (PCs) apresentam a maior variância dos dados, dessa forma, as informações mais importantes do conjunto de dados podem

ser representadas utilizando um número pequeno de componentes, por outro lado, as informações irrelevantes são apresentadas nas últimas PCs (ANJOS, 2009). A PCA é uma ferramenta quimiométrica muito útil, levando em consideração a grande quantidade de informações obtidas no tratamento de dados alimentares.

De acordo com Anjos (2009), a análise hierárquica de agrupamentos é um método que agrupa as amostras pelas semelhanças entre elas, examinando a distância média entre as amostras e apresentando como resultado um dendrograma (gráfico bidimensional). As amostras que estiverem mais próximas vão apresentar menor distância entre elas, e conseqüentemente, um novo grupo será formado (ALBUQUERQUE, 2013). A HCA, assim como PCA, tem bastante utilidade para averiguar similaridades entre as amostras estudadas e verificar quais são as tendências apresentadas por elas (RIBEIRO, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Propor estratégias analíticas para determinação e avaliação da bioacessibilidade de minerais em amostras de linhaça e gergelim, empregando diferentes procedimentos de preparo de amostras e determinação por ICP OES.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar as melhores condições de decomposição das amostras por aquecimento condutivo, utilizando bloco digestor;
- Validar o método proposto através dos parâmetros de desempenho: linearidade, faixa linear de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, precisão e exatidão;
- Diferenciar a composição mineral e a bioacessibilidade das amostras de linhaça e gergelim em função da forma de comercialização e consumo típico;
- Estudar se há diferença entre a bioacessibilidade dos elementos quando utilizado diferentes procedimentos de pré-tratamento da amostra;
- Aplicar o método proposto em diversas amostras de linhaça e gergelim comercializadas de forma a traçar um perfil para este tipo de alimento;
- Utilizar as ferramentas estatísticas HCA e PCA para análises de dados;
- Contribuir com a geração de dados para a Tabela de Composição Química de Alimentos.

3. Experimental

3.1 Reagentes e soluções

As soluções multielementares utilizadas foram preparadas a partir de soluções estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de Cu, Fe, Mn e Zn (Merck, Alemanha) e 4000 mg L⁻¹ de Ca, K, Mg e P (Merck, Alemanha). Uma solução multielementar foi preparada para Cu, Fe, Mn, e Zn na concentração de 50,0 mg L⁻¹ e para Ca, K, Mg, Na e P na concentração de 500 mg L⁻¹. Para a determinação dos teores de carbono residual, após os procedimentos de decomposição, foi preparada uma solução de referência de 5000 mg L⁻¹ em carbono a partir de ácido cítrico.

As soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultra-pura, com resistividade específica de 18,2 MΩ cm, de um sistema de purificação Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, USA). Foram utilizados os seguintes reagentes: ácido nítrico 65% m m⁻¹ (Merck, Alemanha), este foi destilado antes do uso, ácido sulfúrico 98% m m⁻¹ (Merck, Alemanha), ácido clorídrico 37% m m⁻¹ (Merck, Alemanha), peróxido de hidrogênio 30% v v⁻¹ (Merck, Alemanha), hidróxido de sódio (Reagen, Brasil) e ácido cítrico (Merck, Alemanha) e glicina (Merck, Alemanha).

A descontaminação de vidrarias, frascos plásticos e materiais em geral, foi realizada em banho ácido contendo HNO₃ 10% v v⁻¹, por no mínimo 12 h. Posteriormente, os materiais foram lavados com água deionizada.

3.2 Amostras e material de referência certificado

As amostras de semente e farinha de linhaça marrom e dourada e as amostras de semente e farinha de gergelim branco, cru e preto foram adquiridas em estabelecimentos comerciais na cidade de Salvador, BA e Rio de Janeiro, RJ. Apesar de comercializadas nestes estados a sua origem é proveniente de outros estados, segundo informações nas embalagens. As amostras de linhaça e gergelim são provenientes dos estados de São Paulo, Bahia, Paraná, Rio Grande de Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e alguns locais desconhecidos para amostras obtidas a granel, as quais estão representadas nas Tabelas 3 e 4 com a sigla LD – local desconhecido. O conjunto de 32 amostras de linhaça compreendeu 16 marcas (A a P), as quais 15 amostras foram de linhaça marrom e 17 foram de linhaça dourada. O conjunto de 17 amostras de gergelim compreendeu 10 (A a J) marcas, as quais 5 amostras foram de gergelim branco, 7 foram de gergelim cru e 5 foram de gergelim preto. A identi-

cação das amostras de linhaça e gergelim está representada nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Foi usado um material de referência certificado do NIST (Gaithersburg, Maryland, USA) CRM 3234 - farinha de soja. Como não se encontram disponíveis no mercado materiais de referência certificados para as matrizes estudadas, esse material foi usado para avaliar a exatidão dos procedimentos analíticos propostos. Assim como a linhaça e o gergelim, a farinha de soja tem um alto teor de gordura e são ricos em carboidrato, proteínas, lipídios e fibras.

Para determinação do teor total, as amostras não sofreram nenhum tipo de pré-tratamento, essas análises foram feitas diretamente nas amostras sementes, para que o resultado final representasse o teor dos constituintes nos alimentos da forma que eles são ingeridos pelo consumidor. Para determinação do teor bioacessível as amostras passaram por pré-tratamento, utilizando-se diferentes tempos de moagem, sendo 10 segundos para simular ingestão da semente e 60 segundos para obtenção da farinha, uma vez que nem todas as amostras são comercializadas na forma de farinha.

Tabela 3. Identificação e estados de origem das amostras de linhaça.

Semente de linhaça marrom		Farinha de linhaça marrom		Semente de linhaça dourada		Farinha de linhaça dourada	
Código Estado		Código Estado		Código Estado		Código Estado	
AMS	SP	AMF	SP	ADS	SP	ADF	SP
BMS	BA	FMF	SP	BDS	BA	FDF	SP
CMS	PR	GMF	BA	DDS	PR	GDF	BA
DMS	PR	OMF	RS	GDS	BA	NDF	LD
EMS	BA			HDS	SP	ODF	RS
GMS	BA			IDS	RS		
IMS	RS			JDS	RS		
LMS	LD			KDS	MG		
MMS	LD			LDS	LD		
OMS	RS			MDS	LD		
PMS	RJ			NDS	LD		
				ODS	RS		
Total: 11 amostras		Total: 4 amostras		Total: 12 amostras		Total: 5 amostras	

LD – local desconhecido, M – marrom, D – dourada, S – semente, F – farinha

Tabela 4. Identificação e estados de origem das amostras de gergelim.

Semente de gergelim branco		Semente de gergelim preto		Semente de gergelim cru		Farinha de gergelim cru	
Código	Estado	Código	Estado	Código	Estado	Código	Estado
EBSBA		APS	SP	ACS	SP	ECF	BA
GBS	LD	EPS	BA	BCS	BA		
HBS	LD	GPSLD		CCS			
JBS	LD	IPS	LD	DCS	MG		
		JPS	LD	ECS	SP		
				FCS	RJ		
				GCS	LD		
Total:	4 amostras	Total:	5 amostras	Total:	7 amostras	Total:	1 amostra

LD – local desconhecido, B – branco, P – preto, C – cru, S – semente, F - farinha

3.3 Instrumentação e materiais

3.3.1 Trituração das amostras utilizando moinho analítico

A trituração das amostras foi realizada em moinho analítico (IKA, China), modelo A11, com lâmina de impacto.

3.3.2 Decomposição das amostras em sistemas com aquecimento condutivo em bloco digestor

As amostras foram digeridas usando sistemas condutivos abertos empregando-se bloco digestor (TECNAL, São Paulo, Brasil), modelo TE-040/25 com controlador de temperatura analógico e capacidade para 40 tubos micro em borossilicato com dimensões de 25 x 250 mm. As soluções obtidas após digestão, para o procedimento de preparo de amostra utilizado, foram transferidas para frascos de polietileno de 15,0 ou 50,0 mL.

3.3.3 Extração das amostras utilizando método *in vitro* SBET (*Simple-BioaccessibilityExtraction Test*)

Foram feitas extrações das amostras para determinação da bioacessibilidade dos micronutrientes empregando método *in vitro* SBET (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*), utilizando uma incubadora (TECNAL, São Paulo, Brasil), modelo TE-420 com controlador de temperatura analógico, capacidade para 30 béqueres de 50 mL e com sistema de agitação controlada. Além destes equipamentos utilizou-se um sistema de filtração à vácuo, filtro de disco de acetato de celulose de porosidade 0,45 µm e um pHmetro ION 510 Benchtop Meter (Vernon Hills, EUA).

3.3.4 Determinação dos analitos

A determinação dos analitos foi realizada empregando-se o espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado, VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália) simultâneo com arranjo axial, com câmara de nebulização *Sturman-Master* e nebulizador *V-Groove*, equipado com detector de estado sólido com arranjo CCD (dispositivo de carga acoplada) e que opera em comprimentos de onda na faixa de 167 a 785 nm. Possui interface *end-on gás*, que com o fluxo frontal contracorrente de gás protege a região pré-óptica de superaquecimento e remove a zona mais fria do plasma. O sistema óptico do equipamento foi calibrado com solução de referência multielementar e o alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de Mn 5,0 mg L⁻¹. As linhas espectrais foram selecionadas considerando-se as intensidades dos sinais de emissão dos analitos, a sensibilidade adequada para a determinação de elementos em baixas e altas concentrações e a ausência de interferências espectrais. A Tabela 5 ilustra as características e as condições experimentais do equipamento.

Tabela 5. Parâmetros instrumentais para as determinações por ICP OES.

Características e parâmetros	
Rádio-freqüência do gerador (MHz)	40
Detector	CCD
Diâmetro interno do tubo central da tocha (mm)	2,3
Policromador	Grade de difração <i>Echelle</i> e prisma de dispersão de CaF ₂
Faixa de comprimento de onda (nm)	167 – 785
Câmara de nebulização	<i>Sturman-Masters</i>
Nebulizador	Ranhura em V
Potência de medida (W)	1200
Tempo de integração do sinal (s)	2,0
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão gás de nebulização (L/ min)	0,70
Elementos e comprimentos de onda (nm): Linha atômica (I) e Linha iônica (II)	C I 193,027; Ca I 422,673; Cu I 327,395; Fe II 234,350; K I 769,897; Mg II 279,553; Mn II 257,611; P I 177,434; Zn II 202, 548; Y* II 371,029

*elemento utilizado com padrão interno (1,0 mg L⁻¹) em todas as análises com H₂SO₄

3.4 Procedimentos experimentais

3.4.1 Decomposição das amostras em bloco digestor

Para o procedimento proposto, foi pesada uma massa da amostra de aproximadamente 500 mg em tubos de digestão, seguida da adição 5,0 mL de HNO₃ destilado e 1,0 mL de H₂SO₄ concentrado, antes de submetê-las ao aquecimento. As amostras foram aquecidas a uma temperatura máxima de 250 °C, sendo que durante esta etapa as mesmas permaneciam por uma hora a cada temperatura programada (150 e 250°C) totalizando assim um tempo médio do procedimento de duas horas. Após a carbonização das amostras foram adicionados 3,0 mL de H₂O₂ 30%, em alíquotas de 1,0 mL. Os brancos analíticos constituíram-se da mesma mistura, ácido nítrico, ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio, usada na digestão, sem a presença da amostra. Os digeridos foram aferidos com água ultrapura até 15,0 mL. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

3.4.2 Extração das amostras utilizando método *in vitro* SBET (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*)

Aproximadamente 250 mg da amostra foi pesada em béqueres de 50 mL, seguida da adição 25,00 mL de solução de 0,4 mol L⁻¹ de glicina/HCl em pH 1,5. As amostras foram incubadas a 37 °C sob agitação orbital a 100 rpm por 1h. A mistura foi filtrada a vácuo, em filtro de disco de acetato de celulose de porosidade 0,45 µm (Adaptado de OOMEN, 2002). Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

3.4.3 Otimização do procedimento de preparo de amostra de linhaça e gergelim em bloco digestor

Dois procedimentos de digestão em bloco digestor foram avaliados. A amostra de marca “A” tanto da linhaça quanto do gergelim foram utilizadas para o desenvolvimento dos procedimentos e posterior otimização.

Para investigação dos procedimentos foram utilizados ácido nítrico e ácido sulfúrico com posterior adição de peróxido de hidrogênio. Aproximadamente 500 mg das amostras foram submetidas a aquecimento conforme descrito no item

3.3.1. Estes procedimentos foram representados pelos seguintes códigos: BD1 e BD2 e se diferenciam pelo uso ou não de ácido sulfúrico. A Tabela 6 apresenta as quantidades dos reagentes utilizados nos procedimentos de digestão BD1 e BD2, bem como as temperaturas máximas ($T_{\text{máx}}$) utilizadas nesses dois procedimentos de decomposição.

Tabela 6. Procedimentos de decomposição avaliados no bloco digestor.

Procedimento	HNO₃ (mL)	H₂SO₄ (mL)	H₂O₂ (mL)	T_{max}(°C)
BD1	5,0	1,0	3,0	250°C
BD2	5,0	-	2,0	150°C

3.4.4 Determinação da acidez e carbono residual dos digeridos

A determinação da acidez final foi feita através de titulações ácido-base dos digeridos para os procedimentos propostos. Os padrões da curva analítica de calibração foram preparados com a mesma concentração ácida para cada procedimento de digestão. O teor de carbono residual foi determinado por ICP OES usando solução de ácido cítrico para o preparo das soluções analíticas de calibração para carbono.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

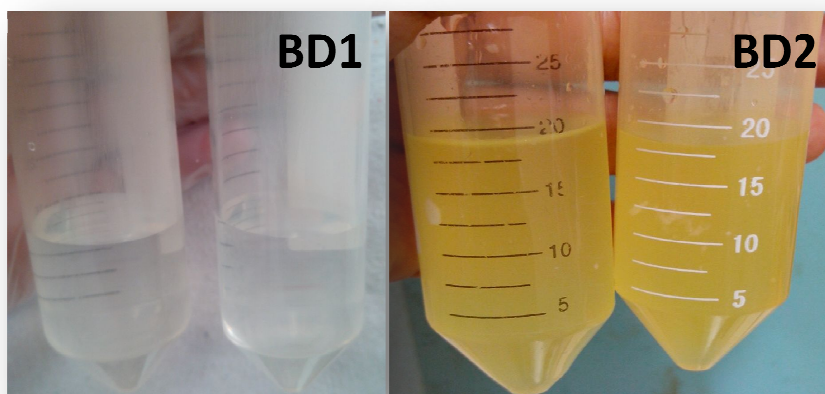
4.1 Avaliação do procedimento de decomposição em bloco digestor

4.1.1 Otimização do procedimento para decomposição das amostras

A avaliação da eficiência dos procedimentos de decomposição nas amostras de linhaça e gergelim foi efetuada através dos seguintes parâmetros: aspecto visual dos digeridos, teor de carbono e acidez residual.

Foram avaliados dois procedimentos de decomposição com aquecimento condutivo em bloco digestor, sendo que BD1 utilizou uma mistura contendo $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ e temperatura máxima de 250°C , e BD2 com $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ e temperatura máxima de 150°C . Avaliando o aspecto visual, conforme mostrado na Figura 3, o procedimento BD2 foi considerado inadequado devido à presença de material gorduroso, enquanto que no procedimento de digestão BD1 foram obtidos digeridos límpidos. A presença de material gorduroso ao final da digestão implica numa decomposição parcial da matéria orgânica na amostra, uma vez que determinados analitos podem estar ligados à gordura, dificultando a sua determinação.

Figura 3. Aspecto visual dos digeridos obtidos para os procedimentos BD1 e BD2 no bloco digestor nas amostras de linhaça e gergelim, respectivamente.

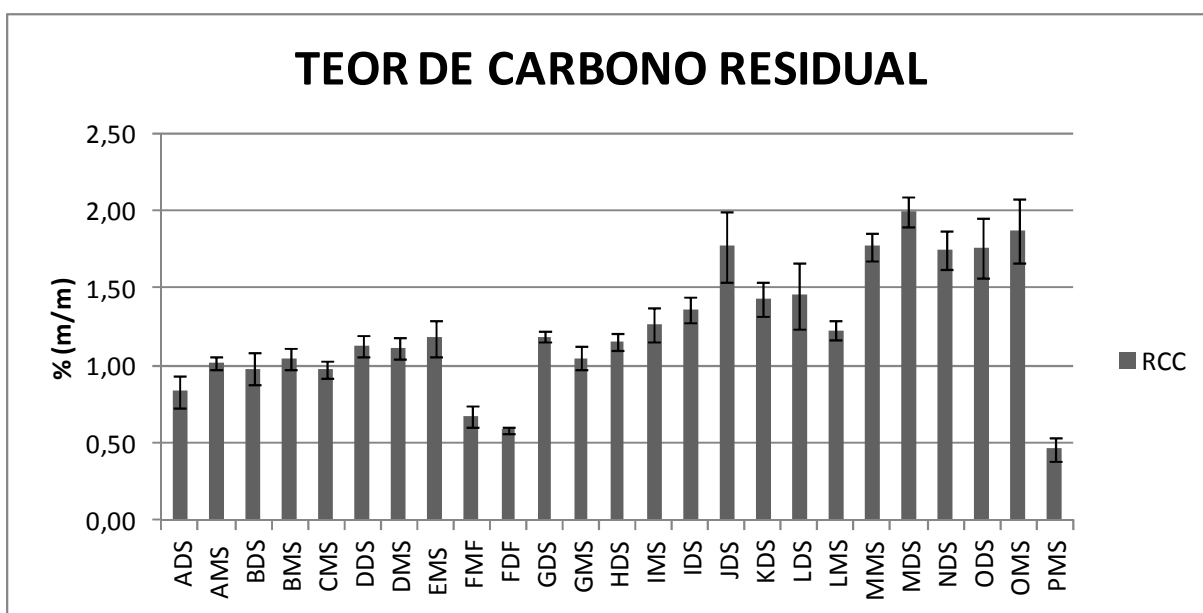


A maior eficiência do procedimento BD1 pode ser creditada ao uso do ácido sulfúrico, que é utilizado em sistemas de digestão à pressão atmosférica, com o objetivo de aumentar o ponto de ebulição da reação, atingindo maiores temperaturas que viabilizaram a decomposição do material gorduroso (KRUG, 2010).

Sabe-se que em uma digestão a escolha do uso de ácidos minerais inorgânicos é devido ao seu poder oxidante e capacidade de decomposição da matéria orgânica na amostra, com o intuito de quebrar as cadeias carbônicas e eliminar o carbono na forma de CO₂. Um dos parâmetros mais importantes para avaliar a eficiência do procedimento de decomposição ácida para decomposição da matéria orgânica é o teor de carbono residual, uma vez que a depender do procedimento a ser utilizado não há uma completa oxidação.

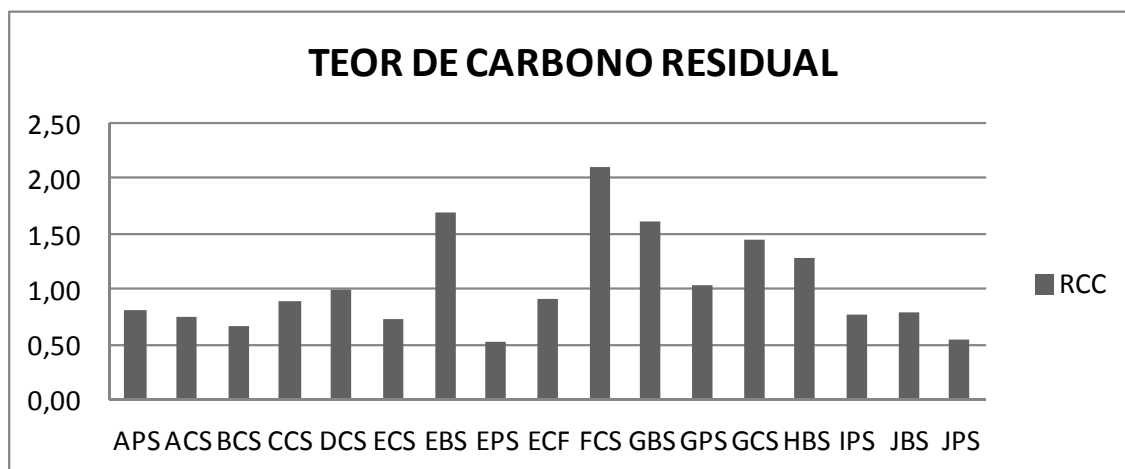
No presente trabalho, após a decomposição das amostras de linhaça e gergelim, o teor de carbono residual(RCC do inglês *“Residual carbon content”*) foi determinado por ICP OES utilizando soluções de ácido cítrico, cujos resultados estão apresentados nas Figuras 4e 5, para a linhaça e gergelim, respectivamente.

Figura 4. Valores médios (n=3) de RCC obtidos nos procedimentos de decomposição de linhaça em bloco digestor.



A a P – Marca/ D – Dourada/ M – Marrom/ S – Semente/ F- Farinha

Figura 5. Valores médios (n=3) de RCC obtidos nos procedimentos de decomposição de gergelim em bloco digestor.



A a J – Marca/ B – Branco/ C – Cru/ P – Preto/ S – Semente/ F- Farinha

Os teores de carbono residual obtidos para todas as amostras de linhaça marrom e dourada variaram entre $0,46 \pm 0,07$ a $1,99 \pm 0,10$ % m m⁻¹ e para todas as amostras de gergelim branco, cru e preto variaram entre $0,55 \pm 0,08$ a $2,11 \pm 0,17$ % m m⁻¹. Esses valores sugerem uma boa eficiência no procedimento de decomposição das amostras de linhaça e gergelim com alto teor de matéria orgânica, visto que apresentaram baixos teores de carbono residual (GOUVEIA *et al.*, 2001).

A acidez residual titulada (digerido após diluição para 15,0 mL com água ultrapura) para os procedimentos de decomposição BD1 e BD2 foram de 1,11 e 3,41 mol L⁻¹, respectivamente. Sabendo-se que a mistura de ácidos utilizados para decomposição em bloco digestor (HNO₃/H₂SO₄/H₂O₂) atingiu temperaturas superiores a 200 °C, pode-se considerar que a acidez residual para BD1 está expressa em termos de ácido sulfúrico, visto que nesta temperatura o ácido nítrico não está mais presente em solução. Portanto, os resultados sugerem uma menor acidez residual, para BD1, importante para a técnica ICP OES, uma vez que é aconselhável a introdução de soluções com acidez menor que 10 % v v⁻¹.

Apesar da acidez residual do procedimento BD1 ser menor do que a de BD2, a escolha do uso do ácido sulfúrico para decomposição da matéria orgânica implica em erros sistemáticos à técnica de determinação empregada, que podem ser associados a problemas no sistema de introdução da amostra, como no transporte e nebulização. Esses erros podem ser minimizados pelo preparo da curva analítica no mesmo meio da amostra e pelo uso de padrão interno (SANTOS, 2008).

De acordo com Santos (2008), o uso de padrão interno é extremamente importante para redução de erros em ICP OES, assim como há um aumento na precisão e exatidão da técnica, devido a menor variação na geração do aerossol e transporte. Além disso, o padrão interno deve possuir propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, ser solúvel nas soluções e amostras, sem que interfira na determinação da espécie de interesse.

Macarovscha (2011); Pataca, Bortoleto e Bueno(2005); Santos (2008) e Sousa (2006) utilizaram ítrio como padrão interno e indicaram que sem o uso desse padrão interno houve um decréscimo nas concentrações dos elementos analisados nessas soluções. Este fato pode ser creditado à diminuição na eficiência do transporte da solução para o plasma, devido a maior viscosidade do ácido sulfúrico, resultando na menor intensidade de emissão dos elementos. Dessa forma, no presente trabalho, foi necessário utilizar o ítrio como padrão interno em todos os digeridos em meio de ácido sulfúrico de modo que sua concentração final fosse de 1,0 mg L⁻¹.

Diante do exposto o procedimento de decomposição BD1 foi adotado como o procedimento proposto para digestão no bloco digestor das amostras de linhaça e gergelim.

4.1.2 Validação do procedimento proposto

De acordo com Barros (2002), a validação do método analítico possibilita dizer que o método analítico é adequado ao uso pretendido. Segundo Brito *et al.* (2003), um método pode ser considerado validado quando suas características estiverem de acordo com os pré-requisitos estabelecidos. No Brasil existem dois órgãos que regulamentam a validação de métodos analíticos, são eles a ANVISA e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Instrumental) (RIBEIRO *et al.*, 2008). A validação de métodos ocorre após avaliação dos seguintes parâmetros de desempenho, tais como, seletividade e especificidade, faixa linear de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, precisão e exatidão.

4.1.2.1 Limites de detecção e de quantificação

O limite de detecção (LOD) corresponde a menor concentração do analito detectado, mas não necessariamente quantificado, sob determinadas condições expe-

rimentais. Já o limite de quantificação (LOQ) corresponde a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão, aceitáveis, sob determinadas condições experimentais (BARROS, 2002; BRITO *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2007).

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos considerando o desvio padrão das intensidades de 10 ensaios do branco analítico. Os resultados obtidos para os LOD e LOQ, referentes ao procedimento de digestão empregando bloco digestor, expressos em mg L⁻¹ e µg g⁻¹, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para a determinação dos analitos por ICP OES, após decomposição em bloco digestor.

Analitos	LOD(mg L⁻¹)	LOQ(mg L⁻¹)	LOD(µg g⁻¹)	LOQ(µg g⁻¹)
Ca	0,13	0,42	50,5	168,3
Cu	0,002	0,007	0,9	2,9
Fe	0,02	0,07	7,9	9,7
K	0,03	0,10	11,5	38,2
Mg	0,02	0,08	9,9	33,1
Mn	0,0001	0,0005	0,1	0,2
Na	0,0003	0,0009	0,1	0,3
P	0,22	0,73	87,2	104,0
Zn	0,001	0,002	0,2	0,7

4.1.2.2 Linearidade e faixa dinâmica linear

De acordo com Ribani *et al.* (2004), a linearidade é a capacidade do método em produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra, dentro de uma determinada faixa de aplicação. A linearidade pode ser avaliada pelo coeficiente de correlação (R) e coeficiente de determinação (R²). A ANVISA (2003) recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO (2003) recomenda um valor acima de 0,90 a partir da determinação de no mínimo cinco concentrações distintas, devido aos possíveis erros associados.

Segundo Skoog *et al.* (2006), a faixa dinâmica linear de um método analítico é definida como a faixa de concentração que pode ser determinada com uma curva de calibração linear. Sendo o limite de detecção, normalmente considerado como limite

inferior da faixa dinâmica e o limite superior da faixa, é geralmente a concentração na qual o sinal analítico desvia-se da linearidade.

A Tabela 8 apresenta os resultados das curvas analíticas de calibração para as amostras de linhaça e gergelim. Nota-se que os valores dos coeficientes de correlação foram superiores a 0,99 e 0,90 conforme recomendado pela ANVISA (1998) e INMETRO (2003), respectivamente.

Tabela 8. Curvas analíticas para as amostras de linhaça e gergelim por ICP OES.

Analitos	Equação da reta	R²	Faixa dinâmica (mg L⁻¹)
C	$y = 0,2708x + 158,38$	0,9995	100 a 1000
Ca	$y = 72738x + 75944$	0,9986	0,42 a 200
Cu	$y = 11128x + 328,73$	0,9999	0,007 a 5,0
Fe	$y = 4767,5x - 52,645$	0,9996	0,07 a 5,0
K	$y = 18769x + 9890,3$	0,9988	0,1 a 300
Mg	$y = 157206x + 61036$	0,9986	0,08 a 200
Mn	$y = 71397x + 1263,8$	0,9989	0,0005 a 5,0
P	$y = 48,631x + 39,334$	0,9997	0,73 a 300
Zn	$y = 10343x - 101,29$	0,9993	0,02 a 5,0

4.1.2.3 Precisão

De acordo com Brito *et al.* (2003), a precisão do processo analítico avalia a proximidade de diversas medidas efetuadas na mesma amostra, podendo ser expressa como o desvio padrão (s), variância ou coeficiente de variância (CV).

A avaliação da precisão foi realizada em termos de repetitividade, através de dez ensaios do procedimento proposto para digestão das amostras de linhaça e gergelim. Nestes ensaios, foram empregadas as amostras AMS e ACS. A estimativa do coeficiente de variância (CV) no procedimento em bloco digestor para os elementos estão apresentados nas Tabelas 9 e 10 para as amostras de linhaça e gergelim, respectivamente.

Em geral, os resultados do teste de repetitividade nas amostras de linhaça e gergelim para as determinações dos elementos por ICP OES apresentaram CV baixos, menores do que 10%. Nas amostras de linhaça, para os analitos Ca, Cu, Mg, P

e Zn e nas amostras de gergelim para os analitos Ca, Cu, K, Mn e P os coeficientes de variância foram menores do que 5%. Comportamento semelhante foi obtido nas amostras de linhaça dourada e nas amostras de gergelim branco e preto.

Tabela 9. Resultados do teste de repetitividade nas amostras de linhaça marrom para determinações por ICP OES (n=10).

Analitos	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão	Coeficiente de variância(%)
Ca	1682,4	60,0	3,6
Cu	12,5	0,6	4,8
Fe	48,1	3,4	7,0
K	8331,5	744,0	8,9
Mg	2121,4	77,6	3,7
Mn	22,4	1,4	6,2
P	7660,9	358,6	4,7
Zn	33,9	1,2	3,6

Tabela 10. Resultados do teste de repetitividade nas amostras de gergelim cru para determinações por ICP OES (n=10).

Analitos	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão	Coeficiente de variância(%)
Ca	9009,0	352,3	3,9
Cu	18,5	0,8	4,6
Fe	56,6	4,8	8,5
K	5798,8	204,5	3,5
Mg	2676,3	151,0	5,6
Mn	17,4	0,8	4,4
P	7930,7	196,5	2,5
Zn	82,7	6,2	7,4

4.1.2.4 - Exatidão

Segundo Barros (2002), a exatidão do método analítico refere-se ao grau de concordância entre o valor médio obtido e o valor de referência aceito, podendo ser demonstrada através da comparação dos resultados obtidos com material de referência certificado (CRM).

Devido à falta de materiais de referência certificados de linhaça e gergelim, a exatidão do procedimento em bloco digestor nas condições otimizadas foi verificada com CRM de farinha de soja NIST 3234. A composição centesimal deste CRM é relativamente similar às amostras de linhaça e gergelim investigadas. Baseado nos valores certificados fornecidos pelo NIST, a concentração de proteína, carboidrato, fibra dietética total e cinzas do CRM são respectivamente: 53,37; 37,14; 18,19 e 6,77 g/100g. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), as concentrações desses constituintes nas amostras de linhaça são, respectivamente: 14,1; 43,3; 33,5 e 3,7 g/100g e gergelim é 21,2; 21,6; 11,9 e 2,9 g/100g (TACO, 2011).

As amostras do CRM foram submetidas aos procedimentos de decomposição propostos em bloco digestor e os resultados das concentrações médias dos analitos e o percentual de recuperação são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Determinação da composição do material de referência certificado NIST CRM 3234 por ICP OES após decomposição em bloco digestor (média \pm IC, n=3).

Analitos	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor obtido ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperação%
Ca	3191 \pm 56	2846 \pm 162	89
Cu	15,34 \pm 0,26	17,33 \pm 2,00	113
Fe	80,3 \pm 2,7	85,1 \pm 11,2	106
K	25010 \pm 60	23359 \pm 867	93
Mg	3487 \pm 0,88	3410 \pm 208	98
Mn	36,78 \pm 210	40,31 \pm 4,55	110
Na	2,52 \pm 0,45	< 0,3	-
P	8080 \pm 560	7633 \pm 491	94
Zn	48,9 \pm 1,1	48,4 \pm 9,2	99

No intuito de comparar os valores obtidos e os valores certificados foi aplicado o teste t pareado, ao nível de confiança de 95% e o teste estatístico mostrou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias dos elementos. O percentual de recuperação variou de 89 a 113 % conforme apresentado na tabela 13. Não foi possível fazer a validação dos resultados obtidos para sódio nas amostras de CRM devido ao fato das concentrações nos digeridos estarem abaixo do LOQ do método proposto ($< 0,3 \mu\text{g g}^{-1}$).

4.1.3 Aplicação do método proposto nas amostras de gergelim e linhaça

O método proposto validado, com decomposição em bloco digestor e determinação por ICP OES, foi aplicado para determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES em 32 amostras de linhaça de duas variedades, sendo 15 amostras da linhaça marrom e 17 amostras da linhaça dourada, pertencentes às espécies *Linum usitatissimum L.* e em 17 amostras de gergelim de três variedades, sendo 5 amostras de gergelim branco, 7 amostras de gergelim cru e 5 amostras de gergelim preto, pertencentes às espécies *Sesamum indicum L.*, conforme apresentado nas Tabelas 3 e 4.

Os resultados dos teores totais e a faixa de concentração dos micronutrientes para todas as amostras de linhaça e gergelim estão apresentados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente.

De modo geral, o elemento predominante em todas as amostras de linhaça foi P, seguido de K, Mg e Ca. Já o elemento com menor concentração foi Cu, seguido do Mn, Zn e Fe. Em relação aos elementos Ca e Mg, para a maioria das amostras de linhaça nas duas variedades, não houve diferença significativa entre as concentrações médias obtidas para as marcas estudadas ($p > 0,05$), aplicando-se ANOVA, ao nível de 95% de confiança. Com exceção das amostras FMF e FDF que são farinhas, mesmo não apresentando diferenças significativas entre si, apresentaram valores superiores quando comparadas com as concentrações das outras marcas, conforme apresentado na Tabela 12. O mesmo aconteceu com a amostra PMS (semente), que foi adquirida e cultivada no Rio de Janeiro, apresentou concentrações que diferem significativamente das demais marcas avaliadas, podendo ser por conta da

natureza do solo sobre a qual a linhaça é cultivada. As diferenças em relação as farinhas marrom e dourada é que a dourada apresentou maiores teores de todos os elementos.

Em relação aos elementos Cu e Fe, quando comparadas as amostras de linhaça marrom e dourada, houve diferença significativa para as amostras GMS e GDS, sendo os valores para as amostras de linhaça dourada (GDS) praticamente o dobro das amostras de linhaça marrom (GMS). Estudos revelam que a casca da linhaça marrom é mais rígida do que a casca da linhaça dourada e por conta disso mais resistente à oxidação de nutrientes e mais difícil a acessibilidade dos elementos (MARQUES, 2008).

Igualmente ocorreu com o elemento K e Mn, nas amostras de marca B, D, F, G, I, L, M e O, e para o elemento fósforo, nas amostras D, F e G na qual as concentrações nas amostras de linhaça dourada foram sempre maiores do que as da linhaça marrom. Já para o Zn, os valores mais discrepantes foram para as marcas F, G, K e P quando comparadas com as outras marcas.

Tokalioglu (2012) avaliou o teor de Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr e Pb em 30 amostras de ervas medicinais amplamente consumidas em Kayseri na Turquia, dentre elas a semente de linhaça, empregando como técnica de determinação o ICP-MS. O teor de todos os analitos variou em função do tipo de erva investigada e as concentrações, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a amostra de linhaça foram 0,69 para Cr; 39,2 para Mn; 66,9 para Fe; 0,18 para Co; 1,82 para Ni; 11,6 para Cu; 66,6 para Zn; 3,72 para Rb; 14,3 para Sr e 0,04 para Pb. Os resultados encontrados para Cu, Fe, Mn e Zn estão dentro da faixa de concentração obtida para as amostras de linhaça do presente estudo.

De acordo com a TACO (2011), a composição química média da linhaça por 100 gramas de parte comestível é 211 mg para Ca; 347 mg para Mg; 2,81 mg para Mn; 615 mg para P; 4,7 mg para Fe; 869 mg para K; 1,09 mg para Cu e 4,4 mg para Zn. Esses resultados são compatíveis com os resultados encontrados no presente trabalho, uma vez que os valores apresentados na Tabela TACO estão dentro da faixa dos valores obtidos para a maioria dos analitos deste estudo. O único elemento que se mostrou fora da faixa foi Mg, por apresentar valores inferiores aos mostrados

na Tabela TACO. No entanto, esses valores não diferem significativamente quando comparados com os da Tabela TACO.

Em geral, o elemento com maior predominância em todas as amostras de gergelim nas três variedades foi o P, seguido do Ca, K e Mg. Já o elemento menos predominante foi o Cu, seguido do Mn, Fe e Zn. Nota-se na Tabela 13 que o elemento Ca está presente em maior quantidade nas amostras de gergelim preto, enquanto que no gergelim cru esse valor é cerca de 2 vezes menor e no gergelim branco é cerca de 17 vezes menor do que no gergelim preto. Estudos revelam que as sementes de gergelim preto são mais ricas em cálcio do que as demais sementes. A despeliculação elimina totalmente o elemento Ca nas sementes brancas pela eliminação do oxalato de cálcio e a fibra não digerível. Nas demais sementes, o processo elimina parcialmente estes componentes, tais componentes estão mais presentes no endosperma (QUEIROGA *et al.*, 2012).

Para os elementos Cu, K e Mg, em todas as amostras de gergelim, não houve diferença significativa ao aplicar ANOVA, ao nível de confiança de 95%. Enquanto que para o elemento Fe, pôde-se observar diferença significativa para as amostras cruas de marca B e E e a amostra de gergelim preta da marca J teve praticamente o dobro do teor de ferro em relação as outras marcas estudadas. Sabe-se que as amostras das marcas B e E são procedentes do estado da Bahia, no entanto, não foram obtidas informações sobre a origem da amostra da marca J.

Em relação ao elemento Mn, houve diferença significativa quando comparada as amostras crua e preta da marca A, sendo os menores valores encontrados para as amostras de gergelim preto. Tendência semelhante foi obtida quando comparadas as amostra de gergelim cru, branco e preto da marca E, na qual apesar de não haver diferença entre o gergelim cru e branco, os valores encontrados para o gergelim preto foi praticamente duas vezes menor do que as outras variedades de gergelim. Comparando-se ainda a amostra de marca E nota-se que a concentração de Mn para a farinha de gergelim foi praticamente o dobro da concentração da semente de gergelim, no entanto, isso só acontece para esse elemento, pois nos demais as concentrações dos analitos foram sempre maiores nas sementes de gergelim. Já em relação a amostra de marca J, comparando as sementes de gergelim branco e preto,

observou-se que os valores para o gergelim preto foram 2 vezes maiores do que os resultados para o gergelim branco.

Analisando-se as amostras de gergelim das marcas A, B, C e D, encontram-se concentrações de fósforo duas vezes menores do que as concentrações das demais marcas, mas, aplicando-se ANOVA não nota-se diferenças entre as três variedades das sementes. Já para o elemento Zn, pode-se perceber que os valores para as amostras de gergelim cru são praticamente o dobro das amostras de gergelim preto e branco e em relação a essas duas últimas variedades, não foi encontrada diferença significativa. Possivelmente, a maior concentração de Zn esteja relacionada com a pigmentação da semente.

Queiroga *et al.* (2012) determinaram P, K, Ca e S em sementes de gergelim com casca de acordo com o método da Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1980) e os resultados encontrados por 100 gramas foi 373,08 mg para P; 275,00 mg para K; 944,00 mg para Ca e 251,47 mg para S. Os valores para Ca estão concordantes com os valores apresentados no presente estudo enquanto que para P e K são inferiores aos valores aqui encontrados.

Segundo a TACO (2011), a composição química média do gergelim por 100 gramas de parte comestível é 825 mg para Ca; 361 mg para Mg; 2,67 mg para Mn; 741 mg para P; 5,4 mg para Fe; 546 mg para K; 1,51 mg para Cu e 5,2 mg para Zn. Os resultados apresentados na Tabela TACO estão dentro da faixa de concentração dos valores encontrados para a maioria dos analitos estudados no presente trabalho. Os únicos elementos que apresentaram teores fora da faixa, porém similares, foram K e Mg, onde foram observadas maiores concentrações K e menores para Mg quando comparados com os valores da Tabela TACO.

As quantidades de alguns elementos presentes nas amostras de linhaça e gergelim são encontradas nos rótulos das embalagens de algumas marcas estudadas, levando em consideração uma porção de 15 mg. Em relação às amostras de linhaça foram encontrados os seguintes valores, $\mu\text{g g}^{-1}$, para a amostra CMS: (62) Fe, (5000) P e (3600) Mg; FDF: (1980) Ca e (0,0) Fe; FMF: (60) Fe, (5000) P e (3333) Mg; GMS: (2000) Ca e (100) Fe; GMF: 2000 (Ca) e 50 (Fe); JDS: (2000) Ca. Já em relação às amostras de gergelim foram encontrados os seguintes resultados, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a amostra BCS: (6266) P, (3533) Mg, (33) Fe e (9733) Ca; CCS: (60)

Fe, (5800) P e (2600) Mg; EPS: (80) Fe; EBS: (80) Fe, (7733) P e (3466) Mg; FCS: (86) Fe e (4200) Ca. Os valores dos elementos encontrados nos rótulos para as amostras de linhaça e gergelim estão dentro da faixa de concentração dos elementos investigados no presente trabalho. Para as demais marcas estudadas não foram fornecidos nos rótulos das embalagens as quantidades dos elementos presentes nas amostras.

Tabela 12. Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras de linhaça decompostas em bloco digestor (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
AMS	1659 \pm 21	12,5 \pm 0,8	51,9 \pm 3,4	8031 \pm 225	2229 \pm 81	22,8 \pm 0,2	7624 \pm 190	21,7 \pm 1,0
BMS	1719 \pm 39	13,30 \pm 0,01	51,92 \pm 0,06	6636 \pm 42	2100 \pm 30	22,7 \pm 0,2	8189 \pm 144	34,00 \pm 0,08
CMS	1705 \pm 38	12,0 \pm 0,4	44,1 \pm 2,4	8540 \pm 196	2226 \pm 65	25,9 \pm 0,5	8471 \pm 144	35,1 \pm 0,9
DMS	1574 \pm 34	12,6 \pm 0,2	46,7 \pm 2,7	6854 \pm 38	2093 \pm 24	19,0 \pm 0,5	7290 \pm 191	33,7 \pm 0,8
EMS	1533 \pm 61	12,4 \pm 0,7	43,6 \pm 2,3	8825 \pm 325	2206 \pm 108	30,0 \pm 1,8	9168 \pm 436	30,5 \pm 2,4
FMF	2796 \pm 78	12,0 \pm 0,1	60,0 \pm 2,6	7013 \pm 81	2760 \pm 101	19,0 \pm 0,7	8499 \pm 119	42,8 \pm 0,9
GMS	1575 \pm 4	11,1 \pm 0,7	36,5 \pm 3,9	6997 \pm 371	2128 \pm 119	18,5 \pm 0,6	8137 \pm 255	25,9 \pm 1,5
IMS	1607 \pm 50	12,4 \pm 0,4	54,2 \pm 1,7	8722 \pm 282	2356 \pm 47	24,8 \pm 1,9	9921 \pm 479	31,4 \pm 1,1
LMS	1643 \pm 15	12,9 \pm 0,4	47,7 \pm 4,8	6860 \pm 105	2119 \pm 49	21,7 \pm 1,1	9087 \pm 291	34,5 \pm 1,1
MMS	1533 \pm 50	11,0 \pm 0,5	52,4 \pm 3,0	8542 \pm 128	2301 \pm 70	21,6 \pm 1,0	11318 \pm 520	26,6 \pm 1,4
OMS	1745 \pm 46	14,0 \pm 0,8	54,4 \pm 2,2	6678 \pm 273	2138 \pm 75	22,8 \pm 1,1	11771 \pm 772	35,2 \pm 1,5
PMS	3163 \pm 32	12,6 \pm 0,4	55,7 \pm 3,2	7444 \pm 154	3024 \pm 108	49,3 \pm 3,4	10669 \pm 217	59,7 \pm 1,2
ADS	1725 \pm 41	10,6 \pm 0,6	56,8 \pm 1,0	7403 \pm 61	2205 \pm 69	25,9 \pm 1,3	6102 \pm 389	22,7 \pm 0,3
BDS	1852 \pm 69	14,6 \pm 0,4	61,7 \pm 6,8	8400 \pm 928	2229 \pm 18	34,3 \pm 0,1	8713 \pm 432	34,4 \pm 0,9
FDF	2934 \pm 27	14,6 \pm 0,3	83,0 \pm 3,0	7905 \pm 286	3331 \pm 48	31,5 \pm 1,1	10804 \pm 228	55,8 \pm 0,8
GDS	1853 \pm 61	21,6 \pm 1,9	86,8 \pm 25,6	9551 \pm 552	2393 \pm 102	30,6 \pm 2,0	10766 \pm 429	49,4 \pm 3,3
HDS	1778 \pm 20	15,0 \pm 0,2	59,0 \pm 6,7	8854 \pm 55	2371 \pm 36	25,3 \pm 2,9	10067 \pm 492	39,7 \pm 1,8
IDS	1649 \pm 21	15,1 \pm 0,3	56,0 \pm 1,8	10238 \pm 449	2450 \pm 38	33,6 \pm 0,9	10900 \pm 307	35,2 \pm 0,2
JDS	1884 \pm 5	16,2 \pm 0,4	55,3 \pm 0,3	8204 \pm 492	2282 \pm 72	34,2 \pm 1,1	10421 \pm 274	38,0 \pm 0,6
KDS	1742 \pm 9	19,1 \pm 1,3	64,0 \pm 1,8	8190 \pm 176	2326 \pm 145	32,6 \pm 2,7	10125 \pm 216	45,0 \pm 3,0
LDS	1762 \pm 69	15,2 \pm 0,6	58,2 \pm 0,4	9422 \pm 374	2402 \pm 75	39,0 \pm 1,7	10918 \pm 435	38,6 \pm 0,7
MDS	1857 \pm 45	16,2 \pm 0,4	62,0 \pm 1,4	9212 \pm 581	2361 \pm 14	34,6 \pm 0,3	11761 \pm 394	39,0 \pm 0,9
NDS	1927 \pm 22	11,5 \pm 1,1	54,0 \pm 0,8	7544 \pm 808	2251 \pm 219	23,2 \pm 2,3	9783 \pm 125	19,8 \pm 2,1
FAIXA	1533 - 3163	10,6 - 21,6	36,5 - 86,8	6636 - 10238	2093 - 3024	18,5 - 49,4	6102 - 11771	19,8 - 59,8
TACO(2011)	2111	10,9	47,0	8690	3470	28,1	6150	44,0

A a P – MARCA/ M – MARROM/ D – DOURADA/ S – SEMENTE/ F – FARINHA

Tabela 13. Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras de gergelim decompostas em bloco digestor (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
APS	9369 \pm 261	14,8 \pm 1,0	55,7 \pm 7,9	4570 \pm 112	3088 \pm 368	18,7 \pm 2,4	5409 \pm 183	46,0 \pm 1,9
EPS	9501 \pm 116	14,5 \pm 0,6	59,2 \pm 1,8	5966 \pm 94	2846 \pm 63	8,98 \pm 0,09	9634 \pm 174	43,8 \pm 1,1
GPS	9438 \pm 417	15,1 \pm 1,0	57,5 \pm 4,0	5622 \pm 266	2903 \pm 171	14,1 \pm 0,8	10195 \pm 486	52,8 \pm 4,4
IPS	9019 \pm 86	15,0 \pm 0,3	66,8 \pm 1,2	5503 \pm 124	2911 \pm 27	25,6 \pm 0,5	11229 \pm 50	68,3 \pm 2,3
JPS	8662 \pm 201	14,3 \pm 0,1	114,8 \pm 5,7	5092 \pm 137	2916 \pm 75	28,6 \pm 1,2	9730 \pm 160	57,5 \pm 1,1
EBS	570 \pm 72	13,3 \pm 0,9	48,5 \pm 1,1	5073 \pm 149	3145 \pm 67	14,9 \pm 0,3	8900 \pm 351	54,8 \pm 4,4
GBS	851 \pm 180	14,7 \pm 0,6	54,0 \pm 2,8	5140 \pm 66	3141 \pm 157	13,6 \pm 0,5	10446 \pm 175	64,3 \pm 2,8
HBS	486 \pm 29	19,4 \pm 0,5	57,2 \pm 2,3	5701 \pm 130	2910 \pm 88	15,8 \pm 0,5	11364 \pm 73	79,6 \pm 1,9
JBS	867 \pm 61	17,6 \pm 0,5	62,0 \pm 2,5	5056 \pm 118	2905 \pm 29	12,7 \pm 0,4	10249 \pm 299	69,0 \pm 2,9
ACS	9009 \pm 144	18,5 \pm 0,8	56,6 \pm 1,2	5799 \pm 125	2676 \pm 189	25,1 \pm 2,3	7749 \pm 341	88,3 \pm 3,1
BCS	8262 \pm 264	17,2 \pm 0,2	83,2 \pm 1,6	6009 \pm 61	2811 \pm 37	17,9 \pm 0,4	7910 \pm 19	76,6 \pm 1,7
CCS	7332 \pm 92	16,48 \pm 0,06	51,9 \pm 2,0	5513 \pm 63	2691 \pm 105	15,3 \pm 0,4	7734 \pm 160	72,0 \pm 0,8
DCS	6974 \pm 297	18,5 \pm 0,9	41,31 \pm 1,2	4940 \pm 89	2287 \pm 89	16,0 \pm 0,9	4767 \pm 205	75,5 \pm 3,3
ECS	8905 \pm 266	16,2 \pm 0,6	82,5 \pm 5,3	6209 \pm 108	2896 \pm 99	12,9 \pm 0,6	10247 \pm 210	83,6 \pm 2,3
ECF	8394 \pm 549	17,1 \pm 2,4	97,4 \pm 4,0	5946 \pm 620	2727 \pm 465	21,0 \pm 1,5	9333 \pm 213	78,9 \pm 9,7
FCS	7336 \pm 163	13,6 \pm 0,3	59,6 \pm 2,3	5674 \pm 215	3064 \pm 75	13,2 \pm 0,2	9540 \pm 288	65,2 \pm 1,8
GCS	7672 \pm 315	17,0 \pm 0,3	64,8 \pm 1,6	5807 \pm 150	2772 \pm 10	17,5 \pm 0,1	9564 \pm 174	73,5 \pm 1,8
FAIXA	570 - 9501	13,3 - 19,4	41,3 - 114,8	4570 - 6209	2287 - 3145	8,98 - 28,6	4767 - 11364	46,0 - 88,3
TACO (2011)	8250	15,1	54,0	3620	5460	26,7	7410	52,0

A a J – MARCA/ P – PRETA/ B – BRANCA/ C – CRUA/ S – SEMENTE/ F – FARINHA

De acordo com a ANVISA (2005) a ingestão diária recomendada (IDR) é a quantidade de proteínas, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente por indivíduos no intuito de atender às necessidades nutricionais de cada um. Os valores de IDR para os elementos investigados no presente trabalho, com exceção do potássio, estão apresentados nas Tabelas 15 e 16. Além do IDR, nas Tabelas 14 e 15 são mostrados os valores em percentual da contribuição diária de cada elemento com base nos valores encontrados na Tabela TACO. Segundo a Resolução RDC 359/2005 (BRASIL, 2005), sementes oleaginosas, misturadas, cortadas, picadas ou inteiras a porção é de 15 gramas.

Tabela 14. IDR de nutrientes e contribuição das amostras de linhaça.

Elementos	IDR para adultos*	Contribuição (%)**
Ca	1000 mg	2,1
Cu	900 µg	12,2
Fe	14 mg	3,4
Mg	260 mg	13,3
Mn	2,3 mg	12,6
P	700 mg	8,7
Zn	7 mg	6,3

*ANVISA **Uma porção - 15 g

Conforme dados na Tabela 14, cálcio foi o elemento com maior IDR, no entanto foi o que apresentou menor contribuição diária de 2,1%. O elemento que apresentou a maior contribuição diária foi magnésio (13,3%). Os elementos Cu, Mg e Mn apresentaram contribuições similares numa média de 12,7%.

Tabela 15. IDR de nutriente se contribuição das amostras de gergelim.

Elementos	IDR para adultos*	Contribuição (%)**
Ca	1000 mg	8,3
Cu	900 µg	16,8
Fe	14 mg	3,9
Mg	260 mg	13,9
Mn	2,3 mg	11,6
P	700 mg	10,6
Zn	7 mg	7,4

***ANVISA **Uma porção - 15g**

Para as amostras de gergelim, o elemento que apresentou maior contribuição diária foi cobre com um valor de 16,8%, assim como nas amostras de linhaça, conforme apresentado na Tabela 15. Os elementos Ca e Zn apresentaram contribuições próximas numa média de 7,9%, assim como para os elementos Cu, Mg e Mn que apresentou uma média de contribuição diária de 14,1%.

A resolução RDC nº42 de 29 de agosto de 2013 dispõe sobre o regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos, tais como As, Hg, Sn, Pb e Cd em alimentos, no entanto, neste trabalho não foram avaliados esses elementos. Segundo a ANVISA (1965) o Limite Máximo de Tolerância (LMT), em µg g⁻¹, de contaminantes inorgânicos em alimentos é 1,00 para As; 1,00 para Cd; 30,0 para Cu; 0,30 para Se e 50,0 para Zn. Desses elementos, foi possível determinar apenas Cu e Zn devido aos limites de quantificação do método proposto. Assim, comparando-se as faixas de concentração determinada para esses elementos em todas as amostras de linhaça e gergelim, nota-se que os valores para Cu estão abaixo do limite máximo tolerado, ou seja, estão de acordo com as normas da ANVISA. Os valores obtidos para Zn, as amostras de linhaça FDF e PMS estão acima do limite máximo tolerado, enquanto os teores nas amostras de gergelim estão acima do LMT, com exceção das amostras APS e EPS.

4.1.4 Aplicação de ferramentas estatísticas para avaliação dos micronutrientes nas amostras de linhaça e gergelim

A matriz de dados foi construída usando 8 variáveis como colunas, sendo os minerais (Ca, Cu, Fe, K Mg, Mn, P e Zn) e 71 amostras de linhaça como linhas (8x71), levando em consideração triplicatas e/ou duplicatas para cada amostra. Os dados foram pré-processados usando o autoescalamento. Após a aplicação da análise de componente principal (PCA), as duas primeiras componentes principal acumularam 75,42% da variância total dos dados, sendo suficiente para explicar os dados obtidos da análise da composição química da linhaça. Na Tabela 16 estão apresentados os valores de pesos para as duas primeiras componentes principais, a variância total e o acúmulo de variância para análise dos dados.

Tabela 16. Pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais nas amostras de linhaça.

Variáveis	PC1	PC2
Ca	-0,636	0,741
Cu	-0,665	-0,508
Fe	-0,822	-0,033
K	-0,488	-0,742
Mg	-0,777	0,520
Mn	-0,732	-0,223
P	-0,702	-0,380
Zn	-0,838	0,339
Variância total (%)	51,18	24,24
Variância acumulada (%)	51,18	75,42

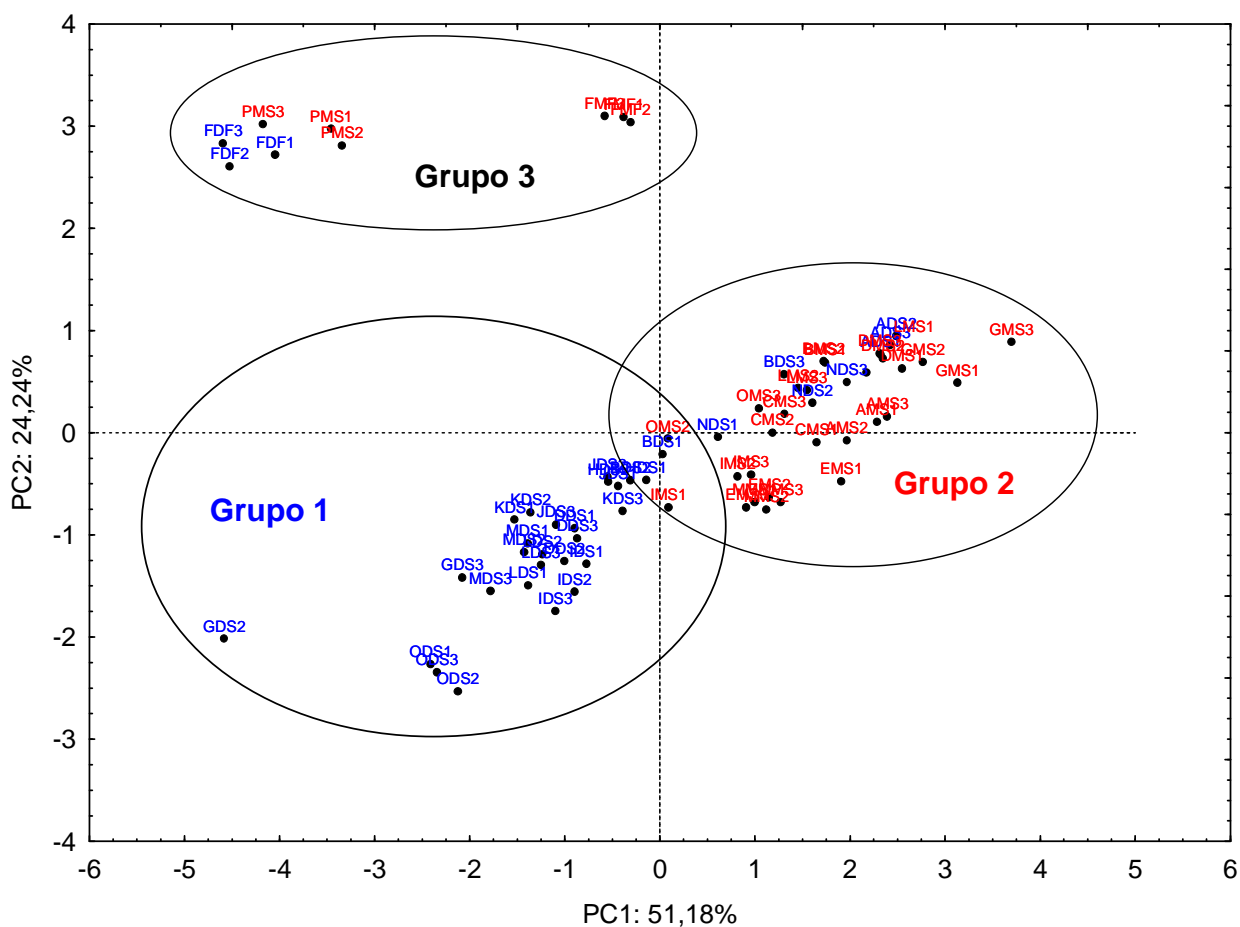
A primeira componente principal (PC1) explicou 51,18% da variância total dos dados, obtendo como principais variáveis as concentrações de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn com pesos próximos de sinais negativos, mostrando uma correlação entre os elementos. Já na segunda componente principal (PC2) obteve 24,24% da variabilidade dos dados tendo como variáveis predominantes a concentração de Ca e Mg

com pesos com valor positivos em relação as concentrações de K com pesos com valor negativo, mostrando uma tendência inversa para as concentrações desses elementos nas amostras de linhaça.

Examinando a Figura 6, que representa o gráfico de escores da PC1 versus PC2 das amostras de linhaça, pode-se observar uma separação em três grupos a partir da composição química das variedades das amostras analisadas. O Grupo 1 se encontra no terceiro quadrante, sendo governado pelas concentrações de todos os elementos (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn) presentes na PC1. Já o Grupo 2, que se encontra distribuídas no segundo e quarto quadrante, apresenta as amostras da variedade marrom e uma separação não tão nítida em relação as amostras douradas, porém aglomeram-se pelas menores concentrações de todos os elementos, principalmente K. Por fim, as amostras FMF, FDF e PMS, encontram-se no primeiro quadrante se diferenciando de todas as outras amostras pelas elevadas concentrações de cálcio encontradas na sua composição.

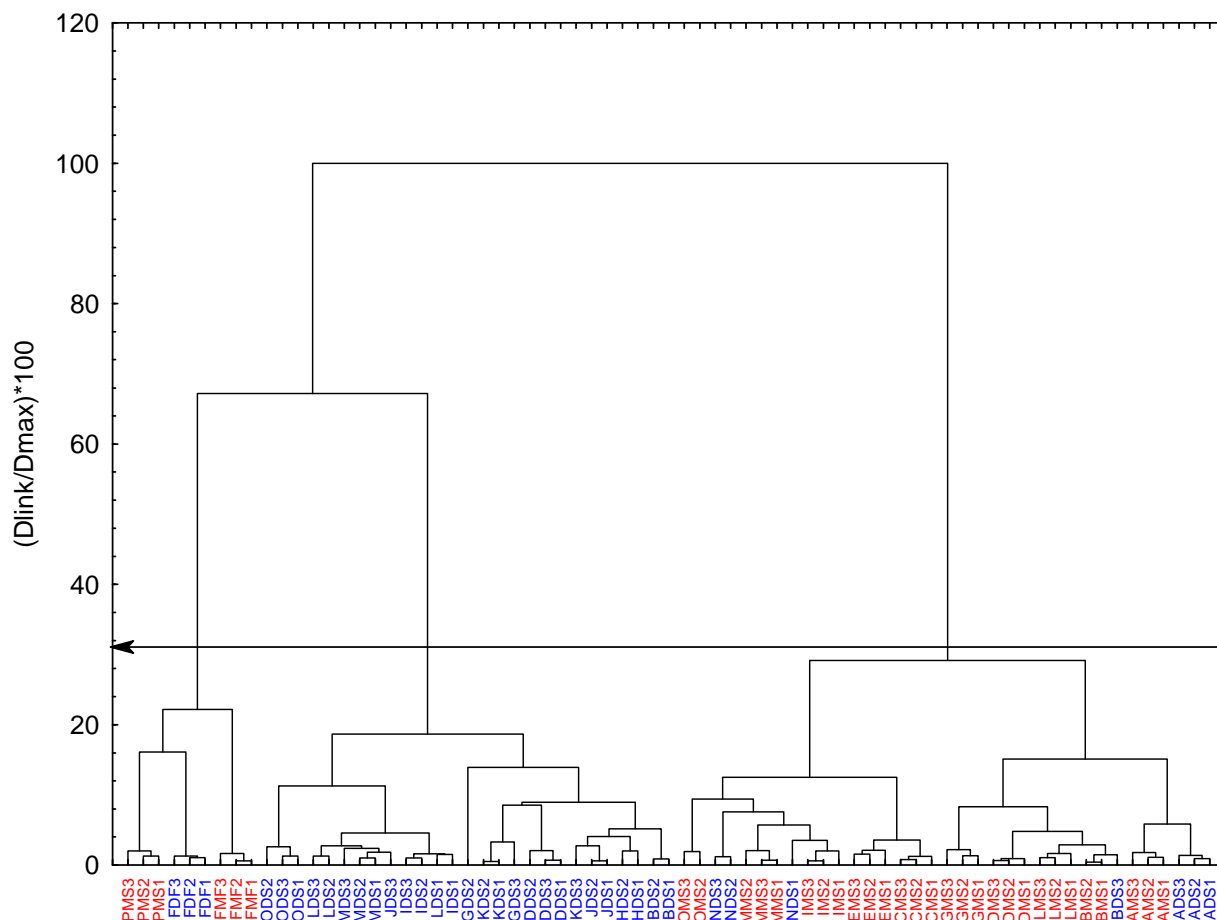
As amostras douradas estão separadas no Grupo 1 e as amostras marrons no Grupo 2, exceto as amostras ADS, BDS e NDS. As duas primeiras amostras são provenientes de estados diferentes, sendo a amostra ADS oriunda do estado de SP, enquanto a amostra NDS é oriunda do estado da BA. Já a amostra NDS não foi encontrado seu local de origem, porém pode-se supor que há condições de cultivo similares entre elas e bem próximas das características das linhaças marrons. O Grupo 3 é formado pelas farinhas e pela amostra PMS, esta última produzida no estado do RJ.

Figura 6. Gráfico de Scores PC1 x PC2 para as amostras de linhaça analisadas.



Aplicou-se também a matriz de dados supracitada a análise de agrupamento hierárquico (HCA) que corroborou com as informações obtidas na PCA. Na Figura 7 mostra o dendograma formado pelas amostras de linhaça. Pode-se observar também a formação de três grupos. O primeiro grupo formado pelas amostras FMF, FDF e PMS, com elevadas concentrações de cálcio. O segundo grupo formado somente pelas amostras douradas e o terceiro grupo formado pelas amostras marrons com algumas amostras douradas (NDS e ADS). A amostra ADS tem como estado de origem São Paulo, enquanto que não se sabe o local de origem do cultivo da amostra NDS, como apresentaram semelhanças entre si, pode-se supor que a amostra NDS e ADS tem condições de cultivo similares

Figura 7. Dendrograma obtido para amostras de linhaça submetidas à HCA.



Para a construção da matriz de dados nas amostras de gergelim, aplicou-se 8 variáveis, sendo os minerais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn) como colunas e 47 amostras como linhas (8x47), levando em consideração algumas triplicatas e/ou duplicatas das amostras. O autoescalonamento foi usado como pré-processamento dos dados com a finalidade de obter a mesma importância para todas as variáveis. Para as amostras de gergelim, as três primeiras componentes principais somaram uma variabilidade total de 77,39%, sendo que, a PC1 explicou 29,85% da variância dos dados tendo como pesos principais as concentrações de Cu (-0,796), Zn(-0,815) e Mg (+0,621). A PC2 obteve 26,76% da variabilidade dos dados com pesos positivos para as concentrações de Fe(0,693), K(0,660), Mg(0,660) e P(0,791). Por fim a PC3 apresentou 20,78% da variância, dominada pela concentração de cálcio como

maior peso (-0,834). A Tabela 17 mostra os pesos, a variância total e o acúmulo de variância para as três primeiras PCs.

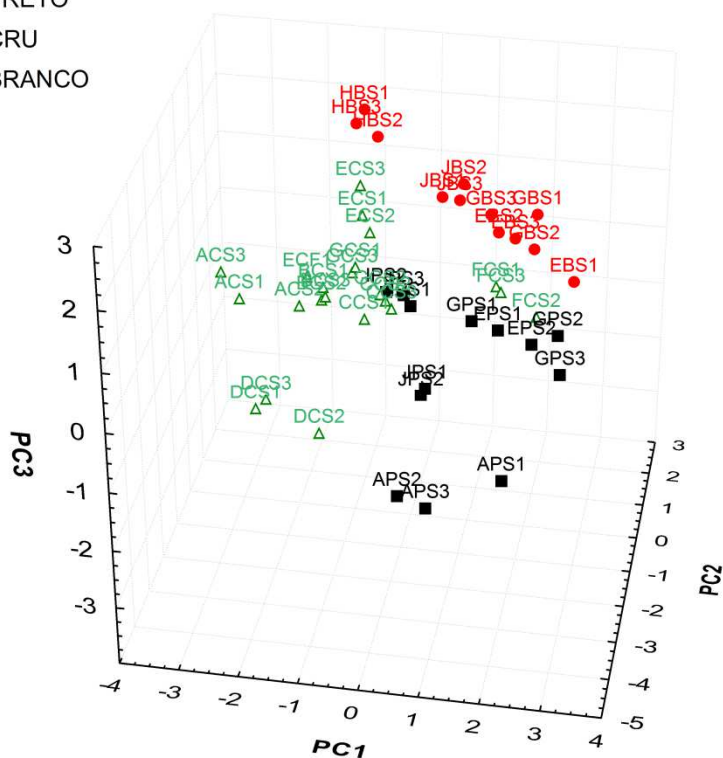
Tabela 17. Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais para os resultados das amostras de gergelim.

Variáveis	PC1	PC2	PC3
Ca	-0,336	0,073	-0,834
Cu	-0,796	-0,267	0,449
Fe	-0,259	0,693	-0,383
K	-0,481	0,660	0,097
Mg	0,621	0,660	0,096
Mn	-0,499	0,228	-0,468
P	0,213	0,791	0,432
Zn	-0,815	0,190	0,442
Variância total (%)	29,85	26,76	20,78
Variância acumulada (%)	29,85	56,61	77,39

A Figura 8 representa o gráfico de escores em três dimensões das amostras de gergelim para as três variedades (branco, preto e cru) analisadas neste estudo. Pode-se observar uma separação espacial para as três variedades com tendências de agrupamentos entre as amostras de gergelim branco (círculos vermelhos), na parte superior do gráfico, em relação à esquerda onde se encontram a maior parte das amostras de gergelim cru (triângulos verdes) e a direita as amostras de gergelim preto (quadrados pretos).

Figura 8. Gráfico de Scores PC1 x PC2 x PC3 em três dimensões para as amostras de gergelim analisadas.

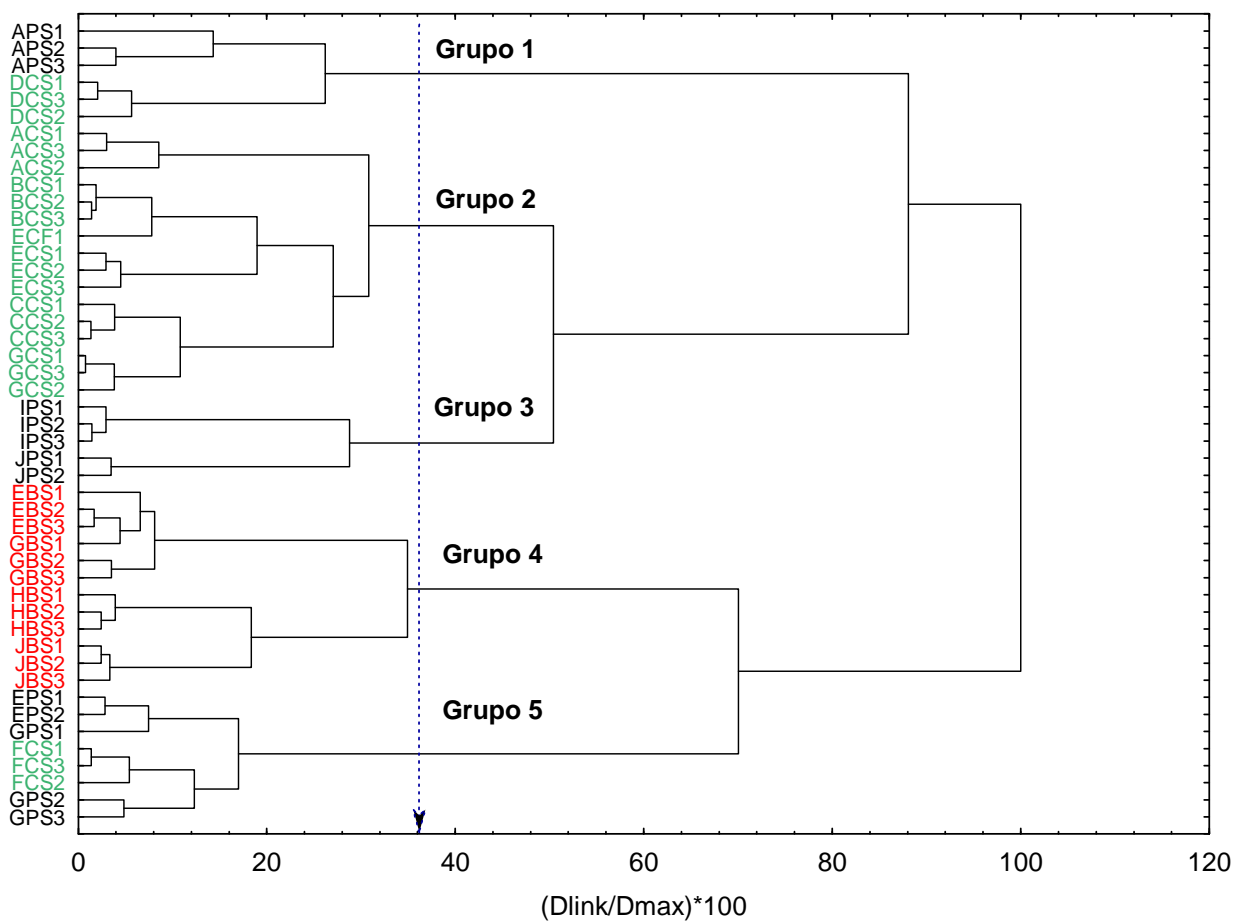
- GERGELIM PRETO
- △ GERGELIM CRU
- GERGELIM BRANCO



A matriz de dados construída (8x47) também foi aplicada para as amostras de gergelim nas três variedades. No dendograma apresentado na Figura 9 pode-se observar a formação de 5 grupos distintos. O Grupo 1 constitui-se pelas amostras APS e DCS que apesar de serem de variedades diferentes e estados de origem diferentes (São Paulo e Minas Gerais, respectivamente) apresentaram semelhanças entre si. No Grupo 2 composto por 90% das amostras de gergelim cru apresentam-se com a mesma similaridade. O Grupo 3 foi formado somente pelas amostras de gergelim preto JPS e IPS, estas amostras foram adquiridas em diferentes locais no Estado da Bahia, no entanto, não foi possível obter informações do estado de origem das mesmas, por conta disso pode-se esperar que tenham sido cultivadas no mesmo local. O grupo 4 formado na íntegra pelas amostras de gergelim brancas, e por fim o Grupo 5 contida pelas amostras de gergelim cru, FCS, provenientes do Estado do Rio de Janeiro e as duas marcas de amostra de gergelim preta EPS e GPS. A pri-

meira cultivada na Bahia e a segunda cujo local é desconhecido, podendo supor novamente um mesmo local de cultivo para ambas amostras. O gergelim branco se diferencia mais na composição quando comparada com as outras variedades de gergelim, principalmente em relação ao elemento cálcio. No geral, pode-se observar uma tendência de similaridade entre as amostras de diferentes variedades analisadas com uma pequena dispersão entre elas.

Figura 9. Dendrograma obtido para as amostras de gergelim submetidas à HCA.



4.2 Avaliação da bioacessibilidade utilizando método *in vitro* SBET

Realizou-se a avaliação da bioacessibilidade através do método *in vitro* SBET, adaptado de Oomen *et al.* (2002). Neste trabalho foi feita simulações apenas do suco gástrico. Esses ensaios superestimam a bioacessibilidade por conta do baixo pH do meio e pela ausência da fase intestinal. Segundo Bosso e Enzweiler (2008), os resultados obtidos nesses testes, apesar de superestimar a biodisponibilidade, são reprodutíveis e obtidos de maneira confiável e rápida.

4.2.2 Validação do procedimento de extração

A validação do procedimento de extração utilizando o método *in vitro* SBET foi realizada através dos seguintes parâmetros de desempenho: limites de detecção e de quantificação, linearidade e faixa dinâmica linear e precisão. A avaliação da exatidão do método é algo que ainda demanda estudos, por conta disso, a exatidão foi feita apenas para o teor total dos analitos utilizando CRM adequado.

4.2.2.1 Limites de detecção e de quantificação

Os resultados obtidos para os LOD e LOQ, referentes ao procedimento de extração empregando método *in vitro* SBET, expressos em mg L⁻¹ e µg g⁻¹, estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Limite de detecção e quantificação para a determinação dos analitos por ICP OES, após extração pelo método *in vitro* SBET.

Analitos	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ(mg L ⁻¹)	LOD(µg g ⁻¹)	LOQ (µg g ⁻¹)
Ca	0,13	0,45	53,9	179,6
Cu	0,003	0,009	1,0	3,5
Fe	0,01	0,02	2,2	7,2
K	0,04	0,14	16,2	54,1
Mg	0,03	0,09	11,2	37,3
Mn	0,002	0,006	0,7	2,3
Na	0,001	0,005	0,6	1,9
P	0,15	0,49	58,6	195,3
Zn	0,006	0,022	2,6	8,6

4.2.2.2 Linearidade e faixa dinâmica linear

A Tabela 19 apresenta os resultados das curvas analíticas de calibração para determinação dos analitos nas amostras de linhaça e gergelim, após extração pelo método *in vitro* SBET.

Tabela 19. Curvas analíticas de calibração para determinação dos analitos nas amostras de linhaça por ICP OES, após extração pelo método *in vitro* SBET.

Analitos	Equação da reta	R ²	Faixa dinâmica (mg L ⁻¹)
Ca	$y = 8574x + 19187$	0,9992	0,45 a 200
Cu	$y = 10762x + 2402,4$	0,9993	0,009 a 5,0
Fe	$y = 17276x + 1430,3$	0,9995	0,02 a 5,0
K	$y = 13317x + 29854$	0,9986	0,14 a 300
Mg	$y = 59926x + 18536$	0,9996	0,09 a 200
Mn	$y = 67533x + 302,47$	0,9995	0,006 a 5,0
P	$y = 39,261x + 96,026$	0,9999	0,49 a 300
Zn	$y = 170116x + 393,78$	0,9991	0,022 a 5,0

ANVISA (1998)

4.2.2.3 Precisão

Nestes ensaios, foram empregadas as amostras AMS10 e ACS10. A estimativa do coeficiente de variância (CV) no procedimento de extração pelo método *in vitro* para os elementos estão apresentados na Tabela 20 e Tabela 21 para as amostras de linhaça e gergelim, respectivamente. Os valores do coeficiente de variância para as amostras de linhaça dourada e gergelim branco e preto no tempo de moagem de 10 segundos, bem como no de 60 segundos e na farinha, foram iguais ou inferiores aos apresentados nas Tabelas 20 e 21.

Tabela 20. Resultados do teste de repetitividade nas amostras de linhaça marrom para o tempo de moagem de 10 segundos para determinações por ICP OES (n=10).

Analitos	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão	Coeficiente de variância (%)
Ca	1584,7	122,2	7,7
Cu	7,0	0,4	5,8
Fe	15,1	1,1	7,6
K	5574,0	547,1	9,8
Mg	2123,1	180,5	8,5
Mn	10,7	0,9	8,9
P	5602,9	511,4	9,1
Zn	28,9	1,3	4,6

Tabela 21. Resultados do teste de repetitividade nas amostras de gergelim cru para o tempo de moagem de 10 segundos para determinações por ICP OES (n=10).

Analitos	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão	Coeficiente de variância (%)
Ca	6232,7	548,9	8,8
Cu	6,7	0,6	8,8
Fe	26,2	2,5	9,5
K	5297,2	424,7	8,0
Mg	2516,8	237,2	9,4
Mn	8,5	0,6	6,7
P	3988,9	252,4	6,3
Zn	48,1	4,3	9,0

4.2.3 Aplicação do procedimento de extração utilizando método *in vitro* SBET nas amostras de linhaça e gergelim

O procedimento de extração utilizando o método *in vitro* SBET, adaptado de Oomen *et al.* (2002), foi aplicado para determinação da bioacessibilidade de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES em todas as amostras de sementes de linhaça e gergelim trituradas em dois diferentes tempos de moagem (10 e 60 segundos) e também foi aplicado nas amostras de farinha. O tempo de 10 segundos foi escolhido para simular a trituração da mastigação e o tempo de 60 segundos foi escolhido para obtenção da farinha. O tempo de 60 segundos foi o tempo máximo de trituração, de forma que as amostras de semente se assemelhassem as amostras de farinha da forma que é comercializada. Dessa maneira, pretende-se avaliar a bioacessibilidade de micronutrientes em linhaça e gergelim exatamente como são consumidas pela população, seja na forma de semente ou farinha e verificar se há diferença na bioacessibilidade nessas duas formas de ingestão.

As amostras foram extraídas em triplicata conforme procedimento descrito nos itens 3.3.3 e 3.4.2. Para obtenção dos resultados em percentuais de bioacessibilidade, dividiu-se o teor bioacessível pelo teor total e multiplicou-se por 100, conforme mostrado na Equação 1. Os resultados da bioacessibilidade dos micronutrientes para todas as amostras de linhaça e gergelim estão apresentados nas Tabelas 24 (Parte 1 e 2) e 25 (Parte 1 e 2), respectivamente.

$$\text{Equação 1. Bioacessibilidade (\%)} = \frac{\text{Teor bioacessível}}{\text{Teor total}} \times 100$$

Em geral, na Tabela 22 (Parte 1 e 2), o elemento com maior percentual de bioacessibilidade nas amostras de linhaça marrom e dourada foi Ca, seguido de Mg, Zn e K. Já o elemento de menor percentual de bioacessibilidade foi Fe, seguido de Mn, Cu e P. Os valores percentuais de bioacessibilidade acima de 100% podem ser justificados pelo fato das amostras de linhaça e gergelim não serem exatamente iguais à amostra do CRM utilizado e por conta disso apresentarem uma pequena diminuição nas concentrações dos teores totais dos analitos.

Na maioria das amostras de linhaça e gergelim para os elementos estudados, observa-se uma tendência dos percentuais para as amostras trituradas no tempo de 10 segundos serem menores do que as trituradas no tempo de 60 segundos. Isso pode ser justificado pelo fato das sementes trituradas no menor tempo de moagem apresentarem uma menor superfície de contato e, portanto menor contato com a solução extratora. Nota-se também que os valores para as amostras de farinha são similares quando comparados com as amostras moídas no tempo de 60 segundos. Já era esperado percentuais semelhantes para as amostras de farinha e àquelas trituradas no maior tempo, uma vez que esse último tempo foi realizado no intuito de obter proximidade com a forma da farinha comercializada.

Para os elementos que apresentaram menores percentuais de bioacessibilidade a diferença entre os tempos de moagem de 10 e 60 segundos são mais acentuadas e significativas (aplicando-se ANOVA) do que aqueles cujos percentuais de bioacessibilidade foram predominantes. Então, ao aplicar análise de variância ao nível de confiança de 95%, observa-se que para o elemento Fe, Cu, Mn e P, em todas as amostras de linhaça e gergelim os percentuais de bioacessibilidade foram menores no menor tempo de moagem do que no maior. Já em relação aos elementos que apresentaram maiores percentuais de bioacessibilidade a diferença nos tempos de moagem não foi significativa para a maioria das amostras. Portanto, há diferença na bioacessibilidade de microelementos quanto ao tipo de ingestão desses alimentos, sendo maior a bioacessibilidade quando se ingere a linhaça ou gergelim na forma de farinha.

Para o elemento Cana maioria das amostras de linhaça e em diferentes tempos de moagem a bioacessibilidade foi superior a 73%, chegando próximo de 100% para quase todas as amostras, com exceção de FMF e PMS que apresentaram valores próximos de 50%. Comparando-se as amostras FMF e FDF notou-se que os valores para a amostra dourada foram praticamente o dobro da amostra marrom. No trabalho de Tognon (2012) foi avaliado a bioacessibilidade de micro e macro elementos em frutas, hortaliças e cereais e também foram encontrados valores próximos de 100% para a bioacessibilidade de cálcio na maioria dos alimentos estudados, principalmente, na quinoa e no amaranto que são sementes como a linhaça e o gergelim.

Os resultados presentes na Tabela 22 (Parte1 e 2) evidenciam que o cobre possui uma bioacessibilidade considerável chegando até próximo de 78%, a depender das marcas de amostras avaliadas, observou-se baixas bioacessibilidades para Cu, de aproximadamente 35%, como é o caso da amostra EMS10 e AMS10. Esses baixos valores quando comparados com as demais marcas podem ser justificados pelo fato das amostras marrons apresentarem menores valores de bioacessibilidade do que as douradas, devido a maior rigidez da sua casca e também por ter sido trituração no menor tempo de moagem, na qual simulou a ingestão da linhaça na forma de semente.

O ferro foi o elemento que apresentou menores percentuais de bioacessibilidade quando comparados com todos os outros elementos para todas as amostras de linhaça e gergelim. Alimentos como a semente de linhaça e de gergelim, oleaginosas, apresentam em sua composição teores de ácido fítico maiores do que em outros alimentos que não são oleaginosas (SANDBERG, 2002). As concentrações de fitatos nesses alimentos variam de 1 a 3% em massa e estes podem exercer influência sobre a bioacessibilidade de alguns minerais como Fe, Mn, Cu e Ca reduzindo a liberação desse elemento durante a digestão (TOGNON, 2012). Neste trabalho, foi possível perceber baixos valores de bioacessibilidade em algumas amostras para os elementos Mn e Cu, mas esses valores foram mais evidenciados para o Fe e não houve evidências da influência dos fitatos para o elemento Ca. Os fitatos são derivados do ácido fítico, com capacidade de formar quelantes com íons divalentes, formando complexos solúveis resistentes à solução do trato gastrointestinal, diminuindo a disponibilidade dos minerais (BENEVIDES, *et al.* 2011).

Devido à estrutura química do ácido fítico e seus fitatos existe uma capacidade de formar complexos de coordenação com diversos cátions (Mn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+}) e isso faz com haja uma redução da liberação dos cátions desses elementos durante a digestão. Segundo Vohra (1965), a interação dos complexos formados entre os fitatos e cátions são mais fortes nos cátions de manganês e ferro do que nos cátions de cobre e zinco. Essas informações estão concordantes com os resultados apresentados neste trabalho, no qual foram evidenciados menores percentuais de bioacessibilidade para Fe e Mn do que para Cu e Zn.

Os percentuais de bioacessibilidade para Mg foi em torno de 100% para a maioria das amostras analisadas, podendo ser menor a depender da marca estudada, visto que o local da origem de cultivo são variadas. Observou-se percentuais consideráveis para K (40 a 80%) e P (30 a 80%) na maioria das amostras de linhaça e para K (73 a 119) e P (24 a 73) na maioria das amostras de gergelim, porém valores mais baixos de bioacessibilidade foram encontrados para fósforo do que para potássio nas duas amostras. De acordo com Cozzolino (2005), a bioacessibilidade de fósforo na maioria dos alimentos é alta, porém esses valores podem ser reduzidos devido à presença de ácido fítico em alguns alimentos, por conta da dificuldade dos grupos fosfatos nestes compostos serem hidrolisados durante a digestão.

Em geral, na Tabela 23 (Parte 1 e 2), os elementos com menor e maior predominância de bioacessibilidade nas amostras de gergelim foram similares aos apresentados para as amostras de linhaça. Em relação ao elemento Ca, apesar do gergelim branco ter apresentado concentração total de cálcio 16 vezes menor do que nas amostras de gergelim preto e cru, por apresentar menor teor de oxalato, observou-se valores de bioacessibilidade consideráveis para essa variedade, mostrando que não houve influência da menor concentração de cálcio nessa variedade em relação a sua bioacessibilidade quando comparada com as outras variedades de gergelim.

Foram obtidos resultados semelhantes para a bioacessibilidade de micronutrientes nas amostras de linhaça e nas amostras de gergelim. Esses resultados sugerem que a aplicação de testes *in vitro* para simular as condições gástricas demonstrou que, em alguns casos, a menor fração da quantidade total do nutriente nesses alimentos é potencialmente bioacessível podendo ser absorvidos pelo organismo. Estudos mais aprofundados sobre a bioacessibilidade dos elementos podem ser obtidos através da aplicação de outros testes *in vitro* como é o caso do PBET, no qual leva em consideração o compartimento intestinal.

Tabela 22 (PARTE 1). Bioacessibilidade, em %, para as amostras de linhaça em diferentes tempos de moagem e farinha.

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
AMS60	74,0 ± 3,0	45,7 ± 0,6	27,2 ± 1,9	70,2 ± 1,2	72,5 ± 1,7	58,0 ± 1,0	44,4 ± 2,2	89,3 ± 3,0
AMS10	92,1 ± 2,5	36,4 ± 4,2	21,2 ± 0,1	78,9 ± 2,1	76,3 ± 4,6	59,6 ± 4,3	37,2 ± 2,0	94,0 ± 7,0
AMF	101,0 ± 9,5	41,0 ± 1,1	22,9 ± 1,9	80,5 ± 1,3	83,8 ± 6,1	63,9 ± 4,5	43,5 ± 2,4	115,9 ± 7,8
ADS60	100,6 ± 7,3	73,9 ± 9,8	24,8 ± 2,5	78,8 ± 4,7	86,0 ± 7,9	63,3 ± 3,5	62,4 ± 6,0	104,3 ± 8,1
ADS10	99,6 ± 5,0	75,4 ± 4,1	25,8 ± 1,3	83,1 ± 0,1	88,8 ± 1,3	68,1 ± 1,2	62,1 ± 0,9	116,0 ± 3,6
ADF	123,2 ± 3,2	68,1 ± 3,5	23,6 ± 2,0	83,3 ± 0,7	99,3 ± 2,7	57,3 ± 1,1	66,1 ± 1,6	110,4 ± 3,9
BMS60	113,6 ± 9,3	77,9 ± 2,2	48,8 ± 1,3	68,4 ± 3,8	118,5 ± 2,8	74,9 ± 4,3	48,4 ± 0,9	103,3 ± 3,7
BMS10	105,8 ± 9,8	59,3 ± 5,6	35,0 ± 4,8	65,3 ± 4,2	109,9 ± 6,4	63,7 ± 5,8	40,0 ± 3,0	98,3 ± 3,4
BDS60	103,3 ± 7,2	64,7 ± 6,6	41,8 ± 5,8	72,7 ± 7,3	111,6 ± 8,4	43,4 ± 5,6	41,2 ± 4,3	100,1 ± 7,2
BDS10	93,7 ± 2,5	51,5 ± 5,4	30,9 ± 3,9	68,3 ± 1,1	108,7 ± 5,2	38,7 ± 4,4	35,5 ± 3,2	82,9 ± 5,2
CMS60	103,6 ± 8,1	74,1 ± 3,7	46,8 ± 1,5	66,1 ± 3,6	109,3 ± 4,5	69,2 ± 3,7	47,3 ± 1,4	94,1 ± 2,3
CMS10	100,8 ± 8,6	51,8 ± 4,1	31,1 ± 7,6	62,3 ± 8,3	93,0 ± 6,4	54,3 ± 6,0	33,9 ± 1,7	81,3 ± 3,3
DMS60	106,0 ± 8,8	70,8 ± 6,7	40,9 ± 5,3	63,3 ± 4,1	107,9 ± 7,5	65,8 ± 6,5	41,4 ± 4,1	95,5 ± 5,5
DMS10	108,1 ± 5,3	57,7 ± 7,2	31,6 ± 6,0	64,3 ± 6,4	101,7 ± 5,9	61,9 ± 6,2	33,0 ± 1,7	81,9 ± 5,5
DDS60	109,2 ± 6,4	65,2 ± 2,6	35,9 ± 2,3	59,2 ± 4,4	106,1 ± 6,9	93,7 ± 8,9	41,6 ± 2,4	102,2 ± 5,7
DDS10	107,9 ± 1,9	44,5 ± 4,3	23,3 ± 3,1	57,5 ± 2,0	95,0 ± 5,5	85,5 ± 7,5	31,5 ± 2,4	89,7 ± 6,4
EMS60	102,1 ± 7,6	41,5 ± 3,5	48,0 ± 2,3	50,5 ± 0,5	107,2 ± 5,0	75,5 ± 4,8	39,4 ± 2,9	98,8 ± 5,5
EMS10	75,2 ± 1,2	34,3 ± 1,0	36,5 ± 1,0	40,3 ± 0,2	85,5 ± 6,7	56,4 ± 1,2	34,1 ± 1,7	79,1 ± 6,7
FMF	49,7 ± 4,3	69,4 ± 3,8	35,4 ± 2,9	70,3 ± 6,0	72,5 ± 7,2	37,4 ± 4,3	83,0 ± 4,8	47,4 ± 5,5
FDF	81,9 ± 0,4	62,4 ± 0,1	31,8 ± 2,9	69,4 ± 3,0	66,4 ± 6,0	43,0 ± 6,0	82,1 ± 8,5	50,3 ± 4,4
GDS60	96,6 ± 7,6	51,0 ± 4,6	22,0 ± 0,3	63,6 ± 4,0	94,5 ± 8,9	37,6 ± 2,6	40,9 ± 3,5	60,2 ± 5,4
GDS10	92,2 ± 5,5	40,0 ± 2,4	14,4 ± 1,1	59,3 ± 3,7	84,5 ± 0,6	31,2 ± 0,9	31,4 ± 3,0	50,0 ± 5,6
GDF	88,1 ± 2,5	46,4 ± 4,3	20,8 ± 0,8	60,6 ± 2,1	92,1 ± 2,9	36,7 ± 2,6	45,0 ± 3,3	55,2 ± 2,6
GMS60	92,3 ± 2,9	69,7 ± 7,2	35,9 ± 4,7	60,0 ± 4,5	84,8 ± 8,3	37,0 ± 6,0	44,3 ± 4,7	68,6 ± 2,5
GMS10	105,6 ± 8,4	57,0 ± 4,0	21,6 ± 1,8	59,3 ± 3,8	84,6 ± 5,3	25,8 ± 0,8	37,8 ± 2,8	72,7 ± 1,1
GMF	82,0 ± 1,1	46,1 ± 0,02	20,5 ± 0,3	70,9 ± 7,9	73,3 ± 2,0	23,6 ± 1,6	37,4 ± 0,8	72,8 ± 5,3
HDS60	100,0 ± 3,9	65,2 ± 4,3	38,3 ± 2,2	62,8 ± 2,2	103,3 ± 7,2	43,3 ± 3,3	60,3 ± 4,1	72,9 ± 5,0
HDS10	92,9 ± 6,0	56,2 ± 5,3	31,5 ± 2,2	60,0 ± 2,2	94,8 ± 6,1	37,1 ± 2,3	49,1 ± 4,1	64,2 ± 4,0
FAIXA	49,7 - 123,2	34,3 - 77,9	20,5 - 48,8	40,3 - 83,3	73,3 - 118,5	23,6 - 93,7	31,4 - 83,0	47,4 - 116,0

A a H – MARCA/ D – DOURADA/ M – MARROM/ S – SEMENTE/ F – FARINHA/ 10 – 10 SEGUNDOS/ 60 – 60 SEGUNDOS

Tabela 22 (PARTE 2).Bioacessibilidade,em %, para as amostras de linhaça em diferentes tempos de moagem e farinha.

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
IMS60	92,0 ± 8,0	68,6 ± 4,0	36,6 ± 2,6	65,2 ± 3,1	100,3 ± 6,4	46,9 ± 4,3	65,7 ± 3,6	85,5 ± 5,2
IMS10	94,0 ± 3,6	58,6 ± 8,4	27,9 ± 1,5	65,7 ± 2,1	98,2 ± 6,9	44,4 ± 4,1	60,3 ± 4,1	94,3 ± 5,9
IDS60	91,8 ± 5,1	61,1 ± 2,9	39,3 ± 1,4	55,5 ± 2,9	94,7 ± 3,3	46,4 ± 3,0	63,6 ± 1,9	73,6 ± 2,7
IDS10	89,7 ± 2,8	56,9 ± 3,1	28,9 ± 2,4	53,8 ± 2,0	93,7 ± 4,5	44,2 ± 2,7	55,3 ± 2,5	73,7 ± 2,7
JDS60	87,3 ± 3,7	61,5 ± 1,3	36,5 ± 0,6	60,4 ± 1,5	93,9 ± 3,4	45,4 ± 1,9	63,6 ± 1,2	77,5 ± 3,2
JDS10	91,0 ± 6,7	46,2 ± 6,2	24,6 ± 1,9	59,2 ± 3,3	86,9 ± 7,6	37,6 ± 0,8	50,2 ± 3,1	61,4 ± 5,9
KDS60	86,8 ± 7,3	63,6 ± 4,4	40,4 ± 2,3	59,1 ± 4,2	96,8 ± 8,3	44,4 ± 5,2	66,1 ± 4,6	65,8 ± 4,1
KDS10	86,7 ± 4,4	51,5 ± 1,7	26,3 ± 0,8	58,0 ± 2,9	91,5 ± 3,4	41,5 ± 2,2	53,7 ± 2,0	63,7 ± 4,6
LDS60	90,2 ± 7,1	59,5 ± 5,2	38,2 ± 3,8	55,7 ± 5,4	88,7 ± 5,9	43,2 ± 3,2	66,1 ± 6,8	76,4 ± 4,8
LDS10	83,4 ± 5,0	50,6 ± 3,9	25,8 ± 2,0	54,1 ± 1,5	85,4 ± 3,1	38,6 ± 2,5	54,3 ± 1,3	65,5 ± 6,0
LMS60	98,4 ± 2,8	75,3 ± 3,5	64,3 ± 2,9	62,9 ± 3,0	102,6 ± 7,0	44,8 ± 0,9	74,6 ± 5,4	88,3 ± 5,5
LMS10	103,4 ± 1,0	59,1 ± 7,3	35,3 ± 5,1	64, 8 ± 3,9	100,2 ± 7,1	41,2 ± 3,8	60,2 ± 5,7	82,4 ± 2,5
MMS60	91,5 ± 6,7	69,5 ± 4,6	46,4 ± 3,1	64,9 ± 4,8	101,7 ± 9,7	44,0 ± 2,5	76,9 ± 6,1	102,7 ± 4,3
MMS10	87,7 ± 1,1	48,3 ± 0,5	23,7 ± 0,9	61,7 ± 7,4	91,8 ± 3,3	34, 9 ± 3,1	60,1 ± 3,0	88,4 ± 0,7
MDS60	88,0 ± 3,0	55,3 ± 0,8	43,0 ± 2,1	56,8 ± 3,1	94,8 ± 2,6	46,5 ± 1,4	63,1 ± 0,2	84,1 ± 4,6
MDS10	93,5 ± 4,6	42,6 ± 2,5	24,1 ± 2,5	58,7 ± 1,4	91,4 ± 4,0	45,4 ± 3,3	51,4 ± 5,4	70,4 ± 0,8
NDS60	86,3 ± 6,1	58,6 ± 5,2	47,9 ± 2,7	59,2 ± 2,9	93,0 ± 9,6	36,8 ± 1,9	65,6 ± 5,2	103,6 ± 3,2
NDS10	91,9 ± 3,1	44,4 ± 4,0	30,5 ± 2,7	61,0 ± 3,4	93,8 ± 6,2	35,1 ± 1,7	54,4 ± 4,5	92,2 ± 0,6
NDF	79,3 ± 5,2	52,0 ± 5,3	33,2 ± 2,0	57,3 ± 3,2	91,8 ± 6,1	33,2 ± 1,1	62,2 ± 2,8	103,7 ± 12,6
ODS60	79,3 ± 4,6	54,9 ± 5,5	32,3 ± 3,5	57,1 ± 3,3	90,5 ± 7,9	49,5 ± 4,8	64,1 ± 4,2	68,3 ± 5,8
ODS10	84,4 ± 3,7	44,8 ± 3,2	21,8 ± 0,9	55,1 ± 1,5	88,8 ± 4,1	47,7 ± 1,3	54,7 ± 3,4	77,2 ± 2,4
ODF	81,9 ± 6,3	54,6 ± 1,7	29,4 ± 2,0	54,8 ± 2,5	91,8 ± 6,1	49,2 ± 3,9	63,7 ± 2,4	75,0 ± 0,7
OMS60	97,6 ± 7,5	67,0 ± 5,1	53,0 ± 2,8	61,7 ± 4,0	97,4 ± 9,1	44,9 ± 1,7	80,7 ± 7,9	82,0 ± 4,8
OMS10	94,1 ± 2,0	56,1 ± 2,9	42,5 ± 3,4	60,2 ± 5,0	93,0 ± 7,6	43, 1 ± 1,3	68,9 ± 4,6	87,3 ± 8,8
OMF	101,5 ± 5,1	69,1 ± 6,7	48,0 ± 4,7	67,4 ± 3,5	104,1 ± 9,2	50,2 ± 2,4	83,6 ± 8,7	87,7 ± 8,5
PMS60	53,3 ± 3,6	60,0 ± 6,2	38,3 ± 3,7	74,8 ± 3,0	75,0 ± 5,7	62,7 ± 5,5	86,5 ± 6,3	51,2 ± 3,7
PMS10	51,3 ± 4,0	49,1 ± 6,2	31,2 ± 6,0	72,3 ± 4,9	66,4 ± 8,5	52,3 ± 6,6	69,9 ± 5,0	45,5 ± 7,2
FAIXA	51,3 - 103,4	42,6 - 75,3	21,8 - 64,3	53,8 - 74,8	66,4 - 104,1	33,2 - 62,7	50,2 - 86,5	45,5 - 103,7

I a P – MARCA/ D – DOURADA/ M – MARROM/ S – SEMENTE/ F – FARINHA/ 10 – 10 SEGUNDOS/ 60 – 60 SEGUNDOS

Tabela 23 (PARTE 1). Bioacessibilidade, em %, para as amostras de gergelim em diferentes tempos de moagem e farinha.

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
APS60	101,8 ± 7,8	75,5 ± 2,9	36,1 ± 2,4	86,9 ± 4,5	102,7 ± 4,8	59,3 ± 4,0	68,9 ± 3,2	79,7 ± 3,7
APS10	86,5 ± 8,1	61,3 ± 4,5	25,0 ± 3,0	79,5 ± 3,0	90,3 ± 10,6	53,4 ± 3,4	54,6 ± 3,7	70,7 ± 6,5
ACS60	111,2 ± 3,4	73,0 ± 1,3	56,2 ± 1,6	81,2 ± 2,3	125,7 ± 0,4	80,3 ± 1,1	56,5 ± 1,1	75,8 ± 1,8
ACS10	99,4 ± 2,9	47,9 ± 8,5	33,1 ± 3,8	66,0 ± 8,2	87,9 ± 9,7	61,8 ± 9,2	37,1 ± 7,3	57,9 ± 9,6
BCS60	115,4 ± 10,3	73,9 ± 7,1	38,5 ± 5,1	84,8 ± 6,8	123,6 ± 7,2	69,8 ± 10,0	54,0 ± 6,3	78,2 ± 8,4
BCS10	98,3 ± 8,4	41,1 ± 5,2	15,7 ± 2,6	64,8 ± 6,9	93,0 ± 6,4	43,7 ± 6,9	27,7 ± 4,0	50,3 ± 6,9
CCS60	108,4 ± 8,6	81,8 ± 7,9	55,8 ± 7,4	84,5 ± 4,9	126,7 ± 7,9	77,4 ± 9,0	57,1 ± 6,0	84,6 ± 8,0
CCS10	78,4 ± 6,7	41,0 ± 4,9	17,6 ± 1,1	63,0 ± 3,6	86,5 ± 6,5	43,3 ± 3,7	28,2 ± 3,7	50,7 ± 4,4
DCS60	96,8 ± 9,5	87,7 ± 1,3	85,1 ± 3,7	102,2 ± 2,6	102,4 ± 2,2	95,1 ± 1,4	62,7 ± 1,6	89,0 ± 8,4
DCS10	69,2 ± 10,1	61,0 ± 3,3	54,5 ± 7,2	82,7 ± 5,6	87,3 ± 3,6	77,5 ± 2,8	41,1 ± 4,6	77,4 ± 7,0
ECS60	76,4 ± 8,5	89,5 ± 12,0	43,0 ± 7,3	104,3 ± 1,1	103,6 ± 3,2	80,4 ± 6,	55,0 ± 8,0	80,6 ± 6,5
ECS10	82,4 ± 9,1	44,4 ± 3,0	35,4 ± 2,3	87,5 ± 2,0	82,0 ± 2,0	66,8 ± 4,1	43,8 ± 2,9	57,3 ± 4,4
ECF	83,3 ± 3,7	39,4 ± 7,5	29,9 ± 3,4	76, 9 ± 6,5	105,2 ± 11,5	70,7 ± 5,0	40,9 ± 4,1	49,6 ± 4,8
EBS60	48,3 ± 5,6	108,1 ± 3,9	87,1 ± 2,2	119,5 ± 4,1	105,9 ± 2,0	105,2 ± 1,1	72,6 ± 0,9	107,8 ± 2,3
EBS10	50,0 ± 4,8	57,2 ± 2,3	48,1 ± 1,6	111,1 ± 5,4	87,6 ± 2,3	79,2 ± 2,9	48,5 ± 1,2	91,7 ± 2,6
EPS60	35,8 ± 5,3	59,2 ± 3,6	54,5 ± 5,4	102,3 ± 2,2	113,1 ± 1,6	77,4 ± 4,8	59,6 ± 3,1	86,6 ± 4,4
EPS10	55,9 ± 0,7	20,0 ± 0,8	20,8 ± 0,5	75,0 ± 1,5	64,3 ± 3,0	32,2 ± 1,4	23,9 ± 1,5	50,7 ± 4,8
FAIXA	35,8 - 115,4	20,0 - 108,1	15,7 - 87,1	63,0 - 119,5	64,3 - 126,7	32,2 - 105,2	23,9 - 72,6	49,6 - 107,8

A aE – MARCA/ D – DOURADA/ M – MARROM/ S – SEMENTE/ F – FARINHA/ 10 – 10 SEGUNDOS/ 60 – 60 SEGUNDOS

Tabela 23 (PARTE 2). Bioacessibilidade, em %, para as amostras de gergelim em diferentes tempos de moagem e farinha.

Amostras	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
FCS60	85,4 ± 1,9	78,0 ± 0,7	52,5 ± 2,8	103,4 ± 2,3	102,7 ± 1,7	80,2 ± 1,4	57,6 ± 1,3	78,5 ± 0,4
FCS10	84,4 ± 1,1	46,3 ± 2,2	33,6 ± 1,2	93,1 ± 3,2	92,1 ± 3,2	70,1 ± 3,5	42,0 ± 1,3	62,7 ± 3,9
GBS60	68,6 ± 10,6	65,2 ± 6,2	49,8 ± 1,2	107,1 ± 0,9	82,3 ± 0,8	72,9 ± 2,0	52,9 ± 1,0	72,7 ± 1,5
GBS10	74,1 ± 6,5	41,7 ± 0,8	55,3 ± 2,4	111,5 ± 1,6	90,4 ± 2,9	78,8 ± 2,2	54,5 ± 1,3	74,6 ± 1,5
GPS60	55,6 ± 7,7	63,1 ± 2,6	44,3 ± 3,4	107,9 ± 2,2	109,1 ± 2,4	86,4 ± 0,5	53,3 ± 3,9	77,0 ± 7,3
GPS10	69,1 ± 0,4	62,9 ± 3,1	32,7 ± 0,4	90,0 ± 1,5	85,9 ± 2,4	67,9 ± 1,9	40,0 ± 0,8	60,4 ± 2,7
HBS60	38,8 ± 5,2	68,6 ± 4,0	58,0 ± 3,3	103,7 ± 2,5	101,6 ± 3,1	82,8 ± 3,6	46,7 ± 2,4	72,9 ± 2,4
HBS10	44,6 ± 2,2	40,7 ± 2,5	40,9 ± 1,1	99,4 ± 4,9	86,8 ± 0,2	72,1 ± 4,4	40,9 ± 2,2	65,3 ± 0,5
IPS60	76,1 ± 5,6	68,5 ± 3,0	56,9 ± 1,6	116,7 ± 1,8	110,1 ± 1,7	94,2 ± 2,9	62,8 ± 1,9	84,4 ± 1,8
IPS10	69,9 ± 7,7	20,5 ± 2,0	20,5 ± 0,8	81,6 ± 1,5	65,9 ± 2,8	58,0 ± 1,6	26,9 ± 0,9	47,0 ± 1,1
JBS60	99,6 ± 10,2	66,0 ± 0,8	51,3 ± 1,0	117,5 ± 2,3	93,6 ± 1,6	76,7 ± 1,8	56,1 ± 1,8	79,5 ± 1,4
JBS10	90,3 ± 3,0	47,8 ± 2,5	40,2 ± 0,7	117,1 ± 2,4	87,6 ± 3,0	76,3 ± 2,9	48,9 ± 0,3	70,5 ± 2,2
FAIXA	38,8 - 99,6	20,5 - 78,0	20,5 - 58,0	81,6 - 117,5	65,9 - 110,1	58,0 - 94,2	26,9 - 62,8	47,0 - 84,4

F a J – MARCA/ D – DOURADA/ M – MARROM/ S – SEMENTE/ F – FARINHA/ 10 – 10 SEGUNDOS/ 60 – 60 SEGUNDOS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição mineral e a bioacessibilidade das amostras de linhaça e gergelim variaram em relação ao tipo de variedade encontrada, marca ou forma de consumo dessas amostras. Quanto ao tipo de variedade da linhaça, podendo ser marrom ou dourada, foi possível perceber maiores concentrações totais e teores bioacessíveis para as amostra de linhaça dourada, visto que as amostras de linhaça marrom apresentam maior rigidez na sua casca. Já o gergelim encontrado em três variedades, sendo elas branca, cru e preto, para alguns elementos essas três variedades diferem muito, como é o caso do cálcio que na amostra de gergelim branco possui concentrações de cálcio 16 vezes menor do que as amostras de gergelim crua e preta.

Foram encontradas diferenças nas concentrações de um mesmo elemento para algumas marcas de amostras estudadas e isso pode ser creditado ao fato de serem produzidas em diferentes estados e o tipo de solo que foi cultivado. Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações totais de todos os elementos investigados a partir da decomposição das amostras, no que diz respeito à forma de consumo, mas foram encontradas diferenças significativas na bioacessibilidade dessas amostras quando comparadas as diferentes formas de ingestão, seja na forma de semente ou farinha. Pôde-se concluir que a bioacessibilidade é maior quando é ingerido a linhaça ou gergelim na forma de farinha do que na forma de semente.

Estes resultados encontrados para diversas marcas de amostras de linhaça e gergelim contribuem para as tabelas de composição mineral, visto que poucos trabalhos foram desenvolvidos visando à determinação de metais nessas amostras. A importância dos resultados para a bioacessibilidade desses elementos nessas amostras trazem informações nutricionais inéditas a respeito do comportamento desses analitos nas condições gástricas e sugerem percentuais das frações bioacessíveis que podem ser absorvidos pelo corpo humano. De modo geral, os resultados obtidos neste trabalho estão concordantes com aqueles apresentados na Tabela TACO e quanto ao LMT algumas amostras de linhaça e gergelim apresentaram concentrações de zinco acima do valor tolerado, merecendo maiores investigações, visto que a bioacessibilidade desse elemento foi próximo de 100%.

Não foi possível apresentar os resultados para sódio, uma vez que os valores deste elemento nas amostras do CRM estavam abaixo do LOQ do método proposto ($< 0,3 \mu\text{g g}^{-1}$). Apesar dos rótulos das embalagens da maioria das amostras de linhaça e gergelim indicarem que não possuem sódio na sua composição, pretende-se desenvolver estudos visando validar o método para este elemento, de forma a dar uma maior contribuição sobre a composição destes alimentos funcionais. Além disso, pretende-se também determinar as concentrações de elementos potencialmente tóxicos nessas amostras, bem como fazer uma avaliação da bioacessibilidade, levando em consideração as simulações da saliva e do compartimento intestinal.

6. REFERÊNCIAS

AKINYELE I.O., SHOKUMBI O.S. Comparative analysis of dry as hing wet digestion methods for the determination of trace and heavy metals in food samples. *Food Chemistry*. **173**, 682-684, 2015.

ALBA, M.D.; GALINDO-RIANO, M.D.; CASANUEVA-MARENCO, M.J.; GARCÍA-VARGAS, M.; KOSORE, C.M. Assessment of the metal pollution, potential toxicity and speciation of sediment from Algeciras Bay (South of Spain) using chemometric tools. *J. Hazard. Mater.***190**, 177–187, 2011.

ALBUQUERQUE, C.D.L., **Avaliação dos efeitos da contaminação por Cd e Pb na alface (*Lactuca Sativa L.*) hidropônica empregando métodos de reconhecimento de padrões não supervisionados: PCA e HCA**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

AL-SHERAJIA, S.H.; ISMAILA, A.; MANAP, M.Y; MUSTAFA, S.; YUSOF, R.M.; HASSAN, F.A. Prebiotics as functional foods: A review. *J. Funct. Foods***5**, 1542–1553, 2013.

ALVARENGA, I. C., **Armazenamento e forneamento de linhaça**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

AMAI, R. S., **Desenvolvimento de procedimentos para a determinação de enxofre em diesel, biodiesel e óleo lubrificante usando ICP OES e ICP-MS**. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

ANJOS, A. E. S., **Avaliação quimiométrica da influência da carcinicultura sobre a qualidade da água do Rio da Ribeira/Santa Rita/PB**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

ANVISA. Decreto nº55871, de 26 de março de 1965. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/414d248047458a7d93f3d73fbc4c6735/DECRE->

TO+N%C2%BA+55.871,+DE+26+DE+MAR%C3%87O+DE+1965.pdf?MOD=AJP
ERES acessada em dezembro 2014.

ANVISA. Portaria n°685, de 27 de agosto de 1998. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ffab898045a945eb9ba89fa9166895f7/Portaria+n%C2%BA+1004,+de+11+de+dezembro+de+1998.pdf?MOD=AJP>
ERES acessada em dezembro 2014.

BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y.B.; UCAR, G. Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion. *Food Chem. Toxicol.***49**, 202–207, 2011.

BAKIRCIOLGU, D., KURTULUS, Y.B., UCAR, G. Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP OES after dry, wet and microwave digestion. *Food and Chemical Toxicology.***49**, 202-207, 2011.

BARROS, C.B. Validação de métodos analíticos. *Biológico.* **64**, 175-177, 2002.

BARROSO, A.K.M.; TORRES, A.G.; CASTELO-BRANCO, V.N.; FERREIRA, A.; FINOTELLI, P.V.; FREITAS, S.P.; ROCHA-LEÃO, M.H.M. Linhaça marrom e dourada: propriedades químicas e funcionais das sementes e dos óleos prensados a frio. *Cienc. Rural.* **44**, 181–187, 2014.

BASAK, S.; RAMESH, A.M.; KESARI, V.; PARIDA, A.; MITRA, S.; RANGAN, L. Genetic diversity and relationship of *Hedychium* from Northeast India as dissected using PCA analysis and hierarchical clustering. *Meta Gen.* **2**, 459–468, 2014.

BENEVIDES, C. M. J., SOUZA, M. V., SOUZA, R. D. B., LOPES, M. V. Fatores anti-nutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional.* **18**, 67-79, 2011.

BILEK, A.E.; TURHAN, S. Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat Sci.***82**, 472–477, 2009.

BJELKOVÁ, M.; GENČUROVÁ, V.; GRIGA, M. Accumulation of cadmium by flax and linseed cultivars in field-simulated conditions: A potential for phytoremediation of Cd-

BOSSO, S. T.; ENZWEILER, J. Ensaios para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. *Quim Nova*, **31**, 394-400, 2008.

BRASIL. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/alimentos-funcionais-e-tendencia-no-brasil/> acessada em dezembro 2014.

BRESSANI, F. A., **Desenvolvimento de procedimentos de digestão para óleos lubrificantes**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

BRESSY, F.C.; BRITO, G.B.; BARBOSA, I.S.; , TEIXEIRA, L.S.G.; KORN, M.G.A. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchem. J.* **109**, 145–149, 2013.

BRITO, N. M., AMARANTE JUNIOR, O. P., POLESE, L., RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente*, Curitiba, **13**, 129-146, 2003.

CABANERO, A.I., MADRID, Y., CAMARA, C. Selenium and Mercury bioaccessibility in fish samples: an in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*. **526**, 51-61, 2004.

CORINO, C. et al. Effect of dietary linseed on the nutritional value and quality of pork and pork products: Systematic review and meta-analysis. *Meat Science*, **98**, 679–688, 2014.

CORSO, M.P, **Estudo da extração de óleo de sementes de gergelim (*Sesamum indicum L.*) empregando os solventes dióxido de carbono supercrítico e n-propano pressurizado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2008.

COSMO, B. M. N., CABRAL, A. C., PINTO, L. P., FRIGO, J. P., AZEVEDO, K. D., BONASSA, G. Linhaça *Linum usitatissimum*, Suas características. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*. **3**, 189-196, 2014.

COSTA, M. L. M.; GONDIM, T. M. S.; ARAÚJO, I. M. S.; MILANI, M.; SOUSA, J.S.; FEITOSA, R. M. Características físico-químicas de sementes de genótipos de gergelim. *Revis. Bras. de Biociênc.*, **5**, supl. 1,867-869, jul. 2007.

COSTA, T. O.; TAVARES, P. H. C. P. *Resumos do XXXIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, Salvador, 2013.

COUTO, A.N.; WICHMANN, F.M.A. Efeitos da farinha da linhaça no perfil lipídico e antropométrico de mulheres. *Alim. Nutr., Araraquara***22**, 601–608, 2011.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1ª Edição. Barueri, SP: Manole, 2005.

CUEVAS, Z. O., SANGRONIS, E. Caracterización de semillas de linaza (*Linum usitatissimum L.*) cultivadas em Venezuela. *Archivos latino americanos de nutrición*. **62**, 2012.

CUNHA, D.A, **Potencial fisiológico de sementes de gergelim preto (*Sesamum indicum L.*) em resposta a diferentes condições de acondicionamento**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.

DASBASI T., SAÇMACI S., ULGEN A., KARTAL S. A solid phase extraction procedure for the determination of Cd(II) and Pb(II) ions in food and water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Food Chem.*, **174**, 591-596, 2015.

FENNEMA, O. R; PARKIN, K.; DAMODARAN, S. **Food Chemistry**. 4ª ed. Boca Raton: RC Press, 2008.

FERRARINI, S. F., **Desenvolvimento de metodologia alternativa para a determinação de elementos em nível de traços em amostras de carvão pela técnica de ICP OES**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FERREIRA, S. C. R., **Análise multivariada sobre bases de dados criminais**. Dissertação (Mestrado em Química Forense) – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Universidade de Coimbra, 2012.

GOUVEIA, S.T.; SILVA, F.V.; COSTA, L.M.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations. *Anal. Chim. Acta***445**, 269–275, 2001.

GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochim. Pol.***52**, 665–671, 2005.

HAJIAGHABABAEI, L.; TAJMIRI, T.; BADIEI, A.; GANJALI, M.R.; KHANIANI, Y.; ZIARANI, G.M. Heavy metals determination in water and food samples after preconcentration by a new nanoporous adsorbent. *Food Chem.***141**, 1916–1922, 2013.

HAMADA, N.; TOMIMORI, N.; TANAKA, A.; KISO, Y.; FUJITA, Y.; AKAO, Y.; ITOH, T.; NOZAWA, Y.; ONO, Y.; ITO, M.; KITAGAWA, Y. Involvement of heme oxygenase-1 induction via Nrf2/ARE activation in protection against H₂O₂-induced PC12 cell death by a metabolite of sesamin contained in sesame seeds. *Bioorg. Med. Chem.***19**, 1959–1965, 2011.

<http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html> acessada dezembro 2014.

HUTCHINS, A.M.; BROWN, B.D.; CUNNANE, S.C.; DOMITROVICH, S.G.; ADAMS, E.R.; BOBOWIEC, C.E. Daily flaxseed consumption improves glycemic control in obese men and women with pre-diabetes: a randomized study. *Nutr. Res.***33**, 367–375, 2013.

IAKSHMI, A.J.; KAUL, P. Nutritional potential, bioaccessibility of minerals and functionality of watermelon (*Citrullus vulgaris*) seeds. *LWT – FoodSci. Technol.* **44**, 1821–1826, 2011.

INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA. Normalização e qualidade industrial. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008, 2003

INTAWONGSE, M.; DEAN, J. R. In-vitro testing for assessing oral bioaccessibility of trace metals in soil and food samples. *Trends Anal Chem*,**25**, n. 9, 876-886, 2006.

JUNIOR, J.B.P.; FERNANDES, K.G.; MÜLLER, R.C.S. Determinação direta de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite de búfala da ilha de Marajó por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). *Quim. Nova* **32**, 2333–2335, 2009.

KAHYAOGLU, T.; KAYA, S. Modeling of moisture, color and texture changes in sesame seeds during the conventional roasting. *J. Food Eng.* **75**, 167–177, 2006.

KÁPOLNA, E.; GERGELY, V.; DERNOVICS, M.; ILLÉS, A.; FODOR, P. Fate of selenium species in sesame seeds during simulated bakery process. *J. Food Eng.* **79**, 494–501, 2007.

KATARE, C. SAXENA, S. AGRAWAL, S., PRASAD, G.B.K.S, BISEN, P.S. Flax Seed: A potential medicinal food. *Nutrition & Food*. **2**, 2155-9600, 2012.

KHOUZAM, R.B.; POHL, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. *Talanta***86**, 425–428, 2011.

KIM, J.H.; SEO, W.D.; LEE, S.K.; LEE, Y.B.; PARK, C.H.; RYUF, H.W.; LEE, J.H. Comparative assessment of compositional components, antioxidant effects, and lignin extractions from Korean white and black sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds for different crop years. *J. Funct. Food***7**, 495–505, 2014.

KNORR, C. L., **Combustão iniciada por micro-ondas com radiação focalizada (FMIC) para decomposição de condimentos de origem vegetal para posterior determinação de metais por ICP OES**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª Edição. Piracicaba, SP: CENA/USP, 2010.

LAIRD, B.D.; CHAN, H.M. Bioaccessibility of metals in fish, shellfish, wild game, and seaweed harvested in British Columbia, Canada. *Food Chem. Toxicol.* **58**, 381–387, 2013.

LARREA-MARÍN, M.T.; POMARES-ALFONSO, M.S.; GÓMEZ-JUARISTI, M.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; ROCHA, S.R. Validation of an ICP-OES method for macro and

trace element determination in Laminaria and Porphyra seaweeds from four different countries. *J. Food Comp. Anal.***23**, 814–820, 2010.

LEAL, F. et al. Importância da especiação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana – desenvolvimento de metodologias voltamétricas com eletrodos de filme de bismuto. *Revis. de Faculd. de Ciênc. e Saúde, Porto*,**6**, 220-230, 2009.

LI, X.; LI, D.; WANG, L.; WU, M.; ADHIKARI, B. The effect of addition of flaxseed gum on the rheological behavior of mixed flaxseed gum–casein gels. *Carbohydr. Polym.***88**, 1214–1220, 2012.

LIMA, A.C.S.; SOARES, D.J.; SILVA, L.M.R.; FIGUEIREDO, R.W.; SOUSA, P.H.M.; MENEZES, E.A. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale L.*) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chem.***161**, 142–147, 2014.

LIU, B.; GUO, X.; ZHU, K.; LIU, Y. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts. *Food Chem.***129**, 799–803, 2011.

LOPEZ, F. F., CABRERA, C., LORENZO, M. L., LOPEZ, M. C. Aluminum levels in convenience and fast foods: in vitro study of the absorbable fraction. *Science of The Total Environment*. 300, 69-79, 2002.

LUI B., GUO X., ZHU K., LUI Y. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts. *Food Chem.*, 129, 799-803, 2011.

MACAROVSCHA, G. T., **Determinação de elementos metálicos em nutrição enteral**. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MACHADO, A.M., **Efeitos da linhaça marrom e dourada no perfil lipídico e inflamatório e na composição corporal de adolescentes com sobrepeso**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Espírito Santo, Alegre, 2013.

MACIEL, L. M. B., **Utilização da farinha de linhaça (*Linum usitatissimum L.*) no processamento de biscoito tipo “Cracker”: características físico-químicas, nu-**

tricionais e sensoriais. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MAGALHÃES, I. D.; COSTA, F. E.; ALVES, G. M. R.; ALMEIDA, A. E. S.; SILVA, S. D.; SOARES, C. S. *Resumos do IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas*, João Pessoa, 2010.

MARIN, M.T.L., AFONSO, M.S.P, JUARISTI, M.G., MUNIZ, F. J. S., ROCHA, S. R. Validation of an ICP OES method for macro and trace element determination in *Laminaria* and *Porphyra* seaweeds from four different countries. *Journ. of Food Comp. na Anal.*, **23**, 814-820, 2010.

MARQUES, A. C, **Propriedades funcionais da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

MESKO, M. F., **Determinação de halogêneos em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por micro-ondas.** Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

MOHDALY, A.A.A.; SMETANSKA, I.; RAMADANC, M.F.; SARHANB, M.A.; MAHMOUD, A. Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Ind. Crop. Prod.***34**, 952–959, 2011.

MOMEN, A.A.; ZACHARIADIS, G.A.; ANTHEMIDIS, A.N.; STRATIS, J.A. Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta***565**, 81–88, 2006.

MONTIEL, J.; GRINDLAY, G.; GRAS, L.; LOOS-VOLLEBREGT, M.T.C.; MORA, J. The influence of the sample introduction system on signals of different tin compounds in inductively coupled plasma-based techniques. *Spectrochim. Acta B* **81**, 36–42, 2013.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Rev. Elet. Farm.***3**, 109–122, 2006.

MOREDA-PIÑEIRO, J. et al. Trace metals in marine foodstuff: Bioavailability estimation and effect of major food constituents. *Food Chem.*, v. **134**, p. 339–345, 2012.

MOREIRA, D. K. T, **Extrudados expandidos de arroz, soja e gergelim para uso em barras alimentícias**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

NASCIMENTO A.N., NAOZUKA J., OLIVEIRA V.P. In vitro evaluation of Cu and Fe bioavailability in cashew nuts by off-line coupled SEC-UV and SIMAAS. *Microchem. Journ.* 96, 58-63, 2010.

NASCIMENTO, E.M.G.C.; CARVALHO, C.W.P.; TAKEITI, C.Y.; FREITAS, D.G.C.; ASCHERI, J.L.R. Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum L.*) on corn expanded extrudates. *Food Res. Int.***45**, 434–443, 2012.

NOGUEIRA, G. F.; CÉZAR, D.; FAKHOURI, F. M.; GUMBREVICIUS, I. A importância da linhaça como alimento funcional e sua utilização por universitários do Centro Universitário Amparense. *Revista Eletrônica Unisepe*, Amparo, 2010.

NOVELLO, D.; POLLONIO, M.A.R. Caracterização físico-química e microbiológica da linhaça dourada e marrom (*Linum Usitatissimum L.*). *Rev. Inst. Adolfo Lutz.***71**, 291–300, 2012.

OOMEN, A.G., HACK, H. MINEKUS, M., ZEJDNER, E., CORNELIS, C., SCHOETERS, G., VERSAETRE, W., WIELE, T. V., WRAGG, J., ROMPELBERG, C. M., SIPS, A. J. A. M., WIJNEN, J. H. V. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environ. Scien. Techn.*, v. **36**, p. 3326-3334, 2002.

PATACA, L.C.M.; BORTOLETO, G.G.; BUENO, M.I.M.S. Determinação de arsênio em águas contaminadas usando fluorescência de raios-x por energia dispersiva. *Quim. Nova* **28**, 579–582, 2005.

PEREIRA JUNIOR, J.B., FERNANDES, K, G., MULLER, R.C.S., NÓBREGA, J.A., PALHETA, D.C. Determinação direta de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de leite de búfala da ilha de Marajó por espectrometria de absorção atômica com chama (F A-AS). *Quim.Nova.* **32**, 2333-2335, 2009.

POHL, P.; STECKA, H.; GREDA, K.; JAMROZ, P. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn from commercial bee honeys. *Food Chem.***134**, 392–396, 2012.

QUEIROGA, V.P.; FREIRE, R.M.M.; FIRMINO, P.T.; MARINHO, D.R.F.; SILVA, A.C.; BARBOSA, W.T.; QUEIROGA, D.A.N. Avaliação da qualidade das sementes de gergelim submetidas aos processos de despliculação manual, físico e mecânico. *Revist Bras. de Prod. Agroind.***14**, 307–315, 2012.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., JARDIM, I. C. S. F., MELOL. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quím. Nova.* **27**, 771-780, 2004.

RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; SILVA, L.R.; SCHNEIDER, R.P.; Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Quim. Nova***31**, 164–171, 2008.

RIBEIRO, L.F., **Uso de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de ácidos graxos em linhaça dourada e marrom.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

RIBEIRO, S. S., **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Jatropha Curcas* L.** Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2010.

ROSENDE, M., MAGALHÃES, L. M., SEGUNDO, M. A., MIRO, M. Assessing oral bioaccessibility of trace elements in soils under worst-case scenarios by automated in-line dynamic extraction as a front end to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **842**, 1-10, 2014.

RUBY, M. V. et al. Advances in Evaluating the Oral Bioavailability of Inorganics in Soil for Use in Human Health Risk Assessment. *Environ. Scien. Techn.*, **33**, 3697–3705, 1999.

- RUZIK, L. Speciation of challenging elements in food by atomic spectrometry. *Talanta*, **93**, 18-31, 2012.
- SANDBERG, A.S., Bioavailability of minerals in legumes, *British journal of nutrition*, **88**, 281-285, 2002.
- SANTOS, D. C. M. B. **Estratégias para determinação espectrométrica de ozônio em águas e de elementos traço em leite de coco.** Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.
- SANTOS, F. F., **Determinação de fósforo por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado em matrizes contendo metais alcalinos e alcalinos terrosos.** Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- SANTOS, M. S., **Crescimento e produção de gergelim sob irrigação com água residuária tratada e adubação com torta de mamona.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.
- SHAHIDI, F. Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods. *Trends Food Sci. Technol.* **20**, 376–387, 2009.
- SHI, J.; HO, C.; SHAHIDI, F. **Functional foods of the east.** Florida, USA, 2011.
- SILVA, A.S., **Caracterização físico-química da goma do óleo de arroz.** Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- SILVA, E.N.; HEERDT, G.; CIDADE, M.; PEREIRA, C.D.; MORGON, N.H.; CADORE, S. Use of in vitro digestion method and theoretical calculations to evaluate the bioaccessibility of Al, Cd, Fe and Zn in lettuce and cole by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchem. J.* **119**, 152–158, 2015.
- SKOOG, D. A. **Fundamentos de química analítica.** 8ª Edição., São Paulo: Thomson, 2006.

SOUSA, R.A.; NETO, W.B.; POPPI, R.J., BACCAN, N.; CADORE, S. Classificação de água de coco processada e natural por meio de HCA, PCA e teores de íons metálicos determinados por ICP OES. *Quim. Nova***29**, 654–656, 2006.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA –UNICAMP.- 4ª edição revisada e ampliada. Campinas-SP: NEPA-UNICAMP, 2011, 64-65 p.

TOGNON, A.L., **Quantificação e avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de micro e macroelementos em frutas, hortaliças e cereais.** Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

TOKALIOĞLU, S. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. *Food Chem.***134**, 2504–2508, 2012.

TONG, Y.; NEUMANN, E.G.; KRUMBEIN, A.; NGWENE, B., GEORGE, E.; SCHREINER M. Interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and intercropping with sesame (*Sesamum indicum*) on the glucosinolate profile in broccoli (*Brassica oleracea var. Italica*). *Environ. Exp. Bot.***109**, 288–295, 2015.

TREVIZAN, L.C.; SANTOS JR., D.; SAMAD, R.E.; VIEIRA JR., N.D.; NOMURA, C.S.; NUNES, L.C.; RUFINI, I.A.; KRUG, F.J. Evaluation of laser induced breakdown spectroscopy for the determination of macronutrients in plant materials. *Spectrochim. Acta B*, **63**, 1151–1158, 2008.

TRINDADE, J. M., **Otimização de um procedimento eletroanalítico usando planejamento experimental para determinação de metais em gasolina comum.** Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

UARROTA, V.G.; MORESCO, R.; COELHO, B.; NUNES, E.C.; PERUCH, L.A.M.; NEUBERT, E.O.; ROCHA, M.; MARASCHIN, M. Metabolomics combined with chemometric tools (PCA, HCA, PLS-DA and SVM) for screening cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots during postharvest physiological deterioration. *Food Chem.***161**, 67–78, 2014.

VARELLA, C. A. A. **Análises de componentes principais**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

VELLAR, D. C. S.; DUTRA, C. V.; LISBOA, M. T.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. *Resumos do XX Congresso de Iniciação Científica e III Mostra Científica*, Pelotas, 2011.

VICINI, L., **Análise multivariada da teoria à prática**. Monografia (Especialização) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

VOHRA, P., GRAY, G.A., KRATZER, F.H., Phytic acid-metal complexes, proceedings of the society for experimental biology and medicine, 120(2), 447-454, 1965.

XIE, J.H.; SHEN, M.Y.; NIE, S.P.; LIU, X.; YIN, J.Y.; HUANG, D.F.; ZHANG, H.; XIE, M.Y. Simultaneous analysis of 18 mineral elements in *Cyclocarya paliurus* polysaccharide by ICP-AES. *Carbohydr. Polym.***94**, 216–220, 2013.

ZAFIRIOU, P.; MAMOLOS, A.P.; MENEXES, G.C.; SIOMOS, A.S.; TSATSARELIS, C.A.; KALBURTJI, K.L. Analysis of energy flow and greenhouse gas emissions in organic, integrated and conventional cultivation of white asparagus by PCA and HCA: cases in Greece. *J. Clean. Prod.***29-30**, 20–27, 2012.

ZURAVSKI, L., **Avaliação dos efeitos antioxidantes e anti-genotóxicos *in vivo* da semente de *Linum usitatissimum* L.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, Uruguai, 2013.