



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO TOTAL E DA
FRAÇÃO BIOACESSÍVEL DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E
POTENCIALMENTE TÓXICOS EM ARAÇÁ VERMELHO**

RODRIGO LEITIS

Florianópolis
Julho/2024

Rodrigo Leitis

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO TOTAL E DA
FRAÇÃO BIOACESSÍVEL DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E
POTENCIALMENTE TÓXICOS EM ARAÇÁ VERMELHO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Orientador: Prof. Dr. Eduardo S. Chaves

Coorientador: Dr. Bruno Luis Ferreira

Florianópolis
Julho/2024

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	10
2.1 Produção de frutas no Brasil.....	10
2.2 Frutas nativas e de baixa produção.....	11
2.3 Araçá vermelho.....	13
2.4 Importância da digestão biológica.....	16
2.5 Métodos de digestão in vitro.....	18
2.6 Métodos espectrométricos para quantificação de metais.....	19
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 Amostras.....	23
4.2 Reagentes.....	24
4.3 Instrumentação.....	24
4.4 Procedimentos experimentais.....	25
4.4.1 Pré-tratamento das amostras.....	25
4.4.2 Determinação de umidade.....	25
4.5 Digestão ácida em bloco de aquecimento.....	25
4.6 Parâmetros do ICP-MS.....	26
4.7 Tratamento de resíduos e segurança no laboratório.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Parâmetros instrumentais do ICP-MS.....	28
5.2 Parâmetros de mérito.....	29
5.3 Quantificação da umidade e determinação dos analitos.....	30
5.4 Estudo de bioacessibilidade.....	35
6 CONCLUSÃO.....	39
7 REFERÊNCIAS.....	40

LISTA DE SIGLAS

- AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês: *Atomic absorption spectrometry*)
- AGCC – Ácido graxo de cadeia curta
- AVC – Acidente vascular cerebral
- EPI – Equipamento de segurança individual
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively coupled plasma mass spectrometry*)
- LOD – Limite de detecção (do inglês: *Limit of detection*)
- LOQ – Limite de quantificação (do inglês: *Limit of quantitation*)
- PANC – Planta alimentícia não convencional
- RSD – Desvio padrão relativo (do inglês: *Relative standard deviation*)
- UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Araçá vermelho (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine).....	14
Figura 2. Representação esquemática simplificada do processo digestivo.	18
Figura 3. Representação de um ICP-MS com analisador de massa quadropolar.....	20
Figura 4. Bioacessibilidade dos metais obtidos comparando as amostras in natura e as amostras submetidas ao processo de digestão in vitro.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Origem e identificação das amostras recebidas utilizadas para determinação de umidade.....	23
Tabela 2. Parâmetros obtidos na avaliação de performance do equipamento de ICP-MS.....	28
Tabela 3. Parâmetros de mérito.....	29
Tabela 4: Dados disponíveis utilizados na determinação de umidade das amostras de araçá.....	31
Tabela 5: Composição mineral total e depois da digestão in vitro das amostras de araçá em $\mu\text{g g}^{-1}$	33

RESUMO

O araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) é uma fruta naturalmente encontrada na mata atlântica, sendo considerada uma planta alimentícia não convencional pouco consumida no país. Visto seu potencial de exploração, é interessante estudar melhor a composição de frutas e plantas não convencionais. Nesse sentido, a determinação da concentração total e fração bioacessível elementos essenciais e potencialmente tóxicos em araçá vermelho foi realizada utilizando a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). As amostras utilizadas neste trabalho, provenientes de diferentes cidades da região sul do Brasil, estavam disponíveis no laboratório, congeladas em forma de polpa. A determinação da concentração dos analitos nas frutas *in natura* e após a digestão *in vitro*, todas as amostras de araçá vermelho *in natura* foram digeridas em meio ácido. Para determinação por ICP-MS, a curva de calibração foi construída com padrões aquosos ($1-150 \mu\text{g L}^{-1}$) e Rh ($5 \mu\text{g L}^{-1}$) como padrão interno. Os resultados obtidos com o método utilizado foram superiores em concentração aos encontrados na literatura para os metais na fruta, tanto na determinação *in natura* quanto na bioacessibilidade. Entre esses metais, destaca-se o Co e o Mn da região de Capão Alto, com a maior bioacessibilidade dos metais analisados. Em contrapartida, o Fe apresentou o menor valor para bioacessibilidade, especialmente das regiões de Três Coroas, Lages (2022) e Lages (2023). Já outros microminerais não foram detectados ou tiveram somente um valor para bioacessibilidade no araçá vermelho, sendo eles o Cd, Al, Sb, Ni, Pb e Ba. O método proposto se mostrou satisfatório para comparação da bioacessibilidade de metais no araçá vermelho das diferentes origens, onde a utilização do ICP-MS permitiu uma análise multielementar rápida e precisa.

Palavras-chave: araçá vermelho, bioacessibilidade, ICP-MS, Planta alimentícia não convencional.

ABSTRACT

The red araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) is a fruit naturally found in the Atlantic Forest and is considered an unconventional food plant that is little consumed in the country. Given its potential for exploration, it is interesting to study the composition of unconventional fruits and plants more closely. In this regard, the determination of the total concentration and bioaccessible fraction of essential and potentially toxic elements in red araçá was carried out using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The samples used in this work were available in the laboratory, frozen as pulp from different regions of the southern part of the country. The determination of analyte concentrations in the fresh fruits and after in vitro digestion, all fresh red araçá samples were digested in an acidic medium. For determination by ICP-MS, the calibration curve was constructed with aqueous standards (1-150 $\mu\text{g L}^{-1}$) and Rh (5 $\mu\text{g L}^{-1}$) as an internal standard. The results obtained with the method used showed higher concentrations than those found in the literature for metals in the fruit, both in the determination of the fresh fruit and in bioaccessibility. Among these metals, Co and Mn from the Capão Alto region stood out, with the highest bioaccessibility of the metals analyzed. In contrast, Fe showed the lowest bioaccessibility value, especially from the regions of Três Coroas, Lages (2022), and Lages (2023). Other trace minerals were either not detected or had only one bioaccessibility value in the red araçá, namely Cd, Al, Sb, Ni, Pb, and Ba. The proposed method proved satisfactory for comparing the bioaccessibility of red araçá between regions, where the use of ICP-MS allowed a multi-elemental analysis of the samples, making it possible to quantify chemical elements present in the fruit.

Keywords: red araçá, bioaccessibility, ICP-MS, unconventional food plant.

1 INTRODUÇÃO

Um panorama feito pelo Departamento de Economia Rural (DERAL) do estado do Paraná com dados coletados da *Food and Agriculture Organization* (FAO), mostrou que a produção mundial de frutas tem apresentado um crescimento contínuo ao longo dos anos. No final da década de 80 e começo da década de 90 a produção mundial era de aproximadamente 420 milhões de toneladas, enquanto em 1996 atingia a marca de 500 milhões de toneladas, saltando para 865,2 milhões de toneladas em 2017^[1].

Nas últimas décadas, vários fatores contribuíram para o crescimento do setor. É possível citar que um desses fatores é o aumento da procura por alimentos mais naturais e com isso, houve um aumento nas produções com propósito de atender o mercado em expansão, aumentando assim a oferta e diversidade de produtos no mercado.

O Brasil por sua vez, ocupa a terceira posição no ranking dos maiores produtores de frutas do mundo, ficando atrás apenas da China e da Índia. Apesar de ser o terceiro maior produtor de frutas, o Brasil detém pequena parcela do mercado, alcançando algo em torno de 3% do total produzido. Em 2021, as exportações brasileiras de frutas foram superiores tanto em volume quanto em receita. O faturamento superou US\$1,21 bilhão, sendo 20,39% acima do computado até dezembro de 2020. O volume total de frutas frescas enviadas ao exterior foi de 1,24 milhão de toneladas, superior em 18,13% em relação ao mesmo período do ano anterior. Segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária, dentre as frutas mais exportadas pelo Brasil em 2021 estão: mangas, com US\$ 248 milhões e 20% do total exportado no período; melões, com US\$ 165 milhões e 14% de participação; uvas, com US\$ 155,9 milhões e 13% do total de exportação; nozes e castanhas, com US\$ 151,9 milhões e 13% de participação; e limões e limas, com US\$ 123,8 milhões e 10% de participação.^[1,2]

Apesar do aumento das exportações, isso reflete uma pequena variedade de frutas para um país com potencial de produção como o Brasil, que possui climas e biomas diversificados para a produção de uma grande multiplicidade de espécies que podem ser cultivadas. Com mais de 46.000 espécies de plantas, o Brasil tem uma das maiores diversidades biológicas do mundo.^[2]

Esta variedade pode ser explorada na alimentação local, com objetivo de ampliar as fontes alimentares da população, promovendo a soberania e segurança alimentar. Nesse cenário, se destacam as Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC), as quais apresentam grande potencial para suprir as necessidades nutricionais. As PANCs possuem grande potencial nutricional, porque contém diversos nutrientes e compostos bioativos importantes para o bom funcionamento do organismo. Além disso, o cultivo e a utilização destas plantas contribuem para a segurança alimentar e nutricional, porque são valiosas para a preservação e conservação das culturas alimentares e são importantes para a construção e manutenção de sistemas alimentares sustentáveis.

Visto a extensa variedade de frutas em nosso país, é importante ressaltar o papel da Química Analítica frente à necessidade de atestar a qualidade, segurança e valores nutricionais adequados.

Para este presente trabalho, analisou-se o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine), uma fruta pouco explorada no meio científico devido à dificuldade de domesticação e falta de informações sobre sua composição química. Dessa maneira, neste trabalho, investigou-se o processo de digestão gastrointestinal *in vitro* do araçá, visto a riqueza de compostos bioativos, sobretudo compostos inorgânicos importantes como Ca, Mg, P, K, S e Na. Estes são introduzidos no organismo através da alimentação e por isso, é importante que se realizem ensaios de digestão gastrointestinal *in vitro* para verificar a bioacessibilidade destas espécies por todo processo digestivo, tornando possível estabelecer uma relação quanto à absorção desses nutrientes no corpo.

Desta maneira, o trabalho teve como objetivo realizar a determinação do conteúdo mineral por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) antes e após o processo digestivo simulado, buscando resultados a fim de esclarecer a concentração elementar.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Produção de frutas no Brasil

De acordo com dados da *Food and Agriculture Organization* (FAO)^[1], a produção mundial de frutas, no ano de 2021, foi de 910 mil toneladas. No mesmo período, a China se destacou como maior produtora mundial de frutas, com 253,9 milhões de toneladas, concentrando diversos cultivos tais como citros, melão, pera, maçã, uvas e melancia. A Índia é o segundo maior produtor com destaque para frutas tropicais, como a manga, mamão, banana e coco, contando com 107,8 milhões de toneladas produzidas. O Brasil ocupa o terceiro lugar na produção de frutas, com 39,9 milhões de toneladas produzidas no mesmo ano, das quais destacam-se a laranja, banana, uva e maçã.

O Brasil possui uma área agrícola ocupada e cultivável de 7,6% de seu território (2020)^[2]. A fruticultura ocupa uma área de 2,6 milhões de hectares, o que corresponde a 0,3% do território nacional. Dentro do país, segundo relatório elaborado pela Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de São Paulo (FAESP)^[3], junto ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mostra que em 2020 o estado de São Paulo foi o maior produtor de frutas do Brasil. Apesar disso, quem lidera as exportações em termos econômicos é o Nordeste, contando com Pernambuco, Bahia e Ceará, respectivamente, liderando o ranking.

Detentor da maior biodiversidade do planeta, onde 20% das espécies de seres vivos habitam, o Brasil é considerado o principal país em megabiodiversidade^[4]. Isto é refletido no potencial para a produção diversificada de frutas, visto que possui a maior abundância vegetal do mundo. Além disso, o Brasil é um país com clima e biomas variados, o que contribui na produção frutífera. Porém o consumo interno é restrito à uma baixa variedade. Estima-se que o consumo de frutas e hortaliças no país equivale a menos da metade das recomendações nutricionais, mesmo existindo uma grande diversidade de espécies desses alimentos no país^[5]. Fatores econômicos e culturais causam variações nos hábitos alimentares dos brasileiros, porém o consumo de frutas, de uma forma geral, está restrito – em variedade – a uma pequena parcela de exemplares. Entre as frutas mais

consumidas no Brasil, estão a banana prata, maçã, banana d'água, laranja pera, melancia, mamão, manga, tangerina e o abacaxi^[6]. Dessas frutas citadas, somente o abacaxi tem origem nacional.

2.2 Frutas nativas e de baixa produção

Segundo a legislação brasileira: “Fruta é o produto procedente da frutificação de uma planta, destinado ao consumo, *in natura*”^[7]. Isso abrange uma grande diversidade na flora brasileira. Muitos frutos são consumidos regionalmente em baixa escala, tanto *in natura* ou em forma de produtos como geleias, compotas, cachaças e afins. Visto a diversidade de espécies frutíferas, é importante explorar essa variedade vegetal para conhecer melhor os frutos disponíveis e assim atestar a segurança alimentar e valores nutricionais adequados.

Neste cenário, as PANCs podem gerar oportunidades na produção de alimentos, com qualidade nutricional equilibrada e minimização do uso de agrotóxicos, onde os próprios consumidores podem cultivar, ampliando a biodiversidade em propriedades rurais como também diversificando a atividade econômica no campo^[8]. Estima-se que 20% da flora do planeta é encontrada no Brasil, incluindo flora endêmica, das quais, em torno de 43% desta vegetação é nativa e 10 a 20% são considerados recursos alimentares^[9]. O consumo de PANCs em algumas localidades do país diminuiu ao longo do tempo, causado pela globalização e a elevada produção e consumo de alimentos industrializados. Isso causa uma descaracterização cultural, como a redução do consumo de certos produtos anteriormente consumidos^[10].

A grande maioria dos frutos nativos e exóticos do Brasil encontram-se na Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga ocupando 49,3%, 29,3%, 13,0%, 9,9% do território nacional^[11], respectivamente.

A Amazônia é o maior bioma brasileiro, além de conter a maior biodiversidade do mundo. Abrangendo quase metade do território nacional com 4.196.943 de km²^[11], a maior variedade de espécies de frutos comestíveis é encontrada neste bioma. Estima-se que a região amazônica brasileira tenha

aproximadamente 220 espécies de plantas frutíferas comestíveis, representando 44% da diversidade de frutas nativas do Brasil^[12]. A maioria destes frutos são explorados de forma extrativista e comercializados na própria região.

Um dos frutos mais populares da Amazônia que tem espaço no mercado brasileiro é o açaí (*Euterpe oleracea*). Nos últimos anos, este fruto do tipo baga vem ganhando o mercado nacional consumido em forma de polpa congelada.

O araçá-boi (*Eugenia stipitata*) é uma espécie menos consumida que a anterior. O fruto é uma baga esférica ou achatada, grande, com média entre 7 e 12 cm de diâmetro, de cor amarelo-dourada (quando maduro) e superfície com pelos. A polpa do fruto também é amarela, com 6 a 12 sementes pretas^[12].

Outro fruto consumido na região Norte e Nordeste do país é o cajá (*Spondias mombin*). Este é um fruto nativo com expressivo potencial agroindustrial no Brasil, em razão das qualidades sensoriais dos seus frutos, sendo uma espécie com possibilidade de cultivos comerciais mais extensivos. Com frutos perfumados, com mesocarpo carnoso, amarelo, de sabor agridoce, contendo carotenoides, açúcares e vitaminas A e C e que se desprendem da planta quando maduros, possuindo até 6 cm de comprimento, formato ovoide ou oblongo, casca fina e lisa, polpa pouco espessa e ácida^[13].

Já no cerrado brasileiro é possível encontrar o pequi (*Caryocar brasiliense*), também presente em todos os estados do Centro Oeste, Minas Gerais e partes de São Paulo. Os frutos são compostos por um epicarpo de coloração esverdeada e mesocarpo externo coriáceo, de coloração amarelada com uma massa média de 190g. É uma rica fonte de lipídios, proteínas, sais minerais e vitaminas, tais como as vitaminas A e C^[14].

A Mata Atlântica abriga uma enorme variedade de espécies de PANCs extremamente nutritivas. Dentre as frutas, pode-se encontrar a Ameixa-da-mata (*Eugenia candolleana*), exemplar que pode ser encontrado por quase toda a área costeira brasileira. Possui um fruto globoso ou alongado, negro, com polpa espessa, carnosa e de cor violácea a negra, com uma a duas sementes. Além deste, pode-se encontrar o Cambuci (*Campomanesia phaea*), fruto com uma polpa carnuda e polpa suculenta, baixa quantidade de sementes e intenso aroma. Eles são usados como agentes aromatizantes e no preparo de sucos, geleias e doces^[15].

A variedade de frutos exóticos pouco consumidos no Brasil é vasta. As PANCs podem apresentar teores nutricionais iguais ou até mesmo superiores aos encontrados em hortaliças, raízes e frutos popularmente comercializados e utilizados na alimentação cotidiana dos brasileiros. Sobretudo quando se refere a hortaliças e frutas silvestres, os teores minerais são significativamente superiores do que plantas domesticadas^[16]. Com isso, conhecer os teores nutricionais e compostos bioacessíveis de frutas nativas brasileiras é fundamental, possibilitando o desenvolvimento de novos produtos a partir de exemplares ricos em compostos orgânicos e inorgânicos. Entre as diversas frutas ainda pouco exploradas comercialmente no Brasil, o araçá vermelho se destaca por ser uma fruta que pode ser encontrada por toda a mata atlântica.

2.3 Araçá vermelho

Uma família de plantas nativas ainda pouco explorada é o da Myrtaceae, que compreende cerca de 140 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos, com exemplares em regiões tropicais e subtropicais da Austrália, Ásia e América^[17]. No Brasil são registrados 23 gêneros e com 997 espécies, distribuídas principalmente na Floresta Atlântica, onde são encontradas 636 espécies^[18]. Um desses exemplares é o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). É uma fruta pequena com aproximadamente 2 cm de diâmetro, com casca de coloração avermelhada, polpa translúcida e contendo diversas sementes em seu interior^[19]. Com um fruto muito suculento, o araçá vermelho (Figura 1) possui quantidades de vitamina C de três a quatro vezes superiores quando comparados a frutas cítricas^[19,20].

Figura 1. Araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine)



Fonte: Extraído de semente orgânica^[21], 2023.

Além da vitamina C, o araçá vermelho conta com uma composição química com grande potencial bioativo com ação analgésica, antimicrobiana, antidiabética, antiproliferativa e antioxidante^[22]. Esta última está relacionada com os compostos fenólicos presentes na fruta, que são responsáveis pela capacidade antioxidante do araçá^[22,23]. A capacidade antioxidante desta fruta está atrelada pela presença de ácidos fenólicos (elágico, p-cumárico, clorogênico e gálico), flavonoides (quercetina, miricetina e epicatequina) e antocianinas (cianidina-3-O-glucosídeo e malvidina-3-O-glucosídeo)^[22,23]. Uma dieta contendo compostos fenólicos é importante e pode prevenir doenças degenerativas, como por exemplo, doenças cardiovasculares e neurológicas^[24].

Da mesma forma, compostos inorgânicos essenciais são encontrados no araçá vermelho. Com uma considerável quantia de minerais totais disponíveis, sendo estes são importantes em funções fisiológicas e metabólicas no corpo humano. Dos macrominerais disponíveis na composição desta fruta estão o Ca (0,18 %), Mg (0,08 %), P (0,11 %), K (1,30 %), S (0,06 %) e Na (0,05 %) no fruto maduro^[25]. Além destes ainda o araçá vermelho contém microminerais essenciais B (0,0011 %), Cu (0,0006 %), Fe (0,0016 %–0.0043%), Mn (0,0018 %) e Zn (0,0015 %–0.0050%)^[25].

Apesar da importância biológica dos minerais, o excesso destes no corpo pode causar complicações. Por exemplo, o Fe é importante na prevenção de anemia, porém uma concentração elevada deste composto no corpo pode causar o aumento de câncer, doenças cardíacas, diabetes, artrite, e doenças renais^[25,26]. Outro exemplo é o K, onde tem importância para regulação do sistema nervoso central. Por outro lado, o excesso de K pode causar doenças cardiovasculares, AVC e doenças relacionadas^[25-27]. Além da percepção quanto aos nutrientes essenciais, é importante atestar que alimentos – como o araçá vermelho – não tenham compostos com potencial tóxico. Alguns elementos nocivos podem estar presentes em frutos e são capazes de causar danos à saúde. Por exemplo, o Pb pode causar efeitos neurológicos nocivos, desequilíbrio bioquímico no corpo e problemas no sistema imunológico^[28].

Nesse contexto, determinar a concentração de compostos bioacessíveis no araçá vermelho, sendo eles tóxicos ou não, é fundamental, onde a bioacessibilidade de compostos é a fração de um composto liberada a partir do alimento durante sua digestão gastrointestinal, tornando-se disponível para absorção pelo organismo em termos de nutrientes ou contaminantes^[29]. Com isso, é possível estudar o fruto e promover a valorização dele, esperando atestar a qualidade e benefícios de produtos alimentícios relacionados, assim como incentivar a agricultura familiar deste fruto.

2.4 Importância da digestão biológica

A digestão biológica humana é um processo fisiológico sendo o centro da nutrição, saúde e bem-estar humano. Atualmente o aumento da procura de alimentos está impulsionado pelo aumento da população, além da melhora na economia de alguns países de terceiro mundo^[30]. É importante ressaltar não apenas a composição nutricional do alimento, mas sim a bioacessibilidade dos nutrientes após o processo digestivo, pois um nutriente ou parte dele pode não ser absorvido, diminuindo ou inibindo seu valor nutricional^[30]. A bioacessibilidade depende da estabilidade dos compostos ao longo do trato gastrointestinal^[31], onde a quantidade de compostos alvo de um alimento que serão solubilizadas e estarão disponíveis para posterior absorção pelo corpo são as bioacessíveis^[31-32].

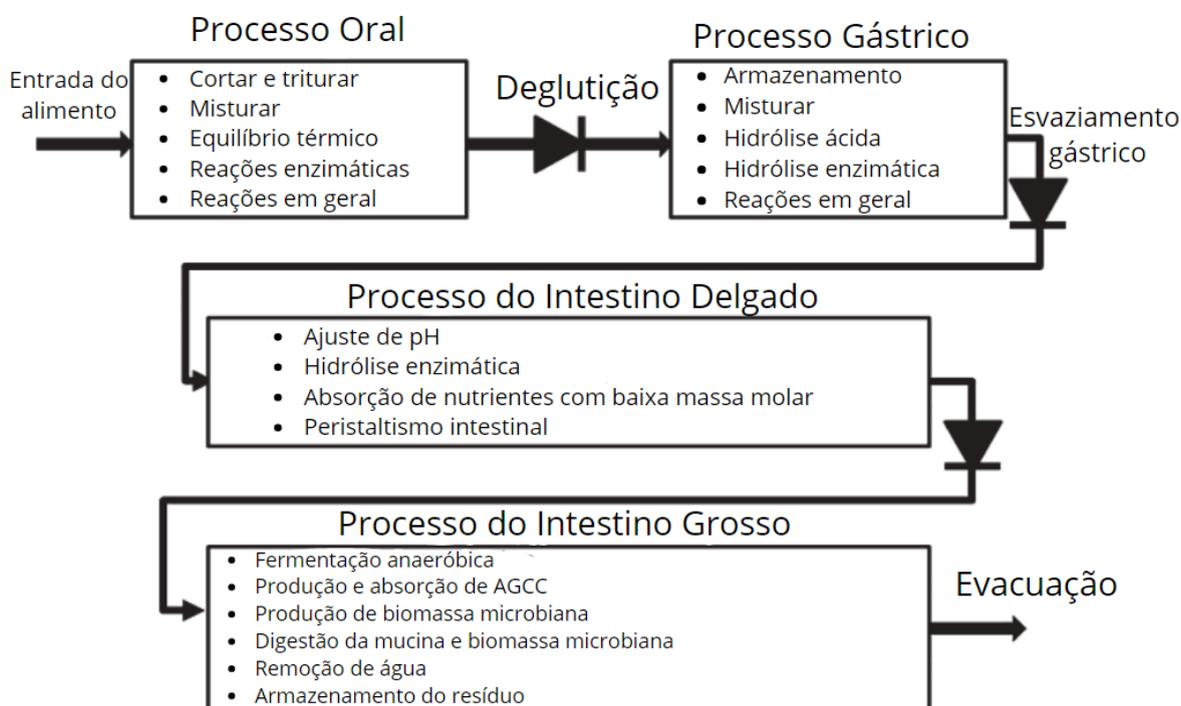
Portanto, após a ingestão dos alimentos, os processos digestivos do organismo influenciam diretamente no acesso de nutrientes ao corpo. A digestão se dá através do sistema digestivo, que é o conjunto de órgãos projetados para atender diversas demandas funcionais, como recepção, armazenamento de alimentos, transporte propulsivo, digestão, absorção e eliminação/evacuação^[33]. De forma simples, o processo pode ser dividido em:

- **Processo oral:** Durante a fase oral, o alimento ingerido é parcialmente triturado pelos dentes e misturado com a saliva por mastigação com objetivo de diminuir o tamanho do alimento. Neste processo ocorre a hidrólise do amido, onde na saliva contém a enzima alfa-amilase, cuja função é iniciar na boca a digestão do amido^[34], em um pH próximo da neutralidade. Após a deglutição o processo está completo, sendo a fase mais rápida do processo digestivo (Figura 2).
- **Processo gástrico:** O alimento quando ingerido passa pelo esôfago e vai até o estômago, onde é acumulado. O estômago por sua vez é um ambiente complexo, onde o pH é de aproximadamente 2, devido a secreção de ácido clorídrico com origem em células da parede gástrica^[30].

Nesta etapa ocorrem os processos de armazenamento, mistura, hidrólise ácida, hidrólise enzimática e reações digestivas em geral (Figura 2).

- Processo do intestino delgado: Após a fase gástrica, o bolo alimentar segue ao intestino delgado, onde é feito o ajuste de pH^[34]. Além disso, ocorrem processos físicos para a movimentação do bolo alimentar, promovendo o contato com órgão para melhor absorção de nutrientes^[30]. Ainda ocorrem hidrólises enzimáticas no intestino delgado, assim como absorção de macronutrientes^[29,33].
- Processo do intestino grosso: Já o intestino grosso é um ambiente anaeróbico, com uma vasta microbiota. Estima-se que existam cerca de 10^{13} bactérias no cólon humano adulto, com mais de 1.000 espécies diferentes^[30]. É onde ocorrem processos fermentativos, produção de massa microbiana, produção e absorção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), remoção de água, absorção de alguns nutrientes e armazenamento do resíduo para evacuação.

Figura 2. Representação esquemática simplificada do processo digestivo



Fonte: adaptado de BOLAND *et al.*, 2021.

2.5 Métodos de digestão *in vitro*

Métodos *in vitro* que simulam os processos de digestão são amplamente utilizados para estudar o comportamento gastrointestinal de alimentos ou produtos farmacêuticos. Ainda que os estudos nutricionais que são realizados *in vivo* ainda sejam considerados o “padrão ouro” para abordar questões relacionadas com a dieta, os métodos *in vitro* têm a vantagem de serem mais rápidos, menos dispendiosos, menos trabalhosos e sem restrições éticas. Isto permite que um número relativamente grande de amostras seja medido em paralelo para fins de triagem^[35]. Além da alta frequência analítica, a boa reprodutibilidade junto à escolha de condições controladas e a fácil amostragem tornam os modelos *in vitro* adequados para estudar o mecanismo e construir uma hipótese^[35].

A digestão *in vitro* consiste em três principais fases, chamadas de fase oral, fase gástrica e fase intestinal^[35,36]. Estes métodos tentam mimetizar condições

fisiológicas, contando com a presença de enzimas digestivas e suas respectivas concentrações, pH adequado, tempo de digestão, concentração de sais e outros fatores^[35]. Ensaio *in vitro*, apesar de serem difíceis de mimetizar as reais condições fisiológicas, são uma solução essencial e uma boa ferramenta para estudar sistemas alimentares^[36]. O comportamento desses ensaios é vantajoso devido sua confiabilidade, simplicidade e ampla aplicabilidade^[35,36].

Para uma avaliação de bioacessibilidade de compostos em alimentos, simula-se a digestão gastrointestinal utilizando enzimas digestivas, tais como pepsina, pancreatina e sais da bile^[36]. Após ensaios *in vitro*, diferentes técnicas analíticas são aplicadas para quantificação dos analitos e avaliação da bioacessibilidade de compostos, como compostos fenólicos, elementos essenciais ou até elementos potencialmente tóxicos.

2.6 Métodos espectrométricos para quantificação de metais

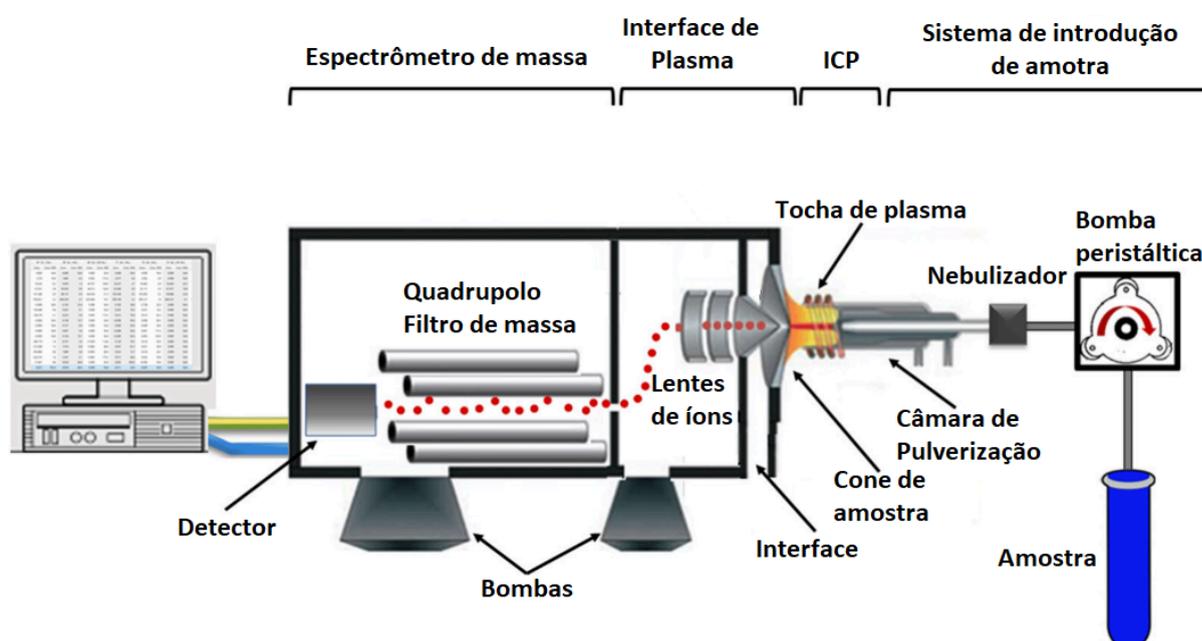
Para compreender melhor a bioacessibilidade de compostos, elementos essenciais e elementos potencialmente tóxicos, após a digestão *in vitro*, técnicas analíticas para quantificação de metais devem ser empregadas para investigar a bioacessibilidade desses compostos em alimentos. Várias técnicas analíticas são encontradas na literatura para determinação de matrizes complexas^[37], entre as quais a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS)^[38], espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS)^[39], espectrometria de fluorescência de raios X (XRF)^[41] e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)^[37,39,40]. Para ICP-MS, é válido ressaltar vantagens como capacidade de análises multielementares, além de baixos limites de detecção quando comparadas com outras técnicas espectrométricas^[37] o que possibilita uma alta frequência analítica para as análises.

A introdução da amostra para análises por ICP-MS pode ser realizada de diversas formas, pois a técnica permite o acoplamento de diferentes sistemas de introdução de amostras, tais como vaporização eletrotérmica, cromatografia líquida

de alta eficiência, eletroforese e diferentes tipos de nebulizadores. Entretanto, para análise de amostras líquidas os sistemas de introdução de amostras por nebulização são os mais comumente empregados^[37]. A determinação dos analitos é baseada na intensidade dos isótopos dos analitos monitorados com base nas respectivas razão massa/carga. Para a ionização dos analitos da amostra é utilizado um plasma indutivamente acoplado, os íons formados são extraídos por diferença de pressão através da interface e direcionados para um analisador de massas, geralmente um quadrupolo, onde ocorre sua separação em função da m/z , posteriormente estes são detectados e as respectivas intensidades podem ser relacionadas com a concentração dos analitos^[37,42].

A Figura 3 representa um esquema simplificado dos componentes de um ICP-MS.

Figura 3. Representação de um ICP-MS com analisador de massa quadrupolar



Fonte: Adaptado de Eleni C. Mazarakioti et al.^[43]

As técnicas de análises realizadas em um ICP-MS possuem várias vantagens quando comparadas com outras técnicas espectrométricas. Por exemplo, análises realizadas por ICP-MS contam com a possibilidade de análise multi

elementar (e isotópica), sequencial, rápida e com alta sensibilidade o que aumenta significativamente a frequência analítica. A utilização do ICP-MS ainda permite trabalhar com limites de detecção baixos, devido à sensibilidade da técnica^[37]. Além disso, análises feitas com ICP-MS permitem a utilização de padrão interno, o que minimiza possíveis interferentes^[37].

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar a concentração total e a fração bioacessível de minerais presentes em amostras de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) cultivadas na região sul do Brasil, utilizando a técnica de espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e com isso determinar a bioacessibilidade dos minerais.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar o teor de umidade das amostras de araçá coletadas em diferentes regiões e realizar o preparo por meio da digestão ácida;
- Otimizar os parâmetros instrumentais para aplicação do método proposto utilizando espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado para determinação de Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sb, Pb, Ba, Fe, Al, Mo e Mn nas diferentes amostras;
- Verificar a bioacessibilidade dos elementos essenciais nas amostras de araçá vermelho comparando amostras *in natura* (sem o processo de digestão biológica *in vitro*) com amostras submetidas ao processo de digestão *in vitro*;
- Avaliar a influência da região de cultivo sobre a concentração total e bioacessível de elementos essenciais e potencialmente tóxicos do araçá vermelho;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

As amostras de polpa araçá vermelho utilizadas neste trabalho foram cultivadas em diferentes regiões, fornecidas por diferentes produtores (Tabela 1). As amostras foram recebidas congeladas em embalagens plásticas e as análises realizadas em duplicatas.

Tabela 1. Origem e identificação das amostras recebidas utilizadas para determinação de umidade.

Sigla	Descrição	Local
L2I	Lages 2022	SC
L3I	Lages 2023	SC
FCI	Cidade das Abelhas	SC
FRI	Florianópolis Ressacada	SC
CAI	Capão Alto	SC
PGI	Ponta Grossa	PR
TCI	Três Coroas	RS
BD	Branco da Digestão	//

A digestão *in vitro* foi realizada pelo coorientador utilizando o método proposto por Minekus et al (2014). Neste método para a fase oral, 5,0 g de amostra foram misturados com 3,5 mL de fluido salivar (pH 7,0) e 0,5 mL de enzima α -amilase (1500 U mL⁻¹) preparada com fluido salivar e adicionados 25 μ L de CaCl₂ (0,3 mol.L⁻¹) e 975 μ L de água destilada, atingindo uma razão final de 50:50 (m/v). Essa mistura foi agitada por 2 min a 37°C.

Para a fase gástrica, a mistura obtida na fase oral foi submetida à 7,5 mL de fluido gástrico (pH 3,0), 1,6 mL de pepsina (25000 U mL⁻¹) preparada com fluido gástrico, 5,0 μ L de CaCl₂ (0,3 mol.L⁻¹), 0,2 mL de HCl (1 mol.L⁻¹) até atingir o pH 3,0 e 0,695 μ L de água destilada e então a mistura resultante foi mantida sob agitação a

37 °C por 2 h. A fase intestinal foi preparada submetendo a mistura anterior a 11 mL de fluido intestinal, 5 mL de pancreatina (800 U mL⁻¹), preparada com fluido intestinal, 2,5 mL de sais de bile (160 mM), 40 µL de CaCl₂ (0,3 mol.L⁻¹), 0,15 mL de NaOH (1 mol.L⁻¹) para atingir pH 7,0 e 1,31 mL de água. A mistura foi mantida sob agitação por mais 2 h a 37 °C. Para este trabalho foi utilizado o resíduo sólido obtido após a submissão da amostra a todo o processo de digestão. As determinações das concentrações dos analitos nas amostras *in natura* foram realizadas previamente e disponibilizadas pelo coorientador deste trabalho. Assim, analisou-se as amostras de araçá vermelho após passarem pelo processo de digestão *in vitro* e os resultados deste trabalho foram comparados com os obtidos para fruta *in natura* para estimativa da fração bioacessível.

4.2 Reagentes

Os reagentes utilizados para os procedimentos foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água ultrapura obtida no purificador MILLI-Q Plus da marca Merck Millipore com resistividade de 18,2 MΩ.cm. A digestão foi realizada em bloco digestor com ácido nítrico bidestilado em destilador de quartzo, Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha. Também para a digestão foi utilizado peróxido de hidrogênio 30% v/v (Merck, Rio de Janeiro, Brasil). Para a calibração, foram empregadas solução estoque multielementar (Standard solution VI, Fluka), na concentração de 10 mg L⁻¹, em HNO₃ 1% (v/v), na faixa de 1,0 a 150 µg L⁻¹ para as determinações por ICP-MS e uma solução de Ródio (Rh) com concentração de 5 µg L⁻¹ foi preparada a partir de uma solução estoque e utilizada como padrão interno.

4.3 Instrumentação

As amostras de polpa de araçá com sementes foram secas em estufa e trituradas manualmente e em seguida por um moinho automático. As amostras foram pesadas em balança analítica modelo Mark Série M, BEL Engeneering. A digestão foi feita em bloco digestor TE-15/50 (TECNAL). A leitura das amostras foi realizada por um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado modelo Elan 6000 (Perkin Elmer-Sciex, Thornhill, Canadá) utilizando argônio (99,996%, White Martins, São Paulo, Brasil). A calibração foi conduzida com

padrões externos variando de 5 a 150 µg L⁻¹, empregando Rh como padrão interno (5 µg L⁻¹). Os isótopos monitorados neste trabalho foram: ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁶³Cu, ⁶⁶Zn, ¹¹¹Cd, ¹²¹Sb, ²⁰⁸Pb, ¹³⁸Ba, ⁵⁷Fe, ²⁷Al, ⁹⁸Mo e ⁵⁵Mn.

4.4 Procedimentos experimentais

4.4.1 Pré-tratamento das amostras

Anterior a determinação da umidade, as amostras de polpa de araçá com sementes foram aclimatadas após serem retiradas do refrigerador, na sequência estas foram secas na estufa por 40 horas em uma temperatura de 50 °C. Então, foram trituradas manualmente e em moinho de bolas até atingir uma granulometria homogênea.

4.4.2 Determinação de umidade

A umidade das amostras foi determinada pelo método gravimétrico. Para determinação da umidade, as alíquotas das amostras de araçá foram separadas, identificadas e colocadas na estufa pré-aquecida a uma temperatura de 105 °C até a massa constante. Após a secagem, as amostras foram removidas da estufa e aclimatadas em um dessecador antes de serem pesadas novamente. De forma rápida, foi aferida a massa das amostras e calculada a umidade da amostra de forma direta.

Para determinar a umidade foi utilizada a equação 1:

$$U (\%) = [(M_i - M_f) / M_i] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde U é a umidade em porcentagem, M_i representa a massa inicial da amostra úmida em gramas e M_f a massa final da amostra seca em gramas.

4.5 Digestão ácida em bloco de aquecimento

Nesta fase foram selecionadas as amostras de araçá resultantes da digestão gástrica *in vitro* para o processo de digestão ácida, uma vez que este método é comumente empregado na preparação de amostras para análise por ICP-MS.

Para a digestão ácida em bloco digestor, as massas das amostras secas variaram entre 0,30 g até 0,50 g foram pesadas nos tubos de digestão e adicionados 4,0 mL de HNO₃ bidestilado e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio. A mistura foi deixada à temperatura ambiente e os frascos mantidos abertos para reagir à pressão atmosférica por três horas. Posteriormente, os frascos foram fechados e aquecidos até uma temperatura de 150 °C e mantidos em aquecimento por 2 horas garantindo a completa decomposição da matriz. Após a digestão ácida ser completada, os tubos fechados, ainda dentro da capela, foram deixados para resfriar até temperatura ambiente. Então, as amostras digeridas foram transferidas para tubos de polipropileno e avolumadas para 30 mL. Para a análise no ICP-MS as amostras foram diluídas pelo menos 10 vezes.

4.6 Parâmetros do ICP-MS

Para a determinação das condições instrumentais de operação foram definidas conforme as configurações otimizadas do instrumento, onde a potência do gerador de radiofrequência utilizada foi 1100 W e para a vazão do gás nebulizador foi de 1,01 L/min. Os parâmetros utilizados nas análises por ICP-MS foram verificados por meio da “*daily performance*” garantido que o ICP-MS estava operando em condições adequadas para a realização das análises.

4.7 Tratamento de resíduos e segurança no laboratório

Para garantir melhor confiabilidade dos resultados analíticos e segurança do analista na hora dos experimentos, foram utilizados EPIs como jaleco de algodão, luvas de nitrila, bem como a dissolução das amostras feitas em capela para garantir a segurança do ambiente laboratorial.

Os resíduos gerados ao longo deste projeto foram devidamente separados e identificados de acordo com as normas de resíduos da UFSC. Os resíduos sólidos foram separados em sólidos contaminados com produtos químicos (SCPQ), sobras de produtos químicos (RPQ) e vidrarias e frascos de reagentes quebrados e contaminados. A separação dos resíduos líquidos foi dada em aquosos, solventes halogenados e solventes não halogenados. Para o tratamento de resíduos, foi

destinado a uma empresa terceirizada, seguindo normas do laboratório e do departamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros instrumentais do ICP-MS

Para assegurar a qualidade dos resultados obtidos pela ICP-MS, é necessário utilizar os parâmetros adequados para determinada análise. Estes parâmetros podem interferir diretamente na resposta instrumental. No que diz respeito ao fluxo do gás nebulizador, este tem uma influência direta no tempo de residência dos analitos no plasma, um alto fluxo pode resultar em uma ionização parcial das espécies (baixo tempo de residência), já um fluxo baixo pode gerar íons com dupla carga (alto tempo de residência), podendo causar interferências sobre os isótopos dos analitos. Outro parâmetro importante que se atentou neste trabalho foi a potência de radiofrequência do plasma, buscando garantir a estabilidade do plasma a fim de manter energia suficiente para ionização adequada dos analitos. Neste contexto, a *daily performance* (Tabela 2) foi realizada para garantir que o equipamento estivesse de acordo com os parâmetros mínimos recomendados para permitir a realização das análises.

Tabela 2. Parâmetros obtidos na avaliação de performance do equipamento de ICP-MS.

Espécie	Massa	Intensidade líquida	Intensidade recomendada
		média	
Mg	24,0	60544	≥ 20000
Rh	102,9	215631	≥ 15000
In	114,9	286980	≥ 300000
Pb	208,0	215199	≥ 50000
Ba	137,9	41403	-
Ba++	69,0	1,7	≤ 3,0
Ce	139,9	431392	-
CeO	155,9	1,9	≤ 3,0
Bkgd	220,0	3,6	≤ 30

Considerando os parâmetros avaliados por meio da daily performance, observa-se que a maioria dos parâmetros monitorados estão de acordo com os valores estabelecidos como referência pelo manual do equipamento. Dos parâmetros avaliados, apenas as contagens para o In ficaram levemente inferiores ao limite estabelecido, porém não comprometendo a confiabilidade dos resultados.

5.2 Parâmetros de mérito

Para este trabalho, foram determinados os parâmetros de mérito LOD/LOQ e o desvio padrão relativo (RSD). Tanto o LOD quanto o LOQ foram expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ e estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de mérito

	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Co	0,004	0,01
Ni	0,03	0,1
Cu	0,05	0,2
Zn	1	4
Cd	0,006	0,02
Sb	0,005	0,02
Pb	0,02	0,06
Ba	0,2	0,6
Fe	2	6
Al	11	35
Mo	0,007	0,02
Mn	0,03	0,1

Faixa de calibração: $1\text{--}150 \mu\text{g L}^{-1}$. Padrão interno de Rh com $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

O LOD para o método proposto foi obtido considerando 3 vezes o desvio-padrão de 10 medições consecutivas do branco da amostra, dividido pelo

valor da inclinação da curva de calibração. O LOQ foi considerado 3,3 vezes o valor do LOD. Estes valores de LOD e LOQ foram corrigidos considerando o método proposto e expressos em massa. Todos os coeficientes de correlação obtidos são maiores que 0,997, indicando uma boa correlação linear entre os valores de intensidade e as concentrações dos analitos nos padrões de calibração. Os valores de RSD variaram de 0.05 – 22% no entanto para a maioria das amostras os valores foram menores que 10%. Os valores de RSD superiores a 10%, podem ser resultado da complexidade do método proposto, o qual envolve várias etapas e uma grande quantidade de reagentes e/ou complexidade da matriz, principalmente no que tange a grande concentração de sais dissolvidos provenientes dos ensaios de digestão *in vitro*. Os valores de LOD e LOQ foram comparados com valores encontrados na literatura^[44]. No trabalho de Pereira e colaboradores^[44], diferentes frutas foram analisadas por ICP OES e os valores de LOD e LOQ foram ligeiramente inferiores aos obtidos neste trabalho. Entretanto, ressalta-se que no trabalho proposto os valores de LOD e LOQ foram corrigidos de expressos de acordo com o método utilizado.

5.3 Quantificação da umidade e determinação dos analitos

Para obter os resultados em base seca, foi realizada a determinação da umidade das amostras de polpa do araçá vermelho. A determinação da umidade possibilita a comparação em base seca dos resultados dos minerais da fruta *in natura* com os valores obtidos após a digestão *in vitro*. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Massas de amostra utilizadas na determinação de umidade e respectivas porcentagem de umidade das amostras de araçá.

Amostra	Massa Seca, g	Umidade Da Amostra, %, m/m
FRIA	1,0818	78,4
FRIB	1,0581	78,6
L3IA	0,9715	80,9
L3IB	1,0114	80,2
L2IA	1,2504	75,5
L2IB	0,9866	80,4
PGIA	1,3331	74,1
PGIB	1,3318	73,7
TCIA	0,5627	88,9
TCIB	0,6493	87,4
CAIA	0,9289	81,4
CAIB	0,947	81,6
FCIA	1,1806	75,6
FCIB	1,2166	76,4

Os valores de umidade para o araçá são elevados, demonstrando a quantidade alta de água presente na fruta, representando de 80% a 90%^[45] da massa total da fruta. É possível observar que os valores de umidade das amostras de araçá variaram conforme a região de colheita, onde os menores valores para umidade obtidos foram para a amostra de Ponta Grossa com uma média de 73,9%. Já as amostras com maiores valores de umidade foi a amostra de Três Coroas com uma média de 88,1%. Os valores das amostras da mesma região mostram um valor próximo, com exceção de Lages de 2022 onde mostrou uma variação de 4,9%. Entretanto, esta variação é relativamente baixa e pode estar associada aos erros

experimentais inerentes a determinação da umidade ou mesmo às variações na composição da amostra.

A determinação dos elementos essenciais das amostras em base seca de arará vermelho digeridos *in vitro* foi realizada por ICP-MS. Foram analisadas um total de 16 amostras L2, L3, FC FR, CA, PG, TC, BD em duplicata. A concentração total dos analitos no fruto *in natura* foi comparada com os valores de concentração obtidos após o processo gastrointestinal *in vitro*. Os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ e estão representados na Tabela 5 a seguir:

Tabela 5. Composição mineral total e depois da digestão *in vitro* das amostras de araçá em $\mu\text{g g}^{-1}$.

METAL	TC		L2		L3		PG		FC		CA		FR	
	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.	TOTAL	DIG.
Co	0,505	0,038	0,952	0,066	0,361	0,028	0,460	0,040	0,125	0,036	0,487	0,019	0,093	<LOQ
Ni	<LOQ	0,409	1,632	0,698	2,061	<LOQ	0,498	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,081	ND	1,726	<LOQ
Cu	19,533	3,624	16,234	4,464	24,779	5,215	21,574	3,337	30,717	3,918	25,358	2,920	22,303	2,625
Zn	24,416	ND	14,647	<LOQ	ND	<LOQ	27,054	4,548	29,507	4,393	25,034	ND	26,129	6,724
Cd	ND	0,378	ND	0,387	ND	<LOQ	0,077	0,056	ND	0,224	0,054	0,063	0,047	0,0147
Sb	ND	0,016	ND	ND	ND	ND	ND	ND						
Pb	ND	0,248	ND	0,073	ND	ND	ND	ND	1,043	0,268	ND	ND	ND	0,134
Ba	ND	4,618	7,573	7,064	ND	1,818	ND	0,864	ND	<LOQ	ND	2,973	ND	<LOQ
Fe	59,693	20,591	58,815	21,122	66,043	24,353	98,330	17,003	67,611	9,443	90,403	14,446	86,739	<LOQ
Al	ND	ND	ND	ND	ND	ND	45,486	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mo	ND	0,103	<LOQ	0,241	0,618	0,302	0,805	0,223	ND	0,070	1,135	0,218	<LOQ	0,140
Mn	205,009	12,407	63,894	6,363	44,097	4,845	46,176	4,727	64,606	6,478	71,425	3,758	37,001	4,971

ND - Valores não detectados (<LOD)

DIG. - Valores obtidos após a digestão *in vitro*.

Para o araçá *in natura* é possível observar que elementos como Cu, Zn, Fe e Mn são os mais frequentemente encontrados. Os valores de Fe obtidos variaram de 58,81–98,33 $\mu\text{g g}^{-1}$, Mn de 37,00–205,01 $\mu\text{g g}^{-1}$, Zn de 14,64–29,51 $\mu\text{g g}^{-1}$ e Cu de 16,23–30,72 $\mu\text{g g}^{-1}$. Percebe-se que foi encontrado um valor superior para o Mn de 205,009 $\mu\text{g g}^{-1}$ na amostra TC, porém o valor obtido na amostra que passou pelo processo de digestão também apresenta um valor acima quando comparado com as demais amostras. Na literatura, as concentrações de ferro em amostras de araçá vermelho e amarelo *in natura* encontram-se entre 14,91 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44] e 43,84 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44,46]. Os valores obtidos neste trabalho foram superiores em relação a determinação de Fe quando comparado com a literatura, podendo ser resultado da variação é a região de plantio, minerais disponíveis no solo, quantidade de sementes no fruto e estação do ano de plantio^[46] que são causas de potencial variação na quantidade de minerais presentes na análise da fruta. Em relação ao Zn, os valores relatados na literatura nas amostras de plantas da família *Myrtaceae*, mesma família do araçá vermelho, encontram-se entre 17,59 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 42,36 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[46]. Os valores de Zn encontrados neste trabalho estão dentro da faixa de valores encontrados para plantas da mesma família. Os valores do Mn se encontram acima do esperado para o araçá e plantas da mesma família, onde variaram entre 6,13 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[46] e 29,86 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44]. É válido ressaltar que partes diferentes da planta, como a própria semente, podem causar variações significativas nas quantidades de minerais presentes, podendo por exemplo, elevar a quantidade de Mn^[46], visto que a polpa utilizada era rica em sementes. Os valores de Cu encontrados na literatura para araçá e frutos da mesma família *in natura* se mostraram abaixo aos obtidos neste trabalho, onde na literatura encontrada variam entre 5,54 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44] e 8,97 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[46]. Os valores de Co encontrados neste trabalho ficam próximos aos de alguns frutos da mesma família relatados na literatura, que mostram uma grande variação para o araçá amarelo e vermelho, entre 0,31 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44] e 3,17 $\mu\text{g g}^{-1}$ ^[44] respectivamente.

É possível observar também que muitos elementos não foram detectados, isso pode se dever ao fato da alta diluição utilizada. Apesar dos valores de minerais encontrados em plantas ter uma grande variação devido a vários fatores, como solo, estação de colheita, nutrientes fornecidos, região de cultivo e partes diferentes da

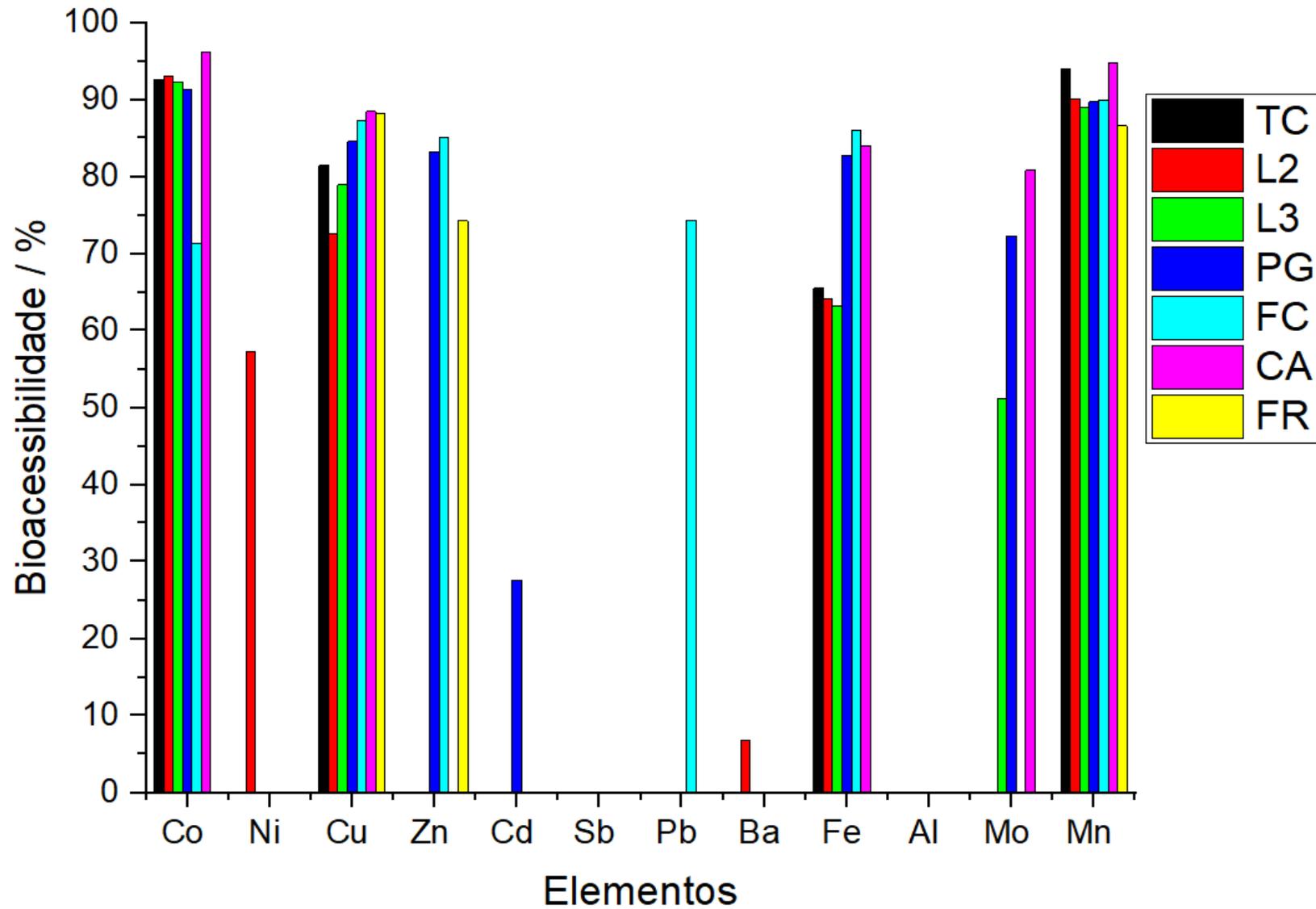
planta, os valores obtidos neste trabalho, em geral, estão cerca de 10 a 50% acima para alguns elementos quando comparado aos encontrados na literatura para os minerais citados^[44,46,47,48,49] em base seca, bem como para plantas da mesma família^[48].

5.4 Estudo de bioacessibilidade

A bioacessibilidade dos elementos essenciais na digestão simulada foi calculada a partir da equação 2, onde, CF é a concentração final do elemento alvo, após processo completo de digestão *in vitro* e CI é a concentração inicial (total) do elemento alvo na fruta. Como neste trabalho foi analisado o resíduo sólido da digestão *in vitro*, os resultados obtidos no método foram subtraídos dos valores de concentração total dos analitos nas frutas tornando possível verificar a quantidade que estaria bioacessível no processo de digestão. Os dados obtidos de bioacessibilidade estão representados na Figura 4.

$$BI\% = 100 \times (CI - CF) / CI \quad (\text{Eq. 2})$$

Figura 4. Bioacessibilidade dos metais obtidos comparando as amostras *in natura* e as amostras submetidas ao processo de digestão *in vitro*.



Para as amostras analisadas, as concentrações de Cd, Al, Sb, Ni, Pb e Ba apresentaram somente um valor para bioacessibilidade ou não foram determinadas, estando todas inferiores ao LOD na maioria das amostras, o mesmo foi observado para a concentração total destes elementos. Dos elementos que foram possíveis de quantificar nas amostras após o processo de digestão e calcular a bioacessibilidade, o Co varia de 71,25% a 96,15%. A amostra da Cidade das Abelhas apresentou um valor baixo para o Co tanto *in natura* quanto na fração bioacessível quando comparado às outras amostras. As amostras para o Co apresentam uma média de 89,44%. O Mn teve os maiores valores para bioacessibilidade dos minerais estudados, em média com 90,58%, variando de 86,57% a 94,74% para as frações bioacessível da polpa de araçá vermelho. A amostra de Três Coroas apresentou um valor elevado de Mn para a amostra *in natura* quando comparado às outras, entretanto o valor de bioacessibilidade se mostra inferior quando comparado a amostra de Capão Alto com maior fração bioacessível entre as amostras. Para o Cu os valores encontrados variam de 72,50% a 88,48% de bioacessibilidade nas amostras, com uma média de 83,06%. É possível observar que a amostra de Lages (2022) é a que tem menor concentração do mineral *in natura* bem como a menor fração bioacessível. Apesar da amostra da Cidade das Abelhas apresentar a maior concentração do mineral *in natura*, a maior fração bioacessível foi observada na amostra de Capão Alto. Para o Mo, somente três valores foram obtidos e com uma alta variação, de 51,20% a 80,81% para bioacessibilidade. Já para o Fe há uma grande variação entre as amostras, encontrando valores de 63,12% a 86,03%. A média dos valores para a bioacessibilidade do Fe no araçá é de 74,25%. A amostra com maior concentração de Fe dentre as amostras é a de Ponta Grossa, porém a amostra da Cidade das Abelhas apresenta um valor superior para bioacessibilidade. O Zn observa-se somente três valores de absorção para as amostras, com valores entre 74,27% e 85,11%. Esperava-se que o Fe e o Zn tivessem valores inferiores aos obtidos, devido ao fato de possuir uma tendência a formar componentes insolúveis com componentes da fibra, fitatos, ácido oxálico, carbonato e polifenóis, prejudicando a solubilidade e absorção desses elementos em algumas frutas^[50]. Isso pode ter acontecido, provavelmente, pela grande quantidade de sementes nas amostras de araçá, o que pode estar relacionado ao alto teor de ferro e zinco nas mesmas. Além disso, as altas concentrações de sais presentes adicionados

para digestão *in vitro*, podem ter ocasionado interferências nas análises dos dos metais citados. A grande variação de valores, tanto para as amostras de araçá *in natura* como para as submetidas à digestão *in vitro* também pode ser causado pela complexidade da matriz, que pode sofrer muitas variações desde fatores de plantio, sazonalidade, quantidade de sementes na amostra. Devido a alta concentração de sais na solução, as amostras precisaram ser muito diluídas para que pudessem ser analisadas por ICP-MS. Embora a técnica seja muito sensível, a alta diluição requerida para as amostras prejudicou a capacidade de detecção.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, realizou-se a avaliação de bioacessibilidade de minerais presentes na fruta, bem como de elementos potencialmente tóxicos, sendo eles o Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Sb, Pb, Ba, Fe, Al, Mo e Mn. As amostras apresentaram altos valores de umidade da polpa da fruta, com valores próximos a 80% para umidade. Para determinação destes minerais por ICP-MS, os sais presentes no processo de digestão *in vitro* podem ter interferido nos resultados esperados, onde os valores para bioacessibilidade dos minerais no geral se mostraram elevados quando comparados aos de outras frutas. Além disso, a diluição pode ter afetado os resultados de algumas das espécies analisadas, não sendo possível detectar em nenhum valor o Sb e o Al. Já para outros elementos como Fe, Co, Cu, Mo, Mn e o Zn a técnica permitiu a comparação com valores da literatura sendo observado valores acima do reportado na literatura. Para os analitos não detectados, seria necessário utilizar outra técnica que não seja tão afetada pela alta concentração de sais nas amostras como por exemplo a espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS). Também é possível repensar a diluição das amostras utilizada no método. Contudo, a utilização do ICP-MS para o método proposto foi possível quantificar alguns dos elementos, permitindo uma análise multielementar na amostra de araçá vermelho, uma matriz que tem uma composição que varia muito dependendo das condições do ambiente, o que pode também explicar a variação entre as amostras. Apesar da grande parte dos elementos permitir a avaliação da bioacessibilidade, foi possível observar variações nas concentrações de Fe, Co, Cu, Zn, Mn e Mo em função da região das amostras.

7 REFERÊNCIAS

¹Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) - Estatísticas. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, acesso em: outubro de 2023.

²Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Monitoramento da Cobertura e Uso da Terra. Plataforma Geográfica Interativa**. IBGE; março de 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/27207>. Acesso em: outubro de 2023.

³Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de São Paulo Disponível em: <https://faespsenar.com.br/panorama-da-fruticultura-no-estado-de-sao-paulo/>, acesso em: outubro de 2023.

⁴CORADIN, L.; CAMILLO, J. Introdução. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região Centro-Oeste**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2016.

⁵OLIVEIRA, Natália; SANTIN, Fernanda; PARAIZO, Talita Rodrigues; SAMPAIO, Jéssica Pereira; MOURA-NUNES, Nathália; CANELLA, Daniela Silva. Baixa variedade na disponibilidade domiciliar de frutas e hortaliças no Brasil: dados das pov 2008-2009 e 2017-2018. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 26, n. 11, p. 5805-5816, nov. 2021. FapUNIFESP (SciELO).

⁶Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018: Avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE; 2020.

⁷BRASIL. Lei nº Decreto-lei nº. 986, de 21 de outubro de 1969. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Sessão Plenária, artigo nº. 64, realizada em 30/03/78. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cnnpa/1978/res0012_30_03_1978.html, acesso: outubro de 2023.

⁸LIBERALESSO, Andréia Maria. **O futuro da alimentação está nas plantas alimentícias não convencionais (PANC)?** Dissertação (Programa de Pós Graduação em Agronegócios). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do

Sul, 2019. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/197796> Acesso em: outubro de 2023.

⁹PADILHA, Maria do Rosário de Fátima; SOUZA, Vitoria Brenda do Nascimento; SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa; PIMENTEL, Rejane Magalhães de Mendonça. PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS PRESENTES EM FEIRAS AGROECOLÓGICAS EM RECIFE: potencial alimentício / unconventional food plants present at agroecological fairs in recife. **Brazilian Journal Of Development**, v. 6, n. 9, p. 64928-64940, 2020.

¹⁰BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de hortaliças não convencionais / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS, 2010.

¹¹Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)/MMA, **Mapa de Biomas do Brasil - Primeira Aproximação**. IBGE, maio de 2004.

¹²NEVES, Leandro Camargo; TOSIN, Jéssica Milanez; BENEDETTE, Ronaldo Moreno; CISNEROS-ZEVALLOS, Luis. Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. **Food Chemistry**, v. 174, p. 188-196, maio 2015.

¹³CAVALCANTE, Ítalo Herbert Lucena; CAVALCANTE, Lourival Ferreira; LIMA, Ely Martins de; FREIRE, José Lucínio de Oliveira; PEREIRA, Walter Esfrain; COSTA, Antônio de Pádua Moura da. Componentes qualitativos do cajá em sete municípios do brejo paraibano. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 627-632, 28 ago. 2009. Universidade Estadual de Maringá.

¹⁴REIS, Amanda Figueiredo; SCHMIELE, Marcio. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 22, p. 1-12, 2019.

¹⁵TOKAIRIN, Tatiane de Oliveira; SILVA, Aline Priscilla Gomes da; SPRICIGO, Poliana Cristina; ALENCAR, Severino Matias de; JACOMINO, Angelo Pedro. Cambuci: a native fruit from the brazilian atlantic forest showed nutraceutical characteristics. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, p. 1-8, 18 out. 2018.

¹⁶TERRA, Simone Braga; VIERA, Carla Thais Rodrigues. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs): levantamento em zonas urbanas de Santana do Livramento, RS. **Ambiência Guarapuava (PR)**, **Guarapuava**, v. 15, n. 1, p. 112–30, jan./abr. 2019.

- ¹⁷SOBRAL, M.; LUCAS, E.; LANDRUM, L.; SOARES-SILVA, L. Myrtaceae in: STHEMAN, J.; FORZZA, R. C.; SALINO, A.; SOBRAL, M.; COSTA, D. P.; KAMINO, L. H. Y. Plantas da Floresta Atlântica. **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2009.
- ¹⁸ARAGÃO J. G.; CONCEIÇÃO, G. M. **Importância, diversidade e distribuição geográfica**. 2007. 71f. Monografia (Graduação em Ciências com habilitação em Biologia) – Universidade Estadual do Maranhão, Caxias, 2007.
- ¹⁹BIEGELMEYER, Renata et al. Comparative Analysis of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Red (*Psidium cattleianum*) and Yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) Strawberry Guava Fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. C991–C996, 2011.
- ²⁰Raseira M.C.B., Raseira A. **Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleianum***. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1996. 95p.
- ²¹Semente Orgânica, Araçá Vermelho, 2024. Disponível em: <https://www.sementeorganica.com/produto/muda-de-araca-vermelho-vermelho-psidium-cattleianum.html>
- ²²PEREIRA, Elisa dos Santos et al. Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum* Sabine): Phenolic composition, antioxidant activity and inhibition of α -amylase and α -glucosidase. **Food Bioscience**, v. 37, p. 100665, 2020.
- ²³MEDINA, Aline Lisboa et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 128, n. 4, p. 916–922, 2011.
- ²⁴FERREIRA, Bruno Luís et al. Innovative approach for obtaining phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) coproduct using ionic liquid ultrasound-assisted extraction (IL-UAE). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 38, p. 102196, 2021.
- ²⁵PEREIRA, Elisa dos Santos et al. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 258, p. 95–103, 2018.

- ²⁶VERMA, Chitra; TAPADIA, Kavita; SONI, Anupam Bala. Determination of iron (III) in food, biological and environmental samples. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1415–1420, 2017.
- ²⁷MUÑOZ, Ociel et al. Arsenic, cadmium, mercury, sodium, and potassium concentrations in common foods and estimated daily intake of the population in Valdivia (Chile) using a total diet study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 1125–1134, 2017
- ²⁸Moreira FR, Moreira JC. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**. 2004; p.119–29.
- ²⁹EMBRAPA. Bioacessibilidade, você sabe o que é isso?. rev. Portal fator brasil, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/188349/1/Bioacessibilidade-voc-e-sabe-o-que-e-isso-.pdf> acesso em junho de /2024.
- ³⁰BOLAND, Mike. Human digestion – a processing perspective. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, v. 96, n. 7, p. 2275-2283, 5 fev. 2016. Wiley.
- ³¹QUAN, Wei et al. Effect of milk addition and processing on the antioxidant capacity and phenolic bioaccessibility of coffee by using an in vitro gastrointestinal digestion model. **Food Chemistry**, v. 308, p. 125598, 2020.
- ³²FARIAS, David de Paulo et al. Effect of in vitro digestion on the bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds in fractions of Eugenia pyriformis fruit. **Food Research International**, v. 150, p. 110767, 2021.
- ³³MORIEL, Patricia; MADUREIRA, Hermes Lima; UWAGOYA, Áurea Kátia Yuuko; WLIAN, Luana; PINCINATO, Eder de Carvalho. Influência do fumo na atividade da amilase salivar e na curva glicêmica. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 565-572, ago. 2010.
- ³⁴HELANDER, Herbert F; FÄNDRIKS, Lars. Surface area of the digestive tract – revisited. **Scandinavian Journal Of Gastroenterology**, v. 49, n. 6, p. 681-689, 2 abr. 2014.
- ³⁵MINEKUS, M. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food Funct.**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

³⁶LIMA, Ana Cristina Silva de; SOARES, Denise Josino; SILVA, Larissa Morais Ribeiro da; FIGUEIREDO, Raimundo Wilane de; SOUSA, Paulo Henrique Machado de; MENEZES, Eveline de Abreu. 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 Chemistry**, v. 161, p. 142-147, out. 2014.

³⁷SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; NIEMAN, Timothy A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: [s. n.], 2002.

³⁸FERNANDEZ-HERNANDEZ, A.; MATEOS, R.; GARCIA-MESA, J. A.; BELTRAN, G.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.. Determination of mineral elements in fresh olive fruits by flame atomic spectrometry. **Spanish Journal Of Agricultural Research**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 1183-1190, 21 jul. 2010. Instituto Nacional de Investigacion y Tecnologia Agraria y Alimentaria (INIA).

³⁹PIOTKA-WASYLKA, Justyna; RUTKOWSKA, Małgorzata; CIEŚLIK, Bartłomiej; TYBURCY, Alan; NAMIEŚNIK, Jacek. Determination of Selected Metals in Fruit Wines by Spectroscopic Techniques. **Journal Of Analytical Methods In Chemistry**, v. 2017, p. 1-9, 2017.

⁴⁰CHEN, Shi-Hua; LI, Yi-Xiang; LI, Pei-Hua; XIAO, Xiang-Yu; JIANG, Min; LI, Shan-Shan; ZHOU, Wen-Yi; YANG, Meng; HUANG, Xing-Jiu; LIU, Wen-Qing. Electrochemical spectral methods for trace detection of heavy metals: a review. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, v. 106, p. 139-150, set. 2018.

⁴¹NIELSON, Kirk K.; MAHONEY, Arthur W.; WILLIAMS, Lisa S.; ROGERS, Vern C.. X-ray fluorescence measurements of Mg, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, and Zn in fruits, vegetables, and grain products. **Journal Of Food Composition And Analysis**, v. 4, n. 1, p. 39-51, mar. 1991. Elsevier BV.

⁴²WYSOCKA, Irena. Determination of rare earth elements concentrations in natural waters – A review of ICP-MS measurement approaches. **Talanta**, v. 221, jan. 2021. Elsevier BV.

⁴³MAZARAKIOTI, Eleni C.; ZOTOS, Anastasios; THOMATOU, Anna-Akrivi; KONTOGEOGOS, Achilleas; PATAKAS, Angelos; LADAVOS, Athanasios. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS), a Useful Tool in Authenticity of Agricultural Products' and Foods' Origin. **Foods**, v. 11, n. 22, p. 3705, 18 nov. 2022.

⁴⁴PEREIRA, M. C.; BOSCHETTI, W.; RAMPAZZO, R.; CELSO, P. G.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. de O.; VIZZOTTO, M.; FLORES, S. H. Mineral characterization of native fruits from the southern region of Brazil. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 34, n. 2, p. 258-266, 30 jun. 2014.

⁴⁵SILVA, Nathalia Azevedo da; RODRIGUES, Eliseu; MERCADANTE, Adriana Zerlotti; ROSSO, Veridiana Vera de. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 62, n. 22, p. 5072-5084, 21 maio 2014. American Chemical Society (ACS).

⁴⁶ADRIAN, Julie Ann Luiz; ARANCON, Norman Q.; MATHEWS, Bruce W.; CARPENTER, James R.. Mineral Composition and Soil-Plant Relationships for Common Guava (*Psidium guajava*L.) and Yellow Strawberry Guava (*Psidium cattleianum*var. *lucidum*) Tree Parts and Fruits. **Communications In Soil Science And Plant Analysis**, v. 46, n. 15, p. 1960-1979, 18 jul. 2015. Informa UK Limited.

⁴⁷Érica Salvador Fochezatto, COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, NUTRICIONAL E COMPOSTOS BIOATIVOS DO ARAÇÁ AMARELO (*Psidium cattleianum* Sabine), 2008 Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

⁴⁸CALDEIRA, Sandriani Darine; HIANE, Priscila Aiko; RAMOS, Maria Isabel Lima; RAMOS FILHO, Manoel Mendes. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ARAÇÁ (*Psidium guineense* SW.) E DO TARUMÃ (*Vitex cymosa* Bert .) DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 145-154, 30 jun. 2004. Universidade Federal do Paraná.

⁴⁹WOJCIESZEK, Justyna; RUZIK, Lena. Study of bioaccessibility of cobalt species in berries and seeds by mass spectrometry techniques. **Journal Of Analytical Science And Technology**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-9, 7 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

⁵⁰PEREIRA, Camila Corrêa; SILVA, Emanuelli do Nascimento da; SOUZA, Alexander Ossanes de; VIEIRA, Mariana Antunes; RIBEIRO, Anderson Schwingel; CADORE, Solange. Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **Journal Of Food Composition And Analysis**, v. 68, p. 73-78, maio 2018. Elsevier BV.