

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química



Tese

**Desenvolvimento de método analítico para análise multielementar e
determinação da fração bioacessível em lentilha e ervilha por MIP OES**

Sandy Araujo Silva

Pelotas, fevereiro de 2023

Sandy Araujo Silva

**Desenvolvimento de método analítico para análise multielementar e
determinação da fração bioacessível em lentilha e ervilha por MIP OES**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Pelotas,
como requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S586d Silva, Sandy Araujo

Desenvolvimento de método analítico para análise multielementar e determinação da fração bioacessível em lentilha e ervilha por MIP OES / Sandy Araujo Silva ; Anderson Schwingel Ribeiro, orientador ; Mariana Antunes Vieira, coorientadora. — Pelotas, 2023.

88 f. : il.

Tese (Doutorado) — Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Leguminosas. 2. Decomposição ácida. 3. Elementos essenciais. 4. Elementos não essenciais. I. Ribeiro, Anderson Schwingel, orient. II. Vieira, Mariana Antunes, coorient. III. Título.

CDD : 635.65

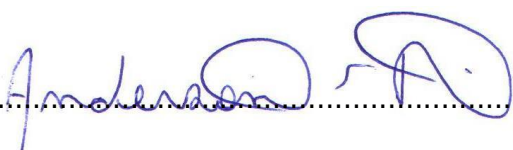
Sandy Araujo Silva

Desenvolvimento de método analítico para análise multielementar e determinação da fração bioacessível em lentilha e ervilha por MIP OES

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

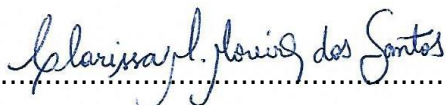
Data da defesa: 13/02/2023

Banca examinadora:


.....

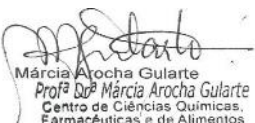
Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro (Orientador)

Doutor em Química Analítica pela Universidade Estadual de Campinas


.....

Prof^a. Dr^a. Clarissa Marques Moreira dos Santos

Doutora em Química Analítica pela Universidade Federal de Santa Maria


.....
Márcia Arocha Gularte
Prof^a Dr^a Márcia Arocha Gularte
Centro de Ciências Químicas,
Farmacêuticas e de Alimentos
Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Márcia Arocha Gularte

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas


.....

Prof^a. Dr^a. Adriane Medeiros Nunes

Doutora em Química Analítica pela Universidade Federal de Santa Maria

Dedico este trabalho aos meus pais
que sempre me incentivaram e apoiaram durante toda minha trajetória
acadêmica. O estímulo de vocês foi indispensável para a realização dessa
etapa!

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por me agraciar com mais esta benção em minha vida.

Ao meu companheiro Alvaro, que sempre esteve presente me apoiando nas horas difíceis. Obrigado pela paciência, carinho e companheirismo.

As minhas irmãs, que sempre acreditaram e torceram por mim.

As colegas Jana, Manu, Meibel, Ane e Mônica, pela ajuda, apoio, parceria e momentos de alegria no laboratório.

A amiga e colega Carol, que esteve comigo do início ao fim nesta jornada, me ajudando e apoiando no desenvolvimento desse trabalho. Gratidão pela parceria, pelos conselhos nas horas difíceis, pelos momentos de alegria e descontração que tivemos dentro e fora do laboratório. Enfim, gratidão pela tua amizade!

Aos demais colegas do LabMeQui, que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

Ao meu orientador Anderson Schwingel Ribeiro, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação e pelos ensinamentos transmitidos. Obrigada pela paciência e confiança no meu trabalho.

A minha co-orientadora Mariana Antunes Vieira, pela co-orientação e ensinamentos transmitidos.

Aos membros da banca examinadora Prof^a. Dr^a. Clarissa Marques Moreira dos Santos, Prof^a. Dr^a. Márcia Arocha Gularte e Prof^a. Dr^a. Adriane Medeiros Nunes, pela disposição e contribuição para este trabalho.

A CAPES e FAPERGS pelo suporte financeiro.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

Resumo

SILVA, Sandy Araujo. **Desenvolvimento de método analítico para análise multielementar e determinação da fração bioacessível em lentilha e ervilha por MIP OES**. Orientador: Anderson Schwingel Ribeiro. 2023. 88 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

As leguminosas são alimentos altamente nutritivos, pois são ricas em vitaminas, fibras, proteínas, minerais e compostos bioativos. Além dos benefícios nutricionais, o cultivo de leguminosas gera um aumento na produtividade agrícola de forma sustentável. Por isto, desde 2018 é celebrado no dia 10 de fevereiro o Dia Mundial das Leguminosas, para enfatizar os seus benefícios e incentivar o seu consumo. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo desenvolver um método analítico para as determinações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn em amostras de lentilha e ervilha (*in natura* e cozida) e avaliar as frações bioacessíveis de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn. Para isto, foi utilizado um método de preparo de amostras utilizando a decomposição ácida com sistema de refluxo, no qual parâmetros como massa de amostra, volume de H₂O₂, temperatura e tempo de decomposição foram otimizados, fixando-se um volume de 5 mL de HNO₃. Assim, as condições mais adequadas foram 1 g de amostra, temperatura de aquecimento do bloco digestor em 150° C, 4 horas de decomposição e um volume de H₂O₂ 35% (v/v) de 5 mL a 120°C. A quantificação dos elementos foi realizada utilizando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). O método proposto mostrou-se eficiente, obtendo-se um baixo teor de carbono residual para as amostras de lentilha e ervilha (*in natura* e cozida). A exatidão do método foi avaliada através de testes de adição e recuperação, análise de material de referência certificado CRM-Agro C1003a e análise da mistura do CRM-Agro C1003a com a amostra de lentilha. As maiores concentrações totais obtidas nas amostras de lentilha e ervilha foram para K, Mg, Fe e Zn. Após as amostras passarem pelo processo de cozimento houve uma diminuição e/ou um aumento significativo nas concentrações de alguns elementos. As diminuições das concentrações podem ser devido ao processo de lixiviação durante o cozimento, já o aumento das concentrações pode estar relacionado com a presença de fatores antinutricionais. As maiores porcentagens bioacessíveis na lentilha cozida foi para Mg, Mn, Zn e Cu, já na ervilha cozida foi para Mg e Cu. A análise de correlação de Pearson entre os teores de polifenóis e concentrações bioacessíveis demonstrou que os polifenóis podem gerar um efeito inibitório na bioacessibilidade de alguns elementos, principalmente do Fe, o qual obteve frações bioacessíveis <LD para todas as amostras, exceto a amostra 2 de ervilha. As frações bioacessíveis dos minerais para ambas as amostras ficaram abaixo da ingestão diária recomendada, porém elas podem contribuir juntamente com outros alimentos a complementar a quantidade de ingestão diária recomendada dos minerais.

Palavras-chave: Leguminosas; decomposição ácida; elementos essenciais; elementos não essenciais

Abstract

SILVA, Sandy Araujo. **Development of analytical method for multielementary analysis and determination of bioaccessible fraction in lentil and pea by MIP OES.** Advisor: Anderson Schwingel Ribeiro. 2023. 88 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

Legumes are highly nutritious foods because they are rich in vitamins, fibers, proteins, minerals and bioactive compounds. In addition to nutritional benefits, the cultivation of legumes generates an increase in agricultural productivity in a sustainable way. Since 2018, World Legumes Day is celebrated on February 10th with the aim of emphasizing the benefits and encouraging their consumption. Therefore, the present study aims to develop an analytical method for the determinations of Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V and Zn in lentil and pea samples (in natura and cooked) and to evaluate the bioaccessible fractions of Ba, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn. For this, the acid decomposition with reflux system as sample preparation method was used and the conditions of sample mass, H₂O₂ volume, temperature and decomposition time were optimized, fixing a volume of 5 mL of HNO₃. The most appropriate conditions were 1 g of sample, heating temperature of the digester block at 150° C, 4 hours of decomposition and 5 mL of H₂O₂ 35% (v/v) at 120°C. The quantification of the elements was performed using the Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES) technique. The proposed method proved to be efficient, obtaining a low residual carbon content for lentil and pea samples (fresh and cooked). The accuracy of the method was evaluated through addition and recovery tests, analysis of CRM-Agro C1003a certified reference material and analysis of the CRM-Agro c1003a mixture with lentil sample. The highest total concentrations obtained in lentil and pea samples were for K, Mg, Fe and Zn. After the samples go through the cooking process, there was a decrease and/or a significant increase in the concentrations of some elements. Decreases in concentrations may be due to the leaching process during cooking, while increased concentrations may be related to the presence of antinutritional factors. The highest bioaccessible percentages in the cooked lentil was for Mg, Mn, Zn and Cu, while in the cooked pea it was for Mg and Cu. Pearson's correlation analysis between polyphenol contents and bioaccessible concentrations showed that polyphenols can generate an inhibiting effect on the bioaccessibility of some elements, especially for Fe, which obtained bioaccessible fractions lower than the analyte detection limits for all samples, except pea sample 2. The bioaccessible fractions of the minerals for both samples were below the recommended daily intake, but they can contribute together with other foods, to complement the amount of recommended daily intake of the minerals.

Keywords: Legumes; acid decomposition; essential elements; non-essential elements.

Lista de Figuras

Figura 1	Quantidade produzida (toneladas) de ervilha em grão por Unidade de Federação em 2021.....	21
Figura 2	Desenho esquemático do sistema de refluxo.....	29
Figura 3	Desenho esquemático do dedo frio acoplado ao tubo digestor.....	30
Figura 4	Principais componentes do MIP OES.....	35
Figura 5	Amostra de lentilha e Amostra de ervilha congelada.....	37
Figura 6	Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).....	40
Figura 7	Fração bioacessível (sobrenadante) e fração não bioacessível (parte sólida).....	43
Figura 8	Teor de acidez e sólidos totais dissolvidos em função de diferentes massas de amostra.....	49
Figura 9	Efeito dos diferentes volumes de H ₂ O ₂ em função do teor de acidez e sólidos totais dissolvidos.....	51

Lista de Tabelas

Tabela 1	Métodos de preparo de amostras para análise elementar para diferentes tipos de leguminosas.....	27
Tabela 2	Bioacessibilidade de minerais utilizando métodos <i>in vitro</i> em amostras de leguminosas.....	32
Tabela 3	Parâmetros operacionais do MIP OES para determinação multielementar.....	41
Tabela 4	Teor de umidade em % para a lentilha e ervilha (<i>in natura</i> /cozida).....	47
Tabela 5	Efeito do tempo e da temperatura em função do teor de acidez e sólidos totais dissolvidos.....	50
Tabela 6	Parâmetros de mérito para Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn obtidos pelo MIP OES.....	53
Tabela 7	Parâmetros de mérito para determinação de C por MIP OES.....	53
Tabela 8	Concentrações de Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn no CRM-Agro C1003a em mg kg ⁻¹	54
Tabela 9	Concentrações de Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn no CRM-Agro C1003a com a amostra 1 de lentilha em mg kg ⁻¹	54
Tabela 10	Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn após diferentes adições em mg L ⁻¹ na amostra 1 de lentilha <i>in natura</i>	56
Tabela 11	Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn após diferentes adições em mg L ⁻¹ na amostra 1 de ervilha <i>in natura</i>	57

Tabela 12	Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn nas três diferentes marcas de lentilha <i>in natura</i> e cozida em mg kg ⁻¹	59
Tabela 13	Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn nas três diferentes marcas de ervilha <i>in natura</i> e cozida em mg kg ⁻¹	65
Tabela 14	Concentração total, bioacessível e não bioacessível de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn na amostra 1 de lentilha cozida em mg kg ⁻¹	70
Tabela 15	Concentração total, bioacessível e não bioacessível de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn na amostra 2 de ervilha cozida em mg kg ⁻¹	70
Tabela 16	Concentração da fração bioacessível das amostras 1, 2 e 3 de lentilha e ervilha expresso em mg kg ⁻¹ e o percentual bioacessível.....	71
Tabela 17	Teor de polifenóis totais expressos em mg/100g de GAE por espectrofotômetro de UV-Vis	74
Tabela 18	Coeficiente de correlação de Pearson (r) da relação entre a concentração bioacessível e o teor de polifenóis nas amostras de lentilha e ervilha.....	75

Lista de abreviaturas e siglas

a	Inclinação da curva de calibração
AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
AGNU	Assembleia Geral das Nações Unidas, do inglês <i>United Nations General Assembly</i>
ANOVA	Análise de variância, do inglês <i>Analysis of Variance</i>
BM	Balanço de massa
CB	Concentração bioacessível
CNB	Concentração não bioacessível
CRM	Material de referência certificado, do inglês <i>Certified reference material</i>
CT	Concentração total
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno Grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
IAL	Instituto Adolfo Lutz
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
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 <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
IDR	Ingestão diária recomendada
LD	Limite de detecção, do inglês <i>Limit of detection</i>
LQ	Limite de quantificação, do inglês <i>Limit of quantification</i>
MIP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Microondas, do inglês <i>Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
PTFE	Politetrafluoroetileno
r	Coeficiente de correlação de Pearson
R	Coeficiente de correlação linear

RSD	Desvio-padrão relativo, <i>do inglês Relative standard deviation</i>
SD	Desvio-padrão, <i>do inglês Standard deviation</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, <i>do inglês United States Department of Agriculture</i>
UV	Ultravioleta
VD	Valor detectado
VIS	Visível
VR	Valor de referência
WHO	Organização Mundial da Saúde, <i>do inglês World Health Organization</i>

Sumário

1. Introdução	16
2. Revisão bibliográfica.....	17
2.1 Leguminosas.....	17
2.1.1 Lentilha	19
2.1.2 Ervilha.....	21
2.1.3 Fatores antinutricionais.....	23
2.1.4 Compostos fenólicos.....	24
2.2 Elementos essenciais e não essenciais	24
2.3 Determinação elementar	25
2.3.1 Preparo de amostras	25
2.3.2 Ensaio de bioacessibilidade	31
2.3.3 Técnicas de espectrometria atômica para análise elementar	33
2.3.4 Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).....	34
3. Objetivo	36
3.1 Objetivo geral	36
3.2 Objetivos específicos	36
4. Materiais e Métodos.....	37
4.1 Amostras	37
4.2 Materiais.....	38
4.3 Reagentes.....	39
4.4 Instrumentação	40
4.5 Teor de umidade, acidez e sólidos totais dissolvidos.....	41
4.6 Preparo da amostra.....	41
4.7 Teor de carbono residual	42
4.8 Bioacessibilidade	42

4.9	Análise de polifenóis	43
4.10	Parâmetros de mérito.....	44
4.10.1	Faixa linear de trabalho e linearidade.....	44
4.10.2	Exatidão	45
4.10.3	Exatidão da bioacessibilidade.....	45
4.11	Tratamento estatístico.....	46
5.	Resultados e Discussão.....	46
5.1	Teor de Umidade	46
5.2	Otimização do método de preparo de amostra	47
5.2.1	Otimização da massa de amostra.....	48
5.2.2	Otimização do tempo e temperatura	49
5.2.3	Otimização do volume de H ₂ O ₂	51
5.3	Teor de carbono residual	52
5.4	Parâmetros de mérito.....	52
5.4.1	Avaliação da exatidão e precisão.....	53
5.5	Determinação da concentração total em lentilha <i>in natura</i> e cozida ...	58
5.6	Determinação da concentração total em ervilha <i>in natura</i> e cozida	64
5.7	Determinação da fração bioacessível das amostras de lentilha e ervilha.....	69
5.8	Determinação do teor de polifenóis.....	74
5.9	Contribuição do consumo de lentilhas e ervilhas para ingestão diária recomendada (IDR).....	76
6.	Conclusão	77
	Referências	78

1. Introdução

As leguminosas são culturas de plantas da família *fabaceae* e fazem parte da dieta humana a vários anos (Iqbal et al., 2006; FAO, 2019). Do ponto de vista nutricional as leguminosas são consideradas excelente fonte de proteínas, vitaminas, minerais, fibras, compostos bioativos, entre outros (Ojeda et al., 2018; Lisiewska et al., 2008; Venkidasamy et al., 2019).

Em alguns países, leguminosas como lentilha e ervilha são consideradas uma das principais fontes de ingestão de proteínas, seja por questões culturais ou econômicas (Iqbal et al., 2006; Joshi et al., 2017). Quando comparada com as fontes de ingestão de proteínas de origem animal, as leguminosas tornam-se mais atrativas devido ao baixo custo (Iqbal et al., 2006; Joshi et al., 2017). Além disso, o consumo dessas leguminosas tem sido associado a redução de algumas doenças como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, entre outras (Joshi et al., 2017; Ojeda, 2016).

A lentilha e a ervilha apresentam diversos elementos minerais em sua constituição como Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, Ca, Mg e Na, os quais são essenciais para as funções fisiológicas do corpo (Karakoy et al., 2012; Kumar&Pandey, 2020). No entanto, quando há uma deficiência ou excesso desses minerais no organismo pode causar diversas disfunções e até mesmo doenças (Zoroddu et al., 2019). Ademais, as leguminosas podem apresentar elementos potencialmente tóxicos oriundo de diversas fontes como solo, água, agroquímicos, processamento, entre outros (Fowler e al., 2015). No entanto, apesar dos seus benefícios nutricionais, as leguminosas possuem um alto teor de fibras e compostos antinutricionais (ácido fítico, oxalatos, polifenóis, entre outros), os quais podem inibir a absorção de alguns minerais (Ojeda, 2016).

Diante disto, se faz cada vez mais necessário o desenvolvimento de métodos analíticos que apresentem simplicidade e baixo custo para determinação elementar em alimentos. No entanto, apenas a determinação da concentração total dos elementos não é o suficiente para avaliar a essencialidade ou toxicidade dos elementos. Para isto, é necessário avaliar a sua bioacessibilidade, no qual é definida como o quanto de um

elemento/composto é liberado do alimento, ficando disponível para posterior absorção pelo intestino (Versantvoort et al., 2005; Thakur et al., 2020).

Dentre os métodos de preparo de amostras de alimentos, a utilização da decomposição ácida com sistema de refluxo torna-se uma alternativa viável aos métodos tradicionais, pois possui um menor custo, simplicidade e evita a perda de elementos e reagentes por volatilização (Oreste et al., 2013). Já para os ensaios de bioacessibilidade os métodos *in vitro* têm sido bastante utilizados como alternativa aos métodos *in vivo*, visto que possuem um baixo custo, consome menos tempo, apresentando simplicidade e reprodutibilidade, sem as restrições éticas pelo uso de animais (Minekus et al., 2004; Thakur et al., 2020).

Dentre as técnicas para a determinação elementar em amostras de alimentos, destaca-se a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), visto que é uma técnica multielementar, segura e de baixo custo, pois não utiliza gases de custo elevado e/ou inflamáveis para operação do plasma, possuindo também uma boa sensibilidade para um grande número de elementos (Agilent Technologies, 2015).

Assim, conforme benefícios nutricionais citados anteriormente que o consumo de lentilha e ervilha podem trazer para a saúde humana e dado a importância de avaliar as concentrações totais e bioacessíveis dos elementos, o presente estudo tem como objetivo desenvolver um método analítico para as determinações das concentrações totais dos elementos e determinar as frações bioacessíveis nas amostras de lentilha e ervilha por MIP OES, assim como a determinação do teor de compostos polifenólicos.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Leguminosas

São culturas de plantas da família *Fabaceae*, sendo constituídas por 19.000 espécies (Iqbal et al., 2006; Ojeda, 2016). Algumas dessas espécies como a Lentilha (*Lens culinaris Medik*), Grão de bico (*Cicer arietinum L.*) e Ervilha (*Pisum sativum L.*) fazem parte da dieta humana há muitos anos (FAO, 2019).

As sementes secas comestíveis das leguminosas também podem ser chamados de pulses, cuja palavra vem do latim Puls que significa “sopa grossa”,

pois ao serem cozidos os grãos produzem um caldo/sopa grossa, justificando o termo pulses (IBRAFE, 2022). Feijão, Ervilha seca, Lentilha e Grão de bico são alguns exemplos de pulses. A soja e o amendoim também são leguminosas, porém não podem ser chamados de pulses, pois possui grande quantidade de gordura em sua composição (Venkidasamy et al., 2019; APN, 2016).

De acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), em 2014 a produção mundial de leguminosas foi de 77 milhões de toneladas, sendo 21 milhões de toneladas a mais em relação a 2001 (FAO, 2017). Assim, em 2016, foi declarado pela Assembleia Geral das Nações Unidas (AGNU), como o Ano Internacional de Pulses e das Leguminosas, a fim de conscientizar a população sobre seus benefícios como a redução da desnutrição, da fome, da pobreza, e o aumento da sustentabilidade dos sistemas agrícolas e alimentar (FAO, 2019). Tal evento foi tão bem-sucedido que em 2018 a FAO designou o Dia Mundial das Leguminosas, celebrado no dia 10 de fevereiro em todo mundo, com o objetivo de aumentar a conscientização sobre os benefícios nutricionais das leguminosas e sua contribuição para sistemas alimentares sustentáveis (ONU NEWS, 2021).

As leguminosas desempenham um papel fundamental na dieta humana, devido a sua riqueza de nutrientes como vitaminas, proteínas, fibras, minerais e compostos bioativos (Ojeda et al., 2018; Lisiewska et al., 2008; Clemente&Olias, 2017; Venkidasamy et al., 2019). Devido ao seu elevado teor de proteínas, as leguminosas podem ser um potencial alimento de base proteica para dietas vegetarianas e veganas (Venkidasamy et al., 2019; IBRAFE, 2022). Além disso, quando comparadas com outros alimentos ricos em proteínas, as leguminosas apresentam uma menor quantidade de gorduras e em geral, suas proteínas são de fácil digestão quando comparadas com a carne de porco por exemplo (IBRAFE, 2022).

Em alguns países, elas são consideradas a fonte mais acessível e barata de ingestão de proteínas, seja por questões culturais e/ou econômicas (Iqbal et al., 2006; Joshi et al., 2017). As proteínas vegetais vêm cada vez mais sendo utilizadas na substituição das proteínas de origem animal, sendo utilizadas também como ingredientes funcionais para formulação de novos produtos, como por exemplo os suplementos proteicos veganos (Sá et al., 2020).

Além dos seus benefícios nutricionais, as leguminosas possuem uma capacidade de fixação biológica de nitrogênio. Quando as culturas das mesmas são cultivadas em um sistema de rotação com outras culturas, acaba gerando benefícios para cultivos orgânicos, como a melhora na fertilização e a redução da utilização de fertilizantes nitrogenados (Farooq et al., 2017; Jezierny et al., 2010). Esses benefícios acarretam o aumento da produtividade agrícola e na contribuição para o meio ambiente (FAO, 2019).

O consumo de leguminosas tem sido associado a redução e/ou prevenção de algumas doenças como diabetes, câncer, osteoporose, doenças cardiovasculares, entre outras (Joshi et al., 2017; Ojeda, 2016). Por exemplo, as fibras solúveis presente nesses alimentos geram um efeito hipocolesterolêmico, ou seja, ajuda a diminuir os níveis de colesterol no sangue e regula os níveis de glicose no sangue. Já as fibras insolúveis, quando fermentadas no intestino grosso formam cadeias curtas de ácidos graxos, os quais podem impedir o desenvolvimento de células tumorais no cólon (Ojeda, 2016). Já compostos fenólicos podem prevenir o desenvolvimento de algumas doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo (Maksimović et al., 2010).

2.1.1 Lentilha

A lentilha (*Lens Cullinari Medik*) é umas das leguminosas mais antigas e faz parte da dieta humana há muitos anos (Chahota et al., 2019; FAO, 2019). Com origem Asiática, a lentilha é cultivada em todo mundo, sendo a quarta cultura mais importante (Nleya et al., 2004; Karakoy et al., 2012). Os maiores produtores são o Canadá, Índia, Turquia, Austrália e EUA (FAOSTAT, 2022). A Índia é um dos maiores consumidores, já o Canadá além de ser o maior produtor é também um dos maiores exportadores de lentilha (Nleya et al., 2004; Nascimento&Bagolin, 2022).

Em 2020, a produção mundial de lentilhas foi de aproximadamente 6,5 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2022). No Brasil, a área de cultivo é considerada muito pequena de 1.200 a 1.500 kg/ha na região do Cerrado, assim a maior parte da lentilha consumida no Brasil é importada. Só em 2021 foram importadas 15,6 mil toneladas, principalmente do Canadá. (Nascimento&Bagolin, 2022).

As sementes de lentilhas são constituídas basicamente pelo revestimento da semente, cotilédones e embrião (Bhaty, 1988). Elas possuem um diâmetro que varia de 2 a 9 mm, encontrando-se nas cores cinza, verde, marrom, vermelha e preta. As lentilhas também são divididas em dois grupos: microsperma que compreende as sementes pequenas com tamanhos que variam de 2 a 6 mm, e macrosperma que compreende as sementes grandes variando entre 6 a 9 mm, sendo esta última mais apreciada no Brasil (Vieira, 2001; Nleya et al., 2004).

Do ponto de vista nutricional, a lentilha é considerada um alimento com elevado valor nutritivo, é rica em proteínas, vitaminas, fibras, carboidratos, compostos antioxidantes e minerais como Fe, Zn, Cu, Mn, P, K, Ca, Mg e Na (Ojeda et al., 2018; Karakoy et al., 2012). Apesar das variáveis como genótipo, clima, fatores ambientais e sistema de cultivo, em geral, sua composição varia de 21 a 31% de proteína (Nleya et al., 2004; Bhaty, 1988; Joshi et al., 2017). Devido a esse elevado teor de proteínas, a lentilha é considerada uma das fontes de proteínas de origem vegetal mais acessível e barata quando comparado com as de origem animal (Iqbal et al., 2006).

A lentilha pode ser consumida na forma de sopas, grãos inteiros com acompanhamento de outros alimentos e como ingredientes no processamento de pão, macarrão, lanches, bolo e fórmula infantil. As sopas são comuns em países da Europa e América do Norte. No Brasil é geralmente consumida na forma de grãos inteiros acompanhado de arroz e na forma de sopas (Kumar&Pandey, 2020; Bhaty, 1988; Karakoy et al., 2012; Joshi et al., 2017; Vieira, 2001). Embora a lentilha seja um alimento benéfico para a saúde, no Brasil ela é ainda menos consumida, onde boa parte da população a consome apenas no Réveillon como uma tradição (Nascimento&Bagolin, 2022). Dentre as leguminosas a mais consumida no Brasil é o feijão, no entanto o Guia Alimentar para População Brasileira destaca a importância de consumir diferentes tipos de feijão e leguminosas como lentilha, ervilha e grão-de-bico para amplificar o aporte de nutrientes (GAPB, 2014; IBRAFE, 2022).

2.1.2 Ervilha

A ervilha (*Pisum Sativum L.*) assim como a lentilha, faz parte da dieta humana há muitos anos, sendo cultivada desde 6.000 aC (FAO, 2019; Grant et al., 2003). Com origem do Oriente Médio, a ervilha pode ser consumida na forma de grãos secos ou verdes, sendo as ervilhas de grãos verdes consideradas hortaliças (Nascimento et al., 2016).

Os maiores produtores de ervilhas secas são o Canadá, seguido pela Rússia, França, China e Índia, respectivamente (FAOSTAT, 2022). Além de ser um dos maiores produtores, o Canadá também é um dos maiores exportadores de ervilha seca (Ojeda, 2016). Para ervilhas verdes, os maiores produtores são a China, Índia e EUA. De acordo com a FAO, em 2020 a produção mundial de ervilhas secas e verdes foi de aproximadamente 14,6 e 19,9 milhões de toneladas, respectivamente (FAOSTAT, 2022).

No Brasil a quantidade de ervilhas em grãos produzidas em 2021 foi de 3.062 toneladas. Os maiores produtores do país estão nos Estado de Minas Gerais (2.347 toneladas), Distrito Federal (280 toneladas), Paraná (203 toneladas), Rio Grande do Sul (161 toneladas) e São Paulo (71 toneladas), conforme pode ser observado na Figura 1 (IBGE, 2022).

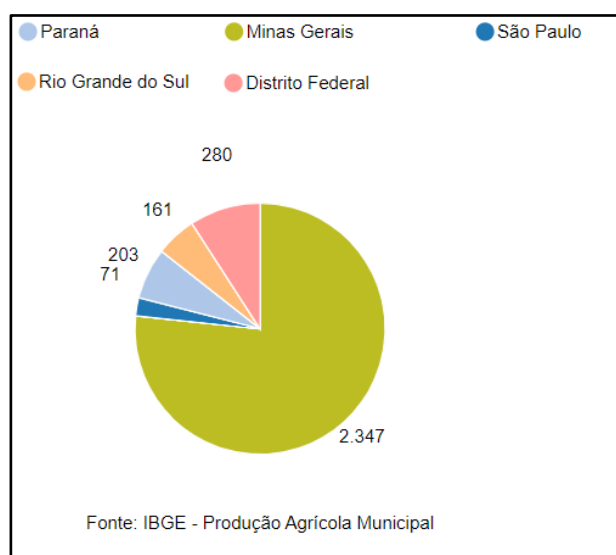


Figura 1 - Quantidade produzida (toneladas) de ervilha em grão por Unidade de Federação em 2021.

Fonte: Adaptado de IBGE, 2022.

De acordo com suas características morfológicas, as sementes das ervilhas podem ser esféricas ou ovaladas, lisas ou rugosas, com coloração que varia em tons de verdes. As ervilhas podem ser encontradas na forma de grãos secos reidratados e enlatados ou ervilha partida, na forma de ervilha verde/fresca debulhada, enlatada ou congelada, e na forma de vagens comestíveis também chamadas de “ervilha torta” (Nascimento et al., 2016). Dentre estas, as ervilhas congeladas vêm cada vez mais ganhando popularidade, pois o processo de congelamento mantém as características do produto por períodos mais longos do que a fresca (Carvalho, 2007). Além disso, o atual estilo de vida de grande parte da população requer praticidade no preparo das refeições, e os alimentos congelados atendem a esse requisito, visto que necessitam de um tempo de preparo curto, além da pronta disponibilidade em casa (Yonny et al., 2018).

As ervilhas destinadas ao congelamento após a colheita, são transportadas imediatamente para a indústria. A primeira etapa ao chegar na indústria é fazer uma primeira seleção e controle de qualidade dos grãos. A segunda etapa é a soproagem, onde os grãos passam por ventoinhas para retirada de impurezas mais leves. Após, os grãos passam pela lavagem, onde eles são lavados com hipoclorito de sódio e depois enxugados para remover impurezas e repor o grau de umidade que possa ter diminuído durante o transporte. A próxima etapa é a classificação, onde os grãos são classificados de acordo com o seu tamanho por peneiras de diversos diâmetros. Feita a classificação, os grãos de ervilha passam pelo processo de branqueamento, que consiste numa rápida imersão em água quente para que ocorra a inibição da atividade das lipoxigenases. Em seguida, vem a etapa do congelamento, onde é utilizado o método *Individually Quick Frozen* (congelamento individual rápido) que consiste em uma esteira perfurada que passam sopros de ar gelado congelando rapidamente as ervilhas uma por uma. Para manter a forma, textura e sabor das ervilhas, esse procedimento deve ser feito rapidamente. Por fim, após serem embalados os grãos de ervilhas devem ser armazenados a uma temperatura de -18°C com umidade relativa de 80 a 90% (Gaspar et al., 2008; Nascimento et al., 2016).

Assim como a lentilha, a ervilha também é considerada uma excelente fonte de proteínas, podendo variar de 21,2 a 32,9% dependendo dos fatores ambientais e genéticos. É considerada também uma boa fonte de vitaminas

como (tiamina, riboflavina e niacina), minerais como Ca, Fe, P, Mg, K, Zn e Mn, carboidratos e fibras (Kumar&Pandey, 2020; Nascimento, 2016).

2.1.3 Fatores antinutricionais

O consumo de leguminosas incluindo lentilhas e ervilhas podem trazer benefícios para a saúde, devido ao seu elevado teor de nutrientes, conforme citado anteriormente. Porém, apesar dos seus benefícios, as leguminosas apresentam fatores antinutricionais (Ojeda, 2016). De acordo com Nikamaram et al., (2017) fatores antinutricionais são compostos naturais que afetam a utilização dos nutrientes no organismo humano, principalmente proteínas, vitaminas e minerais que se ligam a esses compostos, reduzindo a sua absorção no trato gastrointestinal.

Os principais compostos antinutricionais presentes nas leguminosas são o ácido fítico, compostos fenólicos (taninos condensados), oxalatos e inibidores de protease e amilase. O ácido fítico tem efeito inibitório na absorção de minerais como Fe, Zn, Ca e Mg, devido sua capacidade de formar complexos insolúveis de minerais-fitato (Nikamaram et al., 2017; Ojeda, 2016). Compostos fenólicos afetam a digestibilidade das proteínas e a disponibilidade de vitaminas e minerais, principalmente de Fe e Ca (Joshi et al., 2017; Ojeda, 2016). Assim como também os oxalatos que se ligam aos cátions metálicos divalentes como Ca, Mg e Fe (Nikamaram et al., 2017). Já os inibidores de protease e amilase reduzem a digestibilidade das proteínas e carboidratos (Ojeda, 2016).

No entanto, conforme já relatado na literatura, existem diversas formas de pré-tratamento que reduzem ou eliminam esses fatores antinutricionais, aumentando a qualidade nutricional das leguminosas. Imersão, cozimento, germinação e descascamento, são alguns exemplos de pré-tratamentos utilizados (Nikamaram et al., 2017; Ojeda, 2016; Ramírez-Cárdenaz et al., 2008; Wang et al., 2008).

Cabe ressaltar também, que em baixas concentrações esses compostos podem ser benéficos para saúde, atuando como antioxidantes e anti-inflamatórios. Por exemplo, o ácido fítico e os compostos fenólicos possuem propriedades benéficas como ação protetora frente ao câncer e na prevenção de doenças cardiovasculares (Millar et al., 2019; Ramírez-Cárdenaz et al., 2008).

2.1.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são os principais constituintes antioxidantes de frutas, vegetais e grãos, e são conhecidos por reduzirem o dano oxidativo associado a várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e distúrbios neurais (Han&Baik, 2008; Xu et al., 2007).

Sua estrutura química consiste basicamente em anéis aromáticos com vários grupos hidroxila e são divididos em várias classes, como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolisáveis e condensados), estilbenos e lignanas (Ignat et al., 2011).

A lentilha e a ervilha são ricas em compostos fenólicos. Porém, a lentilha é a que possui um maior teor fenólico quando comparado com outras leguminosas, como ervilhas amarelas e verdes, grão-de-bico, feijão rim vermelho e soja preta e amarela. Além disso, de acordo com alguns estudos, esses compostos estão presentes em maior concentração no revestimento das sementes das lentilhas do que nos cotilédones (Dhull et al., 2020; Ojeda, 2016).

Embora os compostos fenólicos sejam benéficos para a saúde, eles também podem atuar como um antinutriente, conforme já explicado anteriormente no item 2.1.3. Por isto, é importante a realização de estudos que avaliem a influência desses compostos na bioacessibilidade dos minerais.

2.2 Elementos essenciais e não essenciais

Os elementos essenciais são elementos que são vitais ao bom funcionamento do organismo humano. Cada um deles é responsável por desempenhar diferentes funções no organismo, como ativação de reações enzimáticas, regulação da função celular, crescimento e manutenção, entre outras funções. Elementos essenciais podem ser classificados como macrominerais (P, K, Na, Mg e Ca) e microminerais/oligoelementos (Mn, Fe, Cu, Zn, Se, Co e Mo) (Mlyniec et al., 2014; Karakoy et al., 2012).

A deficiência desses elementos no corpo humano pode causar disfunções e gerar algumas doenças, como por exemplo, anemia, afetar o sistema imunológico, comprometer as funções reprodutivas, inibição de crescimento,

problemas neurológicos, entre outros. Apesar da essencialidade desses elementos, quando em elevadas concentrações eles podem tornar-se tóxicos ao organismo, causando distúrbios neurológicos, doenças respiratórias, doenças cardiovasculares, entre outros (Halder et al., 2020).

Já os elementos não essenciais como As, Cd, Cr, Hg e Pb são elementos que não desempenham nenhuma função biológica conhecida no organismo humano, e podem ser tóxicos mesmo em baixas concentrações. A presença desses elementos no organismo pode ser prejudicial, causando disfunções renais e hepáticas, câncer, fraturas ósseas, dentre outras doenças (Shaheen et al., 2020; Khaneghah et al., 2020).

A principal fonte de ingestão dos elementos essenciais e não essenciais é através dos alimentos (Fowler et al., 2015). Neste sentido, as leguminosas como lentilha e ervilha são exemplos de alimentos que são ricos em minerais. Diante disto, torna-se de fundamental importância obter informações não só das concentrações totais dos elementos essenciais e não essenciais presentes nestes alimentos, mas também, o quanto desses elementos estão disponíveis para posterior absorção no organismo.

2.3 Determinação elementar

2.3.1 Preparo de amostras

Para a realização de uma análise elementar a maioria das técnicas analíticas requer a introdução de amostras no equipamento de análise na forma de uma solução aquosa. Para isto, é necessária a diluição ou a dissolução total ou parcial das amostras, a fim de romper algumas ligações e estrutura cristalina dos sólidos, liberando os analitos em solução para análise (Oliveira, 2003).

Dentre toda a sequência analítica necessária para a determinação elementar, a etapa de preparo de amostra é a mais importante (Oliveira, 2003; Krug, 2004). Por isto, é de fundamental importância obter métodos de preparo de amostras que forneça bons resultados, com menor tempo, mínima contaminação, baixo consumo de reagentes e menor geração de resíduos.

Os métodos utilizados para o preparo de amostra podem ser divididos em via seca e via úmida. A decomposição por via seca consiste na eliminação da matéria orgânica através da oxidação proveniente do oxigênio do ar, resultando

em resíduos inorgânicos (cinzas) solúveis em ácidos apropriados. Já a decomposição por via úmida consiste na utilização de um agente oxidante juntamente com uma fonte de energia. Como agente oxidante pode ser utilizado ácidos como HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , HClO_4 e HF ou uma mistura destes, assim como outros agentes oxidantes como H_2O_2 . As decomposições podem ser realizadas em sistemas abertos (chapa de aquecimento, mufla, bloco digestor, entre outros) ou em sistemas fechados (sistema a alta pressão, forno micro-ondas, entre outros) (Oliveira, 2003; Korn et al., 2008).

Diversos métodos de preparo de amostras vêm sendo relatados na literatura para decomposição de amostras de leguminosas, os quais utilizam decomposições por via seca com forno mufla e por via úmida com digestões ácidas em sistemas abertos ou fechados, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Métodos de preparo de amostras para análise elementar para diferentes tipos de leguminosas

Método de preparo	Amostra	Analito	Técnica	Referência
Sistema aberto (mufla)	Soja, feijão e amendoim	Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb e Ni	FAAS	Akinyele&Shokunbi, 2015
	Lentilha, grão de bico e feijão	Fe, Zn, Mn, Cu, Ca e Mg	FAAS GF-AAS	Ojeda et al., 2018
Sistema aberto (bloco digestor)	Lentilha e grão de bico	B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, P, Se, S e Zn	ICP OES	Vandemark et al., 2018
	Lentilha, feijão, grão de bico, fava e ervilha	Cu, Cr, Fe, Zn, Al, Ni, Pb e Cd	GF-AAS	Cabrera et al., 2003
Sistema fechado (micro-ondas)	Ervilha	P, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn e Mo	ICP-MS	Koplík et al., 2004
	Lentilha	P, K, Ca, Mg, S, Na, Fe, Cu, Mn, Ni, Zn e B	ICP OES	Alkaltham et al., 2022
	Grão de bico	P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu e B	ICP OES	Varol et al., 2020
Sistema de refluxo (bloco digestor)	Feijão	Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn	MIP OES	Pereira et al., 2020

No entanto, os trabalhos citados na Tabela 1 utilizam métodos de preparo de amostras que apresentam diversas desvantagens, como a decomposição por via seca em forno mufla, que pode causar a perda de elementos por volatilização e risco de contaminações das amostras. Já as decomposições ácidas utilizando sistemas abertos, também possuem diversas desvantagens, como perdas de elementos e reagentes por volatilização, elevado tempo de decomposição, maior quantidade de reagente, maior risco de contaminação, entre outros (Oliveira, 2003; Korn et al., 2008).

A fim de compensar esses inconvenientes, a utilização de sistemas fechados vem sendo cada vez mais empregado, principalmente a decomposição assistida por radiação micro-ondas, conforme pode ser observado na Tabela 1. Cada vez mais destaca-se pela maior eficiência na decomposição das amostras devido a utilização de temperaturas superiores a temperatura de ebulição dos ácidos, baixo risco de perdas de elementos por volatilização, menor consumo de reagentes e baixo risco de contaminação (Oliveira, 2003).

Apesar das vantagens da decomposição assistida por radiação micro-ondas existem limitações que devem ser consideradas, dentre elas a limitação da quantidade de massa de amostra, que deve ser pequena para não elevar a pressão interna e causar riscos de explosões dos frascos, além do seu elevado custo (Krug, 2016).

Diante disso, torna-se importante o desenvolvimento de métodos alternativos que sejam eficientes como sistemas fechados e com o baixo custo e simplicidade dos sistemas abertos.

Uma dessas alternativas é a digestão ácida com sistema de refluxo. Em 2013, Ferreira et al., apresentaram uma alternativa aos métodos convencionais chamada sistema de refluxo com dedo frio. O dedo frio é um tubo de vidro que é inserido dentro dos tubos de digestão que são utilizados para decomposição ácida com aquecimento em bloco digestor. Dentro do dedo frio é colocado água para resfriar a parte superior do tubo, a fim de causar o refluxo e condensação das espécies voláteis, como apresentado na Figura 2 (Ferreira et al., 2013).

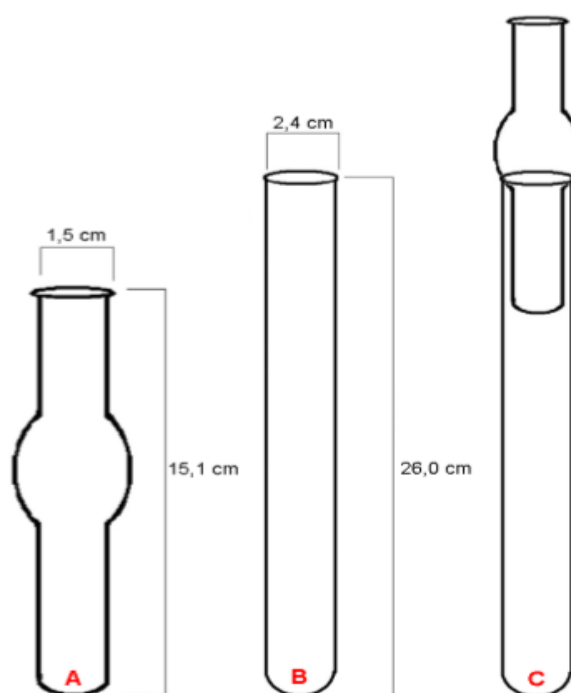


Figura 2 – Desenho esquemático do sistema de refluxo, onde (A) é dedo frio (B) tubo de digestão (C) sistema de digestão com dedo frio.

Fonte: Adaptado de Ferreira et al., 2013.

No entanto, esse sistema apresenta alguns inconvenientes. O dedo frio não permite um refluxo contínuo de água, o que prejudicaria a condensação já que ao longo do tempo a água não estaria mais fria, ademais não há um alívio da pressão, podendo ocorrer projeções para fora do tubo (Oreste et al., 2013).

A fim de contornar esses inconvenientes, Oreste et al., (2013) adaptaram o sistema de refluxo com uma recirculação de água contínua e um encaixe de teflon com um pequeno orifício para alívio da pressão, como apresentado na Figura 3.

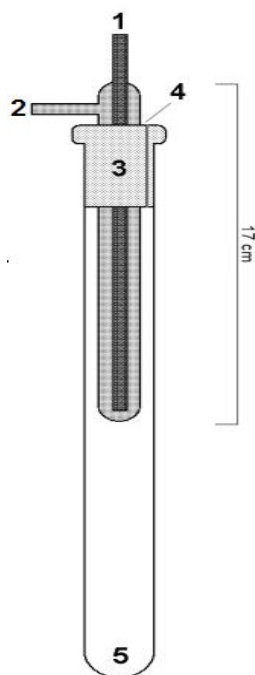


Figura 3 – Desenho esquemático do dedo frio acoplado ao tubo digestor, onde (1) entrada de água (2) saída de água (3) encaixe de PTFE (4) saída para gás e (5) tubo de digestão.
Fonte: Adaptado de Oreste et al., 2013

Assim, o sistema consiste em tubo de digestão no qual é inserido o dedo frio através de um encaixe de teflon que possui uma ranhura lateral para o alívio da pressão. O dedo frio possui uma recirculação de água contínua com temperatura controlada por um banho termostatzado, a fim de resfriar a parte superior do tubo causando o refluxo e a condensação das espécies voláteis. Assim como as espécies voláteis, os ácidos utilizados também são condensados, dispensando a necessidade de reposição dos reagentes durante a decomposição. Logo, o sistema de refluxo com dedo frio torna-se uma alternativa viável aos sistemas convencionais, evitando a perda de elementos por volatilização, menor consumo de reagentes já que não há necessidade de reposição dos mesmos durante a decomposição, mínimo risco de contaminação e explosão, simplicidade e baixo custo (Oreste et al., 2013).

Além disso, esse sistema permite a decomposição de diversos tipos de amostras, com matrizes orgânicas e inorgânicas, sendo bastante aplicado para diferentes matrizes alimentares. Dentre estas, amostras de arroz (Oliveira et al., 2016), suco de frutas (Pereira et al., 2017), peixes (Alves et al., 2018), peito de

frango (Pinto et al., 2019), produtos de cana-de-açúcar (Sampaio et al., 2020), feijão (Pereira et al., 2020), pêssago (Louzada et al., 2022), entre outras.

2.3.2 Ensaio de bioacessibilidade

Sabe-se que a determinação elementar é indispensável, pois garante informações sobre a essencialidade ou toxicidade dos elementos presentes nos alimentos. No entanto, a maioria das determinações elementares visa a quantificação da concentração total dos analitos, não considerando o quanto que será liberado no organismo humano para posterior absorção. Para isto, é necessário avaliar a bioacessibilidade, a qual é definida como o quanto de um elemento/composto é liberado do alimento, ficando disponível para posterior absorção pelo intestino (Versantvoort et al., 2005; Thakur et al., 2020).

Os métodos utilizados para avaliar a bioacessibilidade podem ser *in vitro* ou *in vivo*. Apesar dos métodos *in vivo* fornecerem informações mais específicas, eles apresentam diversos inconvenientes como alto custo, maior tempo de análise e restrições éticas pelo uso de cobaias. Como alternativa a esses inconvenientes, os métodos *in vitro* vêm sendo bastante empregado, visto que possuem um baixo custo, menos tempo, simplicidade, reproduzível e sem restrições éticas (Minekus et al., 2004; Thakur et al., 2020).

Os métodos *in vitro* simulam as condições fisiológicas e os eventos que ocorrem durante a digestão gastrointestinal, considerando as áreas de digestão como boca, estômago e intestino para a simulação (Minekus et al., 2004).

A primeira etapa do sistema digestivo é na boca, que tem como função reduzir o tamanho de frações do alimento, formando o bolo alimentar através da mastigação e salivagem. A saliva é constituída por água, eletrólitos (íons sódio, magnésio, potássio, cálcio, fosfato e bicarbonato) e enzimas (Imunoglobulina A, α -amilase, mucina, entre outras) que modificam parcialmente as estruturas e composições alimentares. A segunda etapa é no estômago, que tem como função o armazenamento, mistura, moagem e esvaziamento. O bolo alimentar é misturado e digerido com enzimas secretadas (pepsina) e ácido clorídrico, moído pelos movimentos antrais formando o quimo e esvaziado no duodeno. A última etapa é no intestino delgado, que tem como função a decomposição das macromoléculas e absorção de água e nutrientes. Essa decomposição ocorre

devido a produção do suco pancreático que atua na digestão das proteínas, lipídios e carboidratos, pela bile que atua na emulsificação dos lipídios e pelo suco entérico (Minekus et al., 2004; Li et al., 2020). Dessa forma, simula-se então as condições do sistema digestório, a fim de avaliar a fração bioacessível dos elementos presentes nos alimentos.

Alguns minerais presentes nos alimentos de origem vegetal são conhecidos por apresentarem uma baixa bioacessibilidade, quando comparado com os de origem animal, devido a presença de fatores antinutricionais (Zhang et al., 2018). Diante disto, e dada a importância do consumo das leguminosas para a saúde humana, os estudos de bioacessibilidade mineral utilizando métodos *in vitro* vem aumentando nos últimos anos, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2: Bioacessibilidade de minerais utilizando métodos *in vitro* em amostras de leguminosas

Amostra	Analito	Referência
Feijão branco, grão de bico e lentilha	Ca, Fe e Zn	Sahuquillo et al., 2003
Feijão, ervilha e lentilha	Fe, Zn, Ca e Mg	Suliburska&Krejpcio, 2011
Feijão	Cu, Zn, Fe, Mn, Ca, Mg, K e P	Paredes, 2017
Ervilha, tremçoço, lentilha	Fe, Mg, K, Ca, P, Zn, Mn e Cu	Zhang et al., 2018
Lentilha, grão de bico e feijão	Fe, Zn, Cu, Mn, Ca e Mg	Ojeda et al., 2018
Feijão	Cu, Fe, Mn e Zn	Pereira et al., 2020

No entanto, os estudos de bioacessibilidade mineral em amostras de leguminosas ainda são escassos, principalmente quando se trata de ervilhas frescas e congeladas. Até o presente momento ainda não foram relatados na literatura informações sobre a bioacessibilidade de minerais ou elementos potencialmente tóxicos em amostras de ervilha congelada, evidenciando a importância deste estudo. Além disso, nem todos os trabalhos citados na Tabela

2 realizaram os estudos de bioacessibilidade em amostras cozidas, o que é de fundamental importância, pois o consumo dessas amostras de leguminosas é feito na sua forma cozida.

2.3.3 Técnicas de espectrometria atômica para análise elementar

Para determinação elementar em amostras de alimentos, podem ser utilizadas diversas técnicas analíticas, dentre elas as de espectrometria atômica.

A técnica de espectrometria de absorção atômica consiste na absorção da energia radiante pelos átomos gasosos no estado fundamental (Welz, 1999). A espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) é a técnica mais simples e bastante utilizada para determinações de elementos na faixa de mg/L, com menor tempo de análise, boa precisão, fácil de manusear e com baixo custo. Porém, essa técnica apresenta algumas desvantagens como o uso de gases inflamáveis e apresentar baixas sensibilidades em comparação com outras técnicas. A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) é mais utilizada em determinações que requer faixas de concentrações na ordem de $\mu\text{g/L}$, pois apresenta uma alta sensibilidade, além de utilizar baixos volumes de amostra. No entanto, apresenta algumas limitações como o elevado tempo para análise, alto custo dos tubos de grafite, analista altamente qualificado, entre outros (Krug et al., 2006; Agilent Technologies, 2016).

Já as técnicas de espectrometria de emissão atômica consistem na propriedade dos átomos ou íons (quando excitados) de emitir radiações em comprimento de onda específico (Skoog, 2009). A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) possui como principal vantagem a possibilidade de análise multielementar de maneira simultânea, além de uma ampla faixa linear de trabalho, podendo ser utilizado em determinações que requerem faixas de concentrações de $\mu\text{g/L}$ a mg/L. Porém, apresenta um elevado custo, pois utiliza um plasma de argônio com consumo acima de 15 L/min e sensibilidade menor que GF AAS e da espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Agilent Technologies, 2016).

Dentre as técnicas multielementares, a ICP-MS é a que possui maior sensibilidade, além da capacidade de determinação de isótopos. Porém, uma

das principais desvantagens é o seu alto custo (Agilent Technologies, 2016) e muito susceptível a interferências, principalmente do entupimento nos cones de amostragem na interface do equipamento, provocada por depósitos de resíduos oriundos das soluções com consideráveis concentrações de sólidos dissolvidos, comuns nos estudos de bioacessibilidade. Em vista disso, a técnica de MIP OES torna-se uma alternativa viável para determinações multielementares e será apresentada no tópico seguinte.

2.3.4 Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES)

Apesar das técnicas multielementares serem mais vantajosas para análise de vários elementos, elas possuem como principal desvantagem um elevado custo, devido a utilização de gases caros para manutenção do plasma, como por exemplo, o argônio.

Uma alternativa a esse inconveniente é a utilização da técnica multielementar MIP OES. Essa técnica consiste em um plasma de nitrogênio sustentado por uma fonte de micro-ondas, essa fonte é produzida por um magnetron que opera a 2,45 MHz. Para ignição do plasma é utilizado um pequeno fluxo momentâneo de argônio auxiliar; após a ignição, o plasma alterna automaticamente para o nitrogênio que se mantém de modo contínuo durante toda a operação. Além disso, o nitrogênio utilizado é proveniente do ar atmosférico obtido através de um gerador de nitrogênio (Agilent Technologies, 2014).

Assim, a técnica de MIP OES apresenta-se como uma alternativa viável para as determinações multielementares, visto que possui um menor custo e mais segurança, pois não necessita de gases de custo elevado/inflamáveis como as outras técnicas. Alto desempenho, com sensibilidade superior a técnica de F AAS, pois a fonte de plasma de nitrogênio atinge temperatura (~5000 K) superior a chama usada em AAS. Além da sua robustez e confiabilidade, podendo ser aplicada em amostras de alimentos, bebidas, agrícolas, geoquímicas e ambientais (Agilent, 2016; Agilent, 2015).

O instrumento de MIP OES consiste basicamente em um sistema de introdução de amostra, fonte de excitação, plasma, sistema óptico e um sistema

eletrônico para o processamento dos dados (Jankowski & Reszke, 2010), como apresentado na Figura 4.

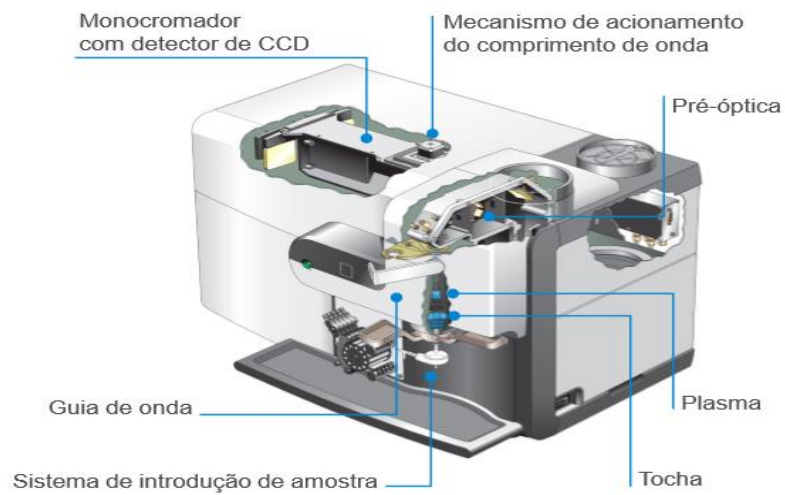


Figura 4 – Principais componentes do MIP OES.
Fonte: Agilent, 2016.

3. Objetivo

3.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo desenvolver um método analítico para as determinações das concentrações totais dos elementos e determinar as frações bioacessíveis nas amostras de lentilha e ervilha por MIP OES, assim como a determinação do teor de compostos polifenólicos.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um método de preparo de amostras de lentilha e ervilha utilizando a decomposição ácida com sistema de refluxo para análise por MIP OES;
- Validar o método através da análise de um material de referência certificado e testes de adição e recuperação;
- Aplicar o método para a determinação da concentração total de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn em amostras *in natura* e cozida;
- Avaliar e comparar o efeito do cozimento das amostras nas concentrações dos elementos;
- Simular as condições do trato gastrointestinal utilizando método de preparo de amostras *in vitro* para determinação da fração bioacessível de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn por MIP OES;
- Avaliar a exatidão dos resultados de bioacessibilidade pelo estudo de balanço de massas;
- Determinar o teor de compostos polifenólicos nas amostras de lentilha e ervilha por espectrometria de UV-Vis, a fim de avaliar a influência destes compostos na fração bioacessível dos elementos;
- Avaliar a contribuição no consumo das amostras para a ingestão diária recomendada (IDR) através das concentrações bioacessíveis.

4. Materiais e Métodos

4.1 Amostras

Para este estudo, foram analisadas três diferentes marcas de lentilha seca (denominadas 1, 2 e 3) e três diferentes marcas de ervilha verde congelada (denominadas 1, 2 e 3), adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas, conforme mostrado na Figura 5 A e B. De acordo com os rótulos das embalagens das três diferentes marcas de lentilha e ervilha, cada marca foi produzida em locais distintos.

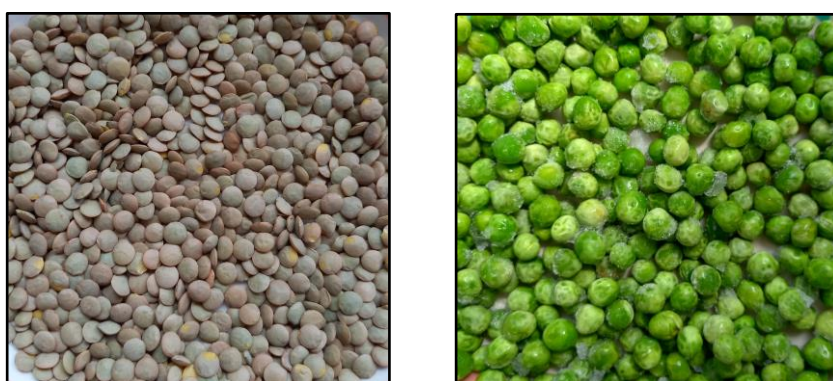


Figura 5 - (A) Amostra de lentilha (B) Amostra de ervilha congelada

Na análise da lentilha *in natura*, triturou-se as amostras com o auxílio de um moedor de grãos, sendo armazenadas em frascos de polipropileno a temperatura ambiente até o momento das análises. Para análise da lentilha cozida, as amostras foram cozidas em sistema de ebulição seguindo a metodologia adaptada de Hefnawy (2011). Antes do cozimento as amostras passaram por um pré-tratamento, onde as sementes de lentilha foram embebidas em água desionizada em uma proporção de 1:10 (p/v) por 12 horas a temperatura ambiente. Após, retirou-se a água e as sementes foram lavadas três vezes com 600 mL de água desionizada. As sementes foram então colocadas em um bécker de vidro com água desionizada na proporção 1:10 (p/v) em chapa de aquecimento a uma temperatura de 100 °C por 100 minutos, até que os grãos estivessem cozidos e macios. Após o cozimento, retirou-se o excesso remanescente de água e as amostras foram homogeneizadas com um

processador doméstico. As amostras foram então armazenadas em frascos de polipropileno e congeladas em freezer a -18 °C até o momento das análises.

Já na análise da ervilha *in natura*, as amostras foram secas em estufa a 70 °C por 12 horas, conforme descrito por Genis et al., (2021). Após, triturou-se as amostras com o auxílio de um moedor de grãos, sendo armazenadas em frascos de polipropileno a temperatura ambiente até o momento das análises. Para análise da ervilha cozida, as amostras foram cozidas em sistema de ebulição seguindo a metodologia de Carvalho (2007). Assim, as amostras foram cozidas com água fervente (desionizada) a uma proporção de 10 g de amostra para 100 mL de água em um bécker de vidro por 7 minutos em chapa de aquecimento. Após o cozimento, retirou-se o excesso remanescente de água e as amostras foram homogeneizadas com um processador. As amostras foram então armazenadas em frascos de polipropileno e congeladas em freezer a -18 °C até o momento das análises.

4.2 Materiais

As amostras *in natura* foram trituradas utilizando um moedor de grãos (Hamilton Beach) e as cozidas utilizando um processador (Philips Walita). Uma chapa de aquecimento (Magnus, Piracicaba, SP, Brasil) foi utilizado para o processo de cozimento das amostras. Para pesar as amostras utilizou-se uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 (Pine Brook, EUA), com uma resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g. O teor de umidade e a secagem das amostras foram realizados em uma estufa de esterilização e secagem (modelo 1.2, Odontobrás, Brasil).

Para a decomposição das amostras utilizou-se um bloco digestor convencional modelo MA-4025 (Marconi, Brasil) com tubos de digestão acoplado ao sistema de refluxo com dedo frio. O dedo frio possui uma recirculação de água interna com temperatura controlada (15 °C) através de um banho termostatizado modelo Q-214M2 (Quimis, Brasil).

Nos estudos de bioacessibilidade utilizou-se um banho Dubnoff com agitação e aquecimento modelo Q226M2 (Quimis, Brasil), uma centrifuga modelo 5804 (Eppendorf, Alemanha) e pHmetro modelo PHS-3B (PHtec, Brasil).

Para análise dos compostos polifenólicos também foi utilizado um banho Dubnoff com agitação e aquecimento modelo Q226M2 (Quimis, Brasil).

4.3 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau de analítico. Para o preparo das soluções utilizou-se água desionizada obtida através de um destilador em vidro modelo MA078/5 (Marconi, Brasil) e eluida em um desionizador modelo CS1800 Evolution (Permuton, Curitiba, PR, Brasil). Foi utilizado HNO_3 65% (m/m) (Synth, Brasil) após ser bidestilado em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Brasil) e H_2O_2 35% (v/v) (Êxodo Científica, Brasil) para a decomposição das amostras. Para avaliar o teor de acidez da solução resultante da decomposição das amostras foi utilizado uma solução de NaOH (Vetec, Brasil) padronizado com biftalato de potássio (Synth, Brasil), utilizando a fenolftaleína como indicador. Para a bioacessibilidade utilizou-se α -Amylase, Pepsina, Bile e Pancreatina 3x (Sigma, EUA), $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (Vetec, Brasil), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (Synth, Brasil), KCl (Merck, Alemanha), NaCl (Merck, EUA), $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ (Sigma, EUA), NaHCO_3 (Synth, Brasil), HCl (Qhemis, Brasil), KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich, EUA), NaOH (Vetec, Brasil).

As curvas de calibração e os ensaios de adição e recuperação foram realizados a partir da diluição de uma solução estoque multielementar para ICP (Sigma Aldrich, Alemanha), contendo 100 mg L^{-1} de cada analito. Já para as curvas de calibração utilizadas para determinação do teor de carbono residual das amostras, foi realizada a partir de uma solução estoque de dextrose (Synth, Brasil).

Para avaliar o teor de compostos polifenólicos utilizou-se CH_3OH (Sigma-Aldrich, SP, Brasil), HCl (Merck, Darmstadt, Alemanha), Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, SP, Brasil) e Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich, SP, Brasil).

Um material de referência certificado de folhas de tomate (CRM-Agro C1003a) foi utilizado para avaliar a exatidão do método.

Os materiais e vidrarias utilizados foram previamente descontaminados através da imersão em uma solução de HNO_3 10% (v/v) por 48 horas.

4.4 Instrumentação

Para determinação das concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn, assim como a determinação do teor de C, foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) da Agilent Technologies, modelo MP AES 4200 (Melbourne, Austrália), como apresentado na Figura 6. O equipamento possui um nebulizador OneNeb, câmara de nebulização ciclônica e uma bomba peristáltica com uma tubulação para aspirar a amostra e outra para o descarte do resíduo. O plasma foi mantido com gás nitrogênio obtido do ar atmosférico através de um gerador de nitrogênio (modelo 4107 da Agilent Technologies) com vazões de 20 L min⁻¹ para o gás de plasma e 1,5 L min⁻¹ para o gás auxiliar.



Figura 6 - Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).
Fonte: Adaptado Agilent, 2016.

As medidas foram realizadas em triplicada com tempo de integração de 3 segundos, velocidade da bomba peristáltica de 15 rpm, tempo de estabilização de 15 segundos e correção de fundo automática. Na Tabela 3 é apresentado as demais condições operacionais do MIP OES.

Tabela 3: Parâmetros operacionais do MIP OES para determinação multielementar

Analito	Comprimento de onda (nm)	Posição de visualização do plasma (mm)	Vazão de nebulização (L min⁻¹)
Al	396,152	-10	1
B	249,772	10	0,4
Ba	455,403	10	0,65
C	193,027	0	0,75
Cu	324,754	0	0,6
Fe	371,993	0	0,75
K	766,491	10	1
Mg	285,213	10	0,7
Mn	403,076	0	0,85
V	309,311	10	0,55
Zn	213,857	0	0,55

Para determinação dos compostos polifenólicos utilizou-se um espectrofotômetro UV-Vis (modelo UV1100, Pró-Análise, Cotia, SP). As leituras de absorbância foram realizadas utilizando um comprimento de onda de 750 nm.

4.5 Teor de umidade, acidez e sólidos totais dissolvidos

As determinações dos teores de umidade, acidez e sólidos totais dissolvidos foram realizados de acordo com os procedimentos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.6 Preparo da amostra

Para a decomposição das amostras pesou-se 1 g de amostra de lentilha *in natura* (~ 0,88 g de massa seca) em tubos de digestão e adicionou-se 5 mL de HNO₃ 65% (m/m). Os tubos ficaram em repouso por 12 h (*overnight*). Posteriormente, o sistema de refluxo com dedo frio foi acoplado aos tubos de digestão, os quais foram levados ao bloco digestor a 150 °C por 2 h. Após o resfriamento dos tubos a temperatura ambiente, adicionou-se H₂O₂ 35% (v/v) em

duas etapas. Na primeira etapa adicionou-se 2,5 mL e os tubos foram levados ao aquecimento a 120 °C por 1 h, na segunda etapa adicionou-se mais 2,5 mL e os tubos foram levados ao aquecimento por mais 1 h. Ao final, a solução resultante foi transferida para frascos de polipropileno e avolumadas a 50 mL com água desionizada. Para análise das amostras, as mesmas foram filtradas com um papel filtro quantitativo e diluídas 2,25 vezes.

Para a decomposição das amostras de lentilha cozida, ervilha *in natura* e ervilha cozida utilizou-se o mesmo procedimento, porém com massas de 3,6; 0,88 e 3,4 g respectivamente, correspondente a 0,88 g de massa seca. Todas as amostras foram decompostas em triplicata e os brancos analíticos foram preparados da mesma forma.

4.7 Teor de carbono residual

Na determinação do teor de carbono residual foi utilizado uma solução de 5% (m/v) de dextrose. A curva de calibração foi construída com concentrações que variaram de 0,05 a 1 % (m/v) e as determinações foram realizadas utilizando-se a técnica de MIP OES.

4.8 Bioacessibilidade

Para os ensaios de bioacessibilidade utilizou-se um método de digestão gastrointestinal *in vitro*, adaptado de Minekus et al., (2004). Este estudo foi realizado apenas para as amostras de lentilha e ervilha cozidas, visto que o consumo dessas leguminosas é feito em sua forma cozida.

Logo, para a simulação da primeira etapa do sistema digestivo (boca), pesou-se 5 g de amostras em frascos de polipropileno e adicionou-se 4 mL de saliva (Amylase, KCl, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ e HCl) nas amostras de lentilha e 8 mL de saliva nas amostras de ervilha, e 1 mL de CaCl_2 7,5 mM. Após verificar o pH, ajustou-se o mesmo com NaOH até pH 7. Posteriormente, as amostras foram levadas ao banho Dubnoff com agitação a uma temperatura de 37 °C por 10 min.

Para a simulação da segunda etapa (digestão estomacal), adicionou-se 9,1 mL de suco gástrico (Pepsina, KCl, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$,

(NH_4) $_2\text{CO}_3$ e HCl), 700 μL de CaCl_2 2 mM e ajustou-se o pH a 3 com HCl. Após, as amostras foram levadas ao banho Dubnoff com agitação, a 37 °C por 2 h.

Para a simulação da última etapa (digestão intestinal), adicionou-se 18,5 mL de suco intestinal (Pancreatina, bile, KCl, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ e HCl), 1,35 mL de CaCl_2 9 mM e ajustou-se o pH a 7 com NaOH. Após, as amostras foram levadas ao banho Dubnoff com agitação, a 37 °C por 2 h.

Ao final, as amostras foram colocadas em um banho de gelo por 20 min, para inativação das enzimas. Após, as amostras foram centrifugadas a 11.000 rpm por 20 min, a fim de separar a parte líquida (fração bioacessível) da parte sólida (fração não bioacessível) que corresponde a parte que seria excretada pelo organismo, como mostra a Figura 7. Posteriormente, a fração bioacessível foi filtrada e diluída 3 vezes para posterior análise utilizando o MIP OES. Já a parte sólida (fração não bioacessível) foi decomposta utilizando o método de preparo de amostra para determinação total descrito no item 4.6, para avaliar a exatidão dos resultados de concentração através do balanço de massa.

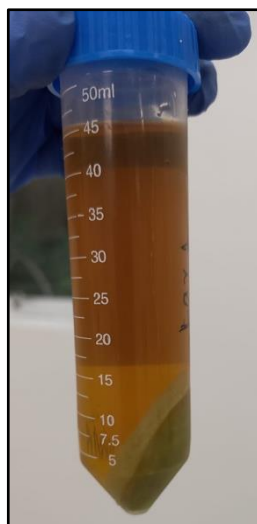


Figura 7 - Fração bioacessível (sobrenadante) e fração não bioacessível (parte sólida).

4.9 Análise de polifenóis

Na determinação do teor de polifenóis totais, foi utilizado uma metodologia adaptada de Louzada et al., (2022). Assim, para a extração dos compostos fenólicos, pesou-se aproximadamente 581 mg das amostras cozidas

em frascos de polipropileno. Após, adicionou-se 5 mL de solução extratora 50% (v/v) contendo metanol e HCl $1,2 \text{ mol L}^{-1}$ e os frascos foram levados ao banho Dubnoff a 90°C por 3 horas. Ao resfriar em temperatura ambiente, o volume dos frascos foi completado até 10 mL com metanol puro e os mesmos foram centrifugados a 5.000 rpm por 5 min. Dessa forma, o sobrenadante obtido após a centrifugação é o extrato de polifenol.

Em seguida, 300 μL dos extratos de polifenóis foram misturados com 750 μL de reagente de Folin-Ciocalteu 1:1 (v/v) (Folin-Ciocalteu e H_2O desionizada). Após 5 min, adicionou-se 750 μL de Na_2CO_3 20% (m/v) e os frascos foram avolumados a 6 mL com água desionizada. Para completar a reação, as soluções ficaram em repouso por 30 min a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Para quantificação dos polifenóis totais foi utilizado um espectrofotômetro com absorvância em 750 nm. As curvas de calibração foram preparadas em meio de ácido gálico com uma faixa linear de 0 a 14 mg L^{-1} e os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico equivalentes por 100 gramas de amostra seca (mg GAE/100 g).

4.10 Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito avaliados neste estudo foram faixa linear de trabalho, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão e exatidão. Os cálculos utilizados para avaliação desses parâmetros foram baseados nas orientações do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (INMETRO, 2020).

4.10.1 Faixa linear de trabalho e linearidade

A faixa linear utilizada para Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn foi de 0,1 a $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, para o C de 0,05 a 1 % (m/v). A linearidade foi avaliada através do coeficiente de correlação linear (R) da curva de calibração. A linearidade é considerada satisfatória quando os valores de R são maiores ou iguais a 0,99.

4.10.2 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada através de ensaios de adição e recuperação do analito em três níveis de concentração, nas amostras de lentilha e ervilha *in natura*. As concentrações adicionadas foram feitas com base na faixa de calibração da curva analítica.

Um material de referência certificado de folhas de tomate (CRM-Agro C1003a) também foi utilizado para avaliar a exatidão do método. Assim como também, uma mistura desse CRM com a amostra de lentilha *in natura*. Para isto, foi utilizado 50% de massa do CRM e 50% de massa da amostra de lentilha, ou seja, foi utilizado 0,44 g de CRM e 0,44 g de amostra com base na massa seca. O cálculo da porcentagem de recuperação dessa mistura é apresentado na equação 1 e foi realizado conforme descrito por Pereira et al., (2020).

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{VD}}{\text{VR}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

VD = Valor detectado para a mistura do CRM mais amostra de lentilha

VR = Valor de referência para a mistura do CRM mais amostra lentilha, obtido através dos resultados do CRM nas condições do método e correlacionado com a massa pesada (0,44 g).

A exatidão do método será considerada aceitável obtendo-se recuperações na faixa entre 80 e 120% (FDA, 2020).

4.10.3 Exatidão da bioacessibilidade

A exatidão do ensaio de bioacessibilidade foi realizada através do balanço de massa, o qual considerou-se a concentração total do analito, a concentração bioacessível e a concentração não bioacessível. O cálculo de porcentagem de recuperação é apresentado na equação 2 e foi realizado conforme descrito por Souza et al. (2019).

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(\text{CB} + \text{CNB})}{\text{CT}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

CB = Concentração do analito bioacessível

CNB = Concentração do analito não bioacessível

CT = Concentração total do analito na amostra

4.11 Tratamento estatístico

Os resultados das concentrações totais para amostras *in natura* e cozidas foram submetidas a análise de variância ANOVA e ao teste Tukey para comparação das médias ao nível de significância de 5 % entre as diferentes marcas analisadas. Para avaliar a diferença estatisticamente significativa entre as amostras *in natura* e cozidas foi utilizado o teste T de Student a um nível de significância de 5 %. Análises de correlação de Pearson também foram utilizadas a fim de correlacionar concentrações bioacessíveis com o teor de polifenóis. Todos os testes foram realizados utilizando o software Statística 7.0.

5. Resultados e Discussão

5.1 Teor de Umidade

A composição físico-química consiste na proporção dos grupos homogêneos de substâncias presentes nos alimentos, fornecendo o valor nutricional dos mesmos (Silva et al., 2007).

Dentre os parâmetros físico-químicos, a umidade representa a quantidade de água presente nos alimentos, seja umidade de superfície que se refere a água livre ou a umidade de adsorção, referente água ligada encontrada no interior do alimento (IAL, 2008). Logo, os teores de umidade encontrados nas amostras de lentilha e ervilha (*in natura/cozida*) estão expressos na Tabela 4, esses valores são extremamente importantes para auxiliar na interpretação dos resultados de concentração dos analitos em função da massa seca e permitir a correta comparação das diferentes amostras antes e após o seu cozimento. Além disso, o teor de umidade presente no alimento influencia significativamente na etapa de preparo de amostras, diluindo os reagentes e consequentemente afetando o processo de mineralização ácida das amostras.

Tabela 4: Teor de umidade em % para a lentilha e ervilha (*in natura*/cozida)

Amostras		$\bar{X} \pm SD$ (RSD, %)
Lentilha	<i>in natura</i>	11,4 $\pm$ 0,1 (0,9)
	cozida	75,8 $\pm$ 0,4 (0,5)
Ervilha	<i>in natura</i>	70,5 $\pm$ 0,7 (1,0)
	cozida	74,2 $\pm$ 0,2 (0,3)

$\bar{X}$ = Média; SD = Desvio padrão; RSD = Desvio padrão relativo em %

Através dos resultados é possível observar que os teores obtidos para lentilha *in natura* e cozida foram concordantes com os valores expressos na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), que reporta um teor de umidade de 11,5% para lentilha *in natura* e 76,3% para lentilha cozida (TACO, 2011). Já para a ervilha não foi possível comparar os teores encontrados neste estudo com a TACO, pois a mesma reporta apenas os teores de umidade para ervilha em vagem e ervilha enlatada. Para ervilha congelada a United States Department of Agriculture (USDA) reporta um teor de umidade de 79,98% para ervilha *in natura* e de 79,52% para ervilha cozida (USDA, 2016). A diferença entre os teores de umidade obtidos e teores relatados pela USDA pode ser devido as diferentes condições climáticas, transporte e armazenamento, visto que a umidade é um fator que depende diretamente dessas condições (Carvalho, 2007). Além disso, o processo de congelamento utilizado também pode influenciar nos teores de umidade.

5.2 Otimização do método de preparo de amostra

Para garantir condições mais adequadas de trabalho para etapa de preparo de amostras, otimizou-se parâmetros como massa de amostra, tempo de decomposição, temperatura de aquecimento e o volume de H₂O₂. As otimizações foram realizadas em função dos teores residuais de acidez e sólidos totais dissolvidos, visto que o fabricante do MIP OES recomenda um teor de acidez de no máximo 5% (v/v) e um teor de sólidos totais dissolvidos de no máximo 3% (m/v), a fim de preservar os componentes do equipamento.

Todas as otimizações foram realizadas utilizando a amostra de lentilha *in natura* da marca 1.

5.2.1 Otimização da massa de amostra

Para otimização da quantidade de amostra variou-se as quantidades em 0,750, 1,0 e 1,5 g, fixando um volume de 5 mL de HNO_3 , pois este volume é o mínimo possível para que o sistema de refluxo funcione corretamente. As amostras ficaram em repouso durante 12 h (*overnight*), pois com o aquecimento direto ocorre uma efervescência nas amostras produzindo muita espuma, causando depósitos nas partes frias do sistema que levam a dificuldades de decomposição e podendo inclusive provocar perdas de amostra para fora do tubo digestor. Com o repouso, ocorre uma pré-decomposição a frio e evita que após o aquecimento ocorra esse inconveniente.

Logo, pesaram-se diferentes massas de amostras nos tubos de digestão e adicionou-se 5 mL de HNO_3 , deixando as amostras em *overnight*. Após, os tubos foram levados ao bloco digestor por 3 h a 150 °C, pois essa temperatura já foi bastante empregada em decomposições ácidas utilizando o sistema de refluxo, como por exemplo em amostras de produtos de cana-de-açúcar (Sampaio et al., 2020) e peixes (Alves et al., 2018). Os resultados da otimização da massa de amostra em função da acidez e sólidos totais dissolvidos estão expressos na Figura 8.

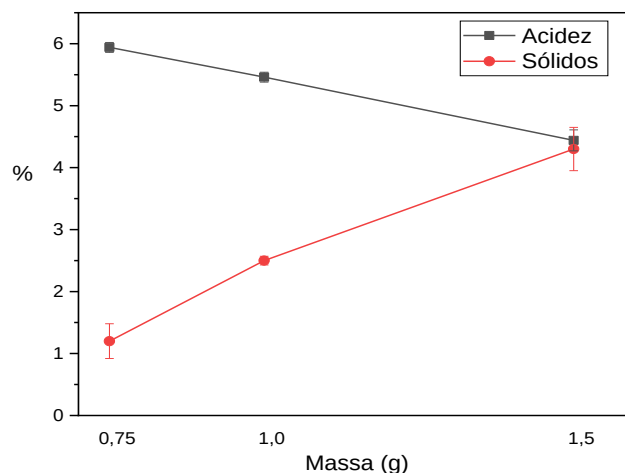


Figura 8 - Teor de acidez e sólidos totais dissolvidos em função de diferentes massas de amostra.

Como é possível observar através do gráfico da Figura 8, quanto maior a massa de amostra, menor é o teor de acidez e consequentemente maior o teor de sólidos totais dissolvidos. Para as quantidades de massas (0,75 e 1,0 g), o teor de sólidos ficou dentro do recomendado (máximo 3% (m/v)). Já para o teor de acidez, apenas a maior massa (1,5 g) ficou dentro do recomendado (máximo 5% (v/v)). Porém, as decomposições utilizando 1,5 g de amostra não foram eficientes, resultando em grandes quantidades de resíduos de fácil visualização na solução resultante da decomposição.

Já as decomposições utilizando 0,750 e 1 g de amostra, ficaram visualmente melhores. Logo, foi escolhida a massa intermediária (1 g) a fim de garantir uma melhor representatividade da amostra com uma eficiente decomposição.

5.2.2 Otimização do tempo e temperatura

Para a otimização do tempo de decomposição e a temperatura de aquecimento do bloco digestor, utilizou-se 1 g de amostra e 5 mL de HNO_3 variando-se o tempo em 2, 3 e 4 horas, e a temperatura em 150, 180 e 200 °C. Os resultados da otimização estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Efeito do tempo e da temperatura em função do teor de acidez e sólidos totais dissolvidos

Temperatura (°C)	Tempo (h)	Acidez % (v/v)	Sólidos totais dissolvidos % (m/v)
150	2	5,66	2,2
	3	5,48	2,0
	4	5,19	1,3
180	2	5,66	1,9
	3	5,13	1,8
	4	5,07	1,7
200	2	5,58	2,5
	3	5,34	2,3
	4	5,28	2,1

Como é possível observar, conforme aumenta-se a temperatura do bloco digestor há uma pequena diminuição no teor de acidez e sólidos totais, independentemente do tempo. Porém, em 200 °C a acidez e os sólidos começam a aumentar, provavelmente devido ao fato de que em elevadas temperaturas o processo de condensação do ácido seja maior, reagindo menos com a amostra. Além disso, o retorno do ácido para a solução após o processo de condensação é na forma de uma solução fria, e como há um aumento na condensação acaba gerando continuamente essa solução fria, podendo prejudicar a decomposição das amostras.

Apesar da temperatura de 180 °C obter o menor teor de acidez e sólidos, visualmente não houve diferença na decomposição entre a temperatura de 180 e 150 °C. Ademais, a diferença do teor de acidez e sólidos entre as duas temperaturas foi pequena (décimos). Já em relação ao tempo, conforme aumenta-se o tempo, diminuem os teores de acidez e sólidos, mas essa diferença também é considerada pequena.

Logo, fixou-se o tempo de 2 horas e a temperatura de 150°C, afim de se evitar a perda de elementos voláteis, visto que temperaturas acima de 150 °C pode causar a perda de alguns elementos voláteis, conforme já relatado por Oreste et al. (2013) em estudo realizado para determinações de Hg.

5.2.3 Otimização do volume de H₂O₂

A fim de garantir uma decomposição mais eficiente foram testados diferentes volumes de H₂O₂ utilizado como um oxidante auxiliar. Para esta otimização, pesou-se 1 g de amostra nos tubos de digestão e adicionou-se 5 mL de HNO₃, ficando em *overnight*. Posteriormente, os tubos foram levados para decomposição a 150 °C por 2 h. Após, os tubos foram resfriados a temperatura ambiente e foram adicionados 3, 4 e 5 mL de H₂O₂ em duas etapas. Na primeira etapa após as 2 h de decomposição e resfriamento dos tubos, adicionou-se metade da quantidade de H₂O₂ e o mesmo foi levado ao aquecimento por mais 1 h a 120°C. Após, foi adicionado a outra metade do H₂O₂ e levou-se ao aquecimento por mais 1 h, totalizando 4 horas de decomposição. Assim, os resultados dessa otimização podem ser observados através da Figura 9.

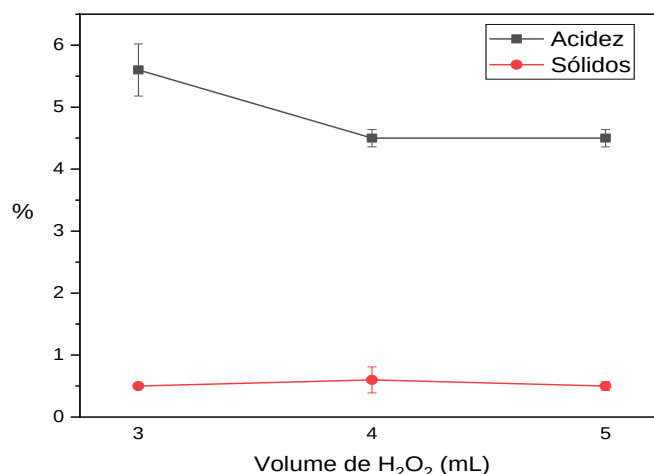


Figura 9 - Efeito dos diferentes volumes de H₂O₂ em função do teor de acidez e sólidos totais dissolvidos

Como é possível observar, a partir de 4 mL o teor de acidez se manteve estável, obtendo-se uma acidez de 4,5 % (v/v) tanto para 4 mL quanto para 5 mL. Porém, com a utilização de 5 mL de H₂O₂ a decomposição foi visualmente mais eficiente, obtendo-se uma solução resultante mais límpida. Por isto, fixou-se um volume de 5 mL de H₂O₂, no qual obteve-se uma solução resultante com um teor de acidez de 4,5 % (v/v) e 0,5 % (m/v) de sólidos totais dissolvidos.

Sendo assim, através das otimizações o método de preparo de amostra consiste em pesar 1 g de amostra nos tubos de digestão e adicionar 5 mL de

HNO₃, deixando os tubos em *overnight*. Posteriormente, os tubos são levados ao bloco digestor por 2 h a 150 °C. Após o resfriamento dos mesmos, são adicionados 2,5 mL de H₂O₂ e levados ao aquecimento por mais 1 h a 120 °C. E por fim, são adicionados mais 2,5 mL de H₂O₂ e levados ao aquecimento por mais 1 h, totalizando 4 horas de decomposição. Para decomposição das amostras de ervilha utilizou-se o mesmo procedimento.

5.3 Teor de carbono residual

A fim de avaliar a eficiência da decomposição das amostras foi realizado a determinação do teor de carbono residual. O teor médio de carbono residual encontrado nas soluções resultantes das amostras de lentilha *in natura* foi de 0,08 % (m/v) e 0,11 % (m/v) para lentilha cozida. Já para a ervilha *in natura* os teores ficaram abaixo do limite de quantificação (LQ), e para ervilha cozida foi de 0,07 % (m/v). Logo, através dos baixos valores de carbono residual obtidos, confirma-se que a decomposição ácida com sistema de refluxo foi eficiente para decomposição dessas amostras.

5.4 Parâmetros de mérito

As curvas de calibração foram construídas em meio de ácido nítrico a 2% (v/v). Assim, parâmetros de mérito como faixa linear de trabalho, linearidade, coeficiente de correlação linear e limites de detecção e quantificação para as determinações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn, estão apresentados na Tabela 6. Já os parâmetros de mérito para o C estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 6: Parâmetros de mérito para Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn obtidos pelo MIP OES.

Analito	a (L mg ⁻¹)	R	Faixa Linear	LD*	LQ*	LD**	LQ**
Al	8.154	0,999	0,1- 5,0	0,001	0,004	0,127	0,511
B	8.023	0,998	0,1- 5,0	0,009	0,03	1,150	3,835
Ba	115.479	0,999	0,1- 5,0	0,0001	0,0002	0,012	0,025
Cu	55.331	0,999	0,1- 5,0	0,0004	0,001	0,051	0,128
Fe	3.691	0,999	0,1- 5,0	0,005	0,015	0,639	1,917
K	21.639	1	0,1- 5,0	0,002	0,007	0,255	0,894
Mg	72.996	0,999	0,1- 5,0	0,001	0,002	0,127	0,255
Mn	12.136	0,999	0,1- 5,0	0,001	0,002	0,127	0,255
V	33.888	0,999	0,1- 5,0	0,006	0,02	0,766	2,556
Zn	25.845	0,999	0,1- 5,0	0,003	0,009	0,383	1,150

a: inclinação da curva; R: coeficiente de correlação linear; faixa linear (mg L⁻¹); LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação; * Instrumental; ** Método

Tabela 7: Parâmetros de mérito para determinação de C por MIP OES.

Analito	a	R	Faixa Linear (% m/v)	LD (% m/v)	LQ (% m/v)
C	4.031	0,994	0,05 – 1	0,01	0,06

Como é possível observar, em ambas as tabelas se obteve uma boa linearidade com coeficiente de correlação linear ($R > 0,99$) em uma ampla faixa linear. Além disso, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) mostraram-se adequados para a determinação das concentrações totais de Al, B, Ba, C, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn nas amostras de lentilha e ervilha.

5.4.1 Avaliação da exatidão e precisão

Devido à ausência de um material de referência certificado específico para lentilha ou ervilha, utilizou-se um CRM de folhas de tomate (CRM-Agro C1003a) para avaliar a exatidão e precisão do método desenvolvido. Assim como também, uma mistura desse CRM com a amostra 1 de lentilha *in natura*, para

obter a presença da matriz na avaliação da exatidão do método. Os resultados da análise do CRM e do CRM com a amostra estão expressos nas Tabelas 8 e 9 respectivamente.

Tabela 8: Concentrações de Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn no CRM-Agro C1003a em mg kg⁻¹

Analito	Valor certificado	$\bar{X} \pm SD$ (RSD, %)	
		Valor determinado	Recuperação (%)
Cu	1.130 ± 140	1.109 ± 18 (1,6)	98
Fe	1.120 ± 190	1.221 ± 36 (3,0)	109
K	43.300 ± 3.800	48.152 ± 3.545 (7,4)	111
Mg	4.110 ± 360	4.237 ± 71 (1,6)	103
Mn	470 ± 69	539 ± 8 (1,5)	115
Zn	37,5 ± 5,0	44,7 ± 2,0 (4,5)	119

$\bar{X}$ = Média; SD = desvio padrão; RSD = desvio padrão relativo

Tabela 9: Concentrações de Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn no CRM-Agro C1003a com a amostra 1 de lentilha em mg kg⁻¹

Analito	Amostra	CRM	$\bar{X} \pm SD$		Rec. (%)
			Valor referência (CRM + Amostra)	Valor determinado (CRM + Amostra)	
Cu	5,75 ± 0,01	554,5 ± 9,0	560 ± 9	558 ± 35	100
Fe	72 ± 3	610,5 ± 18,0	682,5 ± 21,0	570 ± 38	83
K	4.433 ± 77	24.076 ± 1.773	28.509 ± 1.850	29.063 ± 3.682	102
Mg	488 ± 3	2.119 ± 36	2.607 ± 39	2.397 ± 41	92
Mn	7,67 ± 0,01	270 ± 4	278 ± 4	282 ± 17	101
Zn	18,5 ± 0,7	22,4 ± 0,9	41 ± 2	41 ± 1	100

$\bar{X}$ = Média; SD = desvio padrão

De acordo com os resultados, é possível observar através da Tabela 8 que se obteve boas recuperações na avaliação do CRM, variando de 98 a 119 % e desvio padrão relativos (RSDs) inferiores a 7,5 %. Já as recuperações obtidas na avaliação da mistura do CRM com a amostra também foram adequadas,

variando de 83 a 102 % conforme mostrado na Tabela 9, demonstrando assim uma boa exatidão e precisão do método.

Além disso, foi realizado um estudo complementar, com os ensaios de adição e recuperação do analito, pois alguns analitos como Al, B, Ba e V não estavam disponíveis no certificado do material de referência utilizado neste estudo. Os ensaios de adição e recuperação foram feitos em três níveis de concentração (0,5; 0,75 e 1 mg L⁻¹) baseados na faixa de calibração da curva analítica. Os resultados são apresentados já multiplicado pelo fator de diluição das amostras, conforme mostrado na Tabela 10 para lentilha e na Tabela 11 para ervilha.

Tabela 10: Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn após diferentes adições em mg L⁻¹ na amostra 1 de lentilha *in natura*.

Analito	Adições (mg L ⁻¹)	Encontrado $\bar{X} \pm SD$ (RSD, %)	Recuperação (%)
Al	0	0,79 $\pm$ 0,01 (1,3)	-
	1,125	1,86 $\pm$ 0,03 (1,6)	95
	1,687	2,68 $\pm$ 0,04 (1,5)	112
	2,25	3,06 $\pm$ 0,11 (3,6)	101
B	0	0,087 $\pm$ 0,001 (1,1)	-
	1,125	1,03 $\pm$ 0,01 (1,0)	84
	1,687	1,43 $\pm$ 0,01 (0,7)	80
	2,25	1,90 $\pm$ 0,07 (3,7)	81
Ba	0	0,067 $\pm$ 0,001 (1,5)	-
	1,125	1,13 $\pm$ 0,03 (2,6)	94
	1,687	1,43 $\pm$ 0,02 (1,4)	81
	2,25	2,04 $\pm$ 0,02 (1,0)	88
Cu	0	0,20 $\pm$ 0,01 (5,0)	-
	1,125	1,24 $\pm$ 0,02 (1,1)	92
	1,687	1,60 $\pm$ 0,13 (8,1)	83
	2,25	2,08 $\pm$ 0,05 (2,4)	83
Fe	0	2,5 $\pm$ 0,1 (4,0)	-
	1,125	3,65 $\pm$ 0,07 (1,9)	102
	1,687	3,92 $\pm$ 0,14 (3,6)	84
	2,25	4,34 $\pm$ 0,06 (1,4)	82
K	0	156 $\pm$ 3 (1,9)	-
	50	215,0 $\pm$ 3,5 (1,6)	118
	75	236,0 $\pm$ 3,5 (1,5)	107
	100	256,5 $\pm$ 2,1 (0,8)	100
Mg	0	17,17 $\pm$ 0,11 (0,6)	-
	7,5	25,9 $\pm$ 0,5 (1,9)	116
	11,25	29,0 $\pm$ 0,4 (1,4)	105
	15	33,0 $\pm$ 0,3 (0,9)	105
Mn	0	0,27 $\pm$ 0,01 (3,7)	-
	1,125	1,32 $\pm$ 0,02 (1,5)	93
	1,687	1,66 $\pm$ 0,13 (7,8)	82
	2,25	2,10 $\pm$ 0,02 (1,0)	81
V	0	0,30 $\pm$ 0,01 (3,3)	-
	1,125	1,36 $\pm$ 0,03 (2,2)	94
	1,687	1,72 $\pm$ 0,14 (8,1)	84
	2,25	2,20 $\pm$ 0,02 (0,9)	84
Zn	0	0,65 $\pm$ 0,02 (3,1)	-
	1,125	1,65 $\pm$ 0,03 (1,8)	89
	1,687	2,0 $\pm$ 0,1 (5,0)	80
	2,25	2,46 $\pm$ 0,05 (2,0)	80

$\bar{X}$ = Média; SD = Desvio padrão; RSD = Desvio padrão relativo em %.

Tabela 11: Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn após diferentes adições em mg L⁻¹ na amostra 1 de ervilha *in natura*

Analito	Adições (mg L ⁻¹)	Encontrado $\bar{X} \pm SD$ (RSD, %)	Recuperação (%)
Al	0	0,125 $\pm$ 0,001 (0,8)	-
	1,125	1,33 $\pm$ 0,01 (0,8)	107
	1,687	2,02 $\pm$ 0,09 (4,5)	112
	2,25	2,68 $\pm$ 0,08 (3,0)	114
B	0	0,067 $\pm$ 0,001 (1,5)	-
	1,125	1,38 $\pm$ 0,03 (2,2)	117
	1,687	2,05 $\pm$ 0,11 (5,2)	118
	2,25	2,71 $\pm$ 0,17 (6,3)	117
Ba	0	0,067 $\pm$ 0,001 (1,5)	-
	1,125	1,12 $\pm$ 0,01 (0,9)	94
	1,687	1,64 $\pm$ 0,05 (3,0)	93
	2,25	2,16 $\pm$ 0,02 (0,9)	93
Cu	0	0,15 $\pm$ 0,01 (6,6)	-
	1,125	1,21 $\pm$ 0,01 (0,8)	94
	1,687	1,73 $\pm$ 0,06 (3,5)	94
	2,25	2,25 $\pm$ 0,07 (3,1)	93
Fe	0	1,04 $\pm$ 0,04 (4,0)	-
	1,125	2,0 $\pm$ 0,1 (5,0)	85
	1,687	2,77 $\pm$ 0,06 (2,2)	102
	2,25	3,52 $\pm$ 0,25 (7,1)	110
K	0	66,0 $\pm$ 5,3 (8,0)	-
	50	123,3 $\pm$ 7,0 (5,6)	115
	100	186,0 $\pm$ 3,0 (1,6)	120
	150	221,0 $\pm$ 15,5 (7,0)	103
Mg	0	26,2 $\pm$ 0,1 (0,4)	-
	3,75	30,7 $\pm$ 0,1 (0,3)	120
	7,5	34,3 $\pm$ 0,4 (1,2)	108
	11,25	37,4 $\pm$ 0,6 (1,6)	99
Mn	0	0,25 $\pm$ 0,01 (4,0)	-
	1,125	1,35 $\pm$ 0,01 (0,7)	98
	1,687	1,91 $\pm$ 0,09 (4,7)	98
	2,25	2,46 $\pm$ 0,06 (2,4)	98
V	0	0,13 $\pm$ 0,01 (7,7)	-
	1,125	1,15 $\pm$ 0,01 (0,8)	91
	1,687	1,68 $\pm$ 0,11 (6,5)	92
	2,25	2,08 $\pm$ 0,06 (2,8)	87
Zn	0	0,56 $\pm$ 0,04 (7,1)	-
	1,125	1,55 $\pm$ 0,08 (5,2)	88
	1,687	2,10 $\pm$ 0,01 (0,5)	91
	2,25	2,49 $\pm$ 0,11 (4,4)	86

$\bar{X}$ = Média; SD = Desvio padrão; RSD = Desvio padrão relativo em %.

Como é possível observar, nas Tabelas 10 e 11 foram obtidas boas recuperações para todos os analitos, as quais variaram de 80 a 118 % na lentilha e de 85 a 120 % na ervilha, com RSDs sempre inferiores a 8,2 %. Assim, os resultados obtidos neste estudo indicam a boa exatidão e precisão do método

desenvolvido.

5.5 Determinação da concentração total em lentilha *in natura* e cozida

Após o desenvolvimento do método de preparo de amostras, aplicou-se o mesmo para determinação de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn em amostras de lentilha *in natura* e cozida utilizando o MIP OES, nos quais os resultados foram expressos com base na massa seca. Os resultados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn nas três diferentes marcas de lentilha *in natura* e cozida em mg kg⁻¹

Analito	$\bar{X} \pm SD$ (RSD)					
	Marca 1		Marca 2		Marca 3	
	<i>In natura</i>	Cozido	<i>In natura</i>	Cozido	<i>In natura</i>	Cozido
Al	44,7 ± 0,8 (1,8) ^{a*}	11,1 ± 0,9 (8,1)	12,1 ± 1,0 (8,3) ^c	<LD	16,3 ± 0,9 (5,5) ^b	<LD
B	4,97 ± 0,01 (0,2) ^b	5,09 ± 0,02 (0,4) ^B	7,8 ± 1,0 (12,8) ^a	5,10 ± 0,01 (0,2) ^B	5,67 ± 0,01 (0,2) ^{ab*}	6,34 ± 0,02 (0,3) ^A
Ba	3,83 ± 0,01 (0,3) ^b	3,8 ± 0,1 (2,6) ^B	2,84 ± 0,01 (0,3) ^{c*}	3,8 ± 0,1 (2,6) ^B	4,25 ± 0,01 (0,2) ^{a*}	5,0 ± 0,1 (2,0) ^A
Cu	11,50 ± 0,01 (0,1) ^{a*}	10,27 ± 0,02 (0,2) ^A	8,51 ± 0,01 (0,1) ^{c*}	7,36 ± 0,01 (0,1) ^C	10,0 ± 0,1 (1,0) ^b	9,8 ± 0,1 (1,0) ^B
Fe	144 ± 6 (4,2) ^{a*}	84,0 ± 2,5 (3,0) ^B	74,7 ± 1,6 (2,1) ^b	74,8 ± 0,7 (0,9) ^C	78 ± 2 (2,5) ^{b*}	90 ± 1 (1,1) ^A
K	8.866 ± 153 (1,7) ^{b*}	7.171 ± 213 (3,0) ^B	9.615 ± 307 (3,2) ^a	7.235 ± 26 (0,3) ^B	9.052 ± 167 (1,8) ^{b*}	7.892 ± 74 (0,9) ^A
Mg	975,5 ± 6,1 (0,6) ^a	993 ± 2 (0,2) ^B	787 ± 6 (0,7) ^{c*}	976,3 ± 0,7 (0,1) ^C	860,3 ± 10,2 (1,2) ^{b*}	1040 ± 5 (0,5) ^A
Mn	15,34 ± 0,01 (0,1) ^a	16,0 ± 0,7 (4,4) ^{AB}	12,77 ± 0,01 (0,1) ^{b*}	14,5 ± 0,7 (4,8) ^B	14,7 ± 0,8 (5,4) ^{a*}	17,1 ± 0,8 (4,7) ^A
V	16,61 ± 0,01 (0,1) ^a	<LQ	5,67 ± 0,01 (0,2) ^b	<LQ	5,70 ± 0,01 (0,2) ^b	<LQ
Zn	37,0 ± 1,3 (3,5) ^b	36,5 ± 1,5 (4,1) ^B	38,3 ± 1,4 (3,6) ^{b*}	35,7 ± 1,2 (3,4) ^B	46,0 ± 1,0 (2,2) ^a	49,0 ± 1,0 (2,0) ^A

$\bar{X}$ = média; SD= desvio padrão; RSD= desvio padrão relativo (%)

<LD = concentração abaixo do limite de detecção

<LQ= concentração abaixo do limite de quantificação

Diferentes letras minúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa entre as diferentes marcas de lentilha *in natura*, de acordo com o teste Tukey ($p \leq 0,05$) e diferentes letras maiúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa entre as diferentes marcas de lentilha cozida.

*Apresentam diferença significativa entre as amostras *in natura* e cozida para cada marca de lentilha, de acordo com o teste t de Student ($p \leq 0,05$)

Como é possível observar, as maiores concentrações determinadas nas amostras de lentilha foram para K, Mg, Fe e Zn.

O K contribui para a osmolaridade intracelular e para atividade no sistema nervoso, sendo importante para o crescimento normal e para construção muscular (Zoroddu et al., 2019; Pohl et al., 2013). As concentrações de K obtidas neste estudo variaram de 8.866 a 9.615 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 7.171 a 7.892 mg kg⁻¹ na lentilha cozida. Concentrações próximas a essas também foram relatadas por Wang et al., (2009), Hefnawy (2011) e Ray et al., (2014), os quais relatam concentrações de 8.435 a 9.430 mg kg⁻¹, 9.600 mg kg⁻¹ e 8.802 a 10.024 mg kg⁻¹ de K para lentilha *in natura*, respectivamente. Já as concentrações de K para as amostras cozidas neste estudo, foram superiores as concentrações relatadas por Wang et al., (2009) de 4.565 a 6.430 mg kg⁻¹ e Hefnawy (2011) de 4.200 mg kg⁻¹.

O Mg atua como cofator em mais de 300 reações enzimáticas que regulam as reações bioquímicas do corpo, sendo também fundamental para estrutura óssea e muscular (Zoroddu et al., 2019; Grober et al.; 2015). As concentrações de Mg variaram de 787 a 975,5 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 976,3 a 1.040 mg kg⁻¹ na cozida. Sendo estas, próximas as concentrações relatadas por Wang et al., (2009) para lentilha *in natura* (993 a 1.090 mg kg⁻¹) e Suliburska&Krejpcio (2011) (865 mg kg⁻¹). Para lentilha cozida Wang et al., (2009) também relatam concentrações próximas de 795 a 1.035 mg kg⁻¹ de Mg, assim como Hefnawy (2011) com concentração de 1.180 mg kg⁻¹ de Mg.

O Fe é um elemento essencial para a homeostase celular e diversas reações biológicas, participando também da formação de diversas proteínas (Grotto, 2010). As concentrações de Fe variaram de 74,7 a 144 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 74,8 a 90 mg kg⁻¹ na cozida. Cabrera et al., (2003) relatam concentrações de 64,6 a 74,7 mg kg⁻¹, Wang et al., (2009) de 62,5 a 91,8 mg kg⁻¹ e Ray et al., (2014) de 75,6 a 100 mg kg⁻¹ de Fe na lentilha *in natura*. Para lentilha cozida as concentrações de Fe obtidas neste estudo foram superiores as relatadas por Hefnawy (2011), Lazarte et al., (2015) e Wang et al., (2009).

O Zn é um micronutriente essencial, pois atua em inúmeras funções corporais como replicação, transcrição e síntese proteica. Além disso, o zinco possui um papel importante na função imune e cicatrização de feridas (Lin et al.,

2017; Mlyniec et al., 2014). As concentrações de Zn variaram de 37 a 46 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 35,7 a 49,0 mg kg⁻¹ na cozida. ZIA-UL-HAQ et al., (2011) relatam concentrações de Zn variando de 39 a 46 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e Hefnawy (2011) uma concentração de 43 mg kg⁻¹, sendo estas próximas às determinadas neste estudo. Para lentilha cozida também foram determinadas concentrações de Zn próximas as relatadas por Lazarte et al., (2015) que variaram de 30,3 a 40,2 mg kg⁻¹ e por Hefnawy (2011) com concentração de 34 mg kg⁻¹.

O Mn também é um micronutriente essencial que atua como cofator em várias enzimas (Zoroddu et al., 2019). As concentrações de Mn variaram de 12,77 a 15,34 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 14,5 a 17,1 mg kg⁻¹ na lentilha cozida. Wang et al., (2009) e Ray et al., (2014) também relataram concentrações semelhantes, variando de 10 a 15 mg kg⁻¹ e de 12,2 a 14,8 mg kg⁻¹ de Mn em lentilha *in natura*, respectivamente. Para lentilha cozida, as concentrações de Mn ficaram próximas as reportadas por Hefnawy (2011), 18 mg kg⁻¹.

O Cu atua como redutor de algumas enzimas e é importante para o desenvolvimento dos tecidos conjuntivo e dos ossos (Fraga, 2005). As concentrações de Cu variaram de 8,51 a 11,50 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 7,36 a 10,27 mg kg⁻¹ na cozida. Resultados semelhantes aos do presente estudo também foram relatados por outros autores, Wang et al., (2009) ao avaliar diferentes variedades de lentilha *in natura* obtiveram concentrações de Cu de 7,9 a 11,3 mg kg⁻¹ e de 8,6 a 12,4 mg kg⁻¹ para lentilha cozida. Hefnawy (2011) relata uma concentração de Cu de 10 mg kg⁻¹ para lentilha *in natura* e 7,3 mg kg⁻¹ para lentilha cozida.

Apesar de não ser tão conhecido quanto os minerais essenciais citados acima, pesquisas recentes revelam que o boro também pode ser um nutriente essencial para animais e humanos (Khaliq et al., 2018). Para o B, as concentrações variaram de 4,97 a 7,8 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 5,09 a 6,34 mg kg⁻¹ na lentilha cozida. Vandemark et al., (2018) relatam uma concentração média de 7,97 mg kg⁻¹ de B na lentilha *in natura*.

O V também possui uma função no organismo pouco conhecida, no entanto, alguns estudos relatam a sua associação na manutenção das funções normais do corpo e suas propriedades antidiabéticas (Peixoto, 2006; Mukherjee

et al., 2004). As concentrações de V variaram de 5,67 a 16,61 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e para a cozida as concentrações ficaram abaixo do limite de quantificação (LQ) do método. Até o momento não foi encontrado na literatura estudos sobre os teores de V em amostras de lentilha.

O Al é um elemento não essencial, visto que não possui nenhuma função biológica conhecida, podendo ter efeito tóxico e acumulativo causando diversas doenças (Silva et al., 2012). As concentrações de Al variaram de 12,1 a 44,7 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura*, para lentilha cozida a concentração de Al foi de 11,1 mg kg⁻¹ na amostra 1, nas demais amostras as concentrações ficaram abaixo do LD. Concentrações próximas a estas foram relatadas por Cabrera et al., (2003) variando de 8,3 a 45,8 mg kg⁻¹ de Al para lentilha *in natura*.

O Ba também é um elemento não essencial que dependendo da solubilidade dos seus compostos na água ou no estômago podem causar efeitos nocivos à saúde (ATSDR, 2007). As concentrações de Ba variaram de 2,84 a 4,25 mg kg⁻¹ na lentilha *in natura* e de 3,8 a 5 mg kg⁻¹ na lentilha cozida.

Ao avaliar as três diferentes marcas de lentilha *in natura*, é possível observar que houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas concentrações de Al, Ba, Cu e Mg para as três amostras. Já para o Fe e V houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a amostra 1, para o K e Mn na amostra 2, o Zn apenas para amostra 3 e o B para as amostras 1 e 2. Na lentilha cozida houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas concentrações de Cu, Fe e Mg para as três amostras. Para B, Ba, K e Zn houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a amostra 3, e Mn entre as amostras 2 e 3. Essa diferença encontrada nas concentrações dos elementos entre as diferentes amostras de lentilha, justifica-se devido ao fato, de que por se tratar de diferentes marcas, elas podem ser produzidas em locais distintos. Assim, a fertilidade do solo, as características genéticas da planta e do ambiente no qual cresce, pode influenciar na composição mineral desse tipo de amostra, conforme descreve Ramírez-Cádnaz et al., (2008).

Após as amostras de lentilha passarem por um tratamento térmico para fins de cozimento, observou-se que houve uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) nas concentrações de alguns elementos como Al (amostra 1), Cu (amostra 1 e 2), Fe (amostra 1), K (amostra 1 e 2) e Zn (amostra 2), com reduções de 75%

para Al, de 11 a 13,5% para o Cu, 42% para o Fe, de 19 a 25% para K e de 7% para o Zn. Tal fato pode ser explicado devido ao processo de lixiviação que ocorre durante o cozimento, no qual os minerais solúveis são carregados para água de cocção (Alves et. al. 2011). Alguns autores também observaram uma diminuição nas concentrações desses elementos após o processo de cozimento da lentilha. Wang et al., (2009) relataram uma diminuição nas concentrações de K e Zn, com reduções média de 37% e 9%, respectivamente. Ojeda et al., (2018) uma diminuição na concentração de Cu, com redução média de 80,2%. Hefnawy (2011) uma diminuição significativa ao utilizar o processo de cozimento em ebulição de K, Cu e Zn, com reduções de 56%, 27% e 21%, respectivamente.

Já para B (amostra 3), Ba (amostra 2 e 3), Fe (amostra 3), Mg (amostra 2 e 3) e Mn (amostra 2 e 3) houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nas concentrações após o cozimento, aumento de 12% para B, 18 a 34% para Ba, 15% para o Fe, 21 a 24% para Mg e 13,5 a 16,3% para Mn. Alguns autores também relataram um aumento nas concentrações de alguns elementos após o processo de cozimento, Wang et al., (2009) relataram um aumento significativo médio de 9% para Ca, 13% para Cu e 6% para Mn em lentilhas. Pereira et al., (2020) um aumento na concentração de Co em amostras de feijão e Paredes (2017) um aumento significativo médio de 5% para Mn, 18% para Ca e 9% para Mg em amostras de feijão.

Sabe-se que leguminosas como lentilha e ervilha possuem alguns fatores antinutricionais como ácido fítico, taninos, polifenóis e inibidores de protease e amilase. No entanto, estudos relatam que o cozimento e outras formas de processamento podem reduzir ou eliminar esses fatores antinutricionais, aumentando a qualidade nutricional desses alimentos (Ojeda, 2016; Joshi et al., 2017).

De acordo com Ramírez-Cardénaz et al., (2008), após o cozimento houve uma acentuada redução no teor de taninos em diferentes cultivares de feijões, com reduções de 64 a 83% em relação aos feijões crus, o mesmo foi observado para os teores de fitatos que obtiveram uma diminuição após o cozimento. Uma redução significativa nos teores de ácido fítico, taninos e atividade inibidora de tripsina em amostras de lentilha após o cozimento, também foi relatada por Wang et al., (2009). Oliveira et al., (2017) em estudo sobre o efeito do cozimento em amostras de feijão, relatam que devido a elevadas temperaturas utilizadas no

processo de cozimento, ocorre modificações na composição de antinutrientes que inibem a absorção de elementos essenciais. Além disso, os autores também relatam que o cozimento pode causar a desnaturação das proteínas e por isto, interações entre proteínas e elementos essenciais podem ser estabelecidas ou perdidas.

5.6 Determinação da concentração total em ervilha *in natura* e cozida

O mesmo método de preparo de amostra desenvolvido para a amostra de lentilha, também foi aplicado para determinação de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn para as amostras de ervilha *in natura* e cozida utilizando o MIP OES. Os resultados foram expressos com base na massa seca e estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Concentrações de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn nas três diferentes marcas de ervilha *in natura* e cozida em mg kg⁻¹

Analito	$\bar{X} \pm SD$ (RSD)					
	Marca 1		Marca 2		Marca 3	
	<i>In natura</i>	Cozido	<i>In natura</i>	Cozido	<i>In natura</i>	Cozido
Al	7,10 ± 0,01 (0,1)	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LQ
B	3,83 ± 0,01 (0,3) ^b	<LQ	<LQ	<LQ	5,77 ± 0,01 (0,2) ^a	<LQ
Ba	3,83 ± 0,01 (0,3) ^{a*}	5,0 ± 0,1 (2,0) ^A	3,83 ± 0,01 (0,3) ^{a*}	4,01 ± 0,01 (0,2) ^B	2,54 ± 0,01 (0,4) ^{b*}	2,67 ± 0,01 (0,4) ^C
Cu	8,4 ± 0,7 (8,3) ^a	6,7 ± 0,7 (10,4) ^A	4,7 ± 0,1 (2,1) ^{c*}	5,0 ± 0,1 (2,0) ^B	5,9 ± 0,1 (1,7) ^{b*}	3,5 ± 0,1 (2,8) ^C
Fe	59 ± 3 (5,1) ^{a*}	71,0 ± 2,0 (2,8) ^A	54,0 ± 0,7 (1,3) ^{b*}	73,2 ± 2,3 (3,1) ^A	60,0 ± 1,3 (2,2) ^a	51 ± 4 (7,8) ^B
K	3750 ± 301 (8,0) ^c	4584 ± 103 (2,2) ^B	6045 ± 170 (2,8) ^{b*}	4964 ± 125 (2,5) ^A	6804 ± 138 (2,0) ^{a*}	2661 ± 86 (3,2) ^C
Mg	1488 ± 5 (0,3) ^a	1594 ± 59 (3,7) ^A	1291 ± 21 (1,6) ^{c*}	1569 ± 11 (0,7) ^A	1363 ± 32 (2,3) ^{b*}	1037 ± 43 (4,1) ^B
Mn	14,1 ± 0,1 (0,7) ^{b*}	16,0 ± 0,1 (0,6) ^B	18,7 ± 0,7 (3,7) ^{a*}	24,5 ± 0,7 (2,8) ^A	14,4 ± 0,8 (5,5) ^b	13,3 ± 0,1 (0,7) ^C
V	7,2 ± 0,1 (1,4) ^{a*}	7,6 ± 0,1 (1,3) ^A	6,0 ± 0,1 (1,6) ^{b*}	7,6 ± 0,1 (1,3) ^A	7,6 ± 0,7 (9,2) ^{a*}	4,89 ± 0,01 (0,2) ^B
Zn	32,0 ± 2,2 (6,8) ^b	40,3 ± 2,0 (5,0) ^B	42,7 ± 0,7 (1,6) ^{a*}	51,5 ± 2,0 (3,8) ^A	41 ± 2 (4,8) ^{a*}	26,0 ± 0,8 (3,1) ^C

$\bar{X}$ = média; SD = desvio padrão; RSD = desvio padrão relativo (%)

<LD = concentração abaixo do limite de detecção

<LQ = concentração abaixo do limite de quantificação

Diferentes letras minúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa entre as diferentes marcas de ervilha *in natura*, de acordo com o teste Tukey ($p \leq 0,05$) e diferentes letras maiúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa entre as diferentes marcas de ervilha cozida.

* Apresentam diferença significativa entre as amostras *in natura* e cozida para cada marca de ervilha, de acordo com o teste t de Student ($p \leq 0,05$).

De acordo com os resultados, observou-se que assim como na lentilha, as maiores concentrações encontradas na ervilha foram para K, Mg, Fe e Zn.

Para o K, as concentrações variaram de 3.750 a 6.804 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 2.661 a 4.964 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Makhlouf et al., (1995) relatam concentrações de 1.757 a 3.236 mg kg⁻¹ de K em ervilhas congeladas *in natura*.

Para o Mg, as concentrações variaram de 1.291 a 1.488 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 1.037 a 1.594 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Erba et al., (2019) para ervilhas secas, relatam uma concentração de 958 mg kg⁻¹ de Mg na ervilha *in natura* e de 855 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. As concentrações de Mg encontradas neste estudo foram superiores as relatadas por Erba et al., (2019) e inferiores as relatadas por Rahim et al., (2019), que obtiveram concentrações de Mg variando de 1.562,32 a 2.034,28 mg kg⁻¹ em diferentes genótipos de ervilha *in natura*.

Já para o Fe, as concentrações variaram de 54 a 60 mg kg⁻¹ para a ervilha *in natura* e de 51 a 73,2 mg kg⁻¹ para a ervilha cozida. Para ervilhas secas Erba et al., (2019) relatam uma concentração de 62 mg kg⁻¹ de Fe para a ervilha *in natura* e de 40 mg kg⁻¹ para ervilha cozida. Já Bouzari et al., (2015) relatam uma concentração próxima da concentração mínima obtida neste estudo, 54,5 mg kg⁻¹ de Fe para ervilhas congeladas *in natura*.

Para o Zn, as concentrações variaram de 32 a 42,7 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 26,0 a 51,5 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Bouzari et al., (2015) relatam uma concentração de 28,3 mg kg⁻¹ de Zn na ervilha congelada *in natura*. Erba et al., (2019) para ervilhas secas, relatam uma concentração de 38 mg kg⁻¹ de Zn na ervilha *in natura* e de 32 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Já Cabrera et al., (2003) relatam concentrações de 32,6 a 40,3 mg kg⁻¹ de Zn em ervilhas verdes frescas *in natura*, sendo estas próximas as concentrações obtidas neste estudo.

Para o Mn, as concentrações variaram de 14,1 a 18,7 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 13,3 a 24,25 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Rahim et al., (2019) relatam concentrações de 10,83 a 20,67 mg kg⁻¹ de Mn em ervilhas *in natura*.

Para o Cu, as concentrações variaram de 4,7 a 8,4 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 3,5 a 6,7 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Bouzari et al., (2015) relatam uma concentração de Cu de 2,7 mg kg⁻¹ para ervilha congelada e 2,8 mg kg⁻¹ para ervilha fresca. Assim, as concentrações de Cu encontradas neste estudo foram superiores aos relatados por Bouzari et al., (2015). Já Rahim et al., (2019)

relatam concentrações de Cu que variam de 6,55 a 10,13 mg kg⁻¹ em ervilha *in natura*.

Para o B, as concentrações variaram de 3,87 a 5,77 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura*, já na ervilha cozida as concentrações ficaram abaixo do LQ. Rahim et al., (2019) relatam concentrações de 7,52 a 10,61 mg kg⁻¹ de B em ervilha *in natura*, sendo estas superiores as concentrações obtidas neste estudo.

Para V, as concentrações variaram de 6,0 a 7,6 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 4,89 a 7,6 mg kg⁻¹ na ervilha cozida. Assim como na lentilha, para ervilha também não foi encontrado estudos sobre os teores de V presente nessas amostras.

Para o Ba, as concentrações variaram de 2,54 a 3,83 mg kg⁻¹ na ervilha *in natura* e de 2,67 a 5,0 mg kg⁻¹ para ervilha cozida. Não foram encontrados na literatura informações sobre os teores de Ba presente em amostras de ervilha.

Já para Al, a concentração foi de 7,10 mg kg⁻¹ para amostra 1 e para as demais amostras as concentrações de Al ficaram abaixo do LD na ervilha *in natura*. Para ervilha cozida, as concentrações ficaram abaixo do LD (amostra 1 e 2) e abaixo do LQ na amostra 3. Cabrera et al., (2003) relatam concentrações de Al que variam de 4,0 a 7,7 mg kg⁻¹ em ervilhas verdes frescas. Assim, a concentração de Al obtida neste estudo foi semelhante a concentração máxima relatada por Cabrera et al., (2003).

Ao comparar as três diferentes marcas de ervilha congelada *in natura*, é possível observar que houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas concentrações de Cu, K e Mg para as três amostras analisadas. Nas concentrações de Fe, Mn e V houve uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a amostra 2. Para o B, houve diferenças significativas para as amostras 1 e 3. Já o Ba e o Zn apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para as amostras 3 e 1, respectivamente. Na ervilha cozida, houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nas concentrações de Ba, Cu, K, Mn e Zn para as três amostras. Já as concentrações de Fe, Mg e V apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) apenas para a amostra 3. Conforme já relatado anteriormente, essa diferença nas concentrações dos elementos entre as diferentes amostras, justifica-se devido ao fato, de que as amostras são produzidas em locais distintos, conforme especificado nos rótulos das embalagens. E como descreve Ramírez-Cárdenaz et al., (2008), a fertilidade do

solo, as características genéticas da planta e do ambiente no qual cresce, pode influenciar na composição mineral desse tipo de amostra. O que justifica também, as diferenças nas concentrações de alguns elementos encontrados neste estudo com os reportados na literatura. Além disso, devido à escassez sobre os teores de minerais e de elementos potencialmente tóxicos encontrados na literatura para ervilha congelada, foram feitas comparações com ervilhas secas e frescas. No entanto, conforme descreve Nascimento et al., (2016) dependendo da finalidade a que se destinam (produção de ervilha seca, ervilha verde enlatada/congelada, ervilha de debulhar ou ervilha-vagem) são utilizados diferentes tipos de cultivares. Cabe ressaltar também, que a ervilha congelada após a colheita, passa pelo processo de branqueamento antes do congelamento. Dessa forma, pode ocorrer a lixiviação dos minerais, os quais podem ser extraídos na água usada no processo de branqueamento (Bouzari et al., 2014). O que pode justificar as diferenças nas concentrações obtidas neste estudo com as concentrações relatadas na literatura para amostras de ervilhas secas ou frescas.

Assim como na lentilha, para a ervilha também houve um aumento e/ou uma diminuição nas concentrações dos elementos após o processo de cozimento, aos quais já foram discutidas anteriormente. Após o processo de cozimento, observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nas concentrações de Ba (amostra 1, 2 e 3), Cu (amostra 2), Fe (amostra 1 e 2), Mg (amostra 2), Mn (amostra 1 e 2), V (amostra 1 e 2) e Zn (amostra 2), com aumentos de 5 a 30% de Ba, 6,4% para Cu, 20 a 36% de Fe, 22% para Mg, 14 a 31% para Mn, 6 a 27% para V e 21% para Zn. Observou-se também uma diminuição significativa nas amostras cozidas ($p \leq 0,05$) para Cu (amostra 3), K (amostra 2 e 3), Mg (amostra 3), V (amostra 3) e Zn (amostra 3), com reduções de 41% para Cu, 18 a 61% para K, 24% para Mg, 36% para V e 37% para o Zn. De acordo com Wang et al., (2008) o cozimento afetou todos os minerais analisados em amostras de ervilha forrageira, havendo um aumento significativo nas concentrações de Ca (5,4 a 33,2%), Cu (13,6 a 34,3), Mn (5,6 a 9,6%) e P (6,8 a 17,3%) e uma diminuição significativa nas concentrações de Fe (4,6 a 21,7%), K (34,9 a 51,6%), Mg (3,8 a 8,2%) e Zn (3,6 a 15,5%). Erba et al., (2019) também relatam uma diminuição nas concentrações de Fe (35%), Mg (11%) e Zn (16%) após o cozimento de ervilhas secas não germinadas.

5.7 Determinação da fração bioacessível das amostras de lentilha e ervilha

Os estudos de bioacessibilidade foram realizados apenas para as amostras de lentilhas e ervilhas cozidas, visto que essas leguminosas são consumidas na forma cozida. Assim, foram determinadas as frações bioacessíveis de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn. Para Al, B, K e V não foi possível realizar os estudos de bioacessibilidade, pois K está presente em elevadas concentrações nos sais utilizados durante a digestão gastrointestinal *in vitro*. Para as amostras de lentilha, Al e B não obtiveram resultados satisfatórios durante a avaliação da exatidão do método de digestão gastrointestinal *in vitro*, e o V obteve concentrações abaixo do LQ. Para as amostras de ervilha, o V não obteve resultados satisfatórios durante a avaliação da exatidão do método e o Al e B obtiveram concentrações abaixo do LD e LQ.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método para a determinação da fração bioacessível, em mg kg⁻¹, foram de 0,004 e 0,008 para Ba; 0,016 e 0,041 para Cu; 0,206 e 0,619 para o Fe; 0,041 e 0,082 para Mg; 0,041 e 0,082 para Mn e 0,124 e 0,372 para Zn respectivamente. A fim de avaliar a exatidão dos resultados, realizou-se o balanço de massa, no qual foi determinada as concentrações da fração bioacessível e da fração não bioacessível. Para o balanço de massa foi utilizado a amostra 1 de lentilha e a amostra 2 de ervilha. Os resultados estão expressos na Tabela 14 e 15 respectivamente.

Tabela 14: Concentração total, bioacessível e não bioacessível de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn na amostra 1 de lentilha cozida em mg kg⁻¹

$\bar{X} \pm SD$ (RSD)				
Analito	CT	CB	CNB	BM (%)
Ba	3,8 ± 0,1	1,24 ± 0,01 (0,8)	2,53 ± 0,01 (0,4)	99
Cu	10,27 ± 0,02	6,2 ± 0,1 (1,6)	2,53 ± 0,01 (0,4)	85
Fe	84,0 ± 2,5	<LD	80,5 ± 6,6 (8,2)	96
Mg	993 ± 2	985,5 ± 26,3 (2,6)	192 ± 18 (9,3)	118
Mn	16,0 ± 0,7	13,6 ± 0,1 (0,7)	5,0 ± 0,1 (2,0)	116
Zn	36,5 ± 1,5	23,0 ± 1,7 (7,4)	16,4 ± 0,1 (0,6)	108

$\bar{X}$ = média; SD = desvio padrão; RSD = desvio padrão relativo (%)

CT = Concentração total; CB = Concentração bioacessível; CNB = Concentração não bioacessível; % BM = Porcentagem do balanço de massa; <LD = valor abaixo do limite de detecção do método.

Tabela 15: Concentração total, bioacessível e não bioacessível de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn na amostra 2 de ervilha cozida em mg kg⁻¹

$\bar{X} \pm SD$ (RSD)				
Analito	CT	CB	CNB	BM (%)
Ba	4,01 ± 0,01	<LD	4,0 ± 0,1 (2,5)	100
Cu	5,0 ± 0,1	3,4 ± 0,1 (2,9)	0,64 ± 0,01 (1,6)	81
Fe	73,2 ± 2,3	13,2 ± 0,8 (6,0)	50,1 ± 2,0 (4,0)	86
Mg	1.569 ± 11	982 ± 43 (4,4)	469 ± 7 (1,5)	92
Mn	24,5 ± 0,7	5,7 ± 0,1 (1,7)	16,0 ± 0,7 (4,4)	88
Zn	51,5 ± 2,0	8,8 ± 0,6 (6,8)	40,0 ± 3,7 (9,2)	95

$\bar{X}$ = média; SD = desvio padrão; RSD = desvio padrão relativo (%)

CT = Concentração total; CB = Concentração bioacessível; CNB = Concentração não bioacessível; % BM = Porcentagem do balanço de massa; <LD = valor abaixo do limite de detecção do método.

Através do balanço de massa é possível observar que a soma das concentrações bioacessíveis e não bioacessíveis ficaram próximas as concentrações totais para todos os elementos, obtendo-se recuperações de 85 a 118% para lentilha e de 81 a 100% para ervilha. Além disso, obteve-se RSDs inferiores a 9,4 %, demonstrando a boa exatidão e precisão do método empregado para os estudos de bioacessibilidade. Dessa forma, foram determinadas as concentrações bioacessíveis para as 3 diferentes marcas de lentilha e ervilha cozidas, conforme apresentado na Tabela 16.

Tabela 16: Concentração da fração bioacessível das amostras 1, 2 e 3 de lentilha e ervilha expresso em mg kg^{-1} e o percentual bioacessível

Amostra	Ba	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
Lentilha						
Marca 1	$1,24 \pm 0,01$ (33%)	$6,2 \pm 0,1$ (60%)	<LD	$985,5 \pm 26,3$ (99%)	$13,6 \pm 0,1$ (85%)	$23,0 \pm 1,7$ (63%)
Marca 2	$1,24 \pm 0,01$ (33%)	$5,0 \pm 0,1$ (68%)	<LD	1049 ± 37 (107%)	$13,0 \pm 0,8$ (90%)	$31,2 \pm 1,8$ (87%)
Marca 3	$1,22 \pm 0,01$ (24%)	$5,0 \pm 0,1$ (51%)	<LD	1157 ± 137 (111%)	$13,5 \pm 1,2$ (79%)	33 ± 2 (67%)
Ervilha						
Marca 1	<LD	$2,3 \pm 0,1$ (34%)	<LD	911 ± 51 (57%)	$2,3 \pm 0,1$ (14%)	$7,3 \pm 0,6$ (18%)
Marca 2	<LD	$3,4 \pm 0,1$ (68%)	$13,2 \pm 0,8$ (18%)	982 ± 43 (63%)	$5,7 \pm 0,1$ (23%)	$8,8 \pm 0,6$ (17%)
Marca 3	<LD	$2,0 \pm 0,1$ (57%)	<LD	802 ± 62 (77%)	$4,6 \pm 0,1$ (35%)	$5,7 \pm 0,1$ (22%)

De acordo com os resultados obtidos, é possível observar que as maiores porcentagens bioacessíveis na lentilha foram para Mg (99 a 111%), Mn (79 a 90%), Zn (63 a 87%) e Cu (51 a 68%). Já para ervilha as maiores porcentagens foram para Mg (57 a 77%) e Cu (34 a 68%). Conforme descreve Khouzam et al.,

(2011), a bioacessibilidade de um elemento depende da sua solubilidade nas condições intestinais. Para o Cu por exemplo, os autores relatam que os complexos Cu-fitato permanecem solúveis no pH do lúmen intestinal. Assim, a elevada bioacessibilidade desses elementos pode ser devido a formação de compostos solúveis no trato gastrointestinal.

Para o Fe as frações bioacessíveis ficaram abaixo do LD nas amostras de lentilha. Na ervilha a porcentagem bioacessível foi de 18% para amostra 2 e para as demais amostras as frações ficaram abaixo do LD. Conforme já relatado anteriormente, as leguminosas possuem alguns antinutrientes. Assim, a baixa bioacessibilidade de Fe observada neste estudo, pode ser devido ao fato de que fibras, fitatos e polifenóis formam compostos insolúveis, prejudicando a absorção de Fe (Oliveira et al., 2019). Além disso, cereais, leguminosas e frutas apresentam o ferro não heme (Fe^{+3}) em sua composição, no qual possui baixa absorção quando comparado com o ferro heme (Fe^{+2}) predominante em alimentos de origem animal (Louzada et al., 2022). Segundo Hurrell et al., (1999), todos os tipos de polifenóis alimentares podem inibir fortemente a absorção de ferro não heme. Assim como o Fe, o Zn também tende a formar compostos insolúveis, diminuindo a sua bioacessibilidade. Porém, conforme descreve Khouzam et al., (2011) o Zn está presente exclusivamente no estado divalente, e por isto possui um menor efeito do que em relação ao Fe. Cabe ressaltar também, que as fibras dietéticas têm a capacidade de se ligar aos íons polivalentes, o que pode afetar a bioacessibilidade dos minerais (Ramírez-Cárdenas et al., 2008). Já Suliburska&Krejpcio (2011) relatam que as fibras dietéticas podem alterar a atividade das enzimas digestivas.

Em outros estudos também foram relatadas baixas concentrações bioacessíveis de Fe para amostras de lentilha (Sahuquillo et al., 2003), legumes (Khouzam et al., 2011), linhaça e gergelim (Souza et al., 2018). Jacobs et al., (2021) também relatam frações bioacessíveis de Fe abaixo do LD em amostras de casca de uva, assim como Louzada et al., (2022) em polpas de pêssego sem casca.

Para o Ba as porcentagens variaram de 24 a 33 % nas amostras de lentilha. Já na ervilha as frações bioacessíveis ficaram abaixo do LD, sendo este um fator

positivo visto que o Ba é considerado um elemento potencialmente tóxico (Nielsen & Ladefoged, 2013).

Ao comparar as concentrações totais e bioacessíveis dos elementos nas amostras de lentilha e ervilha, observa-se que elevadas concentrações totais nem sempre reflete em uma elevada fração bioacessível. As concentrações totais de Mg, Zn, Ba e Mn nas amostras de ervilha foram superiores as da lentilha, apesar disto, esses elementos estavam mais bioacessíveis nas amostras de lentilha. O mesmo observa-se para o Fe que obteve maiores concentrações totais para as amostras de lentilha, mas só esteve bioacessível na ervilha. Embora tenha sido avaliada uma pequena quantidade de amostras neste estudo, outros autores também obtiveram os mesmos resultados. Sahuquillo et al., (2003) relatam que o elevado teor de Fe na lentilha, que pode levá-la a ser considerada uma boa fonte de Fe, não se reflete na baixa bioacessibilidade desse mineral. Zhang et al., (2018) também relatam que o Fe presente nas cascas de lentilha, obteve o menor percentual bioacessível do que as partes descascadas, apesar de possuírem concentrações totais mais altas. Assim, as elevadas concentrações totais nem sempre se correlacionam com elevadas frações bioacessíveis, devido as diferentes quantidades e distribuição dos compostos nutricionais e antinutricionais presente nas leguminosas, conforme descreve Zhang et al., (2018). De fato, Wang et al., (2008, 2009) relatam teores de proteínas que variam de 237,5 a 255,5 g kg⁻¹ em ervilhas cozidas e de 261,5 a 302,8 g kg⁻¹ em lentilhas cozidas. Para fibras totais de 177,2 a 209,1 g kg⁻¹ nas ervilhas e de 149,1 a 173,7 g kg⁻¹ nas lentilhas e para atividade inibidora de tripsina e ácido fítico de 0,38 a 0,52 mg g⁻¹ e 6,0 a 7,4 g kg⁻¹ nas ervilhas, e para as lentilhas de 0,39 a 0,72 mg g⁻¹ e 5,2 a 8,2 g kg⁻¹ respectivamente.

Logo, as diferenças das frações bioacessíveis entre as amostras de lentilha e ervilha obtidas neste estudo, podem estar relacionadas com as diferentes quantidades dos compostos que atuam como antinutrientes, influenciando a bioacessibilidade dos minerais.

5.8 Determinação do teor de polifenóis

Assim como nos estudos de bioacessibilidade a determinação do teor de polifenóis também foi realizada apenas para as amostras cozidas, pois o intuito dessa análise foi avaliar a influência dos polifenóis na bioacessibilidade dos minerais. Além disso, já existem diversos estudos na literatura sobre os teores dos compostos fenólicos em amostras de leguminosas *in natura*, principalmente em amostras de lentilha, já para as amostras cozidas as informações ainda são escassas. Dessa forma, foram determinados os teores de polifenóis totais nas amostras de lentilha e ervilha cozida, os resultados estão apresentados na Tabela 17 e foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (GAE) por 100g de massa seca.

Tabela 17: Teor de polifenóis totais expressos em mg/100g de GAE por espectrofotômetro de UV-Vis

Amostra	Polifenóis (mg/100g)		
	Marca 1	Marca 2	Marca 3
Lentilha	1.045,9 ± 32,6 ^b	1.660,2 ± 62,6 ^a	1.124,9 ± 34,6 ^b
Ervilha	487,3 ± 67,4 ^a	413,5 ± 46,5 ^a	404 ± 1 ^a

Diferentes letras minúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa entre as diferentes marcas de lentilha e ervilha, de acordo com o teste Tukey ($p \leq 0,05$)

Segundo Dhull et al., (2020) a lentilha possui maior teor de compostos fenólicos quando comparado com grão-de-bico, ervilhas amarelas e verdes, feijão-rim vermelho e soja preta e amarela. Neste estudo também foram obtidos maiores teores de polifenóis totais para as amostras de lentilha, os quais variaram de 1.045,9 a 1.660,2 mg/100g. Já para ervilha os teores variaram de 404 a 487,3 mg/100g. Ao comparar as três diferentes marcas de ervilha, observou-se que não houve diferença significativa entre os teores de polifenóis obtidos, enquanto para lentilha, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) apenas para amostra 2.

Os compostos fenólicos são os principais constituintes antioxidantes de frutas, vegetais e grãos, e o aumento no seu consumo está associado na redução do risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer

(Han&Baik, 2008). No entanto, esses compostos podem atuar como um antinutricional, pois afetam a digestibilidade das proteínas e a disponibilidade de vitaminas e minerais, principalmente de Fe e Ca (Joshi et al., 2017; Ojeda, 2016). Dessa forma, a fim de avaliar a relação entre os polifenóis com as concentrações bioacessíveis, foi realizado uma análise de correlação de Pearson entre as concentrações de polifenóis e as concentrações bioacessíveis. Os resultados são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18: Coeficiente de correlação de Pearson (r) da relação entre a concentração bioacessível e o teor de polifenóis nas amostras de lentilha e ervilha

Amostra	Ba	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
Lentilha	+0,39	-0,59	-	-0,03	-0,99	+0,45
Ervilha	-	-0,21	-0,4	+0,22	-0,91	+0,12

Como é possível observar, para ambas as amostras houve o mesmo comportamento para todos os elementos, exceto para o Mg. Assim, identificou-se correlações negativas moderadas para Cu na lentilha e fraca na ervilha. Para o Fe, uma correlação negativa moderada na ervilha. Para o Mg, observou-se uma correlação muito fraca apenas para lentilha, e o Mn uma correlação negativa muito forte para ambas as amostras. Essas correlações negativas indicam que quanto maior a concentração de polifenóis presente nas amostras, menor é a bioacessibilidade desses elementos, demonstrando que os polifenóis podem gerar efeito inibitório para alguns elementos, principalmente para o Fe. Os polifenóis são considerados bons quelantes de Fe^{+2} e Fe^{+3} . Por isto, quando liberados durante a digestão, formam complexos insolúveis com Fe no lúmen intestinal, inibindo a bioacessibilidade de Fe (Hurrell et al., 1999; Zhang et al., 2018). De fato, dentre os minerais analisados neste estudo, o Fe foi o que obteve um efeito inibitório mais acentuado pelos polifenóis. Já a baixa bioacessibilidade de Mn e Zn nas amostras de ervilha, podem estar relacionados com a presença de outros compostos antinutricionais e/ou pela presença das fibras dietéticas. Por exemplo, os fitatos são fortemente ligados ao Zn formando complexos

insolúveis, refletindo em uma baixa bioacessibilidade de Zn (Khouzam et al., 2011).

5.9 Contribuição do consumo de lentilhas e ervilhas para ingestão diária recomendada (IDR)

A avaliação da contribuição do consumo de lentilhas e ervilhas foi realizado através da média das concentrações bioacessíveis dos minerais, obtidas pelas três diferentes marcas de cada amostra.

O Ba é considerado um elemento potencialmente tóxico e o limiar para uma dose tóxica é de 3 a 7 mg/kg (Nielsen & Ladefoged, 2013). Logo, uma porção de 100 g de lentilha contribui com uma média de 0,12 mg de Ba, sendo este um fator positivo, pois está bem abaixo do limite máximo tolerado pelo organismo humano. Já para as amostras de ervilha as concentrações bioacessíveis ficaram abaixo do LD.

Para o Cu a ingestão diária recomendada (IDR) é de 0,9 mg/dia (Brasil, 2005). Logo, uma porção de 100 g de lentilha contribui com uma média de 0,54 mg de Cu e a ervilha com uma média de 0,25 mg de Cu.

Para o Fe a ingestão diária recomendada é de 14 mg/dia (Brasil, 2005). Logo, uma porção de 100 g de ervilha contribui com 1,32 mg de Fe.

Para o Mg a IDR é de 260 mg/dia (Brasil, 2005). Assim, uma porção de 100 g de lentilha contribui em média com 106,4 mg de Mg e a ervilha com 89,8 mg de Mg.

Para Mn a IDR é de 1,8 mg/dia para mulheres e 2,3 mg/dia para homens (Institute of Medicine, 2001). Assim, uma porção de 100 g de lentilha contribui em média com 1,33 mg de Mn e a ervilha com 0,42 mg.

Já para o Zn a IDR é de 8 mg/dia para mulheres e 11 mg/dia para homens (Institute of Medicine, 2001). Logo, uma porção de 100 g de lentilha contribui em média com 2,9 mg de Zn e a ervilha contribui com 0,72 mg.

Embora as concentrações bioacessíveis desses minerais tenham ficado abaixo da ingestão diária recomendada (IDR), foi possível corroborar através deste estudo que a lentilha e a ervilha são alimentos bastante nutritivos e que podem contribuir juntamente com outros alimentos a complementar a quantidade de ingestão diária recomendada dos minerais.

6. Conclusão

O método de preparo de amostra desenvolvido, que utiliza a decomposição ácida com sistema de refluxo, mostrou-se eficiente para a decomposição das amostras de lentilha e ervilha, obtendo-se baixos teores de carbono residuais nas soluções resultantes. Além disso, o método mostrou-se eficiente para determinação de Al, B, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, V e Zn utilizando o MIP OES, obtendo-se LDs e LQs adequados para este estudo, assim como uma boa exatidão e precisão, confirmada pelos testes de adição e recuperação, análise do CRM e desvio padrão relativo (RSD).

As maiores concentrações encontradas nas amostras de lentilha e ervilha foram para K, Mg, Fe e Zn. Ao passarem por um processo de cozimento, observou-se que para alguns elementos o tratamento térmico pode aumentar ou diminuir as concentrações e que essas variações podem ser ocasionadas pelo processo de lixiviação durante o cozimento ou devido a presença de fatores antinutricionais, conforme relatado em outros estudos.

Os ensaios de bioacessibilidade utilizando o método de digestão *in vitro*, mostrou-se eficiente para determinação de Ba, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn, obtendo-se uma boa exatidão e precisão através do balanço de massa. As maiores porcentagens bioacessíveis obtidas nas amostras de lentilha foram para Mg, Mn, Zn e Cu e para as amostras de ervilha Mg e Cu.

As determinações dos teores de polifenóis demonstraram que as amostras de lentilha obtiveram maiores teores que a ervilha. Ao avaliar as correlações entre as concentrações bioacessíveis com as concentrações dos polifenóis, demonstrou-se que a presença desses compostos nestas amostras pode atuar como um antinutriente, inibindo a bioacessibilidade de alguns minerais, principalmente do Fe.

Embora as concentrações bioacessíveis de Cu, Fe, Mg, Mn e Zn nas amostras de lentilha e ervilha tenham ficado abaixo da ingestão diária recomendada (IDR), pode-se concluir que essas leguminosas são alimentos nutritivos e que podem contribuir juntamente com outros alimentos a complementar a quantidade de ingestão diária recomendada desses minerais.

Referências

- AGILENT TECHNOLOGIES. **MP-AES Agilent 4200: Especificações**. 2014.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **Princípios da espectroscopia atômica: Hardware**. 2016.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **Espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas Agilent 4200**. 2015.
- AKINYELE, I. O.; SHOKUNBI, O. S. Concentrations of Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, Ni in selected Nigerian tubers, legumes and cereals and estimates of daily intake of adults. **Food Chemistry**, v. 173, p. 702-708, 2015.
- ALKALTHAM, M. S.; OZCAN, M. M.; USLU, N.; SALAMATULLAH, A. M.; HAYAT, K. Changes in antioxidant activity, phenolic compounds, fatty acids, and mineral contents of raw, germinated, and boiled lentil seeds. **Journal Food Science**, v. 87, p. 1639-1649, 2022.
- ALVES, M. M.; MEDINA, A. L.; PINTO, A. M. T.; ANTUNES, A. C. N.; FILHO, P. J. S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Evaluation of the Concentration of Cu, Zn, Pb and Cr in Different Fish Species from the São Gonçalo Channel in Pelotas-RS, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 285-296, 2018.
- ALVES, N. E. G.; DE PAULA, L. R.; DA CUNHA, A. C.; AMARAL, C. A. A.; FRITAS, M. T. Efeito dos diferentes métodos de cocção sobre os teores de nutrientes em brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 507-513, 2011.
- APN - ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DOS NUTRICIONISTAS. **Leguminosa a leguminosa, encha o seu prato de saúde**. APN, 2016. Disponível em: <https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/E-book_leguminosas_2.pdf> Acesso em: 06 jun. 2020.
- ASTDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Barium and Barium Compounds**. ASTDR, 2007. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp24.pdf>> Acesso em: 15 jun. 2020.
- BHATTY, R. S. Composition and quality of lentils (*Lens culinaris* Medik): a review. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 21, p. 144-160, 1988.
- BOUZARI A.; HOLSTEGE, D.; BARRETT, D. M. Mineral, Fiber, and Total Phenolic Retention in Eight Fruits and Vegetables: A Comparison of Refrigerated and Frozen Storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 951-956, 2015.
- BRASIL. **Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965**. Modifica o Decreto nº 50040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de

1962. Brasil: Presidência da República, 1965. Disponível em:<<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/DECRETO%2BN%25C2%25B%20A%2B55.871%252C%2BDE%2B26%2BDE%2BMAR%25C3%2587O%2BDE%2B19%2065.pdf/59b8704c-52f4-481d-8baa-ac6edadf6490>> Acesso em: 16 de jun. 2020.

BRASIL. **Resolução RDC ANVISA/MS nº 269, de 22 de setembro de 2005.** O “Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais”. Brasil: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3> Acesso em: 18 de jun. 2020.

CABRERA, C.; LLORIS, F.; GIMÉNEZ, R.; OLALLA, M.; LÓPEZ, M. C. Mineral content in legumes and nuts: contribution to Spanish food intake. **The Science of the Total Environment**, v. 308, p. 1-14. 2003.

CARVALHO, O. T. Carotenóides e composição centesimal de ervilhas (*Pisum Sativum* L.). **Universidade de São Paulo**, 2007.

CHAHOTA, R.K.; SHARMA, T, R.; SHARMA, S. K. Conventional Genetic Manipulations. **Lentils: Potential Resources for Enhancing Genetic Gains**, p. 43-55, 2019.

CLEMENTE A.; OLIAS, R. Beneficial effects of legumes on intestinal health. **Current Opinion in Food Science**, v. 14, p. 32-36, 2017.

DA SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Composição centesimal e perfil de aminoácidos de arroz e pó de café. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, p. 325-330, 2007.

DHULL, S. B.; PUNIA, S.; KIDWAI, M. K.; KAUR, M.; CHAWLA, P.; PUREWAL, S. S.; SANGWAN M.; PALTHANIA, S. Solid-state fermentation of lentil (*Lens culinaris* L.) with *Aspergillus awamori*: Effect on phenolic compounds, mineral content, and their bioavailability. **Legume Science**, v. 2, p. 1-12, 2020.

ERBA, D.; ANGELINO, D.; MARTI, A.; MANINI, F.; FAORO, F.; MORREALE, F.; PELLEGRINI, N.; CASIRAGHI, M. C. Effect of sprouting on nutritional quality of pulses. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 70, p. 30-40, 2019.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Ora Laboratory Manual. Methods, Method Verification and Validation.** ORA-LAB.5.4.5, 2020, rev. 2, 32 p. Disponível em:<<https://www.fda.gov/media/73920/download>> Acesso em: 05 dez.2022.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The International Year of Pulses.** FAO, 2019. Disponível em:<<http://www.fao.org/3/CA2853EN/ca2853en.pdf>> Acesso em: 06 jun. 2020.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Resultados do Ano Internacional das Leguminosas devem**

permanecer para além de 2016. FAO, 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/471433/>> Acesso em: 06 jun. 2020.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and agriculture data.** FAOSTAT, 2022. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 04 dez. 2022.

FAROOQ, M.; GOGOI, N.; HUSSAIN, M.; BARTHAKUR, S.; PAUL, S.; BHARADWAJ, N.; MIGDADI, H. M.; ALGHAMDI, S. S.; SIDDIQUE, k. H. M. Effects, mechanisms of tolerance and management of salt stress in legumes for grain. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 199-217, 2017.

FOWLER, B. A.; ALEXANDER, J.; OSKARSSON, A. Toxic metals in food. **Handbook on the Toxicology of Metals**, v. 1, p. 123-140, 2015.

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

FRAGA, C. G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p. 235-244, 2005.

GASPAR, A. C.; FERREIRA, J. C.; SOUSA, P.; GONÇALVES, T. J. **Processo de Congelação de Ervilhas.** Instituto Politécnico de Coimbra - Escola Superior Agrária de Coimbra, 2008. Disponível em: <http://www.esac.pt/noronha/pga/0708/trabalhos/congelacao_ervilhas_PGA_0708.pdf> Acesso em: 04 dez.2022.

GAPB – **Guia Alimentar para População Brasileira.** Ministério da Saúde – Departamento de Atenção Básica. Brasília – DF, 2014, 2º edição.

GENIS, H. E.; DURNA, S.; BOYACI, I. H. Determination of green pea and spinach adulteration in pistachio nuts using NIR spectroscopy. **LWT - Food Science and Technology**, v. 136, p. 11008, 2021.

GRÖBER, U.; SCHMIDT, J.; KISTERS, K. Magnesium in Prevention and Therapy. **Nutrients**, v. 7, p. 8199-8226, 2015.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 8-17, 2010.

GRANT, G.; DUNCAN, M.; ALONSO, R.; MARZO, F. Peas and Lentils. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)**, p. 4433-4440, 2003.

HALDER, D.; SAHA, J. K.; BISWAS, A. Accumulation of essential and non-essential trace elements in rice grain: Possible health impacts on rice consumers in West Bengal, India. **Science of The Total Environment**, v. 706, 2020.

HAN, H.; BAIK, B-K. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 1971-1978, 2008.

HEFNAWY, T. H. Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). **Annals of Agricultural Science**, v. 56, p. 57-61, 2011.

HURRELL, R. F.; REDDY, M.; COOK, J. D. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. **British Journal of Nutrition**, v. 81, p. 289-295, 1999.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. Ed. São Paulo, 2008. 1020 p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. IBGE, 2022. Disponível em:< <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>> Acesso em: 05 dez. 2022.

IBRAFE - Instituto Brasileiro de Feijão e Pulses. **O que são pulses?**. IBRAFE, 2022. Disponível em:<<https://www.ibrafe.org/artigo/o-que-sao-pulses>> Acesso em: 05 dez. 2022.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1821-1835, 2011.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, 2020, rev. 8, 30 p.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes (DRI)**: for vitamina A, vitamina K, arsênico, boro, cromo, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, níquel, silício, vanádio e zinco. Washington, DC: The National Academies Press, 2001. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/>> Acesso em: 15 jun. 2020.

IQBAL, A.; KHALIL, I. A.; ATEEQ, N.; KHAN, M. S. Nutritional quality of important food legumes. **Food Chemistry**, v.97, p. 331-335, 2006.

JACOBS, B.; BONEMANN, D. H.; PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; LUCKOW, A. C. B.; LISBOA, M. T.; RIBEIRO, A. S.; CADORE, S.; NUNES, A. M. Avaliação da concentração total e da fração bioacessível de metais em amostras de casca de uva de cultivares tannat e cabernet sauvignon por MIP OES. **Química Nova**, v. 44, p. 547-552, 2021.

JANKOWSKI, K. J; RESZKE, E. Instrumentation for Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. **Royal Society of Chemistry**, 2010, 264 p.

JEZIERNY, D.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, p. 11-128, 2020.

JOSHI, M.; TIMILSENA, Y.; ADHIKARI, B. Global production, processing and use of lentils: a review. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, p. 2898-2913, 2017.

KARAKÖY, T.; ERDEM, H.; BALOCH, F. S.; TOKLU, F.; EKER, S.; KILIAN, B.; OZKAN, H. Diversity of macro and micronutrients in seeds of lentil breeds. **The Scientific World Journal**, 2012.

KHALIQ, H.; JUMING, Z.; KE-MEI, P. The Physiological Role of Boron on Health. **Biological Trace Element Research**, v. 186, p. 31-51, 2018.

KHANEGHAH, A. M.; FAKHRI, Y.; NEMATOLLAHI, A.; PIRHAD, M. Potentially toxic elements (PTE) in cereal-based foods: a systematic review and meta-analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 96, p. 30-44, 2020.

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

KOPLÍK, R.; MESTEK, O.; KOMÍNKOVÁ, J.; BORKOVÁ, M.; SUSCHÁNEK, M. Effect of cooking on species of phosphorus and trace elements in peas. **Food Chemistry**, v. 85, p. 31-39, 2004.

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

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: Edit.SBQ, 2016. 572p.

KRUG, Francisco José. Erros no preparo de amostras. In: V WORKSHOP DE PREPARO DE AMOSTRA, 5., 2004, Butantã – SP. **V workshop de preparo de amostra: erros no preparo de amostras**. São Paulo: USP, 2004. Disponível em: < <http://allchemistry.iq.usp.br/agregando/wpa/Palestra10.pdf> > Acesso em: 15 de jun. 2020.

KUMAR, S.; PANDEY, G. Biofortification of pulses and pulses to improve nutrition. **Heliyon**, v. 6, 2020.

LAZARTE, C. E.; CARLSSON N. G.; ALMGREN, A.; SANDBERG, A. S.; GRANFELDT, Y. Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 39, p. 111-119, 2015.

LI, C.; YU, W.; WU, P.; CHEN, X. D. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. **Trends in Food Science & Technology**, v. 96, p. 114-126, 2020.

LISIEWSKA, Z.; SLUPSKI, J.; KMIECIK, W.; GĘBCZYŃSKI, P. Availability of essential and trace elements in frozen leguminous vegetables prepared for

consumption according to the pre-freezing method. **Food Chemistry**, v. 106, p. 576-582, 2008.

LOUZADA, A. R. R.; OLIZ, L. O.; GOMES, C. G.; BONEMANN, D. H.; SCHERDIEN, S. H.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Assessment of total concentration and bioaccessible fraction of minerals in peaches from different cultivars by MIP OES. **Food Chemistry**, v. 391, p. 133228, 2022.

MAKHLOUF, J.; ZEE, J.; TREMBLAY, N.; BÉLANGER, A.; MICHAUD, M. H.; GOSSELIN, A. Some nutritional characteristics of beans, sweet corn and peas (raw, canned and frozen) produced in the province of Quebec. **Food Research International**, v. 28, p. 253-259, 1995.

MAKSIMOVIĆ, J. D.; ŽIVANOVIĆ, B.; MAKSIMOVIĆ, V.; ŠUKALOVIĆ, V. H. T. Antioksidativna svojstva fenolnih komponenata semena sočiva (*Lens culinaris* L.). **Ratarstvo i Povrtarstvo**, v. 47, p. 555-560, 2010.

MILLAR, K. A.; GALLAGHER, E.; BURKE, R.; MCCARTHY, S.; BARRY-RYAN, C. Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, p. 103233, 2019.

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

MLYNIEC, K.; DAVIES, C. L.; SÁNCHEZ, I. G. A.; PYTKA, K.; BUDZISZEWSKA, B.; NOWAK, G. Essential elements in depression and anxiety. Part I. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 534-544, 2014.

MUKHERJEE, B.; PATRA, B.; MAHAPATRA, S.; BANERJEE, P.; TIWARI, A.; CHATTERJEE, M. Vanadium--an Element of Atypical Biological Significance. **Toxicology Letters**, v. 150, p. 135-143, 2004.

NASEM - National Academies of Science, Engineering and Medicine. **Dietary Reference Intakes (DRI)**: for sodium and potassium. Washington, DC: The National Academies Press, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538102/>> Acesso em: 15 jun. 2020.

NASCIMENTO, Warley. Lentilhas: muito além do Réveillon. **Embrapa**, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/49159157/artigo---lentilhas-muito-alem-do-reveillon>> Acesso em: 10 jun. 2020.

NASCIMENTO, Warley. Leguminosas de inverno: alternativa para a região dos cerrados. **Embrapa hortaliças**, 2016. Disponível em: <<http://anapa.com.br/wp->

content/uploads/2016/12/Leguminosas_de_inverno.pdf> Acesso em: 12 jun. 2020.

NASCIMENTO, W. M.; BAGOLIN, D. J. Lentilha: do Brasil para Índia?. **Revista Cultivar**, 2022. Disponível em:<<https://revistacultivar.com.br/artigos/lentilha:-do-brasil-para-a-india>> Acesso em: 05 dez. 2022.

NASCIMENTO, W. M.; DA SILVA, P. P.; DE FREITAS, R. A.; BOITEUX, L. S. Hortalças Leguminosas. **Embrapa**, 2016. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1054423/hortalicas-leguminosas>> Acesso em: 01 dez. 2022.

NIELSEN, E.; LADEFOGED, O. Barium, inorganic water-soluble compounds. Evaluation of health hazards and proposal of health based quality criteria for soil and drinking water. **The Danish Environmental Protection Agency**, 42 p., 2013.

NIKMARAM N.; YINGLEONG S.; KOUBAA, M.; ZHU, Z.; BARBA F. J.; GREINER, R.; OEY I.; ROOHINEJAD, S. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. **Food Control**, v. 79, p. 62-73, 2017.

NLEYA, T.; VANDENBERG, A.; WALLEY, F. L. LENTIL | Agronomia. **Encyclopedia of Grain Science**, p. 150-157, 2004.

OJEDA, A. M. R. Peas and Lentils. **Encyclopedia of Food and Health**, 2016.

OJEDA, A. M. R.; ROJAS, R. M.; MARTOS, F. C. Mineral and trace element content in legumes (lentils, chickpeas and beans): bioaccessibility and probabilistic assessment of food intake. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 73, p. 17-28, 2018.

OLIVEIRA, A. P.; ANDRADE, G. F.; MATEÓ, B. S. O.; NAOZUKA, J. Protein and Metalloprotein Distribution in Different Varieties of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Effects of Cooking. **International Journal of Food Science**, p. 1-8, 2017.

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

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

OLIVEIRA, S. R.; MADRID, K. C.; ARRUDA, M. A. Z.; JÚNIOR, F. B. In vitro gastrointestinal digestion to evaluate the total, bioaccessible and bioavailable concentrations of iron and manganese in açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulps. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 53, p. 27-33, 2019.

ONU NEWS – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS – Perspectiva Global Reportagens Humanas. **ONU destaca importância de leguminosas para uma**

dieta e planeta saudáveis. ONU News, 2021. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2021/02/1741072>> Acesso em: 04 dez. 2022.

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

PAREDES, R.S.V. Bioaccessibility of Phenolic and Mineral Compounds in Common Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Luiz de Queiroz**, 2017.

PEREIRA, A. M.; BONEMANN, D. K.; SCHERDIEN, S. H.; ÁVILA, B. P.; ANTUNES, I. F.; RIBEIRO, A. S.; GULARTE, M. A. Evaluation of total and bioaccessible concentration of minerals in creole beans. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 94, p. 103622, 2020.

PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of the use of a reflux system for sample preparation of processed fruit juices and subsequent determination of Cr, Cu, K, Mg, Na, Pb and Zn by atomic spectrometry techniques. **Food Chemistry**, v. 240, p. 959-964, 2017.

PEIXOTO, Eduardo Motta Alves. Vanádio. **Química Nova na Escola**, 2006.

PINTO, A. M. T. P.; BOEIRA, A. C. S.; LISBOA, M. T.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Development of an Analytical Method for the Determination of Metals in Chicken Breast by Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP-OES). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 2395-2403, 2019.

POHL, H. R.; WHEELER, J. S.; MURRAY, H. E. Sodium and Potassium in Health and Disease. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)**, v. 13, p. 29-47, 2013.

RAHIM, A.; ERCAN, C.; AYSE, Ç. S. Fatty Acid Composition and Mineral Contents of Pea Genotype Seeds. **Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 38, p. 153-158, 2019.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 200-2013, 2008.

RAY, H.; BETT, K.; TAR'AN, B.; VANDENBERG, A.; THAVARAJAH, D.; WARKENTIN, T. Mineral Micronutrient Content of Cultivars of Field Pea, Chickpea, Common Bean, and Lentil Grown in Saskatchewan, Canada. **Crop Science**, v. 54, p. 1698-1708, 2014.

SÁ, A. G. A.; MORENO, Y. M. F.; CARCIOFI, B. A. M. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 170-184, 2020.

SAHUQUILLO, A.; BARBERÁ, R.; FARRÉ R. Bioaccessibility of calcium, iron and zinc from three legume samples. **Nahrung/Food**, v. 47, p. 438-441, 2003.

SAMPAIO, M. R. F.; LISBOA, M. T.; TIMM, J. G.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; OTERO, D. M.; ZAMBIAZI, R. C. Multielemental determination in sugarcane products from the southern region of Brazil by microwave induced plasma optical emission spectrometry after acid decomposition with a reflux system. **Analytical Methods**, v. 12, p. 1360-1367, 2020.

SANTOS, W. P. C.; DOS SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - a review. **Applied Spectroscopy Review**, v. 43, p. 67-92, 2008.

SHAHEEN, S. M.; ANTONIADIS, V.; KWON, E.; SONG, H.; WANG, S.; HSEU, Z.; RINKLEBE, J. Soil contamination by potentially toxic elements and risk associated with human health in contaminated geo and anthropogenic soils: a case study of the temperate region (Germany) and the arid region (Egypt). **Environmental Pollution**, v. 262, 2020.

SILVA, F. N.; TEIXEIRA, D. S.; PAIVA, O.; ZIOTO, P.; MARCHIORO, S.; SAICK, K. W.; ULIANA, M. P.; LAIGNIER, E. P.; LOOS, R. Riscos Relacionados À intoxicação por alumínio. **Infarma**, v. 24, 2012.

SIVA, N.; THAVARAJAH, D.; JOHNSON, C. R.; DUCKETT, S; JESCH, E. D.; THAVARAJAH, P. Can lentils (*Lens culinaris Medikus*) reduce the risk of obesity?. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 706-715, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1055p.

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

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

SULIBURSKA, J.; KREJPCIO, Z. Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 589 – 594, 2011.

TACO – **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. NEPA/UNICAMP. Campinas – SP, 2011, 4^a. edição revisada e ampliada.

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

USDA - United States Department of Agriculture. **Tabela de Composição Química de Alimentos**, 2016. Disponível em: <<http://tabnut.dis.epm.br/alimento>> Acesso em: 05 dez. 2022.

VANDEMARK, G. J.; GRUSAK, M. A.; MCGEE, R. J. Mineral concentrations of chickpea and lentil cultivars and breeding lines grown in the U.S. Pacific Northwest. **The Crop Journal**, v. 6, p. 253-262, 2018.

VAROL, I. S.; KARDES, Y. M.; IRIK, H. A.; KIRNAK, H.; KAPLAN, M. Supplementary Irrigations at Different Physiological Growth Stages of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Change Grain Nutritional Composition. **Food Chemistry**, v. 303, 2020.

VENKIDASAMY, B.; SELVARAJ, D.; NILE, A. S.; RAMALINGAM, S.; KAI, G.; NILE, S. H. Indian pulses: a review of nutritional, functional and biochemical properties with future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 88, p. 228-242, 2019.

VERSANTVOORT, C. H. M.; OOMEN, A. G.; DE KAMP, E. V.; ROMPELBERG, C. J. M.; SIPS, A. J. A. M. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 31-40, 2005.

VIEIRA R. F.; VIEIRA C.; VIEIRA R. F. **Leguminosas graníferas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 206p. Disponível em:<<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=209231&biblioteca=CPAC&busca=autoria:%22VIEIRA,%20R.%20F.%22&qFacets=autoria:%22VIEIRA,%20R.%20F.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>> Acesso em 12 jun. 2020.

WANG, N.; HATCHER, D. W.; GAWALKO, E. J. Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). **Food Chemistry**, v. 111, p. 132-138, 2008.

WANG, N.; HATCHER, D. N.; TOEWS, R.; GAWALKO, E. J. Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 842-848, 2009.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. WileyVCH: Weinheim, 1999, 3.

WHO/FAO - World Health Organization/ Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Evaluation of certain food additives and a contaminants**. WHO/FAO, 1989. Disponível em:<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39252/WHO_TRS_776.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 15 jun. 2020.

XU, B. J.; YUAN, S. H.; CHANG, S. K. C. Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 167-177, 2007.

YONNY, M. E.; MEDINA, A. V.; NAZARENO, M. A.; CHAILLOU, L. L. Enhancement in the oxidative stability of green peas by *Ilex paraguariensis* addition in a blanching process before their refrigerated and frozen storage. **LWT - Food Science and Technology**, 2018.

ZHANG, Y. Y.; PANOZZO, J.; HALL, M. S.; AJLOUNI, S. Bioaccessibility of Some Essential Minerals in Three Selected Australian Pulse Varieties Using an In Vitro Gastrointestinal Digestion Model. **Journal of Food Science**, v. 83, p. 2873-2881, 2018.

ZIA-UL-HAQ, M.; AHMAD, S.; ASLAM SHAD, M.; QAYUM, I. M.; AHMAD, A.; LUTHRIA, D. L.; AMAROWICZ, R. Compositional Studies Of Lentil (*lens Culinaris* Medik.) Cultivars Commonly Grown In Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, p. 1563-1567, 2011.

ZORODDU, M. A.; AASETH, J.; CRISPONI, G.; MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M. The essential metals for humans: a brief overview. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 195, p. 120-129, 2019.