



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

ALEXANDRO FRANCISCO DO NASCIMENTO

**AAS APLICADA À QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS
EM FARINHAS DE INSETOS UTILIZADAS COMO ALIMENTOS**

Recife

2019

ALEXSANDRO FRANCISCO DO NASCIMENTO

**AAS APLICADA À QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS
EM FARINHAS DE INSETOS UTILIZADAS COMO ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Aplicação de Radioisótopos na Agricultura e no Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Elvis Joacir De França

Recife

2019

Catálogo na fonte
Bibliotecário Carlos Moura, CRB-4 / 1502

N244a Nascimento, Alesxandro Francisco do.
AAS aplicada à quantificação de elementos traços em farinhas de insetos utilizadas como alimentos. / Alesxandro Francisco do Nascimento. - Recife, 2019.
59 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Elvis Joacir de França.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2019.
Inclui referências.

1. Engenharia nuclear. 2. Absorção atômica. 3. Insetos comestíveis. 4. Elementos químicos. I. França, Elvis Joacir de, orientador. II. Título.

ALESXANDRO FRANCISCO DO NASCIMENTO

**AAS APLICADA À QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS
EM FARINHAS DE INSETOS UTILIZADAS COMO ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em:15/03/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Elvis Joacir de França (Orientador)
CRCN-NE/CNEN

Prof^o. Dr. Dário Costa Primo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Emerson Emiliano Gualberto de Farias (Examinador Externo)
CRCN-NE/CNEN

Prof^o. Dr. Thiago Oliveira dos Santos (Examinador Externo)
CRCN-NE/CNEN

Dedico esta dissertação aos meus pais, Zelia Luzia
do Nascimento e Antonio Francisco do Nascimento

AGRADECIMENTOS

À toda minha família.

Aos amigos e colegas que se fizeram presentes durante a pesquisa.

Ao Proten por me proporcionar o desenvolvimento dessa dissertação.

Ao Seamb/CRCN-NE por ser essencial para a realização das análises.

Ao meu orientador Elvis Joacir De França pelo apoio em todos momentos.

RESUMO

Espera-se em 2050 um aumento de 60-70% na demanda alimentícia de produtos de origem animal e os insetos comestíveis surgem como alternativa viável, pois são ricos em proteínas, vitaminas e minerais. Os insetos são fontes de nutrientes, entretanto devem ser avaliados com relação aos elementos traços, principalmente os tóxicos, pois, dependendo dos recursos alimentares e ambientais disponíveis, podem acumular esses elementos químicos, indesejavelmente. Sendo assim, é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos com alto nível metrológico para sua quantificação como a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), técnica cujo progresso é significativo nos últimos anos para determinações de elementos químicos. Deste modo, este estudo utilizou a AAS para a quantificação de elementos traços em quatro farinhas de insetos comercializadas com o intuito de substituir fontes proteicas convencionais. As amostras de farinha de insetos receberam tratamento químico com ácido nítrico (HNO_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em forno digestor por micro-ondas para acelerar a decomposição. Para quantificação de As, Ni e Pb foi utilizada a AAS com Forno de Grafite (GFAAS), enquanto a AAS com Chama foi empregada para a determinação de Cu, Fe e Mn. Os métodos analíticos de GFAAS e FAAS foram adequados para a quantificação dos elementos químicos nas farinhas devido à precisão encontrada. As farinhas apresentaram vantagens nutricionais referentes ao aumento no valor nutricional de minerais com concentrações variando de 11 a 22 mg kg^{-1} para o Cu e variando de 8 a 37 mg kg^{-1} para o Mn. Já com relação aos elementos químicos tóxicos apresentaram baixas concentrações variando de 0,016 a 0,021 mg kg^{-1} para o As e 0,018 a 0,045 mg kg^{-1} para o Pb.

Palavras-chave: Absorção Atômica. Insetos Comestíveis. Elementos Químicos.

ABSTRACT

A 20-50% increase in food demand for animal products is expected in 2050 and edible insects are a viable alternative since these animals are rich in protein, vitamins and minerals. Insects are nutritional sources of nutrients, however, they should be evaluated concerning the trace elements, mainly the toxic ones, because, depending on the available alimentary and environmental conditions, they can accumulate these chemical elements, undesirably. Therefore, it is necessary to develop analytical methods with a high metrological level for their quantification such as the Atomic Absorption Spectrometry (AAS), technique of significant progress in recent years for determinations of chemical elements. Thus, this study applied AAS for the quantification of trace elements in four insect flours commercialized for replacing conventional protein sources. The samples were treated with nitric acid (HNO_3) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in a microwave oven to accelerate the decomposition. AAS with graphite furnace (GFAAS) was used for quantification of As, Ni and Pb, while the AAS with Flame (FAAS) was employed for determining Cu, Fe and Mn. The analytical methods of GFAAS and FAAS were adequate for the quantification of the chemical elements in the flours due to the precision found. Besides, the flours presented nutritional advantages referring to the increase in nutritional value minerals such as Cu ($11\text{-}22 \text{ mg kg}^{-1}$) and Mn ($8\text{-}37 \text{ mg kg}^{-1}$) and to the low concentrations of toxic chemical elements like As ($0,016\text{-}0,021 \text{ mg kg}^{-1}$) and Pb ($0,018\text{-}0,037 \text{ mg kg}^{-1}$).

Keywords: Atomic Absorption. Edible Insects. Chemical Elements.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Comparação entre os teores de proteína e extrato etéreo de carnes e insetos utilizados como alimentos. *Compilação de valores.....	16
Figura 2 -	Comparação entre os teores de Cu, Fe, Mn e Zn de carnes e insetos utilizados como alimentos. *Compilação de valores.....	19
Figura 3 -	Concentrações de elementos traços determinadas em abdome, tórax e cabeça de cupins.....	19
Figura 4 -	Lâmpada de cátodo oco utilizadas no AAS Varian 220 FS.....	21
Figura 5 -	Atomização eletrotérmica no Forno de Grafite Varian 240 Zeeman – GTA 120.....	23
Figura 6 -	Tube de grafite mostrando o local de introdução das amostras (imagem ampliada).....	23
Figura 7 -	Tela do computador mostrando as informações sobre a curva analítica geradas pelo GFAAS. À direita, detalhe da monitoração do forno de grafite durante as análises.....	24
Figura 8 -	Exemplo de efeito Zeeman (Cd no comprimento de onda de 228,8 nm).....	25
Figura 9 -	Funcionamento do espectrômetro de absorção atômica, indicando valor de absorbância medido de 0,345 28.....	27
Figura 10 -	Serviço de Monitoração Ambiental do CRCN-NE.	28
Figura 11 -	Sistema de moagem. A. Moinho planetário de bolas modelo PM200. B. Detalhe do sistema de moagem com os vasos de moagem.....	29
Figura 12 -	Destilador de ácidos sub-ebulição.....	30
Figura 13 -	Forno digestor MarsX Press, CEM.....	31
Figura 14 -	Espectrômetro de Absorção Atômica por Forno de Grafite.....	32
Figura 15 -	Espetrômetro de Absorção Atômica por Chama.....	33
Figura 16 -	Valores de Índice z obtidos para As nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	39
Figura 17 -	Valores de Índice z obtidos para Cu nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	40

Figura 18 -	Valores de Índice z obtidos para Fe nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	41
Figura 19 -	Valores de Índice z obtidos para Mn nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	42
Figura 20 -	Valores de Índice z obtidos para Ni nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	43
Figura 21 -	Valores de Índice z obtidos para Pb nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D).....	44
Figura 22 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg-1) de As determinadas nas amostras de farinha de insetos	46
Figura 23 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (não paramétrico) para as concentrações ((mg kg-1) de Cu determinadas nas amostras de farinha de insetos	47
Figura 24 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg-1) de Fe determinadas nas amostras de farinha de insetos.....	49
Figura 25 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg-1) de Mn determinadas nas amostras de farinha de insetos.....	50
Figura 26 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg-1) de Ni determinadas nas amostras de farinha de insetos	51
Figura 27 -	Comparação entre médias Kruskall-Wallis (Não paramétrico) para as concentrações (mg kg-1) de Pb determinadas nas amostras de farinha de insetos	52
Figura 28 -	Comparação entre os resultados de insetos utilizados para a alimentação humana.....	53
Figura 29 -	Limites máximos de contaminantes inorgânicos.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais ordens de insetos consumidas por populações humanas e áreas de consumo.....	15
Tabela 2 -	Faixa de valores médios por tratamento de teores de elementos traços em músculos de porcos, ruminantes e aves. Os experimentos envolveram suplementação na dieta com várias doses e formas de elementos químicos.	18
Tabela 3 -	Parâmetros utilizados nas análises por GFAAS.....	32
Tabela 4 -	Parâmetros utilizados nas análises por FAAS.....	34
Tabela 5 -	Valores obtidos e certificados de As, Pb e Ni para os materiais de referência fígado bovino do National Research Council Canada SRM1577b e NIST RM 8414 analisados por GFAAS.....	37
Tabela 6 -	Valores obtidos e certificados de Cu, Fe e Mn para os materiais de referência SRM1577b e RM 8414 analisados por FAAS.....	38
Tabela 7 -	Resultados médios e análise de variância das concentrações de As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb (em mg kg ⁻¹) determinadas nas amostras de farinhas de insetos. DP = desvio-padrão. CV% = coeficiente de variação em %. Max = valor máximo. Min = valor mínimo. n = replicatas.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	INSETOS COMO ALIMENTOS.....	15
2.2	ELEMENTOS TRAÇOS.....	17
2.2.1	Elementos traços em alimentos proteicos.....	17
2.3	QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS EM INSETOS.....	20
2.4	ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO (AAS).....	21
2.4.1	Espectrometria De Absorção Atômica Por Forno de Grafite (GFAAS).....	22
2.4.2	Espectrometria De Absorção Atômica Por Chama (FAAS).....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	SELEÇÃO DE MATERIAL.....	28
3.2	PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS.....	29
3.3	PREPARO QUÍMICO DAS AMOSTRAS.....	29
3.4	GFAAS.....	32
3.5	FAAS.....	33
3.6	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	34
3.6.1	Incerteza analítica.....	34
3.6.2	Qualidade do procedimento analítico.....	34
3.6.3	Análise estatística.....	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5	CONCLUSÕES.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

A produção animal ocupa uma área superficial terrestre superior a 2/3 de todas as terras agrícolas sendo responsável por cerca de 8% do consumo mundial de água (principalmente para irrigação de culturas para alimentação), mesmo assim, espera-se até o ano de 2050 um aumento de 60-70% na demanda de produtos de origem animal como carne e leite, com relação ao produzido em 2010 (FAO REGIONAL OFFICE FOR ASIA AND THE PACIFIC, 2013; FOLEY et al., 2011). Isso acarretaria, além dos problemas relacionados com o aumento da área de produção, graves modificações ambientais, pois o setor pecuário já contribui com aproximadamente 14,5% de todas as emissões antropogênicas de gases de efeito estufa (GEE) (7,1 Gigatons de CO₂ equivalente por ano) (GERBER et al., 2013). Desse modo, devido à enorme demanda por produtos de origem animal, a busca por novos recursos alimentares é obrigatória e urgente.

Na última década, novos métodos de estimar a riqueza global de espécies foram desenvolvidos e os existentes melhorados por meio do uso de ferramentas estatísticas mais apropriadas e novos dados. Tomando a média da maioria destas novas estimativas indica que globalmente existem aproximadamente 5,5 milhões de espécies de insetos. Os insetos são a classe dominante dos artrópodes, sendo os Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera as ordens de inseto mais especiadas (STORK, 2018).

Neste contexto, os insetos surgem como uma opção viável em relação a produção de proteína de origem animal. Como principais características podem ser destacadas alta eficiência de conversão alimentar, elevada capacidade de reprodução e com porte reduzido, por isso, sua dependência de espaço de terras torna-se bastante inferior. Além disso, a quantidade de água utilizada na produção é significativamente menor do que aquela necessária a bovinocultura, suinocultura e avicultura, o que torna a produção destes alimentos muito econômica e ecologicamente sustentável pela redução do uso da água e emissão de gases do efeito estufa (GERBER et al., 2013).

Com relação ao valor nutricional, os insetos são ricos em proteínas, vitaminas e minerais (MAKKAR et al., 2014). Os insetos comestíveis são também considerados seguros com relação aos elementos traços As, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn (PAOLETTI et al., 2003; PAYNE et al., 2016), cujas concentrações médias de elementos traços devem ser menores que 100 µg.g⁻¹ para a matriz

estudada (IUPAC, 2017). Todavia, insetos expostos aos impactos antropogênicos podem acumular em seus tecidos concentrações bastante elevadas de algumas substâncias químicas como, por exemplo, o As, cujo valor chegou a $13 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ em insetos da espécie *Macrodactylus pumilio*, em áreas ribeirinhas da Bacia do Rio Piracicaba no Estado de São Paulo (FRANÇA et al., 2017). Assim, reforça-se, ainda mais, a necessidade de protocolos analíticos adequados com garantia da qualidade para a determinação de elementos traços nessa matriz.

O conhecimento dos efeitos dos elementos traços no ambiente e sobre a saúde do homem promoveu o crescimento de técnicas analíticas e instrumentação capazes de abordar essas questões (STURGEON, 1996). Como os elementos traços são componentes essenciais das estruturas biológicas, mas, ao mesmo tempo, podem ser tóxicos em concentrações elevadas (MIANO et al., 2014), sua quantificação de elementos traços necessita de métodos precisos e confiáveis de alta sensibilidade e seletividade. A Espectrometria de Absorção Atômica com chama – FAAS (*Flame Atomic Absorption Spectrometry*) e com Forno de Grafite – GFAAS (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) são algumas das técnicas utilizadas para este fim e apresentaram progressos significativos e continuados para a determinação de elementos químicos. Foram adicionados vários acessórios de introdução de amostras como injeção de amostras termo-pulverizadas, nebulização hidráulica de alta pressão e deposição eletrolítica (STURGEON, 1996). Por complementação podem ser usados modificadores de matriz e tubos de grafites revestidos para estabilizar os analitos, garantindo uma maior sensibilidade ao GFAAS (ORTNER e tal., 2002).

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi a utilização de GFAAS, a partir de protocolos analíticos qualificados, para a quantificação dos elementos traços arsênio (As), níquel (Ni) e chumbo (Pb) em quatro farinhas de insetos comercializadas com intuito de substituir fontes proteicas convencionais. Para concentrações de elementos químicos mais elevadas, foi empregada também a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama – FAAS para a quantificação de cobre (Cu), ferro (Fe) e manganês (Mn). Como objetivos específicos, propõem-se:

- ✓ Avaliar a precisão das técnicas de GFAAS e FAAS para a quantificação de elementos traços nas farinhas de insetos;
- ✓ Comparar as farinhas de insetos com relação às concentrações de elementos químicos determinadas,

- ✓ Avaliar a segurança alimentar das farinhas de insetos devido à presença de elementos químicos tóxicos como As e Pb.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INSETOS COMO ALIMENTOS

Em muitas partes da África, Ásia, América do Sul e Austrália, uma grande variedade de produtos animais são utilizados como alimentos. Estes animais incluem muitas espécies de insetos como gafanhotos, cupins, formigas, besouros e lagartas (Tabela 1). São considerados como dietas suplementares de aproximadamente 2 bilhões de pessoas no mundo todo (MAKKAR et al., 2014). A entomofagia vem crescendo muito em importância em todo o mundo, embora seja ainda pouco praticada nos países ocidentais devido à neofobia alimentar e as pobres qualidades sensoriais em comparação com a carne (CAPARROS MEGIDO et al., 2016).

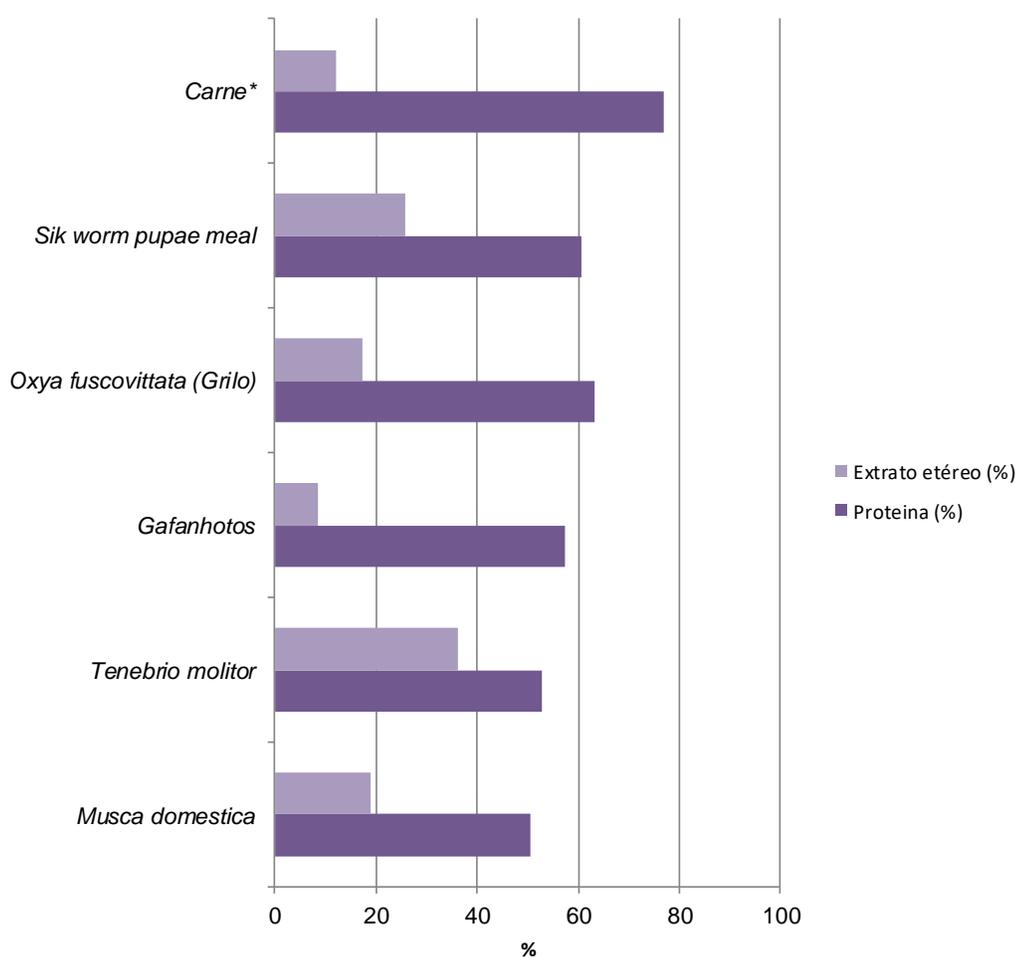
Tabela 1 – Principais ordens de insetos consumidas por populações humanas e áreas de consumo.

Ordem	Nome comum	Área de consumo
Lepidoptera	Borboletas e mariposas (lagartas)	Angola, Nigéria, Nação Pedi da África do Sul, Sudão, Zaire, Zimbábue, Território Norte Australiano, Austrália Central, Papua Nova Guiné, China, Tailândia, Equador, México e Colômbia
Coleoptera	Besouros (larvas)	Angola, Congo, Gana, Papua Nova Guiné, Filipinas, Tailândia, Região Colombiana de Vaupés, Região da Fronteira entre Venezuela e Colômbia, Equador e México
Orthoptera	Grilos e gafanhotos	Malawi, Sudão, Zimbábue, Filipinas, Tailândia, Papua Nova Guiné, Região da Fronteira entre Venezuela e Colômbia, Equador e México
Isoptera	Cupins	Angola, Camarões, Nigéria, Zimbábue, Filipinas e Região Colombiana de Vaupés
Hymenoptera	Formigas	Filipinas, China, Tailândia, Papua Nova Guiné, Região Colombiana de Vaupés, Equador, México e Brasil
	Abelhas e vespas (ovos, pupas, larvas e adultos)	Tailândia, Equador e México
Hemiptera	Percevejos (ovos, ninfas e adultos)	China, Tailândia, Papua Nova Guiné e México

Fonte: Adaptado de Bukkens (1997) e Costa-Neto (2016)

Os insetos consumidos geralmente têm alto teor de proteína (Figura 1) e são importantes em estações secas do ano, quando a agricultura é prejudicada (BUKKENS, 1997). A porcentagem de gordura associada ao extrato etéreo é bastante variável, atingindo até 40% em *Tenebrio molitor*. Também contém as vitaminas riboflavina (B2), ácido pantotênico (B5), biotina (B7) e, em alguns casos, ácido fólico (B9). Por isso, insetos vêm sendo considerados como os principais substitutos à carne (RUMPOLD; SCHLÜTER, 2013).

Figura 1 – Comparação entre os teores de proteína e extrato etéreo de carnes e insetos utilizados como alimentos. *Compilação de valores



Fonte: Vaz et al. (2001), Makkar et al. (2014) e Extraído de De Smet e Vossen (2016).

Vários países passam por severas crises alimentares e poderiam utilizar os insetos como solução, como ocorre em Madagáscar, em que as pessoas suplementam a sua ingestão de proteínas com um número de espécies de insetos durante a época de carência (período entre o esgotamento das reservas de arroz e a colheita do arroz), quando os preços dos alimentos são elevados ou há falta deles (RANDRIANANDRASANA; BERENBAUM, 2015). No Brasil, já existe insetos produzidos para fins alimentares (são esterilizados por tratamento térmico a 100°C) em forma de farinha que podem ser incluídos na dieta gradativamente o que pode solucionar problemas de escassez de alimentos em locais com falta de recursos e de água, como a região semiárida.

Além disso, insetos podem ser fonte considerável de elementos químicos essenciais para a alimentação. Por outro lado, há a preocupação da ingestão de concentrações acima dos limites permissíveis devido à toxicidade dos elementos traços.

2.2 ELEMENTOS TRAÇOS

Elementos traços são definidos como elementos químicos com concentrações menores que 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ na matriz de interesse (IUPAC, 2017). Mesmo nessa magnitude, são muito importantes para as funções biológicas e, portanto, devem estar contidos nos alimentos. Seu interesse no que tange a qualidade dos alimentos está associado com a baixa ingestão de muitos elementos traços essenciais ao redor do mundo, particularmente em países em desenvolvimento (FOSTER, 1997; DE SMET; VOSSEN, 2016).

Contudo, elementos traços em altas concentrações podem causar diversos problemas de saúde como doenças respiratórias, neurológicas e hepáticas por níveis excessivos de manganês (Mn) e níquel (Ni) (DE ANDRADE et al., 2016), doenças do coração por excesso de mercúrio (Hg) (FOSTER, 1997), envenenamento por arsênio (As) (KUMAR et al., 2016), problemas na corrente sanguínea causados a partir da bioacumulação de chumbo (Pb) e alterações nas reações enzimáticas causadas pela competição entre cádmio (Cd) e outros elementos traços essenciais (GONZALÉZ-WELLER et al., 2006) e problemas alérgicos causados por crômio (Cr) que atinge aproximadamente 1 a 3% da população europeia (BUTERS; BIEDERMANN, 2017).

2.2.1 Elementos traços em alimentos proteicos

Em geral, carnes de ruminantes, porcos e aves possuem concentrações apreciáveis de elementos traços conforme mostra a Tabela 2. Para o ferro (Fe), por exemplo, são encontrados valores médios máximos de $103 \mu\text{g.g}^{-1}$ nos músculos, mesmo quando utilizadas como fonte de alimentação rações enriquecidas com Fe na ordem de $5.000 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabela 2).

Tabela 2 – Faixa de valores médios por tratamento de teores de elementos traços em músculos de porcos, ruminantes e aves. Os experimentos envolveram suplementação na dieta com várias doses e formas de elementos químicos.

	Número de experimentos	Faixa de concentração no alimento (mg.kg^{-1} peso seco)	Faixa de concentração no tecido* (mg.kg^{-1} peso seco)
Cobalto	12	0,2 - 66,8	0,035 - 0,38
Cobre	12	0 - 488	1,26 - 4,06
Ferro	20	44,4 - 5000	24 - 103
Manganês	34	0,4 - 8920	0,059 - 2,76
Zinco	8	132 - 3659	35 - 88

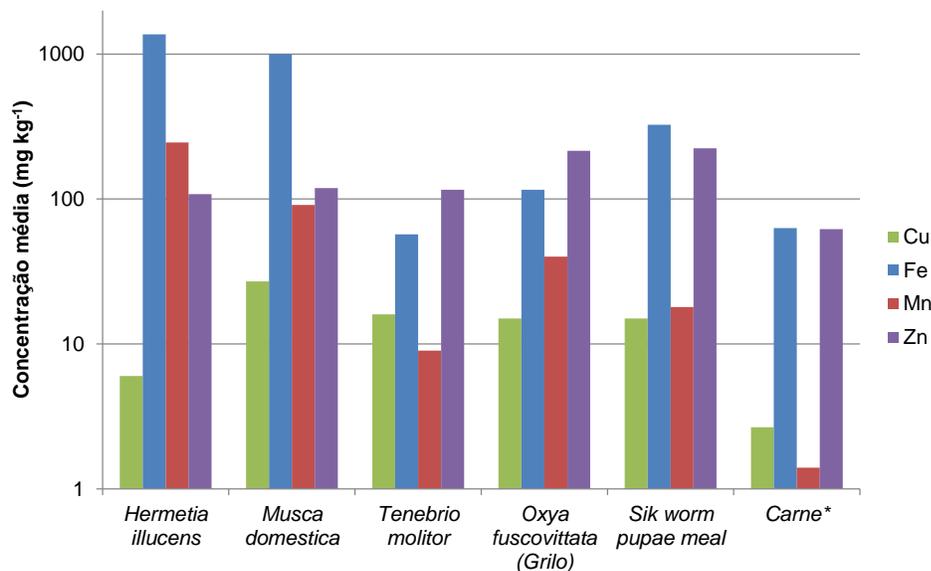
*Considerando teor médio de água igual a 66%

Fonte: Adaptado de De Smet e Vossen (2016).

A comparação dos valores encontrados nas carnes com as concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn determinadas em alguns insetos mostrou a importância da matriz como fonte de elementos químicos na alimentação (Figura 2).

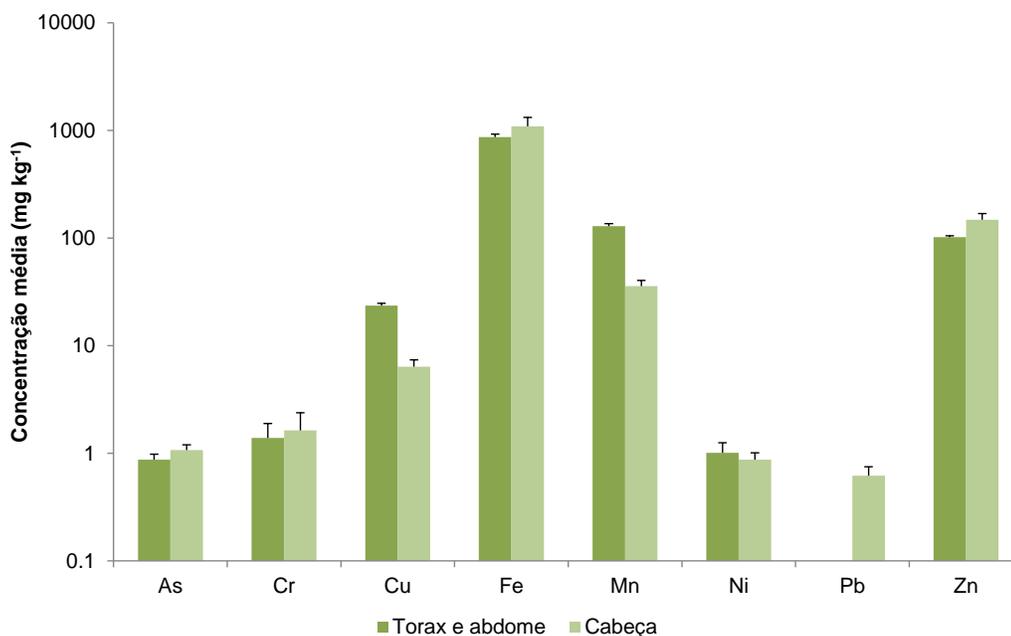
Paoletti et al. (2003) estudaram a composição de elementos químicos em cupins da espécie *Syntermes aculeosus* e encontraram altas concentrações de elementos traços no tórax/abdome e cabeça, indicando ser fonte dessas substâncias e podem ser utilizadas na composição de alimentos.

Figura 2 – Comparação entre os teores de Cu, Fe, Mn e Zn de carnes e insetos utilizados como alimentos. *Compilação de valores



Fonte: Extraído de Makkar et al. (2014) e De Smet e Vossen (2016).

Figura 3 – Concentrações de elementos traços determinadas em abdome, tórax e cabeça de cupins



Fonte: Extraído de Paoletti et al. (2003).

É evidente a diversidade de substâncias químicas encontradas nos tecidos dos insetos, mesmo aqueles utilizados na alimentação humana e animal. Com isso, torna-se necessária a monitoração das concentrações de elementos químicos nos insetos a partir de técnicas analíticas com qualidade comprovada.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS EM INSETOS

A quantidade de trabalhos envolvendo o emprego de técnicas analíticas para a quantificação de elementos químicos em insetos comestíveis tem crescido ao passar dos anos. Paoletti et al. (2003) determinaram por ICP-OES a concentração dos elementos Al, As, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Se, Sr, Ti, V, W, Y e Zn em cupins consumidos na alimentação da população no município de Alto Orinoco na Venezuela. Chakravorty et al (2011) utilizou a técnica de fotometria de chama para determinar as concentrações de Na e K em *Aspongopus nepalensis* Westwood 1837, um inseto usado como alimento pelo povo de etnia Arunachal Pradesh (Nordeste da Índia). Ramos-Rostro et al. (2012) determinou Ca, Mg, Na, Mn, K, Zn, Cu e Fe por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) em *Aegiale hesperiaris*, *Comadia redtembacheri* e *Liometopum apiculatum*, insetos importantes para a alimentação no Município de San Juan Teotihuacan e Otumba, México. Bankole et al. (2013) empregou a fotometria de chama para determinar as concentrações de Na e K, utilizou também a espectrometria de absorção atômica para determinar as concentrações de Co, Cu, Fe, Mg e Zn em insetos comestíveis na Nigéria. Aydogan et al. (2015) determinou as concentrações de 12 elementos químicos por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (EDXRF) no inseto comestível *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) para avaliar os níveis de contaminação destes insetos coletados no norte de Gana. Para a determinação de até 20 elementos químicos em invertebrados terrestres, incluindo insetos, Santos (2016) utilizou as técnicas analíticas Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (EDXRF), Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GFAAS) e Espectrometria de Massas por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS). Magalhães (2015) quantificou 13 elementos químicos ao empregar EDXRF, GFAAS e ICP-MS em insetos de vegetação preservada de Mata Atlântica.

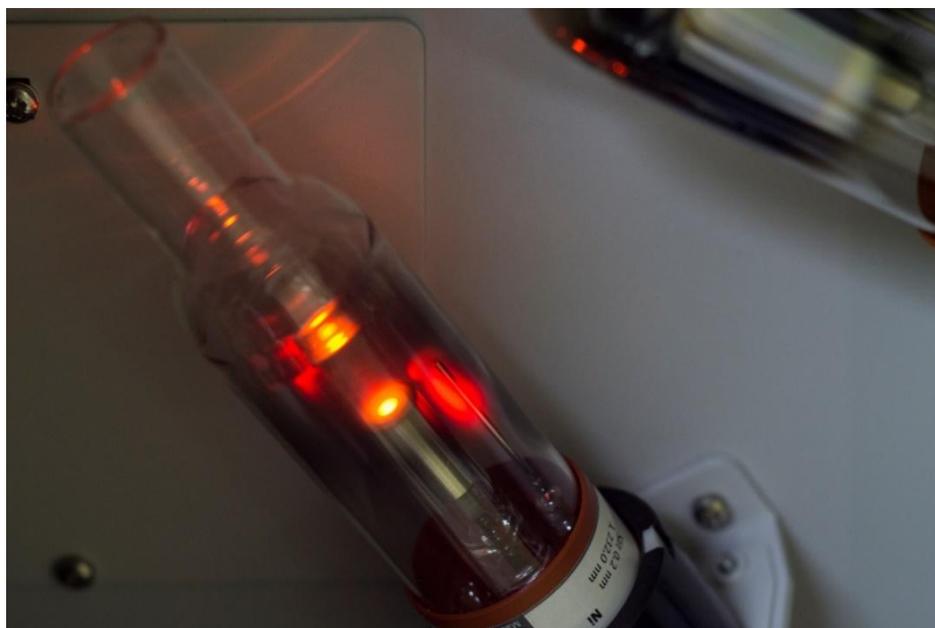
Dada a seletividade, a sensibilidade e a possibilidade de determinação de elementos traços importantes para a saúde humana, GFAAS foi selecionada como principal técnica analítica para a

monitoração das concentrações de As, Ni, e Pb em farinhas de insetos comestíveis. Como segunda técnica, foi selecionada FAAS para quantificação dos elementos químicos que estivessem em níveis de mg.kg^{-1} , nesse caso para os elementos Cu, Fe e Mn.

2.4 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO (AAS)

A aplicação da Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) para determinação de concentração de metais, especialmente traços, tem apresentado muito sucesso. O método baseia-se na absorção da energia radiante pelas espécies atômicas neutras, não-excitadas, em estado gasoso. Cada espécie atômica possui um espectro de absorção formado por uma série de estreitas raias características dadas as transições eletrônicas envolvendo os elétrons externos. A maioria dessas transições corresponde a comprimentos de ondas nas regiões ultravioleta e visível. Uma certa espécie atômica, neutra e no estado fundamental, é capaz de absorver radiações de comprimentos de onda iguais aos das radiações que ela, quando excitada, é capaz de emitir (EWING, 1989). A fonte de luz é a lâmpada de cátodo oco, em que o cátodo é constituído da espécie química a ser analisada (Figura 4).

Figura 4 - Lâmpada de cátodo oco utilizadas no AAS Varian 220 FS



Fonte: O autor.

A quantidade de luz absorvida é proporcional ao número de átomos excitados presente. Isto tem sido referido a Lei de Beer-Lambert e pode ser expresso na forma da equação a seguir:

$$\text{Absorbancia} = \log \frac{I_0}{I} = K \times C \times L \quad (1)$$

em que,

- I_0 = intensidade incidente;
- I = intensidade transmitida;
- K = constante de proporcionalidade;
- C = concentração da amostra (átomos livres),
- L = caminho óptico.

A região do espectro a ser lida é isolada por um monocromador, cujo sistema contém uma célula fotomultiplicadora e um detector que registra um sinal que será processado digitalmente para exprimir os resultados (VOGEL, 2002).

Os dois tipos de atomizadores mais utilizados são a chama e o forno de grafite. A Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS) é a técnica mais indicada para análise em níveis de mg.kg^{-1} , enquanto a Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GFAAS) é utilizada para determinação em escala de $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (KRUG et al., 2004).

2.4.1 Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GFAAS)

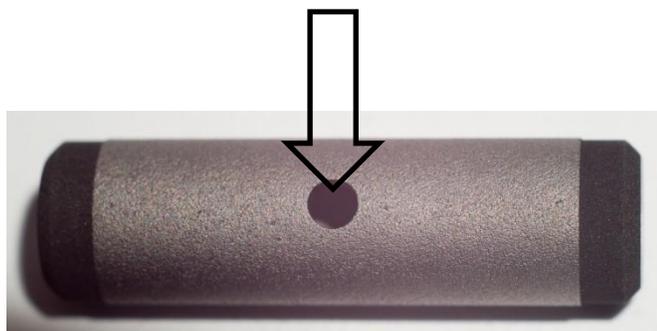
A AAS com forno de grafite (GFAAS) é uma técnica de alta sensibilidade, em que a energia necessária para a atomização é conseguida, passando-se uma alta corrente elétrica através de um forno em que se encontra inserido um tubo de grafite (Figura 5), local em que a amostra é depositada (Figura 6). O forno é alinhado em uma posição do espectrofotômetro, de modo que a luz proveniente da fonte passe no centro do tubo. O vapor atômico gerado da amostra pelo aquecimento do forno (~ 3000 °C) absorve a luz da lâmpada (VOGEL, 2002).

**Figura 5 - Atomização eletrotérmica no Forno de Grafite Varian 240 Zeeman –
GTA 120**



Fonte: O autor.

**Figura 6 - Tubo de grafite mostrando o local de introdução das amostras
(imagem ampliada)**

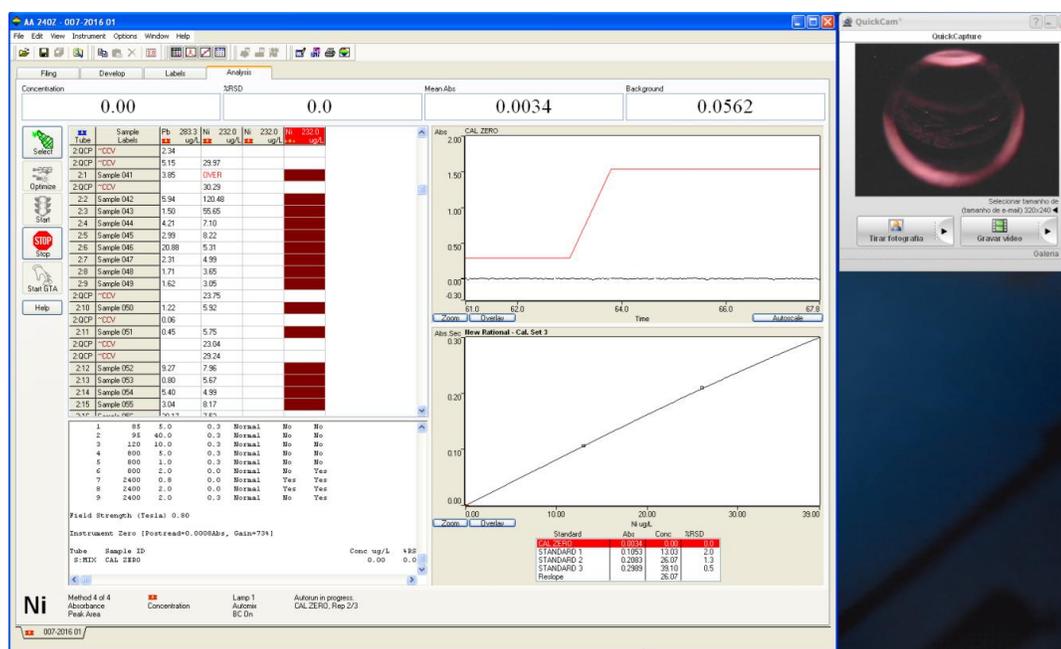


Fonte: O autor.

A Espectrometria de Absorção Atômica é uma técnica comparativa, em que o espectrômetro deve ser calibrado com informações de absorbância de uma série de soluções de

concentrações conhecidas (“padrões internos”), resultando em uma curva analítica para cada elemento químico a ser determinado (Figura 7). Por meio dessa curva, é calculada a concentração de uma amostra desconhecida, comparando a absorbância dessa amostra com as absorbâncias das soluções usadas na calibração, cujos valores ficam armazenados no programa de computador pelo qual é operado o equipamento.

Figura 7 - Tela do computador mostrando as informações sobre a curva analítica geradas pelo GFAAS. À direita, detalhe da monitoração do forno de grafite durante as análises



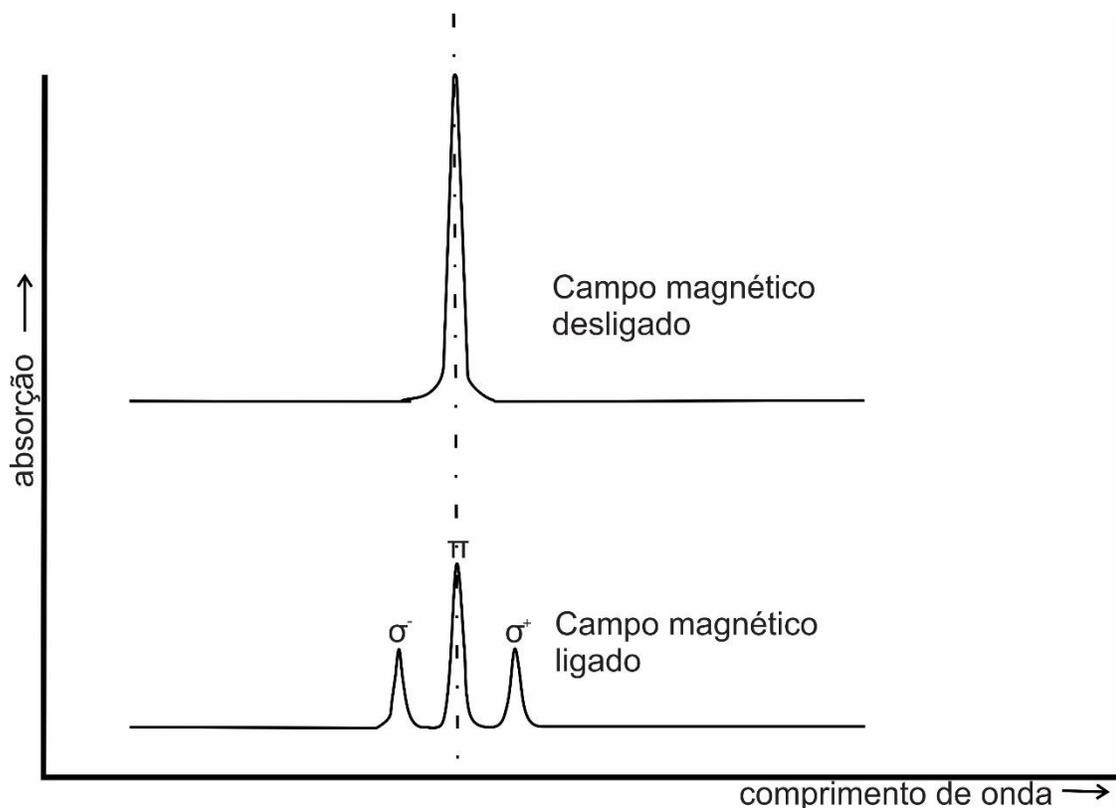
Fonte: O autor.

A sensibilidade da técnica GFAAS é bastante afetada pela utilização de modificadores de matriz, substâncias adicionadas com o objetivo de evitar a perda de analitos, melhorar/estabilizar o sinal de leitura, assim como permitir o aumento das temperaturas durante as etapas de secagem, pirólise e atomização (AGILENT TECHNOLOGIES, 2013). Após a definição das melhores condições analíticas, é necessário que a radiação emitida pela lâmpada somente seja absorvida pelo analito de interesse, contudo, o espalhamento da radiação em ressonância pela matéria sólida particulada e a absorção por espécies moleculares formadas durante a decomposição da matriz

não podem ser evitados, na prática. Portanto, o sistema espectrométrico deve ser capaz de corrigir para esse erro sistemático.

Historicamente, a solução inicial foi incorporar uma fonte contínua de deutério no sistema ótico do detector (AGILENT TECHNOLOGIES, 2013). Recentemente, a aplicação de campos magnéticos por Efeito Zeeman tem permitido a modificação do perfil de comprimento de onda da absorção atômica, possibilitando medições separadas da absorção residual da radiação de fundo no comprimento de onda do analito (Figura 8). Desse modo, a aplicação do efeito Zeeman em GFAAS providencia a correção ideal para a não absorbância atômica.

Figura 8 – Exemplo de efeito Zeeman (Cd no comprimento de onda de 228,8 nm)



Fonte: Modificado de Agilent Technologies (2013).

Como o Serviço de Monitoração Ambiental realiza rotineiramente análises por GFAAS em matrizes diferenciadas, empregando materiais de referência para a garantia da qualidade do procedimento analítico, é conhecida a potencialidade da técnica para a quantificação de elementos traços em alimentos.

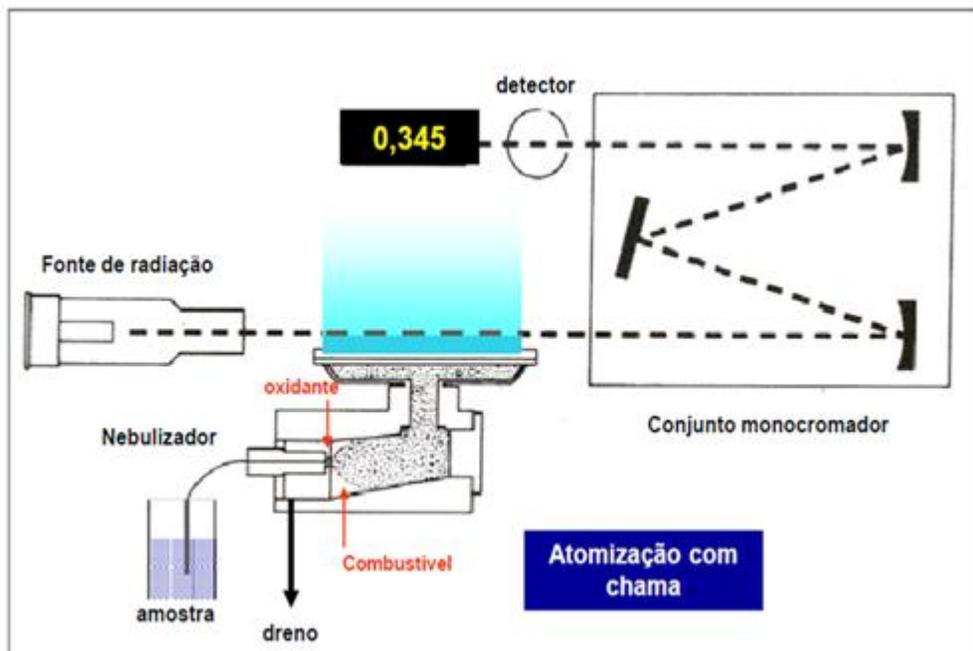
2.4.2 Espectrometria De Absorção Atômica Por Chama (FAAS)

O princípio fundamental desta técnica é realizar a medição da absorção da intensidade da radiação eletromagnética gerada por átomos gasosos no estado fundamental, esse princípio é semelhante ao GFAAS, mas no FAAS a atomização se dá por aquecimento térmico devido às reações de combustão envolvendo os gases acetileno e oxigênio. Esse fenômeno é utilizado para a determinação quantitativa de elementos químicos (metais, semi-metais e alguns não metais) em uma ampla variedade de amostras biológicas tais como, matrizes ambientais (águas, solos, sedimentos e plantas), alimentos e materiais geológicos (WELZ; SPERLING, 1999).

O espectrômetro é basicamente composto de uma fonte de radiação (lâmpada de cátodo oco), de um sistema de atomização (chama), de um conjunto monocromador e do detector. O atomizador é imprescindível, pois, neste dispositivo, são gerados os átomos gasosos no estado fundamental, que absorvem a radiação de comprimento de onda característico proveniente da fonte de radiação, e, conseqüentemente, possibilita a determinação da concentração do analito (LAJUNEN, 1992).

A amostra é injetada na chama através de fluxo de gás comprimido, a solução da amostra é aspirada e expelida na forma de gotículas dispersas em gás em uma câmara de nebulização. A função do nebulizador é formar um aerossol da solução aquosa a ser analisada, que é constituído por gotículas que entram numa câmara de nebulização e chegam ao queimador arrastadas pelos gases combustível e oxidante. A taxa de aspiração da solução da amostra varia de 4 a 7 mL.min⁻¹, contudo somente 5 a 10% da amostra são introduzidos na chama. A evaporação do solvente das gotículas na chama é conhecida como dessolvatação, produzindo-se um aerossol seco, ou seja, uma suspensão de partículas sólidas do soluto (LAJUNEN, 1992). A Figura 9 mostra um esquema de um espectrômetro de absorção atômica com chama e seus principais componentes.

Figura 9 – Funcionamento do espectrômetro de absorção atômica, indicando valor de absorbância medido de 0,345



Fonte: Krug et al (2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Serviço de Análises Ambientais – SEAMB (Figura 10) do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste CRCN-NE, Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN.

Figura 10 – Serviço de Monitoração Ambiental do CRCN-NE.



Fonte: O autor.

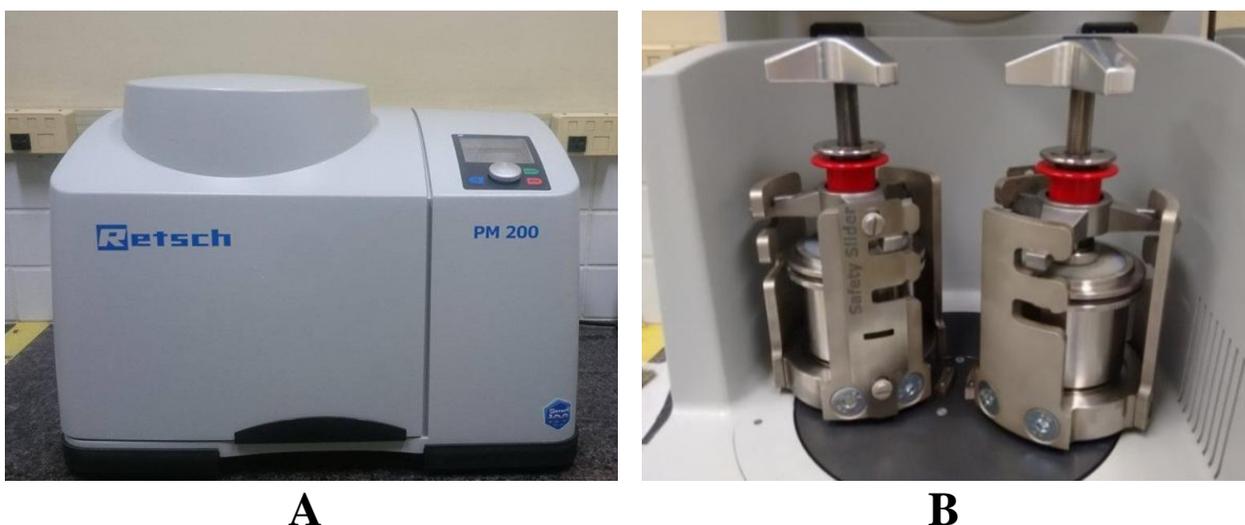
3.1 SELEÇÃO DE MATERIAL

Foram escolhidas 4 espécies de insetos de 3 diferentes ordens (coleoptera, orthoptera e blattodea), adquiridas na empresa Insetos Brasil, caracterizados como alimentos proteicos na forma de farinha de insetos. De acordo com o produtor, os insetos, criados em cativeiro com alimentação a partir de cereais, são sacrificados e esterilizados em água fervente, triturados em liquidificador industrial e submetidos à secagem em estufa industrial. Desse modo, as farinhas foram obtidas da maneira que são comercializadas.

3.2 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Seguiu-se com a preparação de amostras análogas as realizadas por Magalhães (2015). As farinhas de insetos secos, após secagem em estufa de circulação forçada à 40 °C, foram cominuídas em moinho de bolas de coridon sintetizado (Figura 11) para serem reduzidas até o tamanho de 100 mesh. Em seguida, foram transferidas para recipientes adequados e acondicionadas em dissecador.

Figura 11 – Sistema de moagem. A. Moinho planetário de bolas modelo PM200. B. Detalhe do sistema de moagem com os vasos de moagem.



Fonte: O Autor.

3.3 PREPARO QUÍMICO DAS AMOSTRAS

As amostras, brancos analíticos e materiais de referência foram submetidos ao tratamento químico utilizado por Magalhães (2015) para sua dissolução química, o que possibilitou as análises por AAS. Em todos os processos de tratamento das amostras, foram empregados ácidos com alto grau de pureza, após destilação em sub-ebulição (sub-boiling e supra puro MERCK) (Figura 12) e água padrão Milli-Q (resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). As soluções foram preparadas, utilizando-se de micropipetas automáticas calibradas (máximo desvio-padrão de 0,2% para 20 medições) com ponteiros descartáveis, manuseadas em capela de fluxo laminar. Para toda a

manipulação das amostras e reagentes, foram utilizadas luvas nitrílicas, minimizando assim os riscos de contaminação das amostras. As pesagens foram realizadas em balança analítica, devidamente verificada a partir de pesos certificados pelo fabricante, com precisão de quatro casas decimais.

Figura 12 – Destilador de ácidos sub-ebulição.



Fonte: O autor.

Todos os materiais utilizados (vidrarias, materiais plásticos, pinças) foram descontaminados por imersão em solução detergente extran neutro a 5% por 24 horas, enxaguando-se com bastante água destilada, e novamente imersos em solução ácido nítrico 10% por 24 horas, enxaguando-se novamente com água Milli-Q e seco em capela de fluxo laminar. Em seguida, os materiais foram embalados em filme plástico e guardados em local limpo.

Primeiramente, foram utilizadas porções-teste de aproximadamente 0,5 g do material de referência SRM 1577c Bovine Liver e RM 8414 Bovine Muscle, além de porções analíticas de 1 g das amostras de insetos e o branco analítico, que continha apenas os reagentes. Forno digestor (micro-ondas) foi utilizado para acelerar o processo de decomposição das amostras (Figura 13). O procedimento seguiu as seguintes etapas utilizadas por Magalhães (2015):

- a) Pesagem de amostras independentes e transferência para tubo de teflon;
- b) Adição de 2 mL de ácido nítrico (HNO_3) P.A. (~65%) destilado para cada 100 mg de amostra;
- c) Repouso durante 24 horas em capela de fluxo laminar;
- d) Agitação manual da solução para evitar a adesão das partículas às paredes;
- e) Aquecimento no forno (Figura 13) por 20 minutos até atingir $150\text{ }^\circ\text{C}$, manutenção da temperatura por mais 10 minutos;
- f) Repouso em capela de fluxo laminar até atingir equilíbrio térmico à temperatura ambiente;
- g) Adição de 0,2 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) P.A. para cada 100 mg de amostra;
- h) Novo aquecimento no forno (Figura 13) por 20 minutos até atingir $150\text{ }^\circ\text{C}$, manutenção da temperatura por mais 5 minutos;
- i) Adição de água ultrapura (Milli-Q) até o volume de 30 ml de solução.

Figura 13 – Forno digestor MarsX Press, CEM.

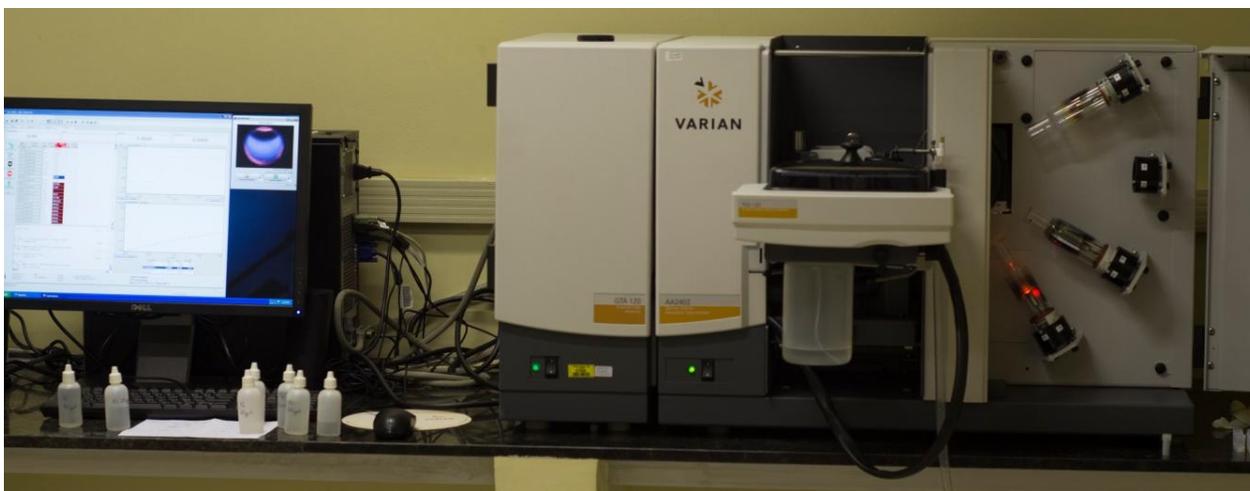


Fonte: O autor.

3.4 GFAAS

O procedimento analítico para análise por forno de grafite diferencia-se em relação ao FAAS pela forma como o analito é atomizado, nesse caso a atomização é realizada por aquecimento eletrotérmico em tubos de grafite (KRUG et al., 2004). Foi utilizado o equipamento Varian AAS 240 Zeeman com o forno GTA 120 (Figura 14) para a realização das análises em triplicata. Os analitos de interesse e suas condições analíticas são apresentados na Tabela 3. O limite de detecção foi determinado como sendo 3 vezes o desvio padrão da análise de dez brancos analíticos, preparados simultaneamente com as amostras e materiais de referência (INMETRO, 2003).

Figura 14 – Espectrômetro de Absorção Atômica por Forno de Grafite.



Fonte: O autor.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados nas análises por GFAAS.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Modificador de matriz	Amostra (µL)	Temperatura (°C)
As	193,7	Ácido ascórbico; solução de Pd	18	2600
Ni	352,5	-	12	2400
Pb	283,3	-	12	2100

Fonte: O Autor.

3.5 FAAS

A quantificação de Cu, Fe e Mn nas amostras de farinhas de insetos, materiais de referência e brancos analíticos foi realizada por meio do equipamento VARIAN AAS 220 FS (Figura 15) em triplicata, utilizando solução-padrão Merck de concentrações conhecidas e diferentes para cada analito, para a obtenção de curva analítica.

Figura 15 - Espetrômetro de Absorção Atômica por Chama



Fonte: O autor

Em seguida, foi realizada a otimização dos parâmetros de análise do equipamento a partir dos ajustes no ganho da lâmpada de cátodo oco e do fluxo de gases (mistura acetileno/ar) injetados, estes parâmetros são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros utilizados nas análises por FAAS.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Abertura da janela (nm)	Tipo de chama
Cu	324,8	0,5	Ar / Acetileno
Fe	248,3	0,2	Ar / Acetileno
Mn	279,5	0,2	Ar / Acetileno

Fonte O Autor.

3.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Foram aplicadas ferramentas estatísticas para a determinação das incertezas analíticas relacionadas com as análises de quantificação de elementos químicos. A comprovação da qualidade do procedimento analítico foi realizada por meio do Número E_n .

3.6.1 Incerteza analítica

Para estimar a incerteza analítica combinada dos resultados obtidos por FAAS e GFAAS, foram combinadas as incertezas individuais relativas à precisão (repetições analíticas) e à exatidão (desvio com relação aos materiais de referência analisados) conforme o EURACHEM / CITAC Guide CG (ELLISON; WILLIAMS, 2012). As incertezas analíticas foram expandidas em nível de 95% de confiança ($k=2$).

3.6.2 Qualidade do procedimento analítico

Para comprovar a qualidade do procedimento analítico nas análises químicas, foi utilizado o número E_n , definido pela Equação 2. Em nível de confiança de 95%, a faixa adequada para os resultados dos materiais de referência deve estar entre -1 e 1, conforme recomendação da ISO 13528 (2005).

$$E_n = \frac{X_{obs} - X_{ref}}{\sqrt{U_{obs}^2 + U_{ref}^2}} \quad (2)$$

em que,

X_{obs} = valor observado

X_{ref} = valor de certificado para o material de referência

U_{obs} = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança para o valor obtido

U_{ref} = incerteza analítica expandida em nível de 95% de confiança para o valor certificado

3.6.3 Análise estatística

Empregou-se o cálculo do índice z (*z score*) para estudar a precisão das concentrações dos elementos químicos As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb em nível de 95 % de confiança. O índice z avalia o desempenho do resultado de uma determinada variável utilizando a melhor estimativa do parâmetro a ser avaliado, de acordo com a Equação 3.

$$z = \frac{X - \mu}{s} \quad (3)$$

em que,

X = valor obtido na análise;

μ = média obtida;

s = desvio-padrão.

No índice z, valores adequados implicam uma probabilidade de 95 % de confiança dos resultados obtidos estarem corretos, valores compreendidos entre -2 e 2. Já |z| no intervalo entre 2 e 3, por sua vez, indicam resultados a serem discutidos. Esse teste estatístico é usado em vários ramos da ciência, como em análises ambientais (FIGUEIREDO et al., 2006), sendo baseado na norma internacional ISO 13528/2005 (MATOS; RODRIGUES, 2013).

Para a comparação entre médias, foi utilizada a análise de variância não paramétrica (*Kruskall Wallis*) em nível de 95% de confiança. O teste de *Kruskall Walis* trata-se de um teste não paramétrico utilizado para comparar três ou mais populações, para isso ele testa a hipótese nula H_0 de que há evidências em nível de 95% de que todas as populações estudadas possuem funções de distribuição iguais. Rejeitada H_0 , aceita-se a hipótese H_1 de que ao menos uma das populações possuem funções de distribuição diferentes, isto é, médias diferentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite - GFAAS, a qualidade do procedimento analítico está demonstrada na Tabela 5 para a quantificação de As, Pb e Ni em matrizes biológicas de animais como as farinhas de insetos. Os valores foram compatíveis com os valores certificados, mesmo destacando a grande incerteza analítica para Ni no material de referência músculo bovino em pó do *National Research Council Canada* (NRCC) RM8414. Os valores do Número E_n também estiveram entre -1 e 1, indicando controle da qualidade do procedimento analítico em nível de 95% de confiança.

Tabela 5 – Valores obtidos e certificados de As, Pb e Ni para os materiais de referência fígado bovino do National Research Council Canada SRM1577b e NIST RM 8414 analisados por GFAAS

Material de referência	Analito	Valor obtido*		Valor certificado		Número E_n
		Média	Inc	Média	Inc	
SRM 1577b	As	0,043	± 0,004	0,050	± 0,010	-0,6
	Pb	0,140	± 0,014	0,129	± 0,004	0,7
RM 8414	Ni	0,0174	± 0,0014	0,05	± 0,04	-0,8

Fonte: O autor.

Para a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama – FAAS, os resultados da qualidade do procedimento analítico podem ser visualizados na Tabela 6, em que foram apresentados os valores obtidos e certificados de Cu, Fe e Mn para os materiais de referência SRM1577b e RM8414 analisados por FAAS. Os resultados foram considerados satisfatórios uma vez que os valores do Número E_n estiveram dentro do intervalo entre -1 e 1, indicando controle de qualidade em nível de 95% de confiança.

Tabela 6 – Valores obtidos e certificados de Cu, Fe e Mn para os materiais de referência SRM1577b e RM 8414 analisados por FAAS

Material de referência	Analito	Valor obtido*		Valor certificado		Número E _n
		(mg/kg)		(mg/kg)		
		Média	Inc	Média	Inc	
SRM 1577b	Cu	139	± 41	160	± 8	-0,5
	Fe	183	± 31	184	± 15	-0,1
	Mn	9,7	± 3,8	10,5	± 1,7	-0,4
RM 8414	Fe	59,7	± 10,3	71,2	± 9,2	-0,8
	Mn	0,27	± 0,04	0,37	± 0,09	-0,9

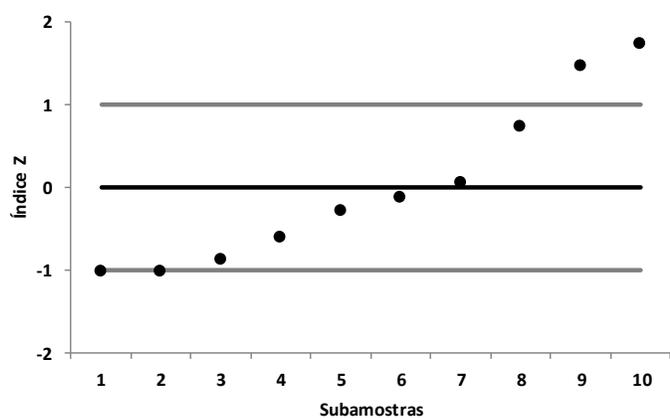
Fonte: O autor.

Embora tenha sido encontrado viés negativo de acordo com os resultados do Número E_n (Tabelas 5 e 6), as análises químicas por GFAAS e FAAS foram consideradas adequadas para a determinação de As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb em farinhas de insetos comerciais.

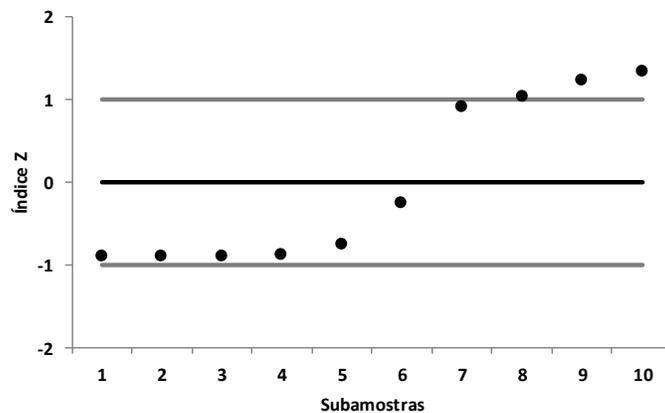
Para cada amostra de farinha de insetos, foram analisadas 10 porções analíticas independentes, o que possibilitou o estudo da precisão nas determinações das concentrações de As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb a partir do cálculo de Índices z. As Figuras 15, 16, 17, 18, 19 e 20 mostram os valores de Índices z para as porções analisadas por GFAAS e FAAS para todos os elementos químicos analisados. Para a maior parte dos elementos analisados, a distribuição dos índices z estiveram entre -1 e 1, indicando que as análises químicas empregadas também foram satisfatórias em nível de 95% de confiança (valores de z entre -2 e 2).

Nos resultados do arsênio apenas a subamostra 10 de cada uma das farinhas de grilo e de tenébrio molitor apresentaram valor fora do intervalo de -2 a 2, indicando que esses resultados podem ser questionáveis em nível de 95 % de confiança. Já os resultados cobre apresentaram distribuição dos índices z entre -2 e 2, indicando que as análises químicas para este analito em FAAS foram adequadas em nível de 95% de confiança, em apenas um resultado da farinha de barata esse valor ficou no intervalo de 2 a 3, sendo assim resultado indesejado em nível de 95 % de confiança.

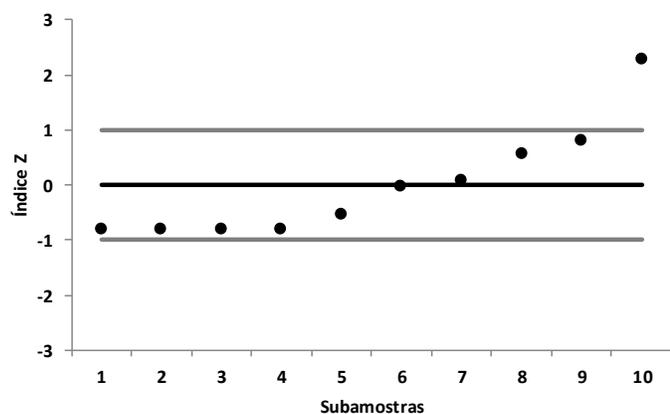
Figura 16 – Valores de Índice z obtidos para As nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)



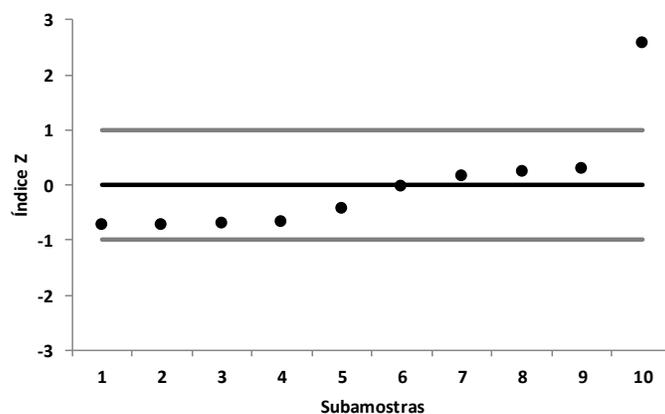
A



B



C

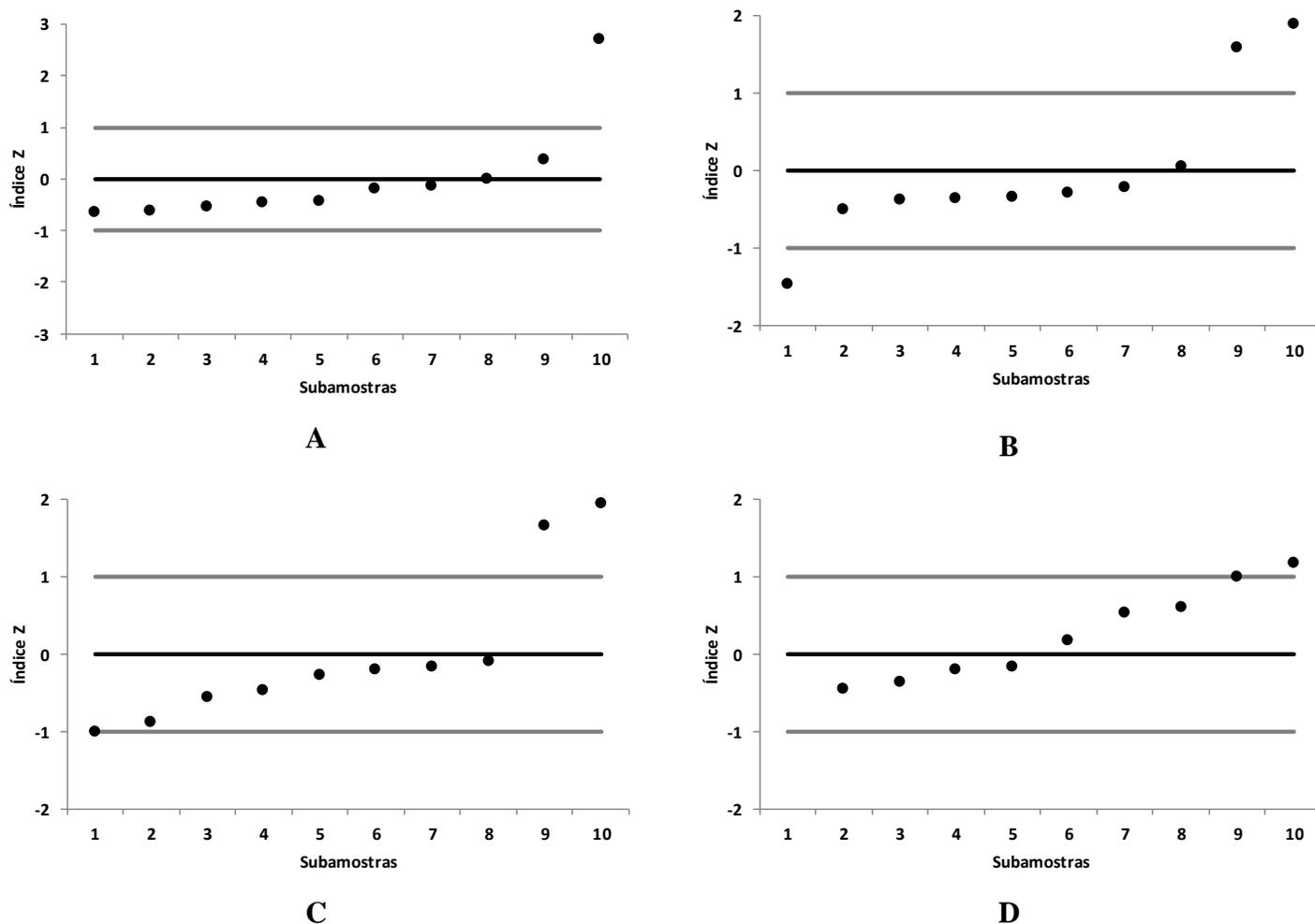


D

Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

Figura 17 – Valores de Índice z obtidos para Cu nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)

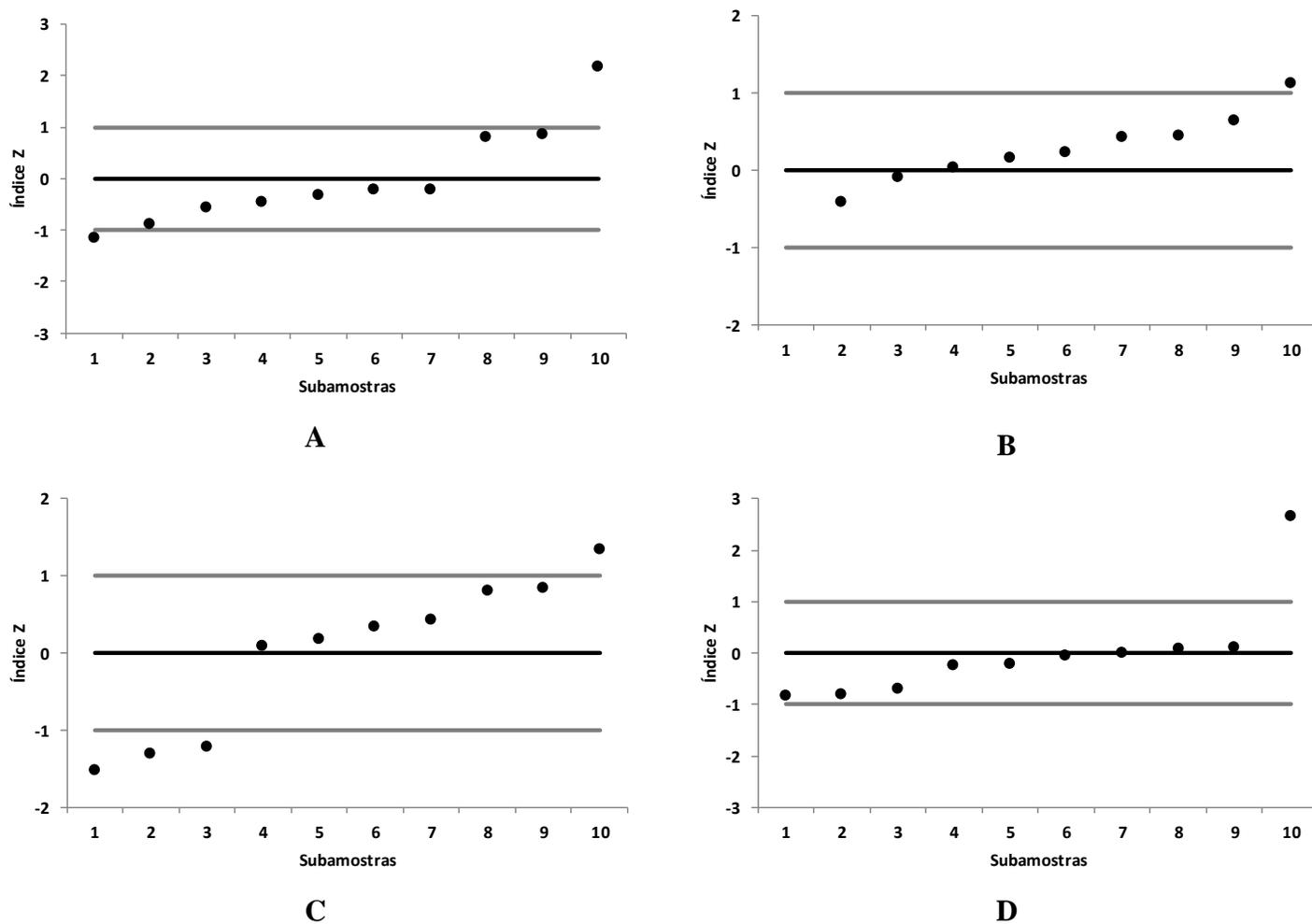


Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

Na análise das distribuições dos valores de índice z para o ferro, novamente apenas 2 valores ficaram fora do intervalo ideal em nível de 95% de confiança, sendo uma amostra para a farinha de barata e a outra na farinha de tenébrio molitor, que apresentaram valor de z entre 2 e 3. O resultado com maior número de amostras fora do intervalo de 95% de confiança ocorreu na distribuição z score do níquel, que apresentou 3 subamostras (Farinhas de barata, grilo e tenébrio molitor) no intervalo de 2 a 3 e uma na farinha de tenébrio gigante no intervalo de -2 a -3 em cada uma das quatro farinhas analisadas.

Figura 18 – Valores de Índice z obtidos para Fe nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)

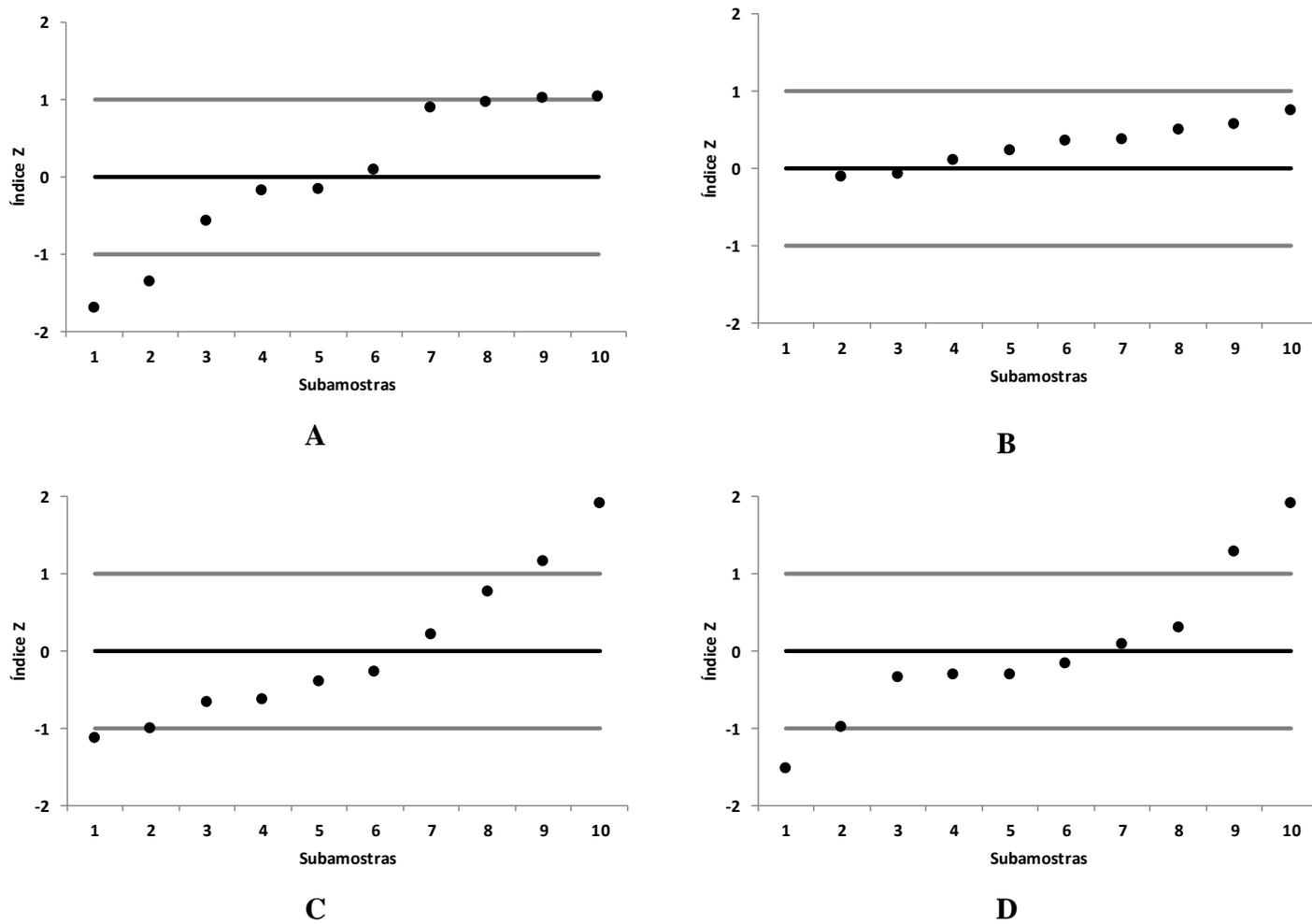


Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

Para os elementos químicos manganês e chumbo, a distribuição dos índices z estiveram entre -2 e 2, indicando que as análises químicas empregadas também foram satisfatórias em nível de 95% de confiança para todas as subamostras analisadas nas quatro farinhas de insetos.

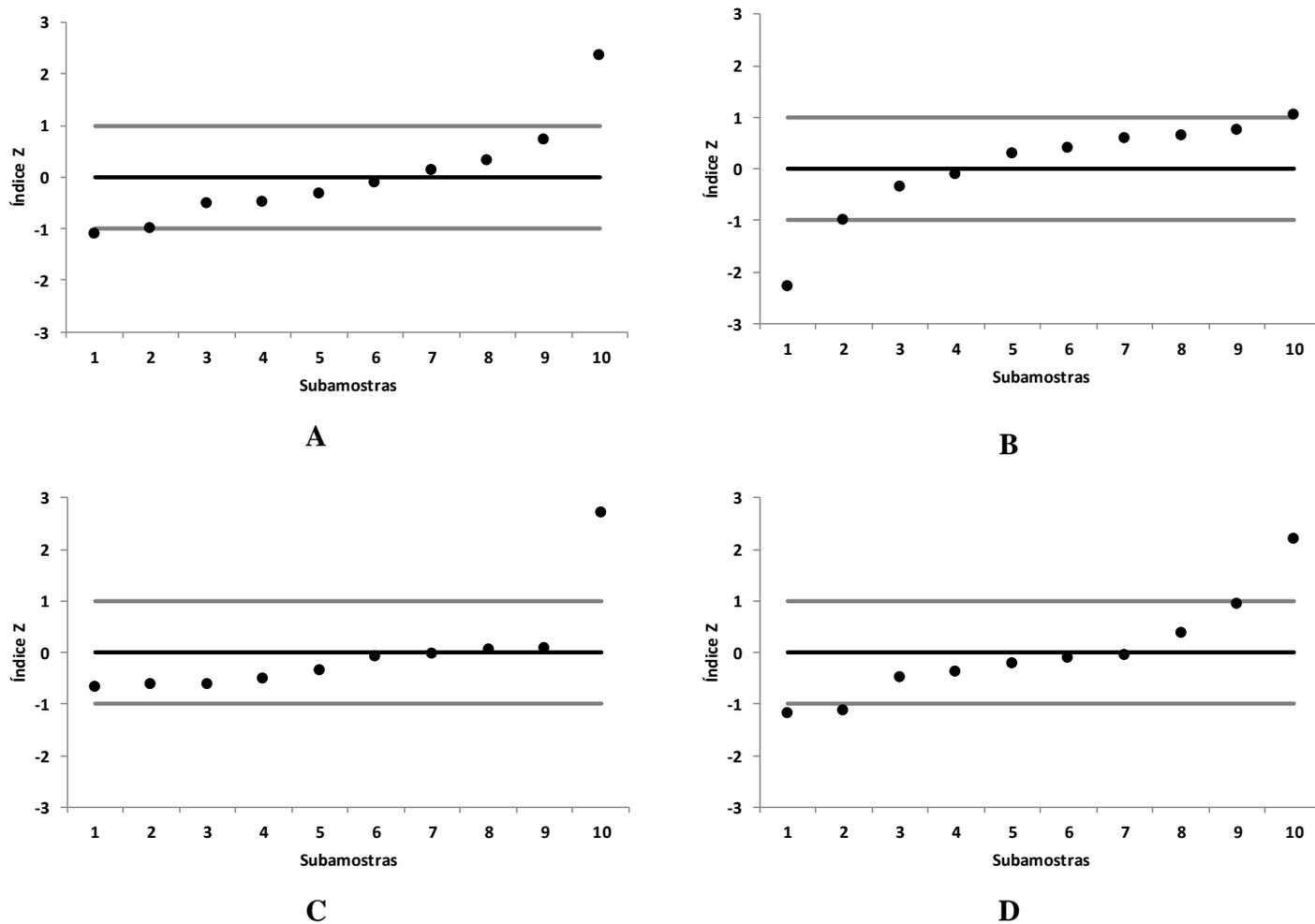
Figura 19 – Valores de Índice z obtidos para Mn nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)



Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

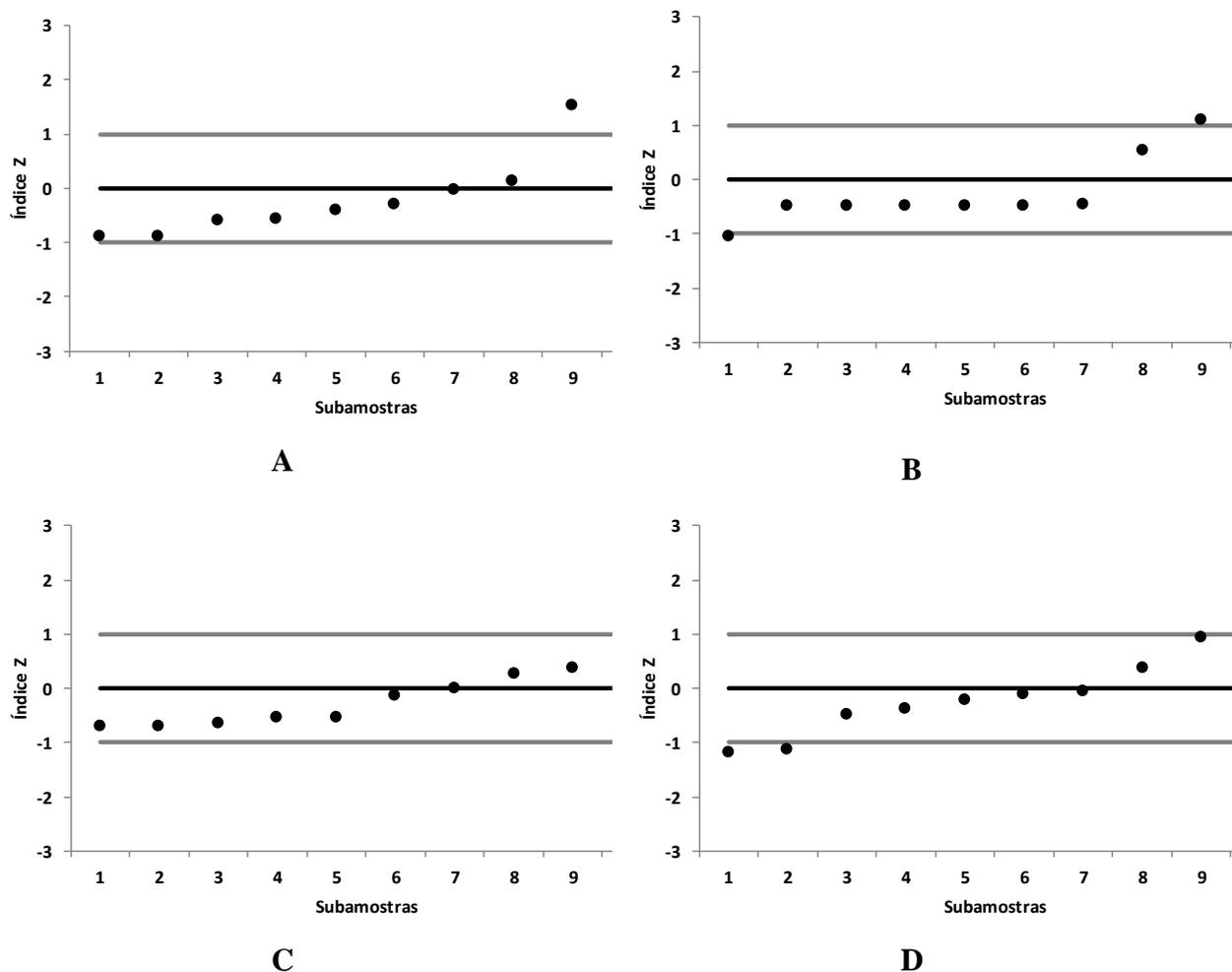
Figura 20 – Valores de Índice z obtidos para Ni nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)



Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

Figura 21 – Valores de Índice z obtidos para Pb nas farinhas de barata (A), gigante (B), grilo (C) e molitor (D)



Valores entre -2 e 2 indicam controle estatístico da qualidade em nível de 95% de confiança

Fonte: O autor.

Os resultados médios estão apresentados na Tabela 7, assim como os respectivos desvios-padrão (DP), coeficientes de variação (CV%), valores máximos e mínimos e o número de replicatas analisadas (n). As maiores concentrações de As ($0,066 \text{ mg kg}^{-1}$), Cu (29 mg kg^{-1}), Fe (104 mg kg^{-1}), Mn (41 mg kg^{-1}), Ni ($0,25 \text{ mg kg}^{-1}$) e Pb ($0,17 \text{ mg kg}^{-1}$) foram encontradas nas amostras de farinha de molitor, barata-grilo, barata, grilo, gigante e grilo, respectivamente. Desse modo, não foi observada acumulação sistemática de elementos químicos pelos insetos, porém a farinha de grilo apresentou tendência de maiores concentrações, principalmente para Cu, Mn e Pb, sendo pelo menos 70% maior que nas outras espécies nos dois últimos elementos químicos.

Tabela 7 – Resultados médios e análise de variância das concentrações de As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb (em mg kg⁻¹) determinadas nas amostras de farinhas de insetos. DP = desvio-padrão.

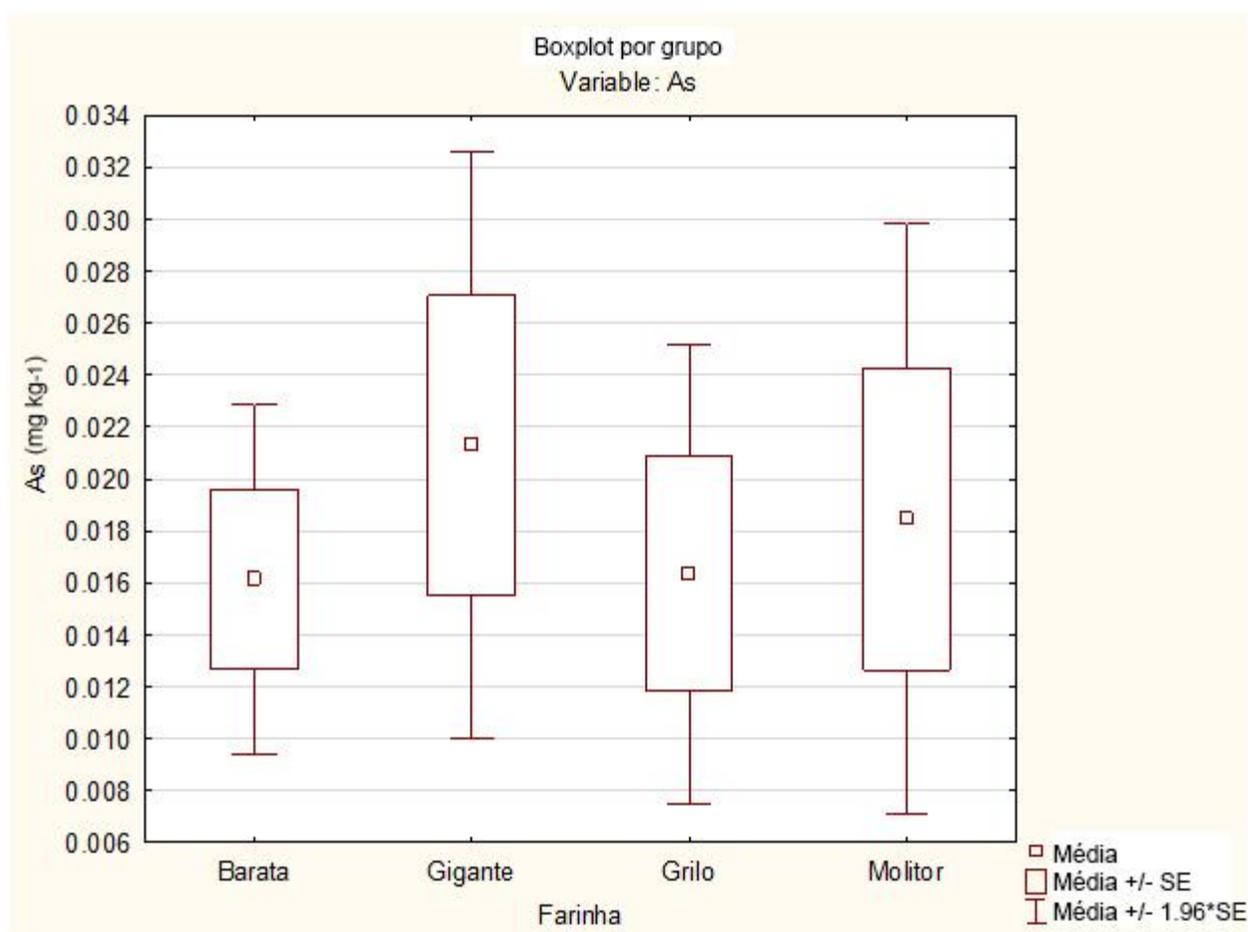
CV% = coeficiente de variação em %. Max = valor máximo. Min = valor mínimo. n = replicatas.

Amostra	As	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb
Barata	0,016	21	84	12	0,095	0,037
DP	0,010	3	9	0,8	0,049	0,029
CV%	64	14	10	7	52	78
Max	0,035	29	104	13	0,22	0,10
Min	0,005	19	73	11	0,037	0,01
n	10	10	10	10	10	10
Gigante	0,021	11	49	14	0,212	0,018
DP	0,017	4	9	2,2	0,035	0,014
CV%	81	34	17	16	17	76
Max	0,046	18	59	16	0,25	0,05
Min	0,005	5	26	7	0,127	0,01
n	10	10	10	10	10	10
Grilo	0,016	22	64	37	0,089	0,045
DP	0,014	3	19	2,2	0,048	0,047
CV%	83	16	30	6	54	105
Max	0,049	29	92	41	0,23	0,17
Min	0,005	18	33	34	0,055	0,01
N	10	10	10	10	10	10
Molitor	0,018	16	49	8	0,083	0,024
DP	0,017	0	6	0,5	0,047	0,013
CV%	94	3	13	6	57	53
Max	0,066	17	66	9	0,19	0,05
Min	0,005	15	43	7	0,025	0,01
N	10	10	10	10	10	10
Kruskall Wallis	0,9663	0,0000	0,0001	0,0000	0,0003	0,1722

Fonte: O autor.

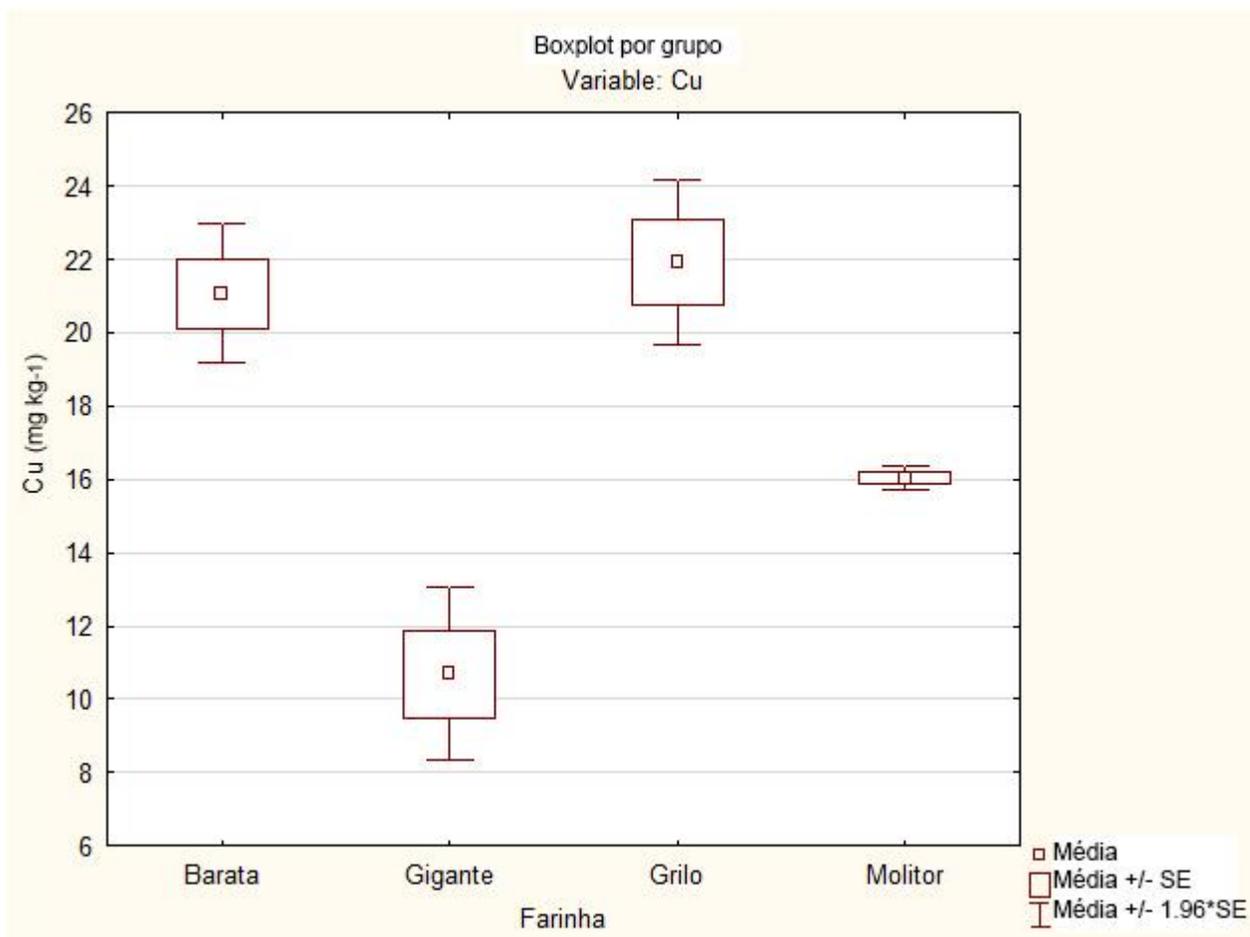
Na Tabela 7, também foram apresentados os resultados da análise de variância não paramétrica Kruskal Wallis, havendo indícios estatísticos, em nível de 95% de confiança, de que pelo menos uma das médias das concentrações de Cu, Fe, Mn e Ni diferem entre si. Desse modo, houve diferença de concentração desses elementos nas diferentes espécies utilizadas para a produção de farinhas. As Figuras 21, 22, 23, 24, 25 e 26 mostram os resultados da comparação entre médias a partir da análise de variância não paramétrica para as concentrações médias de As (não significativo), Cu, Fe, Mn, Ni e Pb (não significativo), respectivamente.

Figura 22 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg^{-1}) de As determinadas nas amostras de farinha de insetos



Fonte: O autor.

Figura 23 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (não paramétrico) para as concentrações ((mg kg⁻¹) de Cu determinadas nas amostras de farinha de insetos



Fonte: O autor.

Os elementos químicos considerados tóxicos como As e Pb não apresentaram diferenças entre as farinhas de insetos analisadas, indicando que esses elementos químicos podem estar associados a algum tipo de contaminação durante a produção da farinha de insetos ou, durante a criação dos insetos, incluindo nessa possibilidade o alimento utilizado que pode conter concentrações homogêneas desses elementos químicos. Porém mesmo apresentando possível fonte de contaminação comum a todas as espécies, esses elementos químicos considerados como contaminantes inorgânicos apresentaram teores muito inferiores ao máximo permitido para proteínas animais convencionais (0,50 mg kg⁻¹) e proteínas de baixo custo como miúdos (1,0 mg kg⁻¹) utilizadas na alimentação humana segundo a Resolução RDC nº42 de 2013 (ANVISA) de As enquanto o valor máximo encontrado neste estudo foi de 0,066 mg kg⁻¹ para a farinha de

tenébrio molitor, sendo praticamente dez vezes menores que o valor máximo admitido pela ANVISA.

Já para o chumbo, segundo a RDC nº 42 (2013), que regulamenta os teores máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos em todo o MERCOSUL, são permitidas concentrações máximas de $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ em proteínas comumente utilizadas na alimentação e $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$ nas proteínas de baixo custo, tendo apenas a farinha de grilo apresentado teor de chumbo maior que $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ ($0,17 \text{ mg kg}^{-1}$), mesmo assim com valor inferior ao limite máximo de para outros tipos de proteína animal.

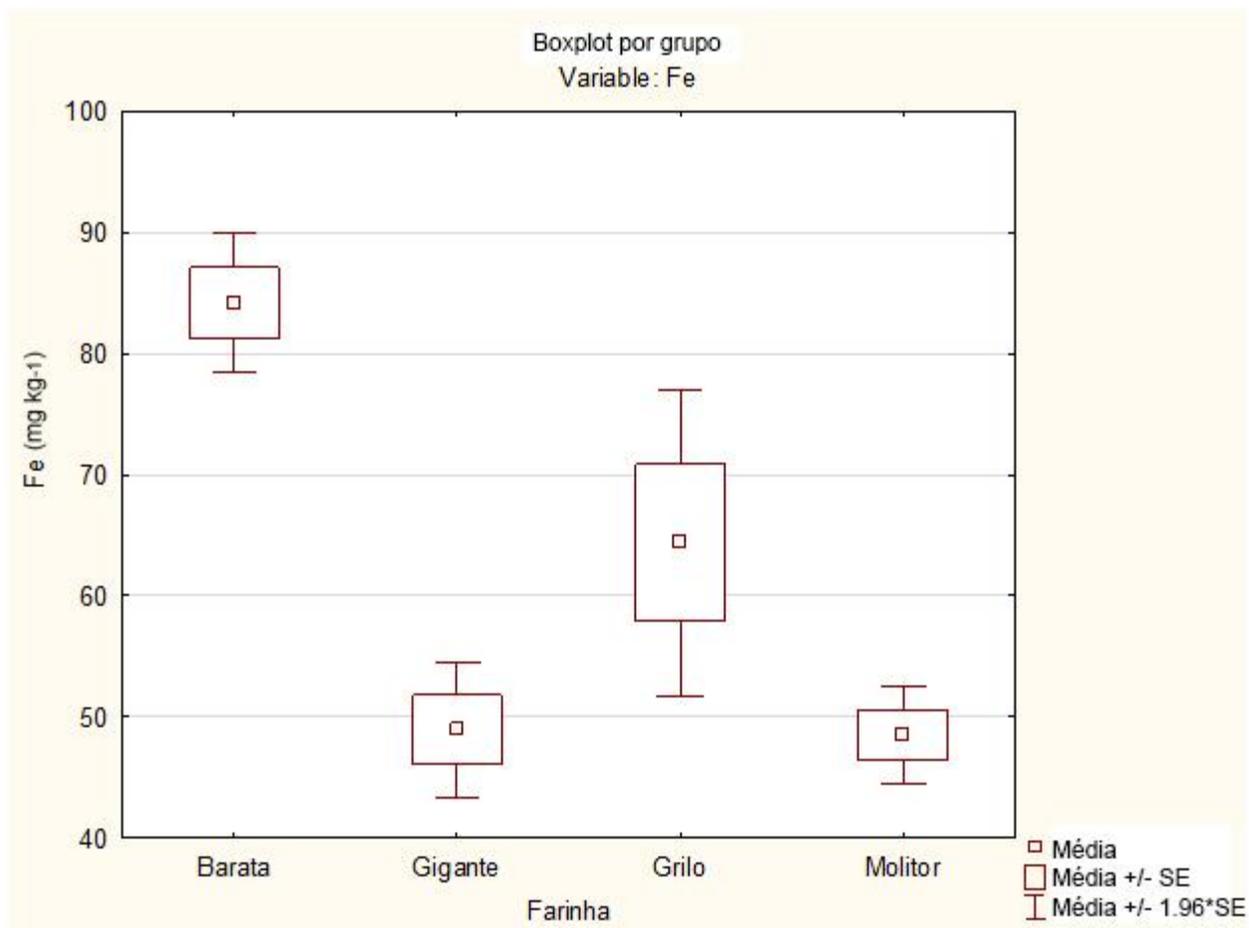
Cobre foi mais concentrado nas farinhas de barata e grilo, contudo todos os resultados foram diferentes estatisticamente em nível de 95% de confiança. Payne et al. (2016) avaliaram concentrações de cobre em 12 diferentes espécies de insetos comestíveis comerciais, obtendo concentrações máximas que variam de $4,05 \text{ mg kg}^{-1}$ para *Hermetia illucens* e $22,18 \text{ mg kg}^{-1}$ para a larva de *Rhynchophorus ferrugineus*, valores que foram semelhantes às concentrações obtidas para as farinhas de insetos avaliadas neste estudo. Os autores avaliaram também grilo da espécie *Hieroglyphus daganensis* (4 fornecedores diferentes) e tenébrio molitor (7 fornecedores diferentes) vendidos para alimentação humana, que mostraram teores médios de cobre de 7,5 e $9,2 \text{ mg kg}^{-1}$, valores menores do que os reportados aqui neste estudo.

Valores 26 vezes maiores que os observados para cobre nas farinhas de insetos e nos outros estudos aqui relatados foram determinados por EDXRF em insetos da ordem coleóptera usados na alimentação em Gana (AYDOGAN et al., 2016), o que pode vir a causar doenças em seres humanos, visto que a ingestão diária estimada de cobre é $900 \mu\text{g/d}$ para adultos (IOM, 2001). Tendo em vista as concentrações compatíveis com inúmeras espécies comerciais consumidas no mundo e as diferenças encontradas nas concentrações de Cu para cada farinha de insetos, torna-se possível uma diversificação de produtos alimentícios obtidos a partir dessas farinhas.

No caso de Fe, a farinha de baratas cinéreas apresentou concentrações mais elevadas. Considerando que esse elemento químico possa ter alguma influência de contaminação exógena com particulado em suspensão, os valores foram considerados adequados, resultando em baixa probabilidade de contaminação (FERRARI et al., 2006). Segundo WHO e FAO (2007) um alimento pode ser considerado fonte (21 mg kg^{-1}) ou rico (42 mg kg^{-1}) em ferro para uma alimentação saudável, quando se compara as farinhas de insetos, pode-se notar que todas elas

podem ser considerados como ricos em ferro, pois os teores deste nutriente variaram de 26 a 104 mg kg⁻¹. A maioria dos insetos possui teor de ferro igual ou superior ao da carne bovina. Para comparação, a carne bovina tem um teor de ferro de cerca de 60 mg kg⁻¹, enquanto o teor de ferro da maioria dos insetos alimentícios fica bem acima desse valor (BUKKENS, 1997). O ferro também é essencial para o metabolismo de plantas e animais vivos (KABATA-PENDIAS, 2010). Como apresentaram diferentes concentrações desse elemento químico, as farinhas estudadas podem servir como suplemento em uma alimentação de acordo com a necessidade deste nutriente.

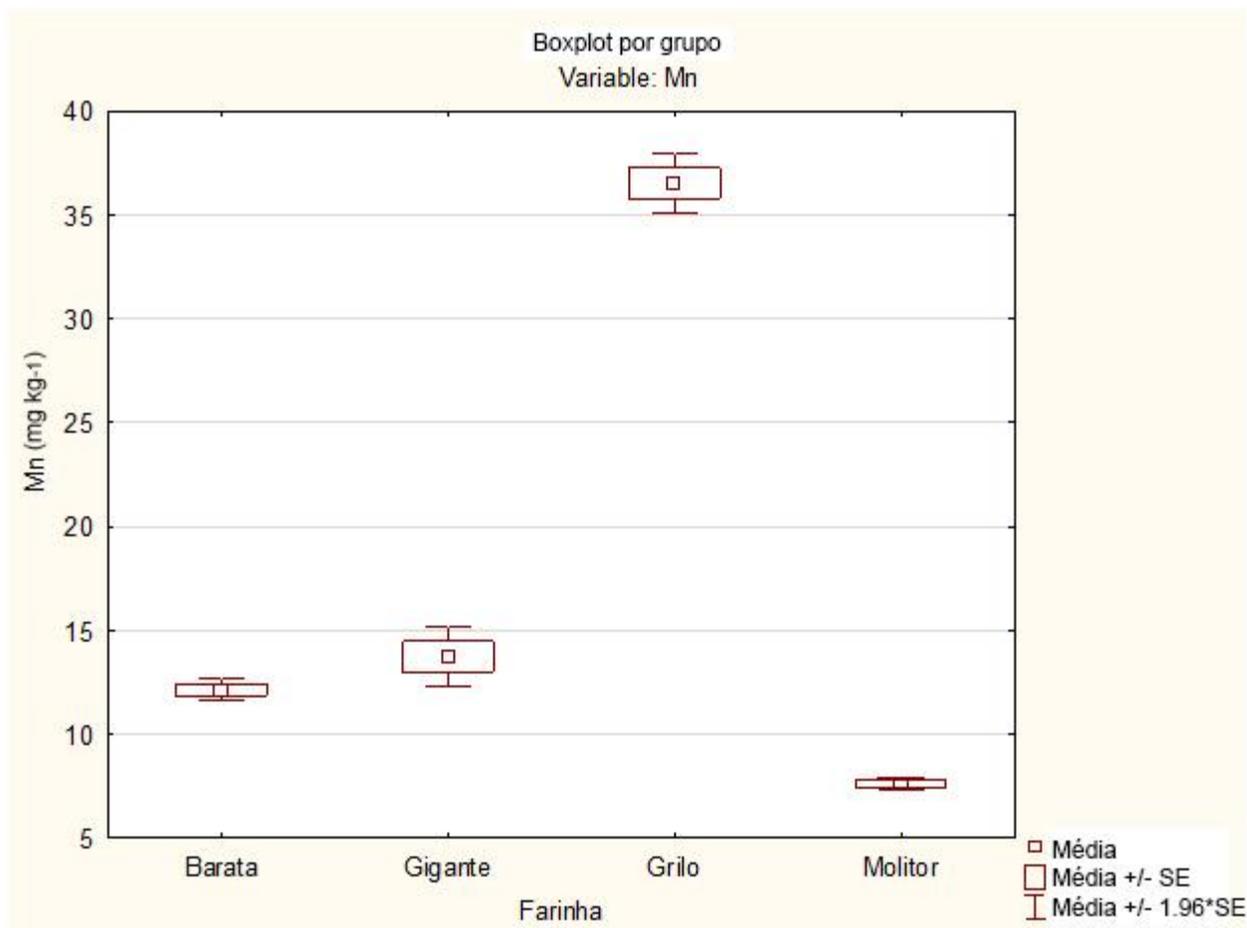
Figura 24 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg⁻¹) de Fe determinadas nas amostras de farinha de insetos



Fonte: O autor.

As concentrações de manganês também apresentaram diferenças significativas em nível de 95% de confiança, tendo a menor concentração para o tenébrio molitor e a maior para o grilo que foi bem superior aos demais. Payne et al. (2016) encontraram concentrações de manganês que variaram de 4,2 mg kg⁻¹ quantificada em tenébrio molitor até 61,8 mg kg⁻¹ encontrada em uma espécie de mosca, o que é totalmente compatível com as concentrações obtidas nas farinhas de insetos analisadas neste estudo. Nowak et al. (2016) analisaram tenébrio molitor obtendo concentrações que variaram de 2,9 mg kg⁻¹ nas larvas até 5,7 mg kg⁻¹, o que também corrobora os valores deste estudo para a farinha dessa espécie.

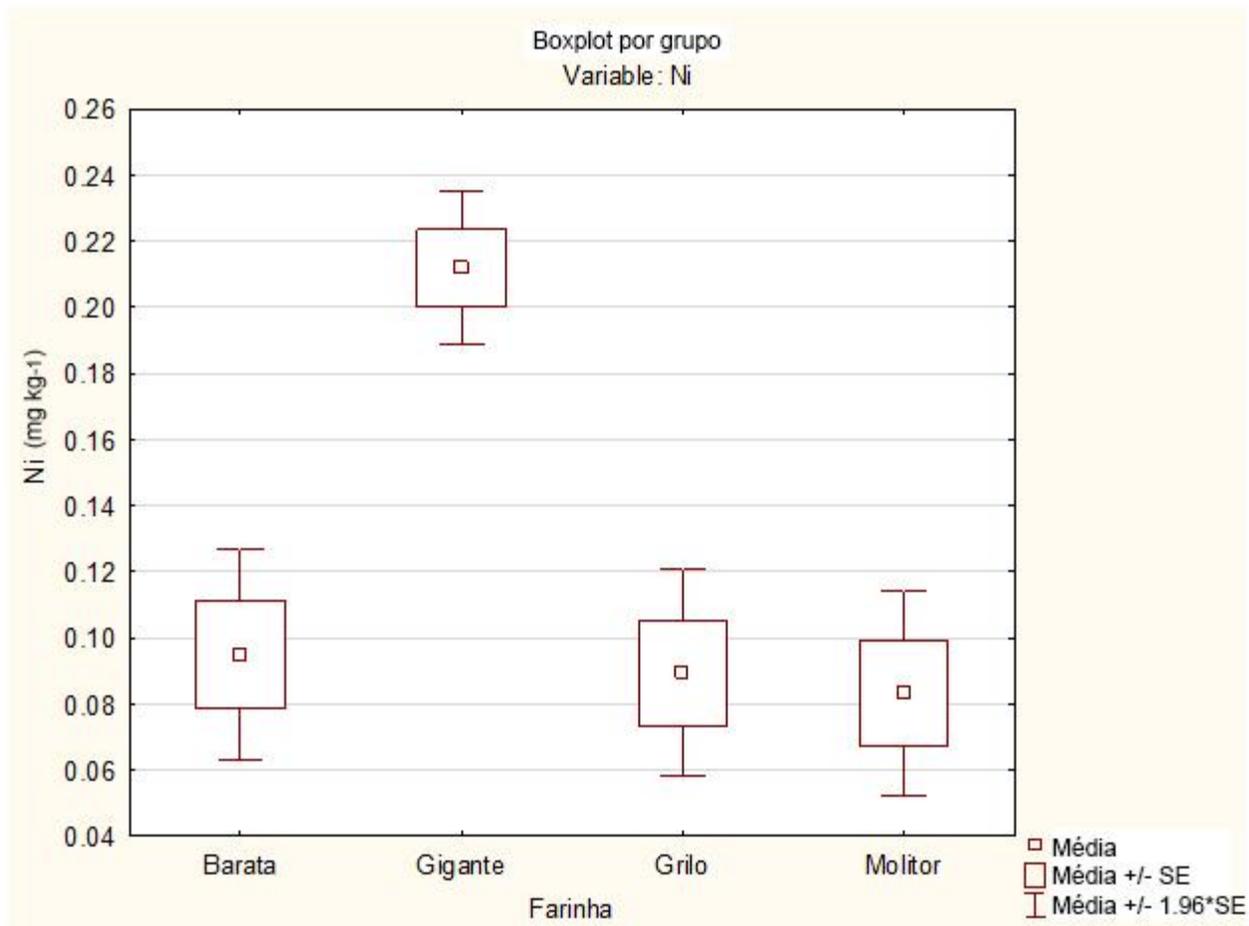
Figura 25 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg⁻¹) de Mn determinadas nas amostras de farinha de insetos



Fonte: O autor.

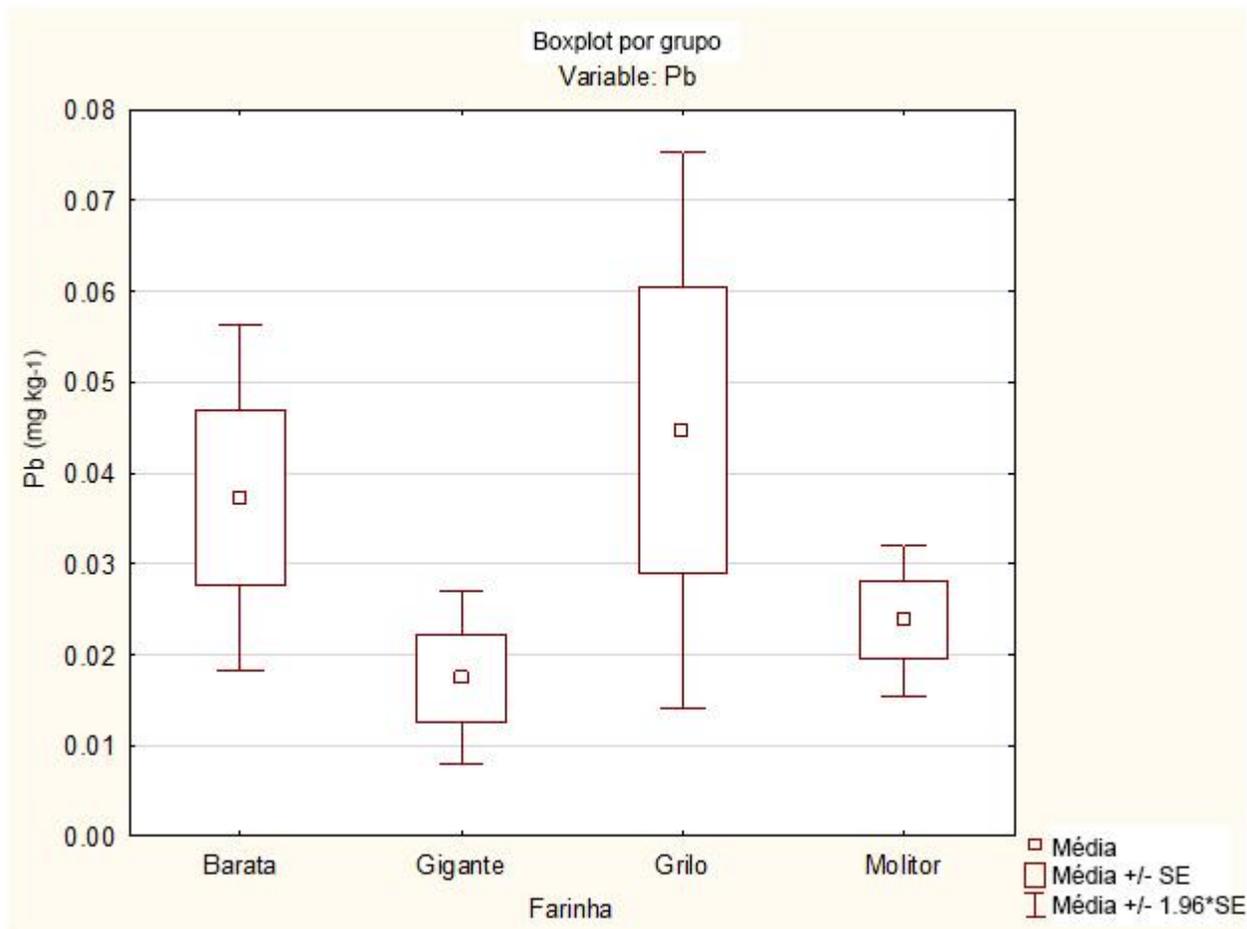
Apenas o gigante teve concentração de níquel estatisticamente diferente das demais farinhas de insetos em nível de 95% de confiança (Figura 25), chegando a variar de $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ para o tenébrio molitor até $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$ no tenébrio gigante. Paoletti et al. (2003) analisaram uma espécie de cupim utilizada como alimento na Venezuela e obtiveram concentrações que variaram de $0,8$ a $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ desse elemento químico. Como a ingestão total estimada de níquel seja de cerca de 200 a $300 \mu\text{g}$ por dia (ROJAS et al., 1999), suplementos a base de farinha de insetos poderiam suprir adequadamente tendo em vista uma porção de consumo de aproximadamente 300 g por dia.

Figura 26 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (não paramétrico) para as concentrações (mg kg^{-1}) de Ni determinadas nas amostras de farinha de insetos



Fonte: O autor.

Figura 27 – Comparação entre médias Kruskal-Wallis (Não paramétrico) para as concentrações (mg kg^{-1}) de Pb determinadas nas amostras de farinha de insetos

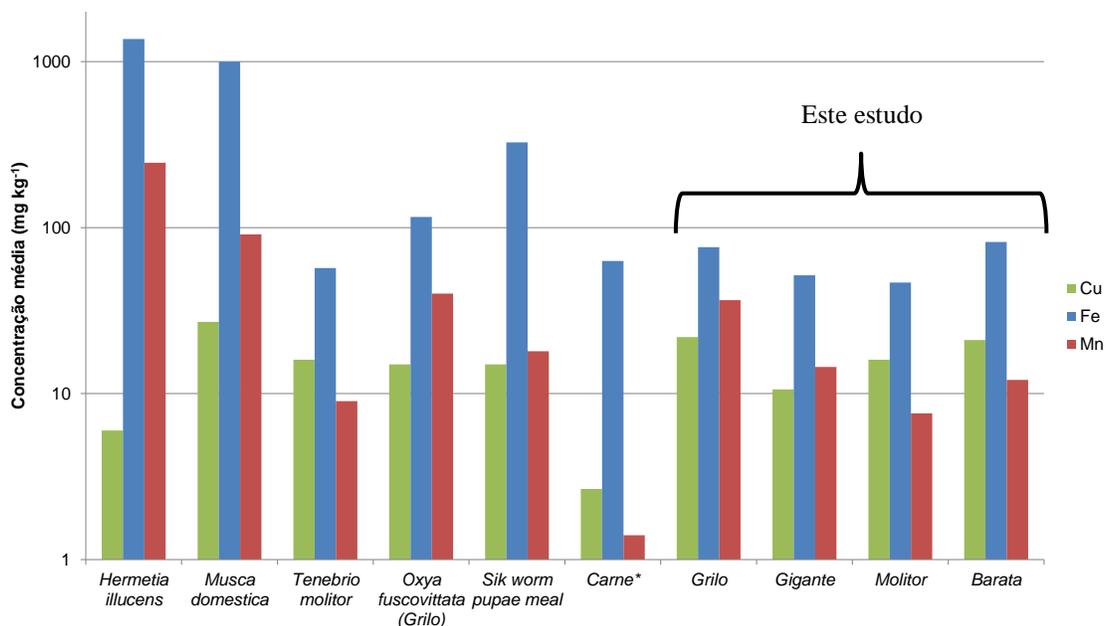


Fonte: O autor.

Na Figura 28, é possível visualizar a comparação entre os resultados obtidos nesse trabalho com insetos já utilizados na alimentação humana. De modo geral, as farinhas comerciais produzidas em Pernambuco mostraram menores concentrações de Fe quando comparadas com *Hermetia illucens*, *Musca domestica* e pulpas de *Sik worm*. Por outro lado, os valores encontrados para a farinha de molitor e de grilo foram muito semelhantes aos resultados de Makkar et al. (2014) e De Smet e Vossen (2016). Finalmente, as farinhas de insetos mostraram concentrações de Cu e Mn maiores que a compilação de valores obtidos para proteína animal convencional. Considerando as demais vantagens da obtenção das farinhas de insetos com relação à sustentabilidade da produção, à ocupação de pequenas áreas e à facilidade de criação, a utilização dessa matriz alimentar torna-se mais adequada, atendendo às necessidades de nutrição

para os elementos químicos avaliados. Vale ressaltar que as concentrações de Fe foram bastante semelhantes entre a proteína animal convencional e as farinhas de insetos analisadas nesse estudo.

Figura 28 – Comparação entre os resultados de insetos utilizados para a alimentação humana

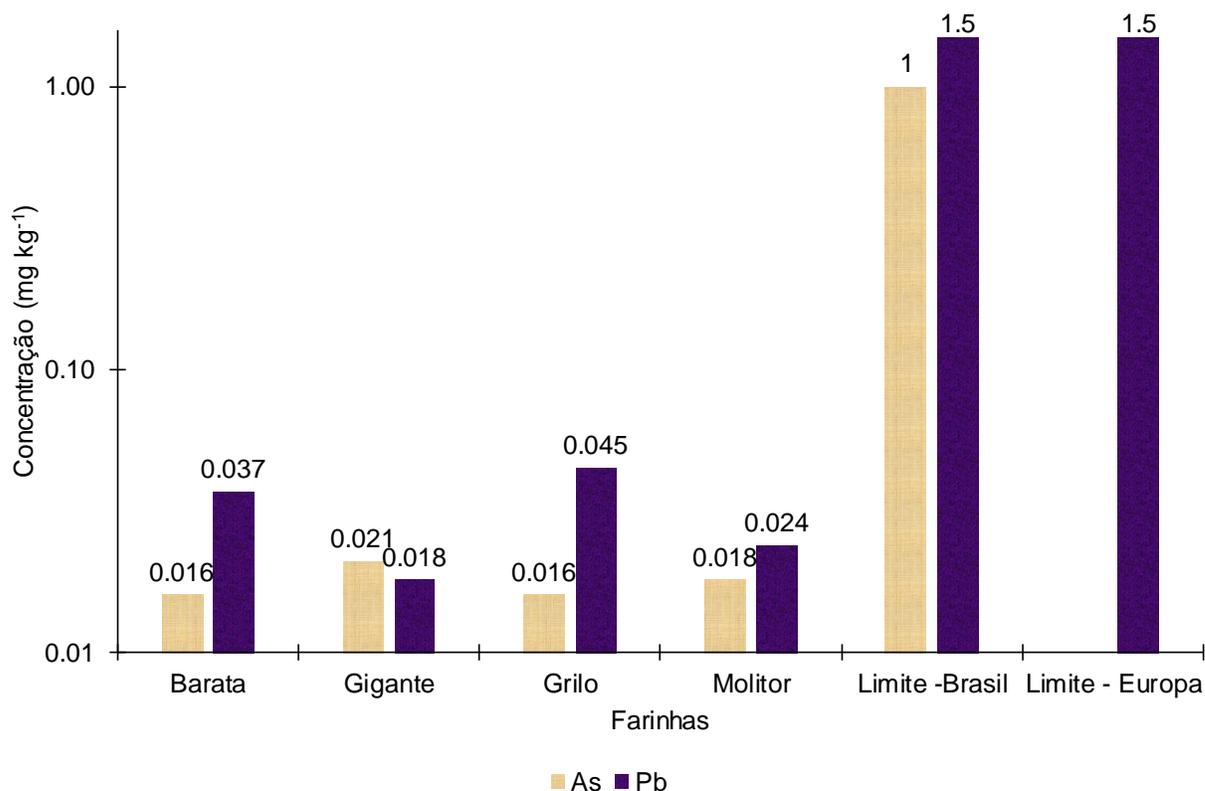


* Compilação de valores

Fonte: Extraído de Makkar et al. (2014) e De Smet e Vossen (2016)

Na Figura 29, é possível verificar a comparação entre os dados dos elementos químicos tóxicos obtidos nesse estudo e os valores permissíveis estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil e pela Comissão das Comunidades Europeias.

Figura 29 – Limites máximos de contaminantes inorgânicos



Fonte: Anvisa (2013); Comissão Europeia (2006)

Os resultados obtidos de As e Pb nas farinhas de insetos permitem concluir que a segurança alimentar no que se refere aos elementos químicos foi garantida devido às baixas concentrações desses elementos químicos, sendo cerca de 50 vezes inferiores para ambos os elementos químicos quando comparados com os limites estabelecidos pela ANVISA (2013).

5 CONCLUSÕES

A partir dessa Dissertação de Mestrado referente à aplicação de métodos de Absorção Atômica para a quantificação de elementos químicos em farinhas de insetos, conclui-se que:

- Os procedimentos analíticos de GFAAS e FAAS foram adequados para a quantificação de As, Cu, Fe, Mn, Ni e Pb nas farinhas de insetos devido à precisão obtida nas análises químicas;
- Não foram encontradas diferenças sistemáticas para as matrizes de insetos analisadas, ou seja, nenhuma das espécies apresentou padrão específico de acumulação de elementos químicos;
- Não houve diferenças estatísticas em nível de 95% de confiança para elementos químicos tóxicos como As e Pb, indicando uma possível fonte comum para as farinhas de insetos analisadas;
- Foi observada diversificação nas concentrações de Cu, Fe, Mn e Ni nas diferentes farinhas de insetos analisadas, o que possibilita a produção de diferentes compostos proteicos a partir de farinhas de insetos tanto para a alimentação humana quanto a animal;
- Também foi observada homogeneidade entre as concentrações obtidas nas farinhas analisadas e os insetos utilizados para a alimentação humana em outros países;
- As farinhas de insetos apresentaram vantagens nutricionais quando comparadas àquelas quantificadas para a proteína convencional (carne) referentes ao aumento no valor nutricional quanto à fonte de minerais como Cu e Mn e à disponibilidade de Fe, cujo valor obtido foi bastante semelhante àquele encontrado em carnes,
- As farinhas de insetos foram consideradas alimentos seguros devido às baixas concentrações de As e Pb, elementos químicos tóxicos com limite de concentrações estabelecidos por agências regulamentadoras.

REFERÊNCIAS

AGILENT TECHNOLOGIES. **Agilent 240/280 Series AA (including Zeeman) – User’s Guide**. Malaysia: Agilent Technologies, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 42** de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos.

AYDOĞAN, Z.; GUROL, A.; INCEKARA, U.; TAHIDU, O.D. Element content analysis of edible insect of Ghana (Curculionidae: *Sitophilus zeamais*) using EDXRF spectrometer. **Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, v. 9, p. 86–94, 2016.

BANKOLE, M. Determination of some essential minerals in selected edible insects. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 7, p. 194–197, 2013.

BUKKENS, S. G. F. The nutritional value of edible insects. **Ecology of Food Nutrition**, v. 36, p. 287–319, 1997.

BUTERS, J.; BIEDERMANN, T. Chromium(VI) contact dermatitis: getting closer to understanding the underlying mechanisms of toxicity and sensitization! **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, p. 274–277, 2017.

CAPARROS MEGIDO, R.; ALABI, T.; NIEUS, C.; BLECKER, C.; DANTHINE, S.; BOGAERT, J.; HAUBRUGE, E.; FRANCIS, F. Optimisation of a cheap and residential small-scale production of edible crickets with local by-products as an alternative protein-rich human food source in Ratanakiri Province, Cambodia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, p. 627–632, 2016.

CHAKRAVORTY, J.; GHOSH, S.; MEYER-ROCHOW, V.B. Chemical composition of *Aspongopus nepalensis* Westwood 1837 (Hemiptera; Pentatomidae), a common food insect of tribal people in Arunachal Pradesh (India). **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 81, p. 49–56, 2011.

COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia** L 364/5. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:PT:PDF>>. Acesso em: fevereiro, 2019.

COSTA-NETO, E.M.; DUNKEL, F.V. Chapter 2 - Insects as food: history, culture, and modern use around the world. **Insects as Sustainable Food Ingredients**, Academic Press, p. 29-60, 2016.

DE ANDRADE, R.M.; GOIS, J.; TOALDO, I. Direct determination of trace elements in meat samples via high-resolution graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Analytical Methods**, v.10, p. 1209-1215, 2016.

DE SMET, S.; VOSSEN, E. Meat: The balance between nutrition and health. A review. **Meat Science**, v. 120, p. 145–156, 2016.

ELLISON, S.L.R.; WILLIAMS, A. (Eds). **Eurachem/CITAC guide: quantifying uncertainty in analytical measurement**, 3 ed., 2012. Disponível em: <www.eurachem.org>. Acesso em 17 de Janeiro de 2017.

EWING, G.W. **Métodos instrumentais de análise química**. São Paulo: Edgard Blucher, 1989.

FAO REGIONAL OFFICE FOR ASIA AND THE PACIFIC. **Six-legged livestock: edible insect farming, collection and marketing in Thailand**. Bangkok, Thailand: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific. 2013.

FERRARI, A.A.; FRANÇA, E.J.; DE NADAI FERNANDES, E.A.; BACCHI, M.A. Surface contamination effects on leaf chemical composition in the Atlantic Forest. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 270, p. 69-73, 2006.

FIGUEIREDO, A.M.G.; FÁVARO, D.I.T.; SAIKI, M.; PAIVA, R.P.; MAIHARA, V.A.; VASCOCELLOS, M.B.A. Trace element quality control analysis of environmental samples at the neutron activation analysis laboratory IPEN, São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 269, p.383–387, 2006.

FOLEY, J.A., RAMANKUTTY, N., BRAUMAN, K.A., EMILY, S.C., GERBER JAMES, S., JOHNSTON, D.M.M.N., O'CONNELL, C., RAY, D.K., WEST, P.C., BALZER, C., BENNETT, E.M., CARPENTER, S.R., HILL, J., MONFREDA, C., POLASKY, S., ROCKSTROM, J., SHEEHAN, J., SIEBERT, S., TILMAN, D., ZAKS, D.P.M. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, 478, p. 337–342, 2011.

FOSTER, H.D. Landscapes of longevity: The calcium-selenium-mercury connection in cancer and heart disease. **Medical Hypotheses**, v. 48, p. 355–360, 1997.

FRANÇA, E.J.; FERNANDES, E.A.N.; FONSECA, F.Y. ; MAGALHAES, M.R.L. ; SANTOS, M.L.O. Arsenic in terrestrial invertebrates from riparian areas of the Piracicaba River Basin, São Paulo State, Brazil. **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, v. 314, p. 1675-1681, 2017.

GERBER, P.J., STEINFELD, H., HENDERSON, B., MOTTET, A., OPIO, C., DIJKMAN, J., FALCUCCI, A., TEMPIO, G. **Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, p. 42, 2013.

GONZÁLEZ-WELLER, D.; KARLSSON, L.; CABALLERO, A.; HERNÁNDEZ, F.; GUTIÉRREZ, A.; GONZÁLES-IGLESIAS, T.; MARINO, M.; HARDISSON, A. Lead and cadmium in meat and meat products consumed by the population in Tenerife Island, Spain. **Food additives and contaminants**, v. 23, p. 757–763, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos DOQ-CGCRE-008** Revisão: 01 – Março/2003.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. ISO 13528 **Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons**. Genebra: ISO, p. 66, 2005.

IOM. **Dietary Reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington: National Academy Press, p. 798, 2001.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")**. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org>. Acesso em março, 2017.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. New York: CRC press, 4 ed., p. 548, 2010.

KRUG, F.J., NOBREGA, J.A., OLIVEIRA, P.V. **Espectrômetro de absorção atômica Parte 1. Fundamentos e atomização com chama**. Apostila, Universidade de São Paulo, 2004.

KUMAR, A.; RAHMAN, M.; IQUBAL M. Ground water arsenic contamination: A local survey in India. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 7, p. 1-6, 2016.

LAJUNEN, L.H.J. **Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992.

MAGALHÃES, M.R.L. **Concentrações naturais de elementos químicos da classe Insecta do fragmento florestal de mata atlântica Reserva Charles Darwin**. Dissertação de Mestrado. Recife: Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, p. 98, 2015.

MAKKAR, H.P.S.; TRAN, G.; HEUZÉ, V.; ANKERS, P. State-of-the-art on use of insects as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 1–33, 2014.

MATOS, M.A.A.; RODRIGUES, N.J.F. Gas Mass-Flow Meters: measurements and uncertainties. **Flow Measurement and Instrumentation**, v. 33, p. 45-54, 2013.

MIANO, T.; ORAZIO, V.D.; ZACCONE, C. **PHEs, Environment and Human Health**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014.

NOWAK, V.; PERSIJN, D.; RITTENSCHOBBER, D.; CHARRONDIERE, U.R. Review of food composition data for edible insects. **Food Chemistry**, v. 193, p. 39-46, 2016.

ORTNER, H.; BULSKA, E.; ROHR, U. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry—mechanisms of action (a tutorial review). **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, p. 1835-1853, 2002.

PAOLETTI, M.G.; BUSCARDO, E.; VANDERJAGT, D.J.; PASTUSZYN, A.; PIZZOFERRATO, L.; HUANG, Y.-S.; CHUANG, L.-T.; GLEW, R.H.; MILLSON, M.;

CERDA, H. Nutrient content of termites (syntermes soldiers) consumed by makiritare amerindians of the altoorinoco of Venezuela. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 42, p. 177–191, 2003.

PAYNE, C.L.R.; SCARBOROUGH, P.; RAYNER, M. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. **Trends in Food Science and Technology**, v. 47, p. 69–77, 2016.

RAMOS-ROSTRO, B.; QUINTERO-SALAZAR, B.; RAMOS-ELORDUY, J. Análisis químico y nutricional de tres insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el estado de México. **Interciencia**, v. 37, p. 914–920, 2012.

RANDRIANANDRASANA, M.; BERENBAUM, M.R. Edible non-crustacean arthropods in rural communities of Madagascar. **Journal of Ethnobiology**, v.35, p. 354–383, 2015.

ROJAS, E.; HERRERA, L.A.; POIRIER, L.A.; OSTROSKY-WEGMAN, P. Are metals dietary carcinogens. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. v. 443 p. 157–181, 1999.

RUMPOLD, B.A.; SCHLÜTER, O.K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, p. 802–823, 2013.

SANTOS, M.L.O. **Elementos químicos em invertebrados terrestres como indicadores de qualidade ambiental de áreas urbanas**. Dissertação de Mestrado. Recife: Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, p. 33, 2016.

STORK, N. E. How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? **Annual Review of Entomology**, v. 63, p. 31–45, 2018.

STURGEON, R. Graphite furnace atomic absorption spectrometry and environmental challenges at the ultratrace level—a review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 52, p. 1451–1457, 1997.

VAZ, F. N.; RESTLE, J.; FEIJÓ, G. Qualidade e composição química da carne de bovinos de corte inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos Charolês x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p. 518–525, 2001.

VOGEL, A. I.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. **Análise química quantitativa**, 6 ed., Rio de Janeiro: Editora LTC, 2002.

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

WHO & FAO (2007). **Food labelling (5th ed.)**. Rome: WHO, FAO. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a1390e/a1390e00.pdf>. Acesso em: Fevereiro de 2019.