

## MACRO E MICRONUTRIENTES EM UM CANDIDATO A MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO DE GRILLO PRETO (*Gryllus assimilis*)

Vinicius H. S. Bezerra<sup>1,2</sup>; Jayanne M. B. Farias<sup>2</sup>; Raphael H. M. Pereira<sup>3</sup>; Maria J. F. Gomes<sup>3</sup>  
Elvis J. França<sup>2</sup>; Ana Paula S. Paim<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Química Fundamental, Recife – PE

<sup>2</sup>Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste, Recife – PE

<sup>3</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Recife – PE

**Palavras-Chave:** Material de referência certificado, Insetos, Caracterização química.

### Introdução

Um material de referência certificado, de acordo com a ABNT ISO Guia 30:2016, é um material caracterizado por um procedimento válido que apresente uma boa confiabilidade, qualidade e rastreabilidade das medições de uma ou mais propriedades (INMETRO, 2012). O uso de MRC é recomendado para a garantia da qualidade e acreditação de laboratórios, sendo utilizados desde a calibração de equipamentos, a validação de metodologias e até a atribuição de valores de propriedades a outros materiais ou padrões de medição (ABNT ISO GUIA 30, 2020; ABNT ISO GUIA 33, 2019; ISO, 2022). Apesar dos vários tipos de MRC encontrados comercialmente (Olivares, 2018), o alto custo de produção limita sua disponibilidade para diferentes matrizes.

Os insetos são uma classe de animais bem distribuídas ao redor do mundo, capazes de absorver substâncias químicas do ambiente através da alimentação ou contato direto, tornando-se uma matriz interessante para estudos ambientais (Garvita, 2021; Santos, 2016; Magalhães, 2015). As preocupações relacionadas com o consumo e produção de carne, requerem uma urgência em mudar os hábitos alimentares buscando alternativas mais sustentáveis para gerações presentes e futuras aumentando o interesse em utilizar os insetos como fonte de nutrientes (Baiano, 2020; OMS, 2015). Considerando tais aspectos, esta classe de animais apresenta bastante relevância como candidato a Material de Referência Certificado tendo em vista a necessidade de padrões de referência de composição próxima ou similar aos materiais utilizados nas mais variadas pesquisas envolvendo estes seres vivos (Araújo et al, 2018; Santos, 2016; Magalhães, 2015).

A produção de MRC consiste em várias etapas, dentre elas, a caracterização do material que requer a aplicação de procedimentos de medição para a atribuição de valores de propriedades de interesse que possam ser certificadas. Diferentes abordagens para realização da caracterização podem ser consultadas na ABNT NBR ISO 17034 (2017), e a escolha do método de medição deve levar em conta as características da matéria-prima bem como das propriedades de interesse para o MRC.

A escolha da técnica analítica é primordial para assegurar que os resultados das análises químicas das matrizes utilizadas na produção de MRC sejam mais precisos e confiáveis. Pesquisas envolvendo a busca por padrões de referência necessitam das mais variadas técnicas analíticas para identificação do maior número de elementos químicos possíveis e as suas respectivas concentrações, bem como metodologias que sejam adequadas ao uso pretendido (INMETRO, 2020).

Desta forma, o presente trabalho visou apresentar as frações mássicas de macro e micronutrientes em amostras de um candidato a material de referência certificado utilizando grilo preto (*Gryllus assimilis*) como matéria-prima. Tais estimativas foram realizadas por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) e Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) por apresentarem baixos limites de detecção e

quantificação, seletividade e alta resolução, sendo utilizadas em estudos envolvendo invertebrados (Magalhães, 2015).

## Material e Métodos

### Preparação das amostras do Candidato a Material de Referência Certificado

As amostras do inseto foram levadas a uma sala devidamente limpa para a preparação do candidato a MRC. O procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar com filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Arrestance*) para evitar a contaminação com elementos químicos exógenos. A amostra foi reduzida utilizando um liquidificador modificado com lâmina de titânio, posteriormente o material obtido foi congelado, liofilizado e levado para o envase e confecção do lote do candidato a MRC.

O material liofilizado foi distribuído em frascos, devidamente higienizados, utilizando um Quarteador de aço inoxidável resultando no lote do candidato a MRC. Todo o lote foi esterilizado por meio de irradiação de uma fonte de  $\text{Co}^{60}$  Gammacell 220 Excel-MDS Nordion com dose de radiação gama apropriada para esterilização: 25 kiloGrays (kGy).

### Caracterização Química do Candidato a Material de Referência Certificado

Para a estimativa das concentrações de Al (alumínio), Ca (cálcio), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Potássio (K), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Sódio (Na) e Zinco (Zn), porções analíticas de 0,5 g foram amostradas e submetidas a um tratamento químico (digestão). A digestão das amostras foi realizada utilizando ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) com aquecimento assistido por micro-ondas.

A garantia de qualidade do procedimento analítico foi demonstrada a partir da avaliação do Número *En*, erro normalizado, (INMETRO, 2020). Para tanto, o Material de Referência TM01-Tecido de Mexilhão (*Mussel Tissue*), fornecido pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN SP), foi submetido ao mesmo tratamento químico aplicado às amostras do candidato, e os valores de concentração e incerteza obtidos experimentalmente foram comparados com os valores presentes no certificado do MR.

## Resultados e Discussão

### Qualidade do Procedimento Analítico

A qualidade do procedimento analítico foi avaliada a partir da quantificação de elementos químicos de interesse no material de referência certificado TM01-Tecido de Mexilhão (*Mussel Tissue*) nas mesmas condições experimentais de análise para o candidato a MRC. Este parâmetro avaliado em termos de valores de *En* (Erro normalizado) para os analitos analisados, em que valores entre -1 e 1 indicam que o procedimento analítico adotado foi válido (INMETRO, 2020).

Os resultados obtidos para os valores experimentais e certificados, juntamente com suas respectivas incertezas, estão dispostos na Tabela 1. A partir dos valores de Número *En* obtidos para o material certificado analisado pelas técnicas de FAAS e ICP OES, foi possível inferir que, para os elementos químicos selecionados, o procedimento escolhido mostrou-se confiável, pois os valores mantiveram-se dentro do intervalo de aceitabilidade.

Tabela 1. Valores obtidos e certificados para o TM01 e as respectivas incertezas analíticas em nível de 95%,  $k = 2$ . Resultados para massa de 0,5 g de MR.

Analito	Valor obtido (mg kg <sup>-1</sup> )		Valor certificado (mg kg <sup>-1</sup> )		Número <i>En</i>	n
	Média	Incerteza	Média	Incerteza		
<sup>1</sup> Al	1090	144	1200	190	-0,5	3
<sup>1</sup> Ca	2720	288	2710	300	0,0	3
<sup>2</sup> Cu	12,5	2,4	11,7	1,5	0,3	3
<sup>2</sup> Fe	595	82	585	58	0,1	3
<sup>1</sup> K	8590	522	8100	1100	0,4	3
<sup>1</sup> Mg	3730	248	3600	430	0,3	3
<sup>2</sup> Mn	23,30	1,20	22,70	3,70	0,2	3
<sup>1</sup> Na	22800	2200	22700	3600	0,0	3
<sup>2</sup> Zn	121,0	15,0	119,6	9,5	0,1	3

<sup>1</sup>ICP OES; <sup>2</sup>FAAS. n: número de amostras.

### Caracterização Química do Candidato a Material de Referência Certificado

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos a partir das análises das diferentes amostras do candidato. Como observado o inseto utilizado apresentou uma variedade com relação a presença de elementos químicos na sua composição bem como nos valores de concentração de tais substâncias. A presença desses nutrientes está associada às diversas funções biológicas no animal (Nation, 2001; Cohen, 2003), além de estarem relacionados a qualidade e características do ambiente ao qual o inseto está inserido (Montowska, 2019; Manditsera, 2019).

Tabela 2. Concentração média, máxima e mínima dos elementos químicos obtidas por ICP-OES<sup>1</sup> e FAAS<sup>2</sup>.

Analito	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )			CV (%)	U (%)	n
	Mínimo	Média	Máximo			
<sup>1</sup> Al	104	128	154	8,4	11,9	10
<sup>1</sup> Ca	894	982	1100	4,4	10,6	10
<sup>2</sup> Cu	22,3	25,3	27,7	6,4	16,8	10
<sup>2</sup> Fe	90,2	93,5	95,3	1,4	13,9	10
<sup>1</sup> K	7170	7870	8300	3,0	6,1	10
<sup>1</sup> Mg	901	995	1060	4,0	6,4	10
<sup>2</sup> Mn	36,8	38,6	40,4	2,6	5,1	10
<sup>1</sup> Na	2800	2977	3190	3,1	9,6	10
<sup>2</sup> Zn	152	156	160	1,2	12	10

CV: coeficiente de variação; U: incerteza expandida,  $k = 2$ , nível de confiança de 95%. n: número de amostras.

Do ponto de vista analítico, é importante ressaltar que os coeficientes de variação determinados para os analitos apresentaram valores entre 1,2% e 8,4% resultados condizentes com os valores recomendados em literatura em função da concentração determinada para os elementos (INMETRO, 2020). As incertezas estimadas para os analitos selecionados ficaram abaixo de 15%, valores que foram considerados bons indicadores da qualidade e garantia da validade dos resultados obtidos para as amostras.

### Conclusões

Como observado, o candidato a MRC apresentou uma variabilidade em relação a estimativas das frações mássicas dos nutrientes investigados. Tais valores refletem a potencialidade da utilização dessa matéria-prima como um padrão de referência tendo em vista que os resultados são compatíveis com dados que utilizam a matriz inseto nas mais variadas pesquisas.

## Agradecimentos

À FACEPE, FINEP, CAPES, e ao CNPq.

## Referências

ARAÚJO, R. R. S.; DOS SANTOS BENFICA, T. A. R., FERRAZ, V. P., & MOREIRA SANTOS, E. . Nutritional composition of insects gryllus assimilis and zophobas morio: potential foods harvested in Brazil. **Journal of food composition and analysis**. v. 76, p.22-26, 2018

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT ISO GUIA 30:2017**: Materiais de Referência – Termos e definições selecionados. Rio de Janeiro, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT ISO GUIA 33:2019**: Boas práticas no uso de materiais de referência. Duque de Caxias, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT ISO GUIA 35:2020**: Materiais de Referência – Guia para caracterização e avaliação da homogeneidade e estabilidade. Rio de Janeiro, 2020.

COHEN, A. C. **Insect diets: Science and Technology**. CRC Press, p. 344, 2003.

GARVITA, P; DEEPAK, R; NITASHA, K. Insects as an Indicator for Environmental Pollution. *Environmental Claims Journal*, 33, 161-181, 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE MEROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO). **DOQ-CGCRE-008**: Orientações sobre validação de métodos analíticos. Revisão 08. Duque de Caxias, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO). **Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais gerais e termos associados (VIM 2012)**. Duque de Caxias, 2012.

MAGALHÃES, M. R. L. **Concentrações naturais de elementos químicos da classe insecta do fragmento florestal de mata atlântica reserva Charles Darwin**. 2015 Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

MANDITSERA, F. A., LUNING, P. A., FOGLIANO, V., & LAKEMON, C. M. M. The contribution of wild harvested edible insects (Eulepida mashona and Henicus whellani) to nutrition security in Zimbabwe. **Journal of Food Composition and Analysis**, 75, 17–25, 2019.

MONTOWSKA, M., KOWALCZEWSKI, P. Ł., RYBICKA, I.; FORMAL, E. Nutritional Value, Protein and Peptide Composition of Edible Cricket Powders. **Food Chemistry**. 289, 130-138, 2019.

NATION, J. L. **Insect physiology and biochemistry**. Departamento of entomology and nematology. University of Florida, gainesville Florida. 3th Edition, p. 485.

OLIVARES, I. R. B., SOUZA, G. B., NOGUEIRA, A. R. A., TOLEDO, G. T. K., & MARCKI, D. C. Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, 100, 53-64, 2018.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (OMS). **A Contribuição dos Insetos para a Segurança Alimentar, Subsistência e Meio Ambiente**. 2015.

SANTOS, M. L. O. **Elementos químicos em invertebrados terrestres como indicadores de qualidade ambiental de áreas urbanas**. 2016 Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.