

DOI: <http://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8656042>MEV/EDS adicionada PCA para análise de alfaces. Luiz *et al.*

SEGURANÇA
alimentar e nutricional

Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) associada à Análise de Componentes Principais (PCA) para análise de composição elementar e comparação de alfaces do tipo crespa (*Lactuca Sativa L.*) de cultivo orgânico e convencional

Leandro da Conceição Luiz¹, Caroline da Rocha C. de Souza², Kamila de Carvalho Gonçalves³, Deborah Demarque Martins da Silva⁴, Rafaela Tavares Batista⁵, Renata Macedo dos Reis Januário da Silva⁶ e Renato Pereira de Freitas⁷

A alface crespa (*Lactuca sativa L.*) é uma das hortaliças folhosas mais cultivadas e consumidas em diversos países. A Organização Mundial de Saúde (OMS) incentiva o consumo de hortaliças e frutas, uma vez que estas são importantes para compor uma dieta saudável. Nos últimos anos a procura por produtos orgânicos aumentou significativamente, pois dispõe de alimentos mais valorizados e de maior qualidade em relação ao sabor e procedência. Técnicas espectroscópicas associadas a ferramentas estatísticas tem sido frequentemente usadas na indústria alimentícia, com elas pode-se obter de maneira rápida e precisa informações estruturais e elementares das amostras, a fim de compará-las. O presente trabalho utiliza a Espectroscopia por Dispersão em Energia (EDS) associada à análise de componentes principais (PCA) para obter a composição elementar, e comparar/discriminar grupos de amostras de alfaces crespa de cultivo orgânico e convencional. Foram encontrados os elementos Na, Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al e Si, nas amostras, e ao realizar a PCA observou-se que as amostras de cultivo orgânicas e convencional adquiridas no hipermercado estão bem próximas da amostra de referência, orgânica.

Palavras-chave: Alface; alimentos orgânicos; espectrometria por raios x; análise de componente principal.

Dispersive Energy Spectroscopy (EDS) associated with Principal Component Analysis (PCA) for elemental composition analysis and comparison of organic and conventional curly (*Lactuca Sativa L.*) type lettuces

Curly lettuce (*Lactuca sativa L.*) is one of the bush vegetables most cultivated and consumed in several countries. The World Health Organization (WHO) encourages the consumption of vegetables and fruits, since these are important to make up a healthy diet. In recent years the demand for organic products has increased significantly, since it has more valuable and higher quality food in relation to taste and origin. Spectroscopic techniques associated with statistical tools have often been used in the food industry, with which they can quickly and accurately obtain structural and elemental information of the samples in order to compare them. The present work uses the Energy Dispersion Spectroscopy (SEM/EDS) associated with the principal component analysis (PCA) to obtain the elemental composition, and to compare/discriminate groups of samples of organic and

¹ Professor Adjunto da Faculdade Bezerra de Araújo (FABA/RJ). Endereço para correspondência: Estrada do Tingüí, 3245, casa 15, CEP 23075-006, Campo Grande, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: livroleandro@gmail.com

² Farmacêutica, Pós-Graduanda em Farmácia Clínica e Hospitalar (FABA/RJ). E-mail: carolgusouza28@gmail.com

³ Farmacêutica, Mestranda em Biologia (UFF/RJ). E-mail: kamila.carvalho25@yahoo.com.br

⁴ Farmacêutica, Pós-Graduanda em Farmácia Magistral pela Universidade Estácio de Sá. E-mail: deborah.demarque@gmail.com

⁵ Licenciada em Física, Mestre em Física e Doutora em Física (IFADT/UERJ). E-mail: rafaela.batista@ifrj.edu.br

⁶ Farmacêutica, Professora Adjunta da Faculdade Bezerra de Araújo/RJ. E-mail: renatamacedo34@gmail.com

⁷ Pós-Doutor (MOLAB-CNR-ISTM), Professor Doutor, IFRJ Campus Paracambi. E-mail: renato.freitas@ifrj.edu.br

conventional cultivated kale. The Na, Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al, and Si elements were found in the samples, and when performing the PCA it was observed that the organic and conventional culture samples purchased on the market are close to the sample of reference, organic.

Keywords: Lettuce; food organic; spectrometry x-ray emission; principal component analysis.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A busca pela vida saudável tem sido o objetivo de muitas pessoas. Muitos fatores influenciam para que o indivíduo alcance este objetivo, tais como: prática regular de atividades físicas, consultas médicas preventivas, bem estar social e financeiro, além de uma dieta equilibrada. A Organização Mundial de Saúde (OMS) incentiva, por meio de campanhas de estímulos, ao consumo de hortaliças e frutas, uma vez que, estas são importantes para compor uma dieta saudável. Esses alimentos apresentam uma densidade energética baixa, são ricos em fibras, micronutrientes e outros elementos fundamentais ao organismo^[1]. De acordo com a OMS, o consumo insuficiente de frutas, legumes e verduras está entre os dez principais fatores de risco para a carga total global de doenças em todo o mundo^[2]. A alface está entre as 5 hortaliças com maior participação na aquisição domiciliar, correspondendo a 4,8%^[3].

A alface é uma hortaliça de folhas comestíveis e suas folhas podem ser lisas ou crespas. No Brasil, o tipo de alface que predomina é a do grupo crespa, com 70% de aquisição no mercado, seguida pelos grupos americana e lisa, com 15% e 10%, respectivamente. Enquanto que os 5% restantes correspondem aos outros tipos de alfaces (vermelha, mimosa, romana)^[4]. Ela é uma importante fonte de sais minerais, principalmente de cálcio (Ca), ferro (Fe) e potássio (K), e de vitaminas A, B1, B2, C. A alface se destaca também economicamente, o mercado de sementes de alface é estimado em torno de US\$ 2 milhões por ano^[5,6]. A alface crespa (*Lactuca sativa* L.) é pertencente à família Asteraceae, sendo uma das hortaliças folhosas mais cultivadas e consumidas em diversos países^[7]. Ela foi trazida para o Brasil pelos portugueses no século XVI, sendo atualmente encontrada em regiões de clima temperado, no sul da Europa e na Ásia Ocidental. Pode ser cultivada de forma convencional ou orgânica^[8]. Os principais elementos e nutrientes encontrados na alface crespa (*Lactuca sativa* L.) são: potássio (K), fósforo (P),

cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn), zinco (Zn), alumínio (Al), ferro (Fe), flúor (F), cobre (Cu) e traços de selênio (Se)^[9].

No cultivo orgânico da alface, é indispensável que o agricultor não faça uso de agrotóxicos e fertilizantes de alta concentração e solubilidade. Além de não ser prejudicial ao meio ambiente, dispõe de alimentos mais valorizados e de maior qualidade^[10], empregando como práticas agrícolas biofertilizantes, compostos e outros adubos orgânicos, profilaxias alternativas (caldas, óleos e extratos naturais), adubação verde, rotação de culturas, plantio direto e variedades tolerantes e adequadas^[11]. Nas últimas décadas têm sido empregadas técnicas analíticas que auxiliam na compreensão da estrutura molecular e na composição elementar de amostras para diversos fins na indústria de alimentos. Em 2015, Mendes *et al.* analisaram misturas de azeites de oliva e óleo de soja através das espectroscopias FT-NIR, FT-MIR e Raman para avaliar adulterações em azeites^[12]. Em 2016, Konopka & Wall utilizaram espectroscopia Raman e Microscopia Eletrônica de Varredura com espectroscopia por Dispersão em Energia (MEV/EDS) para analisar polímeros em camadas de embalagens de alimentos^[13]. Em 2018, Luiz *et al.* utilizaram a espectroscopia FT-NIR associada a Análise de Componente Principal (PCA) para detectar resíduos de antimicrobianos em leites^[14]. No mesmo ano, Guerra MBB *et al.*, com um espectrômetro portátil de XRF, analisaram *in situ* folhas frescas de cana-de-açúcar para determinação de K, Ca, S e Si^[15]. Em 2019, Sant'Ana *et al.* mostraram a potencialidade da junção de técnicas espectroscópicas aliadas à quimiometria, para auxiliar na perícia criminal, ao utilizarem espectroscopia Raman e cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry - GCMS) juntamente com PCA para avaliar a pureza, o conteúdo de adulterantes ativos farmacológicos e a presença de diluentes inorgânico em amostras de cocaína apreendidas no Rio de Janeiro e outros municípios do mesmo^[16].

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma técnica de caracterização microestrutural capaz de produzir imagens de alta ampliação e resolução. Ela também permite realização de análise multielementar, para isto deve ser acoplado um Sistema de Espectroscopia de Energia Dispersiva (Energy Dispersive Spectroscopy - EDS) na câmara da amostra localizada no interior do MEV, com ele pode-se obter rapidamente informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida. Suas aplicações são muitas, em diversas áreas: biologia, odontologia, farmácia, engenharia, química, metalurgia, física, medicina, geologia, alimentos, entre outras^[17]. Num MEV/EDS, os elétrons são “gerados” a partir do aquecimento de um filamento de tungstênio (W), ou de hexaboreto de lantânio (LaB₆), por efeito termoiônico. O feixe de elétrons é acelerado, aplicando-se alta voltagem. Este feixe passa por lentes condensadoras reduzindo o seu diâmetro. Em seguida, ele passa por uma lente objetiva que o focaliza sobre a amostra. Então, o feixe de elétrons interage com a região de incidência da amostra até uma determinada profundidade. É na região de incidência que irá gerar os sinais que são detectados. O feixe de elétrons ao colidir com os átomos da amostra pode arrancar elétrons da mesma, deixando o átomo energeticamente no estado excitado. Para retornar ao estado fundamental, o átomo emite energia na forma de raios X característicos. Estes são detectados pelo sistema EDS. Assim é possível traçar um histograma da sua energia em função do número de fótons recebidos^[18].

Este trabalho tem como objetivo utilizar a Espectroscopia por Dispersão em Energia (MEV/EDS) associada à análise de componentes principais (PCA) para obter a composição elementar, dentro do limite de detecção do equipamento, e comparar/discriminar três grupos de amostras de alfaces cressa: o primeiro adquirido em uma feira orgânica, o segundo obtido em hipermercado vendida como orgânica, e o terceiro de cultura convencional.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de alface foram preparadas no Laboratório de Farmacotécnica da Faculdade Bezerra de Araújo, Rio de Janeiro, RJ, e analisadas

no Laboratório de Instrumentação Simulação Computacional Científicas Aplicadas (LISComp), do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Paracambi, Paracambi, RJ.

Amostras de Alface

A hortaliça utilizada como amostra para a análise foi a alface cressa (*Lactuca Sativa* L.) adquirida no município do Rio de Janeiro, RJ. Três grupos de amostras foram preparados: amostra de cultura orgânica, obtida em um hipermercado local, amostra de cultura convencional, sendo obtida em um hortifrúti local e amostra orgânica, adquirida em uma feira orgânica em um bairro próximo. Esta última foi usada como referência para as outras, tendo em vista o conhecimento de sua procedência. Cada grupo era constituído de 3 pés de alfaces. Primeiramente as amostras foram enxaguadas com água destilada, e submetidas à estufa, a 60°C, para o processo de desidratação; em seguida elas foram cuidadosamente trituradas e maceradas. Uma vez, a amostra em pó foi levada ao LISComp/IFRJ/Paracambi para confecção de pastilhas de cada amostra. Nesta etapa as amostras foram colocadas em um compactador e em seguida na prensa hidráulica SPECAC, sendo submetidas a 10 toneladas de pressão, formando pequenas pastilhas. Tal exigência se deve ao fato de se obter uma superfície perfeitamente plana, para que os elétrons incidam linearmente e os raios X característicos emitidos não sejam difusos, o que diminuiria o sinal no detector.

Análises usando MEV/EDS

As amostras foram irradiadas com um microscópio eletrônico de varredura, sistema comercial portátil de bancada TM-3000 Hitachi High Technologies. Sendo feitas em triplicata, em diferentes pontos, durante 180 segundos cada, com energia de 15,0 kV e ampliação de 1000 vezes.

Análise de Componentes Principais (PCA)

A Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis – PCA) consiste em um algoritmo matemático que reduz a dimensionalidade de um conjunto de variáveis de dados em um novo conjunto de variáveis, denominado componentes principais. Isto aumenta a interpretabilidade dos dados sem perder as

informações dos dados primários^[18]. Sendo assim, afim de discriminar as amostras, realizou-se uma PCA nos dados de cada grupo de alfaces.

O espectro de energia foi construído e analisado com o *software* OriginPro®. A análise de componente principal foi conduzida com o *software* The Unscrambler® versão 9.2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de energia fornece a contagem (em fóton/segundo) em função da energia (dada em keV). Cada elemento possui energias específicas, dada em quilo-elétron volt (keV), referentes as suas linhas de emissão $K_{\alpha 1}$, $K_{\beta 1}$, $L_{\alpha 1}$ e $L_{\beta 1}$, por meio de uma tabela de linhas de emissão K e L é possível identificar cada elemento.

A figura 1 refere-se ao valor médio das amostras dos grupos de alfaces: com cultivo convencional adquirida no hortifrúti (verde), orgânica adquirida no hipermercado (azul) e orgânica adquirida em uma feira orgânica local (vermelho), amostra de referência.

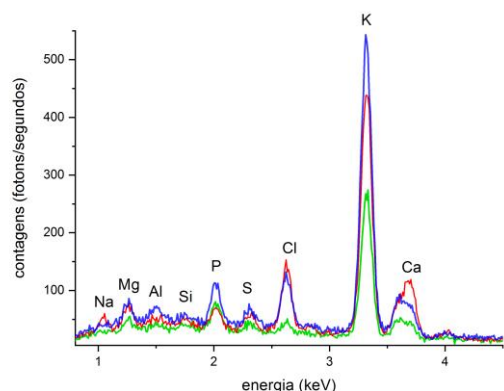


Figura 1. Espectro de energia referente às amostras de alfaces com cultivos convencional (verde), orgânico obtida no mercado (azul) e orgânico adquirido na feira de alimentos orgânicos (vermelho).

Através do espectro de energia mostrado na figura 1 para as amostras de alfaces com cultivo convencional (verde) adquirida no hortifrúti local, observa-se a presença dos elementos Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al e Si em sua composição química. Estes elementos estão de acordo com parte da composição elementar da alface apresentada por

Gonçalves *et al.*^[9]. No espectro de energia representado pela linha azul, referente ao grupo de alface orgânica adquirida no hipermercado, pode-se verificar os mesmos elementos Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al e Si, que também foram encontrados para amostra de cultivo convencional. No entanto, observe que, o pico referente ao elemento K, Cl tem um valor de contagem bastante superior ao da amostra convencional, com 547 fótons/s (contra aproximadamente 274 fótons/s) para o K e 134 fótons/s (contra aproximadamente 50 fótons/s) para o Cl. O espectro de energia obtido para amostra de alface adquirida em uma feira orgânica local, amostra de referência, representado pela linha vermelha mostra os mesmos elementos Na, Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al e Si. Com exceção do sódio (Na) todos os outros elementos são encontrados nas amostras anteriores. Neste espectro, observa-se também o aumento da intensidade dos picos dos elementos K, Cl e Ca em relação à amostra de alface de cultivo convencional. O elemento potássio K apresenta uma contagem de 444 fótons/s (contra aproximadamente 274 fótons/s), para o cloro Cl foi registrado 155 fótons/s (contra aproximadamente 50 fótons/s), enquanto que para o Ca obteve-se 120 fótons/s (contra aproximadamente 53 fótons/s).

De acordo com Quadros *et al.* e Rajj *et al.* os elementos K, Ca, Mg, P e S estão presentes na alface^[19,20]. Enquanto que Costa & Souza afirmam que além destes elementos, outros minerais, o Fe e Na também fazem parte da composição química da alface e seus teores variam de acordo com o cultivo^[21]. Por este motivo, variações nas intensidades de cada espectro foram encontradas, para cada elemento, nas amostras de cultivos diferentes. Mesmo se tratando de uma análise qualitativa, ou seja, que não informa a concentração, as intensidades nos espectros estão relacionadas com o número de fótons que são emitidos pela amostra e que chega ao detector em 1 segundo. Como o tempo foi mantido o mesmo para cada medida, isto indica que chegam no detector mais fótons emitidos por um mesmo átomo em picos de maiores intensidades, pois a amostra que os emitiu apresenta mais átomos deste elemento em sua composição. Nas amostras de alfaces de cultivo orgânico, representadas pelos espectros nas cores azul e vermelha, além dos elementos K, Ca, Mg, Na, S, Fe e P encontrou-se o Cl, Si e Al. O aparecimento excessivo do elemento cloro (Cl) também pode indicar o uso de agrotóxicos organoclorado. Já o

silício (Si) é um mineral presente no solo e também pode ser utilizado para melhorar o rendimento e qualidade da alface^[22]. De acordo com Gonçalves *et al.*, o alumínio também está presente na composição da alface^[9]. Os elementos ausentes foram manganês (Mn), zinco (Zn), ferro (Fe), flúor (F), cobre (Cu), com exceção do flúor todos os outros estão dentro do limite de detecção do equipamento; para detectá-los em estudos futuros, talvez haveria a necessidade de utilizar metodologias na preparação das amostras para aumentar a concentração destes elementos nas mesmas. Aqui não foi usado, porque a integridade da amostra deveria ser mantida. Com exceção do sódio na amostra de alface obtida na feira orgânica as amostras representadas nos espectros de energias da Figura 1 são bem semelhantes em sua composição elementar.

A Figura 2 mostra o gráfico score da análise estatística PCA com agrupamento (cluster) das amostras de: alface orgânica adquirida na feira (F1, F2, F3), alface com cultivo convencional obtidas no hortifrúti (H1, H2, H3) e alface orgânica adquirida no hipermercado (M1, M2 e M3). As amostras H1 e M3 se distanciaram um pouco em relação aos seus agrupamentos devido variações nas intensidades em determinada faixa. Poderia indicar um possível *outlier*, porém elas não foram removidas tendo em vista que fazem parte da população de interesse. Contudo, pode ser que tenha permanecido maior concentração de determinado elemento no ponto irradiado, devido a não homogeneização total no preparo das amostras, aumentando assim a sua intensidade.

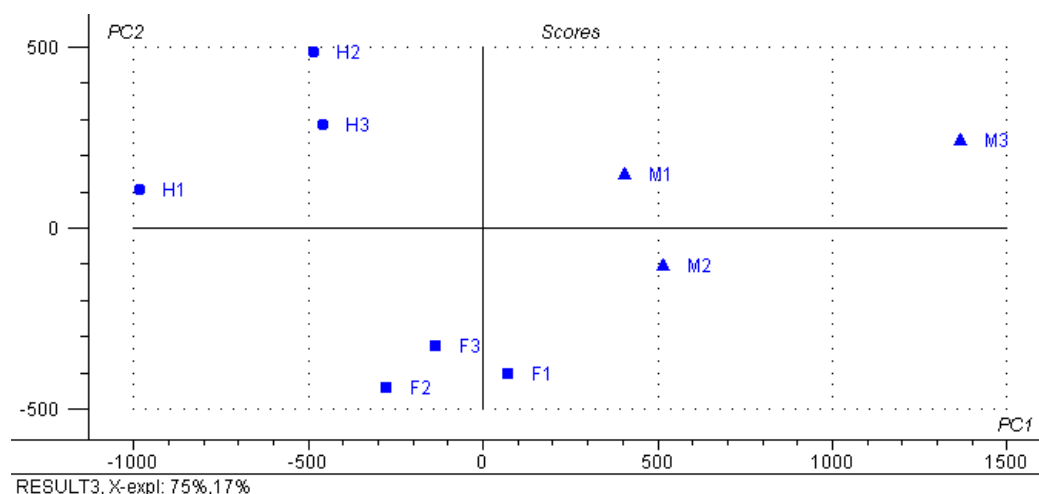


Figura 2. Gráfico score da análise estatística (PCA) mostrando os agrupamentos (clusters) dos dados para as amostras de: alfaces orgânicas adquiridas na feira orgânica (F1, F2 e F3) e no hipermercado (M1, M2 e M3), e alface de cultivo convencional obtidas no hortifrúti (H1, H2 e H3).

Na Figura 2 há formação de cluster. Amostras dentro de um agrupamento são similares, isto nos mostra o alto grau de similaridade entre as amostras irradiadas de cada grupo (F, H e M), principalmente as amostras do grupo F. No lado direito da Figura 2 está o grupo de amostras de alface obtidas no hipermercado, no lado esquerdo se encontra o grupo de amostras de alface de cultivo convencional adquirida no hortifrúti, e no centro na parte inferior está o grupo de amostras de alface da feira orgânica. Analisando a componente principal 1 (PC1), se consideramos um ponto médio em cada grupo, e traçarmos um eixo vertical no ponto médio de F, iremos observar que as distâncias entre os grupos H e M em relação a este eixo são próximas,

opostas e quase equidistantes. Isto indica a similaridade entre os grupos H e M quando comparado com o grupo F obtido na feira. Ou seja, embora as origens e cultivos das amostras dos grupos H e M sejam diferentes a PCA mostrou que as amostras destes grupos são semelhantes entre si, em relação à sua composição elementar, quando comparadas às amostras (controle) do grupo F. Isto já havia sido observado nos espectros de energia da Figura 1. No entanto, os grupos H e M estão opostos ao grupo F. O fator predominante para isto foram os elementos silício (Si) e alumínio (Al) com maiores contagens na composição da amostra do hipermercado. A componente principal PC2 também contribuiu para discriminar as amostras, a

PC2 indicou que as amostras orgânicas adquiridas no hipermercado (grupo M) estão mais próximas das amostras de referência (grupo F), como é de se esperar, pelo fato dela ser de origem orgânica.

CONCLUSÃO

Os elementos encontrados para as amostras de alfaces analisadas por meio da MEV/EDS foram Na, Mg, P, K, Ca, Cl, S, Al e Si. Com exceção da amostra de alface adquirida na feira orgânica, que apresentou o Na em sua composição, todas apresentaram a mesma composição elementar. A MEV/EDS forneceu a maior parte composição química das amostras de alfaces analisadas de maneira rápida (3 minutos), precisa e não destrutiva. A PCA foi utilizada para verificar e discriminar cada grupo de acordo com a sua origem e composição. Através da PC1 foi possível verificar que as amostras H e M obtidas no hortifrúti e hipermercado, respectivamente, são semelhantes entre si, em relação as suas composições químicas, quando comparadas com a amostra controle. Enquanto que a PC2 contribuiu para discriminar as amostras em relação ao seu cultivo, indicando que as amostras orgânicas adquiridas no hipermercado estão mais próximas das amostras da feira orgânica, amostra controle.

COLABORADORES

Leandro da Conceição Luiz responsabilizou-se pela elaboração do artigo e análise estatística dos dados. Caroline da Rocha C. de Souza, Kamila de Carvalho Gonçalves prepararam as amostras e realizaram as medidas experimentais. Deborah Demarque Martins da Silva responsabilizou-se pela revisão crítica do manuscrito. Renata Macedo dos Reis Januário da Silva responsabilizou pela elaboração e revisão do artigo e preparação das amostras. Rafaela Tavares Batista responsabilizou-se pela revisão do manuscrito e análise estatística dos dados. Renato Pereira de Freitas responsabilizou-se pela realização das medidas e análise espectral dos dados.

REFERÊNCIAS

[1] Santos MS. Risco microbiológico do consumo de saladas cruas e cozidas servidas em restaurantes self servisse em Cruz das Almas, Bahia e a eficiência da água sanitária na higienização das

hortaliças. (dissertação). Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; 2014.

[2] Figueiredo ICB, Jaime PC, Monteiro CA. Fatores associados ao consumo de frutas, legumes e verduras em adultos da cidade de São Paulo. *Revista Saúde Pública*; 2008;42(5):777-785.

[3] Canella DS, Louzada MLC, Claro RM, Costa JC, Bandoni DH, Levy RB, Martins APB. Consumo de hortaliças e sua relação com os alimentos ultraprocessados no Brasil. *Rev. Saúde Pública*; 2018;52(50):1-11.

[4] Blat SF, Sanchez SV, Araújo JAC, Bolonhezi D. Desempenho de alface crespa em dois ambientes de cultivo em sistema hidropônico. *Horticultura Brasileira*. 2011;29(1):135-138.

[5] Sala FC, Costa CP. “Pira Roxa”: Cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. *Horticultura Brasileira*; 2005;23:158-159.

[6] EMBRAPA/SEBRAE. Catálogo Brasileiro de hortaliças: Saiba como plantar e aproveitar 50 das espécies mais comercializadas no país. Brasília: EMBRAPA/SEBRAE; 2010.

[7] Medina PVL, Silva VF, Cardoso AA, Campos JP. Perda na qualidade da alface (*Lactuca sativa* L.) durante o armazenamento. I. Relação entre as mudanças metabólicas. *Revista Ceres*. 1982;29(163):259-267.

[8] Pereira TS, et. al. Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. *Revista Verde*. 2014;9(4):168-172.

[9] Gonçalves TO, De Paula CLB, Serafim PHA, Coringa EAO. Teor de Metais em Alface (*Lactuca Sativa* L.) do Tipo Crespa e americana cultivadas em sistema hidropônico e convencional. In: Livro de Resumos do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; 24 – 27 agosto; Gramado, Rio Grande do Sul: SBCTA; 2016.

[10] Souza JL, Resende PL. Manual de horticultura orgânica. Viçosa: Aprenda Fácil; 2003. p. 564.

[11] Hamerschmidt I. Agricultura orgânica: conceituações e princípios. In: Anais do 38º

Congresso Brasileiro de Olericultura; Petrolina, Pernambuco: (organização); 1998.

[12] Mendes TO, Rocha RA, Porto BLS, Oliveira MAL, Anjos VC, Bell MJV. Quantification of Extra-virgin Olive Oil Adulteration with Soybean Oil: a Comparative Stud of NIR, MIR, and Raman Spectroscopy Associated with Chemometric Approaches. *Food Analytical Methods*; 2015.

[13] Konopka J, Wall M. Analysis of Food Packaging Layered Polymers by SEM/EDS and Raman. *Microsc. Microanal.* 2016;23:126-127.

[14] Luiz LC, Bell MJV, Rocha RA, Leal NL, Anjos VC. Detection of veterinary antimicrobial residues in milk through Near Infrared absorption spectroscopy. *Journal of Spectroscopy.* 2018:1-6.

[15] Guerra MBB, Adame A, Almeida E, Brasil MAS, Schaefer CEGR, Krug FJ. In situ Determination of K, Ca, S and Si in Fresh Sugar Cane Leaves by Handheld Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 2018;29(50):1086-1093.

[16] Sant'Ana LD, Sousa VC, Santos FR, Sabino BD, Cardoso A, Lima MEF, Castro RN. Evaluation of Cocaine Samples Seized in the Streets of the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Química Nova.* 2019;42(4):379-386.

[17] Luiz LC, Varella CSF, Silva DDM, BrandãoSemina DL, Batista RT, Freitas RP. Utilizando espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para comparação de medicamentos genéricos e similar com o seu referência. *Revista Brasileira de Ciências em Saúde.* 2015;19(3):179-186.

[18] Luiz LC. Espectroscopia óptica para detecção de resíduos de antibióticos em leite. (tese). Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora; 2019.

[19] Quadros BR, Magri FO, Corrêa CV, Cardoso AII. Teor de macronutrientes na parte aérea e sementes de plantas de alface em função de doses de composto orgânico com e sem adição de fósforo ao solo. *Semina: Ciências Agrárias;* 2011;32:1725-1734.

[20] Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC. Recomendações de adubação e colagem para o

Estado de São Paulo. Campinas: Inst. Agrônômico & Fundação IAC; 1997. p. 285

[21] Costa TP, Souza PM. Qualidade Nutricional e determinação de compostos tóxicos em alface (*Lactuca sativa* L.) e tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill). Diamantina - Minas Gerais. Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri. 2017.

[22] Resende GM, Yuri JE, Mota JH, Freitas SAC, Rodrigues JC, Souza RJ, Carvalho JG. Adubação foliar com silício em alface americana (*Lactuca sativa* L.) em cultivo de verão. *Horticultura Brasileira.* 2003; 21(2): Suplemento CD.