Universidade Federal de Pelotas

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Química

Tese de Doutorado

Determinação Elementar, Fração Bioacessível e Proteínas em Amostras de Carne Ovina *in natura* e Termicamente Processadas

Daisa Hakbart Bonemann

Pelotas, junho de 2023.

Daisa Hakbart Bonemann

Determinação Elementar, Fração Bioacessível e Proteínas em Amostras de Carne Ovina *in natura* e Termicamente Processadas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química (Área de concentração: Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Dillenburg Meinhart

Pelotas, junho de 2023.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B712d Bonemann, Daisa Hakbart

Determinação elementar, fração bioacessível e proteínas em amostras de carne ovina *in natura* e termicamente processadas / Daisa Hakbart Bonemann ; Anderson Schwingel Ribeiro, orientador ; Adriana Dillenburg Meinhart, coorientadora. — Pelotas, 2023.

117 f.

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

1. Ovino. 2. Planejamento multivariado. 3. Processamento térmico. 4. Mip OES. 5. GF AAS. I. Ribeiro, Anderson Schwingel, orient. II. Meinhart, Adriana Dillenburg, coorient. III. Título.

CDD : 636.313

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

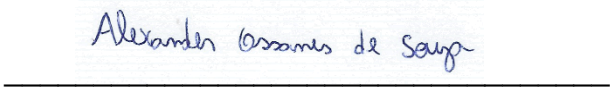
A banca examinadora,abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado intitulada **“Determinação Elementar, Fração Bioacessível e Proteínas em Amostras de Carne Ovina *in natura* e Termicamente Processadas”**, de autoria de Daisa Hakbart Bonemann.

Data da defesa: 16/06/2023

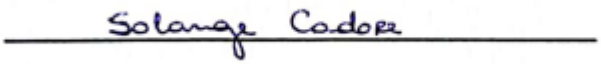
Banca examinadora:

Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro (Orientador - UFPel)

Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra (UFPel)



Prof. Dr. Alexander Ossanes de Souza (CENA - USP)



Profª. Drª Solange Cadore (UNICAMP)

Dedico este trabalho:

- A Deus;

- Aos meus pais Vanilda e Delcio;

- Ao meu irmão Diego;

Por toda proteção, confiança, apoio, amor, paciência e incentivo.

Agradecimentos

A Deus pelo dom da vida, por me guiar, proteger e auxiliar em toda a minha trajetória acadêmica me proporcionando chegar até aqui. Sem Ele ao meu lado nada disso seria possível.

Aos meus pais, Delcio e Vanilda, por estarem sempre ao meu lado, me aconselhando, chorando e sorrindo comigo, por sempre ter aquela palavra de carinho, apoio e amor. Por toda a paciência, compreensão e tudo que me proporcionaram. Em especial, á minha mãe por ser essa mulher guerreira, pela força que tem. Eu me orgulho muito de ser tua filha! Mãe, obrigada por tudo! Amo vocês!

Ao meu irmão Diego por ter sido o maior incentivador, apoiador e o melhor amigo que eu poderia ter. Por toda ajuda, preocupação, por me levar e buscar sempre que preciso. Por toda paciência, apoio, amor, carinho, conselhos, ombro amigo e por ser este irmão incrível que és. Tu és o melhor, te amo!!

Ao meu namorado Tiago Scheunemann por todo o incentivo, apoio, ajuda e paciência. Por cada conversa, por cada palavra de conforto e de carinho. Te amo! Obrigada por tudo!

Á minha afilhada, Asiha Benemann, que é uma bênção de Deus na minha vida! Obrigada pelo teu carinho e apoio. A dinda te ama!

A Sandra e o Gilvani por estarem sempre por perto quando mais precisei, por toda ajuda, amizade, ombro amigo e confiança. E a Shana Benemann por ser minha afilhada de coração e por todo amor e carinho que transmite. Obrigada por serem os melhores compadres e amigos.

Aos familiares, por sempre me apoiarem, pela preocupação, carinho e pelo incentivo durante toda a minha trajetória acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro, por ter me dado todo o apoio e confiado em mim desde a iniciação científica, mestrado e agora o doutorado. Por toda ajuda e conhecimentos transmitidos ao longo desses anos de laboratório, durante a realização deste trabalho e, por confiar em mim a missão de gerenciar o laboratório neste últimos dois anos. Tudo isso me fez crescer profissionalmente e me trouxe grandes aprendizados. Muito obrigada!

A Profª. Drª. Mariana Antunes Vieira e a Profª. Drª. Adriane Medeiros Nunes, por todos os ensinamentos, pelo carinho, amizade, pelas conversas, conselhos e toda a ajuda nesse tempo de convívio.

A minha co-orientadora Profª. Drª Adriana Dillenburg Meinhart pela oportunidade de aprendizado, conhecimentos compartilhados e pela confiança depositda em mim.

Ao Charlie Guimarães Gomes, que se tornou muito mais que um colega de pós graduação. Se tornou um grande amigo para todas as horas, nas boas e nas ruins, com quem convivi diariamente por mais de 5 anos no laboratório. Obriga por toda a tua ajuda, por dividir as tarefas, trocar conhecimentos, discutir os resultados, organizar a rotina e, principalmente, pela tua amizade, por toda ajuda nos testes estatísticos Não podemos esquecer, da pandemia, onde nosso convivio só se fortaleceu e nossa união e persistência nos fez seguir em frente!

A Sabrina Harter Scherdien, pela companhia, amizade, momentos de discontração, mas também de muito trabalho, discussão de resultados e cafés.

A Profa. Dra. Ana Renata Louzada, muito obrigada por dividir tuas experiências, conhecimentos e tua amizade ao longo do teu trabalho no laboratório, principalmente durante a pandemia.

A Yasmin Bloedorn e a Jéssica da Rosa Porto, por confiarem em mim a missão de orientá-las nos trabalhos de conclusão de curso e, logo após ingressarem no mestrado, se tornando colegas de pós, de laboratório e grandes amigas. Com vocês pude aprender muito nesse período de estágio e pude transmitir o conhecimento dentro do laboratório. Vocês se tornaram grandes amigas que levarei comigo, além dos momentos de muitas risadas e comilanças.

Ao Prof. Dr. Wiliam Boschetti que em menos de seis meses de convívio se tornou um grande amigo, sempre disposto a ajudar e a discutir qual melhor caminho a seguir após avaliar os resultados. Muito obrigada por toda a tua ajuda e paciência em parte desse trabalho.

Aos alunos de iniciação científica que tive o prazer de conviver e trabalhar, Eduardo, Miguel, Nicolle, Mariana, Karine, Vitória, Ludmilla, Adryo, Lucas, muito obrigada por toda a ajuda, pela convivência, momentos de discontração e pela dedicação de vocês. Vocês fazem parte deste trabalho.

A colega de Pós graduação Catarine, pelo convivio diário e conversas.

Aos grandes colegas e amigos que fiz durante minha trajetória pelo LabMeQui, Camila, Ana Cláudia, Eliézer e Alexander, obrigada por todo o conhecimento transmitido, por toda a paciência e dedicação, por sempre buscarem o melhor e estarem dispostos a ajudar. Obrigada por tudo, principalmente pela ajuda, amizade, companheirismo, churrascos e confraternizações ao longo dos anos que convivemos diariamente. E, mesmo longe fisicamente nunca se negaram quando procurei para tirar alguma dúvida.

Aos demais colegas do LabMeQui pelas conversas e ajudas prestadas ao longo deste período.

Aos membros da banca, Profª. Drª. Solange Cadore; Dr. Alexander Ossanes de Souza e Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra, por aceitarem o convite e por todas as contribuições. Muito obrigada!

A Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade de realizar minha graduação e a pós graduação, pelos excelentes professores e ensinamentos durante a minha formação.

A Capes e ao CNPq pelo apoio financeiro para execução deste trabalho.

O meu sincero agradecimento a todos que me incentivaram e apoiaram durante a minha formação acadêmica!! Muito obrigada!

Resumo

BONEMANN, Daisa Hakbart. **Determinação Elementar, Fração Bioacessível e Proteínas em Amostras de Carne Ovina *in natura* e Termicamente Processadas.** 2023. 117f. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós- Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A carne ovina é fonte de diversos nutrientes como proteínas e elementos químicos essenciais, como, por exemplo, Ca, Fe, K, Mg, P e Zn, porém, pode apresentar elementos químicos não essenciais, como, por exemplo, Cd e Pb. A presença de elementos químicos pode ser proveniente do sistema de criação, localização do rebanho e idade de abate. Antes de ser consumida, a carne pode passar por diferentes tratamentos térmicos como cocção em água, fritar, assar, entre outros. O preparo da carne para o consumo pode acarretar alterações na disponibilidade dos nutrientes, interferindo na sua absorção pelo sistema digestivo, ou seja, sua biodisponibilidade. Diante disso, o presente trabalho tem por objetivo otimizar um método de decomposição ácida em sistema de refluxo para determinar a concentração elementar de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn pela técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) em amostras de carne ovina *in natura*, submetidas a três tratamentos térmicos (cocção em água, micro-ondas e forno convencional) e a fração bioacessível após tratadas termicamente. Além disso, determinar a concentração de Cd e Pb pela técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e a porcentagem de proteínas nas amostras de carne ovina pelo método Kjeldahl. Para isso, as melhores condições de decomposição, utilizando o sistema de refluxo, foram otimizadas através de um planejamento multivariado que avaliou as variáveis independentes (tempo de decomposição, temperatura do bloco digestor e volume de H_2O_2). Massa de amostra e volume de HNO_3 foram fixados em 1 g e 5 mL, respectivamente. As melhores condições de decomposição obtidas foram 140 °C para temperatura, 187 min para o tempo e 1,8 mL de H_2O_2, os quais foram determinados por MIP OES e Cd e Pb por GF AAS. A exatidão dos resultados foi avaliada através de materiais de referência certificado de carnes e os valores obtidos foram concordantes com os valores certificados de acordo com o teste t de Student a 95% de confiança. Para Al e Ba foi realizado teste de adição de analito e obteve-se recuperações variando de 83 a 110%. Nas amostras *in natura* as concentrações variaram de 2,77 a 6,69 mg kg^{-1} para Al; 0,25 a 0,27 mg kg^{-1} para o Ba; 0,95 a 2,75 mg kg^{-1} para o Cu; 33,5 a 111 mg kg^{-1} para o Fe; 3.609 a 5.697 mg kg^{-1} para o K; 202 A 381 mg kg^{-1} para o Mg; 0,113 a 0,711 mg kg^{-1} para o Mn; 329 a 771 mg kg^{-1} para o Na e 31,2 a 99,4 mg kg^{-1} para o Zn. O Pb apresentou em todas as amostras valores abaixo do limite de detecção do método. Já o Cd apresentou concentrações variando de 16,9 a 96,8 µg kg^{-1}. Em relação aos tratamentos térmicos, o método por micro-ondas foi o que apresentou as menores perdas de elementos. Já o forno convencional apresentou as maiores perdas para Al, Ca, Fe e Zn e a cocção em água para K, Mg e Na. Os valores de Mn, Cd e Pb ficaram abaixo do limite de detecção do método para os três métodos de tratamento térmico. A fração bioacessível foi superior a 50 % para o K nos três

tratamentos térmicos; para o Cu e o Mg as maiores frações bioacessíveis foram no tratamento por forno variando de 46 a 83% e 39 a 98%, respectivamente. O Fe apresentou maior fração bioacessível no tratamento por micro-ondas variando de 15 a 31% e o Zn foi o elemento que apresentou as menores frações bioacessíveis para os três tratamentos variando entre 0,2 e 3,2%; 0,7 e 3,2% e 0,9 e 25% para as amostras cozidas em água, assadas em forno micro-ondas e forno convencional, respectivamente. As proteínas apresentaram teor variando de 18 a 20,5 % para a carne ovina *in natura* e maior porcentagem nas amostras tratadas no forno micro-ondas de 33,35 % a 49,93 % (g/100g). Sendo assim, esses resultados indicam que os diferentes métodos de cozimento afetam a composição química e o valor nutricional da carne. No entanto, o método de preparo por micro-ondas apresenta-se como uma melhor alternativa de preparo, preservando mais as características nutricionais da carne.

Palavras-chave: Ovinos, planejamento multivariado, tratamento térmico, sistema de refluxo, MIP OES, GF AAS, proteína, fração bioacessível.

Abstract

BONEMANN, Daisa Hakbart. **Elemental Determination, Bioaccessible Fraction and Proteins in Fresh and Thermally Processed Sheep Meat Samples** 2023. 117f. Thesis (Doctorate Degree in Chemistry) - Graduate Program in Chemistry, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Sheep meat is a source of manifolds nutrients such as proteins and essential chemical elements as Ca, Fe, K, Mg, P and Zn, however, it may have non-essential chemical elements such as Cd and Pb. The presence of these elements may come from the nurture system, location of the flock and slaughter age. Before being consumed, meat can undergo different heat treatments such as cooking in water, frying, roasting, among others. The different treatments can change the availability of nutrients, such as proteins and essential elements, and may interfere with the absorption of these nutrients by the digestive system, in other words, their bioaccessibility. In this scenario, the present work aims to optimize a method of acid decomposition in a reflux system to determine the elemental concentration of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn by the emission spectrometry technique Microwave induced plasma optics (MIP OES) in samples of Sheep meat submitted to three heat treatments (cooking in water, microwave and conventional oven) and the bioacessible fraction after heat treatment. In addition, it is intended to determine the concentration of Cd and Pb by the technique of atomic absorption spectrometry with graphite furnace (GF AAS) and also the percentage of proteins in the samples of sheep meat by the Kjeldahl method, for this, the best conditions of decomposition , using the reflux system, were optimized through a multivariate design that evaluated the independent variables (decomposition time, digester block temperature and H_2O_2 volume). Sample mass and volume of HNO_3 were fixed at 1 g and 5 mL, respectively. The best decomposition conditions obtained for the elements Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn were 140 °C for temperature, 187 min for time and 1.8 mL of H_2O_2, which were determined by MIP OES and Cd and Pb by GF AAS. The accuracy of the results was evaluated using certified meat reference materials and the values obtained were consistent with the certified values according to Student's t-test at 95% confidence. For Al and Ba, an analyte addition test was performed and recoveries ranging from 83 to 110% were obtained. In natura samples, concentrations ranged from 2.77 to 6.69 mg kg^{-1} for Al; 0.25 to 0.27 mg kg^{-1} for Ba; 0.95 to 2.75 mg kg^{-1} for Cu; 33.5 to 111 mg kg^{-1} for Fe; 3,609 to 5,697 mg kg^{-1} for K; 202 A 381 mg kg^{-1} for Mg; 0.113 to 0.711 mg kg^{-1} for Mn; 329 to 771 mg kg^{-1} for Na and 31.2 to 99.4 mg kg^{-1} for Zn. Pb showed values below the detection limit of the method in all samples. Cd, on the other hand, presented concentrations ranging from 16.9 to 96.8 µg kg^{-1}. Regarding heat treatments, the microwave method was the one that presented the lowest losses of elements. The conventional oven presented the highest losses for Al, Ca, Fe and Zn and cooking in water for K, Mg and Na. The Mn, Cd and Pb values were below the method detection limit for the three heat treatment methods. The bioacessible fraction was greater than 50% for K in the three heat treatments; for Cu and Mg the highest bioacessible fractions were in the oven treatment, ranging from 46 to 83% and 39 to 98%, respectively. Fe presented the

highest bioacessible fraction in the microwave treatment, ranging from 15 to 31% and Zn was the element that presented the lowest bioacessible fractions for the three treatments, ranging from 0.2 to 3.2%; 0.7 and 3.2% and 0.9 and 25% for samples cooked in water, baked in microwave oven and conventional oven, respectively. Protein content varied from 18 to 20.5% for fresh lamb meat and a higher percentage in samples treated in the microwave oven from 33.35% to 49.93% (g/100g). Therefore, these results indicate that different cooking methods affect the chemical composition and nutritional value of meat. However, the microwave preparation method presents itself as a better preparation alternative, preserving more the nutritional characteristics of the meat.

Keywords: Sheep, multivariate design, heat treatment, reflux system, MIP OES, GF AAS, protein, bioaccessible fraction.

Lista de Figuras

Figura 1	Produção mundial de cabeças de ovinos de 2011 a 2021.....	23
Figura 2	Produção brasileira de cabeças de ovinos de 2011 a 2021.....	24
Figura 3	Distribuição brasileira da criação de ovinos.....	24
Figura 4	Sistema de criação intensivo de ovinos.....	27
Figura 5	Sistema de criação extensivo de ovinos.....	27
Figura 6	Divisão da carcaça ovina em cortes comerciais.....	29
Figura 7	Tipos de cortes comerciais.....	30
Figura 8	Esquema do sistema de refluxo acoplado ao tubo digestor.....	39
Figura 9	GF AAS comercial com ampliação do atomizador.....	44
Figura 10	Atomizador do GF AAS.....	45
Figura 11	MIP OES com seus principais componentes.....	47
Figura 12	Sistema de introdução de amostras no modo convencional.....	48
Figura 13	Aplicações da técnica de MIP OES nos últimos 10 anos.....	48
Figura 14	Superfícies de respostas para Ba, Ca, Fe e K.....	71
Figura 15	Superfícies de respostas de Mg, Na e Zn.....	72
Figura 16	Estudo da massa de modificadores Pd/Mg.....	74
Figura 17	Otimização das temperaturas de pirólise e atomização para o Cd com adição de 5 µg de Pd e 3 µg de Mg.....	75
Figura 18	Análise de componentes principais.....	80
Figura 19	Porcentagens de perdas em relação aos tratamentos térmicos para Al, Ca, Cu e Fe.....	89
Figura 20	Porcentagens de perdas em relação aos tratamentos térmicos para K, Mg, Na e Zn.....	89

Lista de Tabelas

Tabela 1	Métodos de preparo de amostras em diferentes partes da carcaça ovina.....	38
Tabela 2	Parâmetros instrumentais utilizados para as determinações multielementares por MIP OES.....	53
Tabela 3	Variáveis e níveis estudados no planejamento multivariado para a otimização das condições de decomposição das amostras.....	57
Tabela 4	Programa de tempo e temperatura do forno de grafite para a determinação de Cd e Pb em amostras de carne ovina tratadas em meio de HNO_3.....	59
Tabela 5	Parâmetros de mérito obtidos por MIP OES para as determinações das concentrações dos elementos investigados.....	66
Tabela 6	Parâmetros de mérito obtidos para Cd e Pb por GF AAS.....	66
Tabela 7	Variáveis codificadas e decodificadas do planejamento multivariado e respostas obtidas expressas em concentrações.....	67
Tabela 8	Coeficientes significativos dos modelos e seus respectivos erros para os elementos determinados.....	68
Tabela 9	Condições de desejabilidade empregadas para otimização simultânea da decomposição ácida para quantificação de metais em amostras de carne ovina, respostas previstas pelos modelos e valores observados experimentalmente (mg kg^{-1}).....	73
Tabela 10	Concentrações obtidas para os elementos investigados nos CRMs por MIP OES.....	77
Tabela 11	Concentrações obtidas para Cd e Pb no MR 2018 e CRM 1577c por GF AAS.....	77
Tabela 12	Resultados dos testes de adição de analito na amostra A para Al e Ba por MIP OES e Cd e Pb por GF AAS.....	78
Tabela 13	Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina *in natura* obtidas por MIP OES.....	79
Tabela 14	Resultados das concentrações totais de Cd nas amostras de carne ovina *in natura* obtidas por GF AAS.....	83

Tabela 15 Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina cozidas em água (CA) obtidas por MIP OES..... 86

Tabela 16 Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina assada em forno micro-ondas (M) obtidas por MIP OES..... 87

Tabela 17 Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina assada em forno convencional (F) obtidas por MIP OES..... 88

Tabela 18 Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB), fração bioacessível (FB), concentração não bioacessível (CNB), fração não bioacessível (FNB) e balanço de massa em % (BM) em amostras carne ovina cozidas em água (CA), micro-ondas (M) e forno convencional (F)..... 91

Tabela 19 Resultados da concentração bioacessível (CB) em mg kg^{-1} e porcentagem da fração bioacessível (% FB) nas amostras de carne ovina cozida em água (CA), assada em forno micro-ondas (M) e assada em forno convencional (F) dos diferentes munícipios..... 93

Tabela 20 Teor de proteína em % (g/100g de carne) nas amostras de carne ovina *in natura*, cozida em água (CA); assada em forno micro-ondas (M) e assada m forno convencional (F), determinada pelo método *Kjeldahl*..... 99

Lista de abreviaturas e siglas

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Dispositivo de carga acoplada, do inglês *Coupled charge device*
CRM	Material de referência certificado, do inglês *Certified reference Material*
EDL	Lâmpada de descarga sem eletrodos, do inglês *Electrodeless Discharge Lamp*
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
F AES	Espectrometria de Emissão Atômica em Chama, do Inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês *Food and Drug Administration*
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno Grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical* Emission Spectrometry
IDR	Ingestão diária recomendada
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LD	Limite de detecção, do inglês *Limit of detection (LOD)*
LQ	Limite de quantificação, do inglês *Limit of quantification (LOQ)*
MIP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*

MR	Material de Referência
PTFE	Politetrafluoroetileno
RS	Rio Grande do Sul
RSD	Desvio-padrão relativo, do inglês *Relative standard deviation*
SD	Desvio-padrão, do inglês *Standard deviation*
SENAR	Serviçi Nacional de Aprendizagem Rural
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, do inglês *United States Department of Agriculture*

Sumário

1. Introdução..... 20

2. Revisão da literatura..... 23

2.1. Produção e consumo de carne ovina..... 23

2.2. Classificação em relação a idade..... 25

2.3. Sistemas de criação e alimentação..... 26

2.4. Processo de abate..... 28

2.5. Tipos de corte..... 28

2.6. Características nutricionais da carne ovina..... 30

2.6.1. Proteínas..... 31

2.6.2. Elementos essenciais..... 31

2.7. Principais fintes de contaminação da carne ovina..... 32

2.8. Métodos de cocção..... 33

2.9. Determinação elementar..... 35

2.9.1. Preparo de amostras..... 35

2.9.2. Bioacessibilidade..... 40

2.10. Otimização Multivariada..... 42

2.11. Técnicas de espectrometria para determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos..... 44

2.11.1. Espectrometria de Absorção atômica com forno de grafite..... 44

2.11.2. Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas..... 46

2.12. Tratamento de dados..... 50

3. Objetivos..... 51

3.1. Objetivo geral..... 51

3.2. Objetivos específicos..... 51

4. Experimental..... 52

4.1. Instrumentação..... 52

4.2. Reagentes..... 53

4.3. Amostras..... 54

4.4. Teor de umidade..... 55

4.5. Otimização multivariada do método de decomposição..... 55
4.6. Decomposição ácida com sistema de refluxo..... 56
4.7. Determinação da acidez e carbono residual..... 57
4.8. Determinação de Cd e Pb por GF AAS..... 57
4.9. Parâmetros de mérito..... 58
4.10. Avaliação da exatidão..... 59
4.11. Tratamento térmico..... 60
4.12. Fração bioacessível..... 60
4.13. Determinação de proteínas..... 61
4.14. Tratamento estatístico..... 62
5. Resultados e discussão..... 63
5.1. Teor de umidade e acidez..... 63
5.2. Parâmetros de mérito..... 64
5.3. Otimização das condições de decomposição..... 65
5.4. Condição ótima de decomposição e validação..... 72
5.5. Otimização das condições do programa de aquecimento por GF AAS..... 73
5.6. Avaliação da exatidão..... 75
5.7. Determinação da concentração total em amostras de carne ovina..... 77
5.8. Determinação da concentração total de Cd e Pb por GF AAS..... 82
5.9. Determinação da concentração total das amostras tratadas termicamente..... 83
5.10. Determinação da fração bioacessível nas amostras tratadas termicamente..... 90
5.11. Contribuição para o valor nutricional dos elementos bioacessíveis..... 96
5.12. Teor de proteínas na carne ovina..... 98
6. Conclusão..... 101
REFERÊNCIAS..... 103

1. Introdução

O consumo de carnes é de grande importância para a dieta humana, pois possuem uma grande variedade de nutrientes benéficos a saúde. Além de uma variedade de aminoácidos, que são constituintes das proteínas, capazes de suprir as necessidades diárias de proteínas. Possuem baixo teor de carboidratos e são excelentes fontes de elementos essenciais para o desenvolvimento e manutenção do organismo humano. Diversos tipos de carnes são consumidos pelo mundo, acarretando uma grande demanda por esses produtos (Nunes *et al*., 2013; Menezes *et al*., 2018; Pereira *et al*., 2021).

A carne ovina está entre os tipos de carnes que são consumidos mundialmente, embora esse consumo ainda seja bem inferior a outros tipos (bovina, suína e frango). No entanto, é observado um aumento no consumo brasileiro de carne ovina, o que pode estar relacionado ao crescimento da população e da faixa rentável, os novos hábitos alimentares e culturais (Montossi *et al*., 2013; Vital *et al*., 2018; Higueira *et al*., 2022).

Esse aumento no consumo também pode estar relacionado com mudanças de hábitos alimentares e os fatores nutricionais que a carne ovina apresenta que já são relatados na literatura. Dentre eles, a elevada quantidade de proteínas, além de vitaminas e elementos essenciais como Ca, Fe, K, P e Zn. (Montossi *et al*., 2013; Ikem *et al*., 2015; Ponnampalam *et al*., 2016; Pereira *et al*., 2021). Porém, no Brasil, ainda são poucos os estudos da literatura que relatam as características nutricionais deste tipo de carne. Além disso, a qualidade nutricional da carne pode ser afetada pelos sistemas de criação, espécies e alimentação disponível para os animais (Menezes *et al*., 2018; Monahan *et al*., 2018; Pereira *et al*., 2021; Wang *et al*., 2021).

A alimentação tem grande influência na disponibilidade de elementos essenciais presentes na carne, podendo acarretar a contaminação por meio de elementos potencialmente tóxicos (Al, Ba, Cd, Cr e Pb) (Campos *et al*., 2018; Wang *et al*., 2019). Esses elementos podem estar naturalmente presentes na carne ou ser provenientes de contaminação ambiental, por meio de atividades naturais ou antropogênicas, as quais incluem as atividades agrícolas, como a aplicação de agrotóxicos e fertilizantes nos solos, nos quais são semeadas as pastagens ou em áreas próximas a criação do rebanho. Além disso, descarte de resíduos industriais, lixiviação dos contaminantes presentes no solo para os rios próximos a criações, água

de açudes, barragens ou córregos que os animais ingerem, além da utilização de medicamentos no tratamento de doenças também podem acarretar a presença de elementos potencialmente tóxicos na carne (Marques *et al*., 2011; Oreste *et al*., 2013b; Aranha *et al*., 2016; Wang *et al*., 2019).

Antes de serem consumidas, as carnes podem passar por diferentes métodos de cocção, os quais são importantes meios para facilitar a digestão e absorção pelo organismo. Além disso, a cocção adequada da carne desempenha um papel crucial na eliminação ou redução dos microrganismos patogênicos que podem estar presentes na carne crua. O calor aplicado durante a cocção atinge temperaturas capazes de eliminar ou inativar esses microrganismos, tornando a carne segura para consumo. Os processamentos térmicos da carne, como grelhar, cozinhar, assar, fritar, acarretam alterações físico-químicas em sua composição que podem melhorar ou piorar a biodisponibilidade de alguns nutrientes (Menezes *et al*., 2018; Higueira *et al*., 2021). Além disso, afetam a qualidade final do produto por diversos motivos, como perda de vitaminas, elementos essenciais, umidade, teor de proteínas e, ainda ocorrer a lixiviação de elementos potencialmente tóxicos juntamente com água que é perdida pela carne no cozimento (Goran *et al*., 2016).

Para avaliar a quantidade de nutrientes que é perdida durante o processamento térmico, se faz necessário a determinação da concentração dos mesmos nas amostras *in natura* e processadas termicamente. Sendo assim, é necessário o uso de métodos de preparo de amostras, com o intuito de converter a amostra em uma forma adequada para posterior quantificação em um instrumento de análise (Krug & Rocha, 2016; Thirumdas *et al*., 2019; Md Noh *et al*., 2020). Com isso, são necessários estudos das variáveis que afetam a etapa de preparo de amostras. Esses estudos são realizados através de planejamentos multivariados para otimização simultânea de duas ou mais variáveis em diferentes níveis (Candioti *et al*., 2014; Bezerra *et al*., 2019; Ferreira *et al*., 2019).

No entanto, determinar somente a concentração total dos elementos presentes nas amostras *in natura* ou processadas termicamente não é o suficiente para avaliar os riscos e os benefícios da sua ingestão. Sendo assim, é extremamente importante determinar a concentração bioacessível dos elementos, fornecendo informações da quantidade que pode ser liberada do alimento para ser posteriormente absorvida pelo organismo, ou seja, sua bioacessibilidade. Essa determinação pode ser realizada utilizando métodos *in vitro*, os quais simulam as etapas do sistema digestivo humano

(Pereira *et al*., 2018; Bonemann *et al.*, 2021; De Souza *et al*., 2021; Louzada *et al*., 2022).

Outro fator importante para a determinação dos elementos é a utilização de técnicas analíticas com uma boa detectabilidade, já que esses analitos podem ser encontrados em baixas concentrações, viabilizando a determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em amostras de carne ovina. Isso se faz necessário, uma vez que é extremamente importante o controle de qualidade do alimento que chega ao consumidor e, no caso, da carne ovina a determinação dos elementos que oferecem algum risco a saúde do consumidor ainda são pouco relatados. Uma técnica que é interessante para esse tipo de análise é a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES), a qual é uma técnica multielementar e utiliza para a manutenção do plasma, o gás nitrogênio, o qual pode ser retirado do ar atmosférico utilizando um gerador de nitrogênio, que pode ser acoplado ao instrumento (Müller *et al*., 2020; Bonemann *et al*., 2021; Louzada *et al*., 2022). Outra técnica utilizada para a quantificação de elementos em níveis traço (µg kg^{-1}) é a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) que é uma técnica que apresenta alta sensibilidade, baixos limites de detecção (LD), além de se fazer necessário somente uma pequena quantidade de amostra para análise, normalmente em torno de 20 a 50 µL (De Souza *et al*., 2015; Oliveira *et al*., 2016).

Diante dos benefícios que a carne ovina apresenta e a falta de informações relacionada aos nutrientes após diferentes métodos de processamento térmico, o presente trabalho tem por objetivo determinar a concentração elementar total nas amostras de carne ovina *in natura*, processadas termicamente, bem como o teor de proteínas. Além disso, determinar a fração bioacessível dos elementos nas amostras de carne ovina tratadas termicamente.

2. Revisão da literatura

2.1. Produção e consumo de carne ovina

O consumo de carne varia significativamente entre os países e regiões, influenciado por fatores culturais, econômicos e de disponibilidade de alimentos. Tradicionalmente, os países ocidentais têm um consumo per capita mais elevado de carne em comparação com os países em desenvolvimento. No entanto, com o aumento da renda e da urbanização em muitos países em desenvolvimento, o consumo de carne também tem crescido nessas regiões. As carnes bovina, suína e de frango são as mais consumidas em escala global (Guerrero *et al*., 2013; Menezes *et al*., 2018).

No entanto, a carne ovina vem apresentando um aumento na sua produção e consumo. Através dos dados publicados pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), é possível observar um aumento mundial na produção de ovinos até 2021, conforme mostrado na Figura 1. Além disso, a FAO projeta mais um aumento de 14 % na produção mundial até 2028 (OECD/FAO, 2019; FAOSTAT, 2023). Esse crescimento pode ser atribuído, principalmente, ao aumento no consumo, rápido retorno econômico proporcionado pela atividade, melhor aproveitamento da área de pastagem, pela rápida reprodução dos ovinos, capacidade de enfrentar climas adversos, além de uma boa adaptação do rebanho a diferentes ambientes de criação (Ponnampalam *et al*., 2016; Behrendt & Weeks, 2017; Monteiro *et al*., 2021).

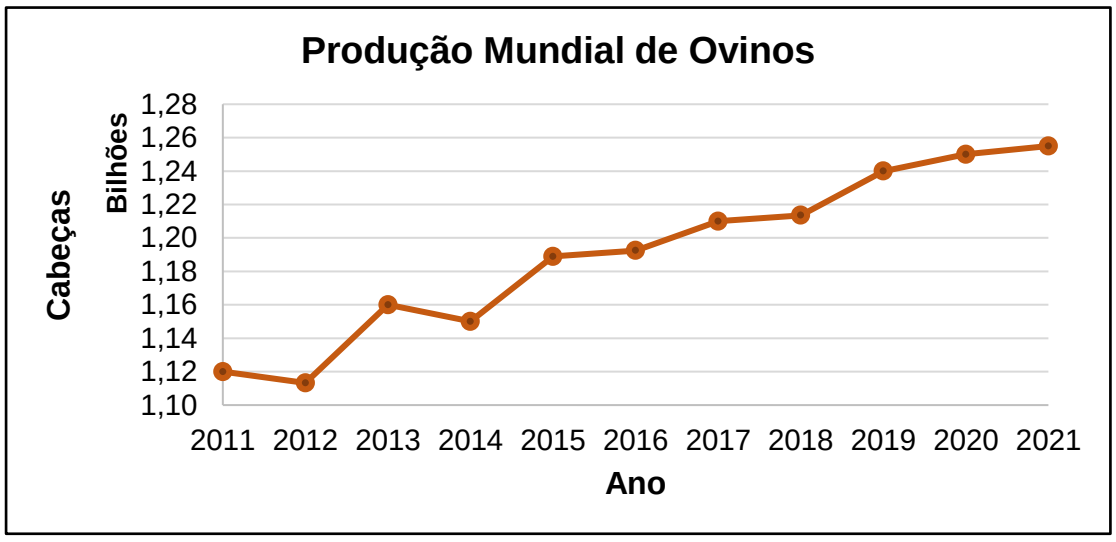


Figura 1 - Produção mundial de cabeças de ovinos de 2011 a 2021.
Fonte: Adaptado de FAOSTAT, 2023.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2021, o Brasil contabilizou aproximadamente 20,5 milhões de cabeças ovinas distribuídas em todo o território nacional (IBGE, 2023). Isso pode ser verificado na Figura 2, a qual mostra um aumento na produção brasileira de ovinos a partir do ano de 2016. Dentre as regiões que mais criam ovinos, como pode ser observado na Figura 3, destacam-se a região Nordeste com o Estado da Bahia e a região Sul com o Estado do Rio Grande do Sul (Monteiro *et al*., 2021; FAOSTAT, 2023).

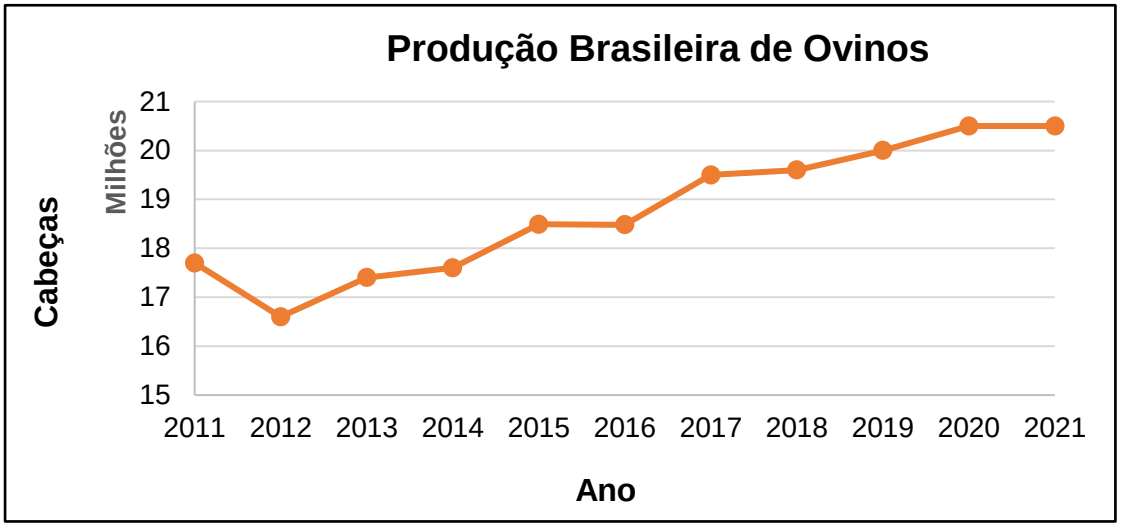


Figura 2 - Produção brasileira de cabeças de ovinos de 2011 a 2021.
Fonte: Adaptado de FAOSTAT (2022).

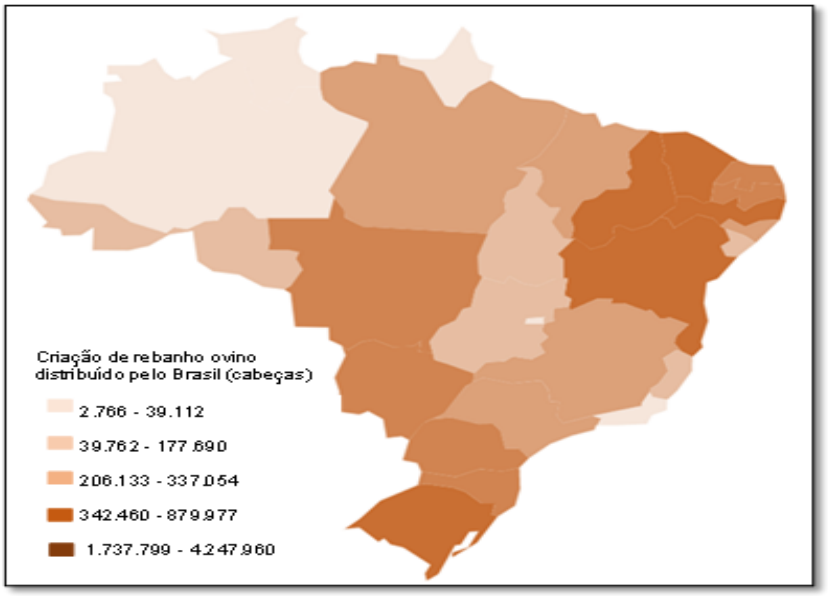


Figura 3 – Distribuição brasileira da criação de ovinos.
Fonte: Adaptado de IBGE (2022).

Em relação ao consumo, no Brasil, aproximadamente 0,7 kg de carne ovina por pessoa ao ano são consumidos. Esse consumo, se comparado a outros tipos de carne, bovina, suína e frango, ainda é baixo. No entanto, para atender essa demanda de carne ovina, entre os anos de 2019 e 2021 o Brasil importou aproximadamente 600 mil kg de carne ovina do Uruguai, equivalente a uma média de aproximadamente 50 toneladas/mês o que gerou uma movimentação de US$ 16 milhões (EMBRAPA, 2020). O baixo consumo no Brasil, está relacionado com a baixa disponibilidade no mercado, falta de costume da população, além da baixa qualidade do produto comercializado, a qual pode ser atribuída a uma carne com marmoreio insuficiente, coloração inadequada, odor desagradável ou contaminação bacteriana (Costa *et al*., 2011; Monte *et al*., 2012; Panea *et al*., 2013).

O Rio Grande do Sul destaca-se como o segundo maior produtor de carne ovina, no Brasil, com uma produção de aproximadamente 9 milhões de cabeças e 21 mil toneladas de carne. Em relação ao consumo, o Estado é um potencial consumidor, com um consumo de 2,9 kg/ano por habitante. Este consumo aumenta, principalmente no mês de dezembro, uma vez que é tradicionalmente consumida nas festividades de final de ano (Santos & Borges, 2019; Moraes *et al*., 2020).

2.2. Classificação em relação a idade dos animais

A idade do animal é um fator importante para determinar o valor da carcaça, composição da carne e características de qualidade alimentar. Além disso, a idade está relacionada ao peso e a condição corporal, quanto mais idade o animal tiver, maior será o seu peso de abate. De acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Ovinos (ARCO, 2018) os animais são classificados em:

- Cordeiros: animais abatidos entre os 4 e 7 meses de idade. É a categoria animal com carne de melhor qualidade, por apresentar maior maciez, baixo teor de gordura e maior suculência, além de uma coloração mais rosada.
- Borrego: animais abatidos entre os 7 e 15 meses de idade. A carne ainda apresenta maciez e suculência, porém sua coloração é mais avermelhada.
- Capão: cordeiro castrado com idade superior a 15 meses. A carne apresenta coloração vermelho intenso e começa a acumular gorduras.
- Ovelha e carneiro: fêmea e macho, respectivamente, com idade acima de 18 meses. A carne já não é mais tão atraente ao consumidor porque é mais dura,

apresenta uma gordura amarelada e o sabor é mais acentuado, sendo considerada uma carne ultrapassada. As carnes de ovelhas e carneiros são mais utilizadas para o preparo de embutidos.

Essa característica mais dura da carne depende do tecido conectivo, estado da estrutura miofibrilar e da interação estrutural entre fibras e matriz extracelular. Atribuiu-se que a carne menos macia de animais mais velhos é devido à mudança na estrutura química do colágeno intramuscular com a idade, particularmente em suas ligações cruzadas covalentes que estabilizam as fibras do mesmo, ao invés de aumentar a quantidade de tecido conjuntivo (Ordonéz, 2004).

2.3. Sistemas de criação e alimentação

Os sistemas de criação de ovinos são extremamente variáveis e não seguem um padrão que possa funcionar de forma adequada em todas em regiões. Eles dependem de fatores como condições climáticas, área disponível para criação, disponibilidade e qualidade na alimentação. São divididos em três diferentes sistemas como intensivo, extensivo e semiextensivo (MacLachlan *et al*., 2016; Campos *et al*., 2018).

No sistema intensivo**,** apresentado na Figura 4, o rebanho é submetido a confinamento total, onde a alimentação é fornecida através de ração suplementada com minerais, volumosos (aveia, azevém, feno, entre outros) e água. A proporção é variada de acordo com o tipo de ração e o tipo de volumoso, buscando promover o ganho de peso e reduzir o tempo de confinamento (Sandoval *et al*., 2011; Saaed *et al*., 2019; Pereira *et al*., 2021). É possível garantir a prevenção de doenças ou corrigi-las rapidamente. Esse sistema é adequado para produção de ovinos de corte e o abate é realizado quando o animal está com idade entre 6 e 12 meses. No entanto, exige alto investimento e uso de tecnologias avançadas para obtenção de melhores resultados (SENAR, 2019).

Figura 4 - Sistema de criação intensivo de ovinos.
Fonte: Adaptado de SENAR, 2019.

Já no sistema extensivo, apresentado na Figura 5, os ovinos são criados libertos em campos e adaptam-se melhor à forma tradicional de produção. São destinados, principalmente à produção de ovinos de corte. Esse sistema não requer instalações muito elaboradas, basta uma área sombreada para garantir o bem-estar animal. Sua alimentação é através de pastagens direta do campo ou produzidas pelo criador, as quais são principalmente de aveia e azevém em áreas extensas e com fonte de água natural. Por esse motivo, o ovinocultor não consegue controlar os ovinos, o que pode resultar em uma baixa produtividade. Nesse sistema, os animais não recebem alimentação por meio de rações (Sandoval *et al*., 2011; SENAR, 2019; Pereira *et al*., 2021).

Figura 5 - Sistema de criação extensivo de ovinos.
Fonte: SENAR, 2019.

No sistema semiextensivo, os ovinos são soltos nas pastagens durante o dia e ao anoitecer são colocados em confinamento. A alimentação é dividida entre as pastagens durante o dia e a noite com rações suplementadas. Esse sistema permite ao produtor melhor controle sanitário e veterinário dos ovinos em relação ao sistema extensivo, uma vez que ao serem confinados o produtor pode vistoriar o rebanho. É necessário a construção de instalações adequadas para facilitar o manejo do animal (Sandoval *et al*., 2011; Pereira *et al*., 2021).

2.4. Processo de Abate

No processo de abate ocorrem diversas transformações no músculo até a completa conversão do mesmo em carne. Normalmente, os ovinos são abatidos por meio de uma insensibilização elétrica para evitar o sofrimento do animal. Após, ocorre a sangria onde há interrupção do fluxo sanguíneo e, consequentemente, a interrupção do aporte de nutrientes e a excreção de metabólitos. No entanto, o tecido muscular continua exercendo suas funções metabólicas na tentativa de manter seu equilíbrio (Guerrero *et al*., 2013; Madella-Oliveira & Quirino, 2017).

Posteriormente, o pH do músculo diminui de aproximadamente 7 para 5,5; isso ocorre devido ao acúmulo de glicogênio neste período (*ante mortem*), ocasionando a transformação em ácido láctico. Esse elevado aporte de glicogênio é mantido, pois antes do abate o animal não sofreu nenhum tipo de estresse. A transformação em ácido láctico é causada pela ausência de oxigênio nas células, acarretando reações bioquímicas *post mortem* que geram a transformação de músculo em carne. O pH é capaz de modificar as características de qualidade da carne (cor, capacidade de retenção de água e maciez), além de alterar suas características organolépticas (Bonagurio *et al*., 2003; Madella-Oliveira & Quirino, 2017).

A queda de pH associada a presença de cálcio ativa as enzimas do amaciamento (catepsinas e calpaínas) que promovem a maciez da carne. Além disso, é importante para a conservação e qualidade da carne, pois, impede que bactérias causadoras da decomposição e putrefação encontrem condições adequadas para sua multiplicação (Rivaroli *et al*., 2016, Eiras *et al*., 2016).

2.5. Tipos de corte

Os ovinos podem ser comercializados de diferentes formas: o animal inteiro, metade do animal ou em diferentes cortes, os quais aliados a uma boa apresentação do produto final, são fatores importantes para influenciar o consumidor (EMBRAPA, 2020). No Brasil, as carcaças são comumente separadas em pescoço, peito, paleta, *french rack* (carré francês com oito costelas), lombo, costela, pernil/quarto, conforme apresentado nas Figuras 6 e 7 (Ricardo *et al*., 2012; ARCO, 2020).

Essa divisão em diferentes tipos de cortes está relacionada na proporção músculo/osso, uma vez que os cortes com maior quantidade de osso apresentam um valor inferior. Já os cortes com menor quantidade de osso apresentam um valor comercial mais elevado por conter mais carne. Sendo assim, é possível correlacionar que, comercialmente o pernil é o corte de maior valor, já que é o que apresenta a maior quantidade de carne (Osório *et al*., 2012; Nóbrega *et al*., 2013). Fatores como o manejo nutricional, a idade de desmame, abate e o sexo do animal pode influenciar diretamente na qualidade da carne, no peso final, e, consequentemente no rendimento da carcaça e dos cortes comerciais (Hashimoto *et al*., 2012; Alves *et al*., 2014).

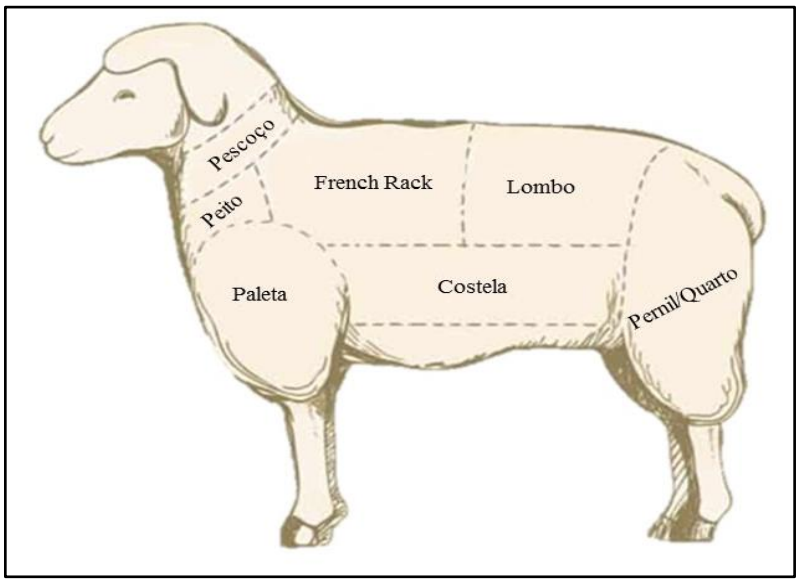


Figura 6 - Divisão da carcaça ovina em cortes comerciais.
Fonte: ARCO, 2020.

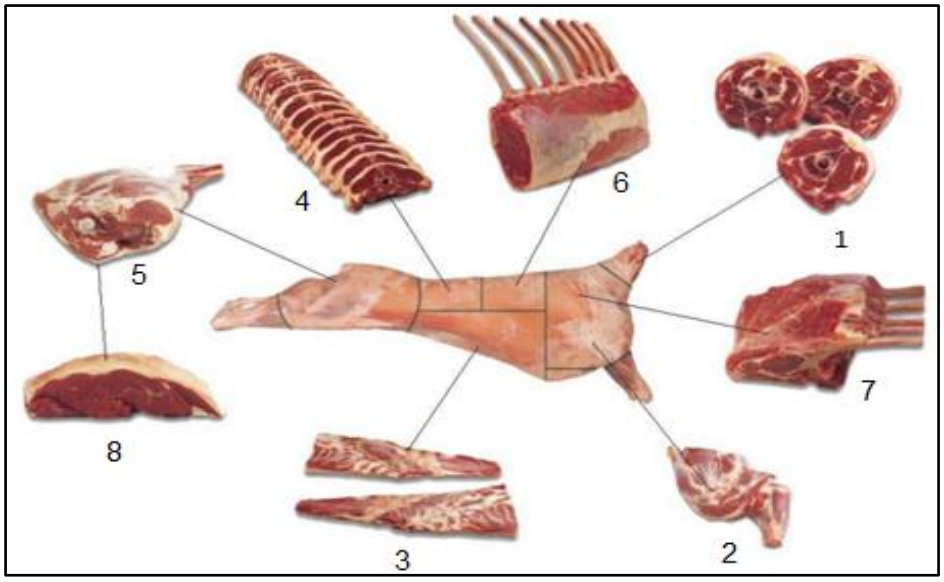


Figura 7 - Cortes comerciais: 1 – Pescoço; 2 – Paleta; 3 – Costela; 4 – Lombo bistecado; 5 – Pernil; 6 – Carré francês com oito costelas; 7 – Carré francês com cinco costelas; 8 – Contrafilé.
Fonte: Adaptado de Ricardo *et al*., 2012.

2.6. Características nutricionais da carne

A carne ovina tem uma estrutura complexa e consiste em média em 73 % de água e aproximadamente 21 % de proteína de elevado valor biológico, rica em aminoácidos essenciais altamente digeríveis em equilíbrio com as necessidades humanas. Além disso, apresenta vitaminas A, D, E, K e algumas do complexo B (tiamina, riboflavina, nicotinamida, ácido pantotênico, ácido fólico e niacina). O teor de gordura da carne varia de 2 a 10 % e pode influenciar diretamente nos aspectos de qualidade da carne, como sabor, aroma, suculência e textura (Alves *et al*., 2014; Ponnampalam *et al*., 2016; Polli *et al*., 2020).

Este tipo de carne, assim como outras carnes vermelhas, apresenta alto teor de ácidos graxos saturados "não saudáveis", tais como, ácido esteárico, palmítico, mirístico, entre outros. Esses ácidos estão relacionados com doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (McAfee *et al*., 2010; Montossi *et al*., 2013). No entanto, pesquisas estão sendo desenvolvidas com o objetivo de obter carnes com um teor de gordura "saudável" aprimorado por meio da genética e melhoria nutricional. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ω3) são um tipo de “gordura saudável” que tem sido objetivo de estudos em carnes vermelhas através de melhoramento e cruzamentos. Cabe salientar que introduzir alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados na ração para ruminantes não faz com que estes sejam absorvidos, uma

vez que os ácidos graxos insaturados são hidrogenados no rúmen ocorrendo a saturação da gordura antes da absorção. Estes ácidos, têm sido associados a uma maior resistência contra doenças cardiovasculares e diabetes, melhor estado mental e desenvolvimento infantil (Watkins *et al*., 2013; Ponnampalam *et al*., 2016).

2.6.1. Proteínas

As proteínas são biopolímeros formados por até 20 diferentes tipos de L-α-aminoácidos ligados covalentemente em uma cadeia peptídica. Em sua constituição, as proteínas apresentam de 50% a 55% de carbono, 20% a 24% de oxigênio, 15% a 18% de nitrogênio, 6% a 8% de hidrogênio e de 0,2% a 0,3% de enxofre (Food Ingredients, 2012; Polli *et al*., 2020).

Estão relacionadas com praticamente todas as funções fisiológicas, sendo essenciais a todas as células vivas. São necessárias nas reações imunológicas e, juntamente com os ácidos nucléicos, são indispensáveis nos fenômenos de crescimento e reprodução. Além disso, são utilizadas na regeneração de tecidos e funcionam como catalisadores nas reações químicas que ocorrem nos organismos vivos e que envolvem enzimas ou hormônios (Food Ingredients, 2012; Prache *et al*., 2022).

De acordo com o *Institute of Medicine* (2011) o consumo diário recomendado de proteínas é de 0,8 g por peso corpóreo para adultos. As proteínas estão presentes em diversos tipos de alimentos, em maior ou menor quantidade. Dentre os alimentos, a carne é rica em proteínas e a carne ovina apresenta um teor de proteína de aproximadamente 20 g / 100 g. Dentre os aminoácidos essenciais presentes nas carnes, destacam-se nove (histidina, isoleucina, leucina, valina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano), os quais são recomendados uma ingestão diária de 14 mg kg^{-1} de peso corporal. Essa ingestão somando os nove aminoácidos essenciais. Essa quantidade não difere significativamente entre as diferentes raças e os diferentes tipos de cortes de carne ovina e a dieta animal não é um parâmetro que influencia a composição de aminoácidos da carne (Polli *et al*., 2020; Prache *et al*., 2022).

2.6.2. Elementos químicos essenciais

Os elementos essenciais são nutricionalmente indispensáveis ao organismo, pois participam do metabolismo humano, além de serem extremamente importantes

por desempenharem diversas funções no corpo humano como ativação de reações enzimáticas, regulação da função celular, crescimento e manutenção, entre outros. Para isso, é necessário a ingestão de alimentos como carnes, leites, ovos, legumes, frutas, verduras e leguminosas que forneçam as quantidades que o organismo necessita, uma vez que não são sintetizados pelos organismos vivos.

Dentre os elementos químicos, a carne ovina fornece Zn, o qual pode ser absorvido mais facilmente do que o Zn de origem vegetal devido à ausência de muitos fitatos e fibras que impedem sua absorção. Além disso, contém Ca, Cu, Fe, K, Mg e P, todos essenciais para a saúde humana, pois participam de diversas funções fisiológicas. Além de serem extremamente importantes para diversos sistemas do corpo humano (como imunológico, respiratório, cardiovascular, cerebral, entre outros) (Biesalski, 2005; Montossi *et al.*, 2013; Ponnampalam *et al*., 2016). Montossi *et al*., (2013) e Prache *et al*., (2022) relatam que uma porção de 100 g de cordeiro (6 meses de idade) fornece 10-20% da dose diária recomendada de Fe, Zn, Se e vitamina B6, 40% da dose diária recomendada de vitamina B3 e 100% de vitamina B12.

O Fe influencia diretamente na coloração da carne, pois em altas concentrações de oxigênio se reduz (Fe^{2+}) e a mioglobina se oxida formando oximioglobina, apresentando uma cor vermelha púrpura, característica da carne fresca embalada a vácuo ou do interior da massa muscular recém cortada. Já em baixas concentrações de oxigênio ou na presença de substâncias oxidantes, o ferro passa para a forma oxidada (Fe^{3+}), formando a metamioglobina. A carne apresenta uma coloração marrom, a qual é associada pelos consumidores a carnes estocadas por longos períodos (Guerrero *et al*., 2013; Verbeke *et al*., 2015; Cruz *et al*., 2016).

2.7. Principais fontes de contaminação da carne ovina

Apesar das suas características nutricionais importantes, a carne ovina pode acumular elementos químicos com potencial de toxicidade, que pode representar riscos para a saúde humana. Esses metais podem se acumular na carne de diferentes maneiras, incluindo inalação de poeira contendo metais, pela ingestão de água e alimentos contaminados. As principais formas de exposição dos animais aos elementos químicos se devem as atividades antropogênicas e industriais, como queima de carvão, fundição de metal e processamento de ligas; atividades agrícolas com aplicação de agrotóxicos a fertilizantes nos solos onde são semeadas as

pastagens ou em áreas próximas a criação do rebanho (Marques *et al*., 2011; Oreste *et al*., 2013b; Aranha *et al*., 2016; Campos *et al*., 2018; Wang *et al*., 2019). Além disso, a alimentação com a utilização de rações com elevadas quantidades de aditivos, o uso de antibióticos no tratamento de doenças dos animais e outros medicamentos também são considerados fontes de contaminação em humanos, uma vez que podem estar presentes nas carnes (Pinto *et al*., 2020). O longo período de contato com embalagens e o transporte também podem acarretar contaminações com elementos potencialmente tóxicos (Oreste *et al*., 2013b; Sá *et al*., 2020).

Sendo assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os limites máximos para contaminantes inorgânicos em carnes, incluindo a ovina, através da Resolução N.º 42 de 29 de agosto de 2013 (BRASIL, 2013), os quais são de 0,5 mg kg^{-1} para As; 0,05 mg kg^{-1} para Cd e 0,1 mg kg^{-1} para Pb. Todos esses valores são considerando carnes de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e aves de curral, derivados crus, congelados ou refrigerados, embutidos e empanados crus.

Como esses elementos não podem se degradar, eles bioacumulam em tecidos animais, como músculos, fígado e rim em concentrações que podem ser tóxicas para os consumidores. No entanto, para ser consumida, a carne passa por algum tipo de tratamento térmico, com finalidade do preparo do produto para o consumo humano. Estes tratamentos, podem acarretar perdas de nutrientes e na lixiviação destes elementos com potencial de toxicidade juntamente com água presente na carne.

2.8. Métodos de cocção

Durante o processo de cocção dos alimentos, o efeito do calor proporciona trocas físicas, químicas e estruturais de seus componentes (Rosa *et al*., 2006). A transferência de calor, a duração do processo e o meio de cocção para o preparo de alimentos, como a carne, por exemplo, são alguns dos fatores responsáveis pelas modificações na composição química e o valor nutricional (Goran *et al*., 2016; Menezes *et al*., 2018). Essas modificações podem acarretar perda de peso do corte cárneo, o qual está sendo preparado. Além de modificações na capacidade de retenção de água, mudanças na textura, perda de vitaminas e elementos químicos inorgânicos (Higueira *et al*., 2021).

Além disso, ao aplicar uma elevada temperatura na carne, as proteínas se desnaturam e ocorre a reação de *Maillard*, a qual é responsável por produzir

componentes que não são absorvidos e aproveitados pelo organismo humano. A cocção também acarreta a formação de compostos voláteis que influenciam diretamente a aceitação do consumidor, garantindo a segurança microbiológica, principalmente a eliminação de microrganismos patogênicos a partir da temperatura de 65 °C, além da inibição de enzimas endógenas produzidas pelos microrganismos. Além disso, ocorrem mudanças no tecido conjuntivo, ou seja, a gelatinização do colágeno, melhorando a digestibilidade e as propriedades organolépticas do alimento (Domingues *et al*., 2015; Sobral *et al*., 2018).

O cozimento da carne geralmente envolve mais de um tipo de transferência de calor. Os procedimentos envolvendo aplicação de calor utilizados são o calor seco, calor úmido, calor direto e calor misto (Menezes, 2010). Além disso, o controle da temperatura e do tempo de cozimento são fatores extremamente importantes no processo de cocção. Estes, são variáveis, uma vez que o tempo depende das condições de operação do equipamento, do tamanho e da forma do corte da carne e altas temperaturas propiciam a redução no tempo de cozimento (Goran *et al*., 2016; Menezes *et al*., 2018).

No forno, ocorre a exposição da carne a um fluxo de ar quente, que causa a transferência de calor por convecção do ar para a superfície da carne. O aquecimento pela parte inferior do forno transfere calor por convecção e condução, aquecendo a cavidade do forno onde ocorre o assamento. Já o aquecimento pela parte superior transfere calor de forma majoritária por radiação do aquecedor e das paredes do forno para a carne (Wolf, 2022). O calor transferido por convecção do ar quente e por radiação das superfícies quentes do forno aquece a superfície da carne submetida ao cozimento. A transferência de calor ocorre do forno para o interior do alimento por condução, o qual é criado por um gradiente de temperatura (Fellows, 2016). A temperatura da superfície é sempre mais alta que a do centro, mas essa diferença tende a diminuir durante o cozimento (Pinheiro *et al*., 2008; Menezes, 2010; Wolf, 2022).

No micro-ondas, a cocção ocorre através de ondas eletromagnéticas que são geradas por magnetrons, uma vez que o aquecimento ocorre à medida que as micro-ondas penetram no alimento, acarretando atrito entre as moléculas de água e produzindo calor (Araújo *et al*., 2014; Calabrò & Magazú, 2020). O aquecimento por micro-ondas apresenta algumas características em relação a outros métodos convencionais de cocção, tais como, agilidade no preparo de alimentos, permitindo

uma melhor preservação do valor nutritivo deles, o ajuste eletrônico do nível de potência, a rapidez no aumento da temperatura e a velocidade do aquecimento, a qual pode ser estimada em até quatro vezes superior ao processo convencional (Jouquand *et al*., 2015; Su *et al*., 2016).

Na cocção por calor úmido utiliza-se água, a qual atua hidratando o alimento e dissolvendo as substâncias, acarretando perdas de nutrientes e componentes hidrossolúveis por dissolução em água, alterando o valor nutritivo do alimento. Em relação as carnes, ocorre a lixiviação de compostos como proteínas, vitaminas e minerais (Goran *et al*., 2016; Menezes *et al*., 2018).

2.9. Determinação Elementar

2.9.1. Preparo de amostra

Para a quantificação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em amostras de alimentos, a maioria das técnicas analíticas requer a introdução de amostras na forma de uma solução aquosa ou suspensão. Sendo assim, se faz necessário a utilização de métodos de preparo de amostras, os quais transformam a amostra em uma forma compatível com o que requer boa parte das técnicas analíticas instrumentais. Além disso, se faz necessário garantir que as espécies químicas de interesse sejam preservadas, ou seja, mantidas na solução resultante do processo de preparo da amostra, para posterior determinação por técnicas analíticas (Krug & Rocha, 2016). É a etapa que merece maior atenção de toda a sequência analítica, uma vez que demanda o maior tempo, aproximadamente 60 % do tempo até obtenção dos resultados. Além disso, é a etapa em que podem ocorrer os maiores erros, ou seja, 30 % dos erros totais de uma análise até a obtenção dos resultados de quantificação. Dentre esses erros, os mais frequentes são a perda de elementos por volatilização, contaminação da amostra e a dissolução incompleta do elemento (Oliveira, 2003; Krug & Rocha, 2016; Thirumdas *et al*., 2019).

No preparo de amostras, os métodos mais tradicionalmente utilizados para a determinação elementar em matrizes orgânicas, de maneira geral, necessitam de grandes quantidades de reagentes, os quais elevam o custo do procedimento. Dentre os métodos de decomposição, os mais relatados na literatura são utilizando a decomposição por via seca (calcinação em forno mufla) e decomposição por via úmida

(convencional ou assistida por radiação de micro-ondas) (Krug & Rocha, 2016; Md Noh *et al*., 2020).

A decomposição por via úmida consiste no rompimento das ligações químicas através da adição de reagentes e uma fonte de energia simultaneamente. É um dos métodos de decomposição mais empregado, além de permitir a combinação de diferentes ácidos oxidantes (HNO_3, H_2SO_4, $HClO_4$ e HCl). Permite, também, a combinação destes ácidos com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual é um agente oxidante que auxiliam na degradação total ou parcial da matéria orgânica presente nas amostras (Korn *et al*., 2008; Krug & Rocha, 2016).

Dentre os métodos de decomposição por via úmida, o sistema aberto com aquecimento convencional em chapas de aquecimento ou bloco digestor é um dos métodos de decomposição mais antigos e o mais utilizado em análise de rotina. Esse sistema permite a análise de quantidades maiores de massas de amostra e com baixo custo operacional. Porém, no sistema aberto, a temperatura empregada na decomposição é dependente da temperatura de ebulição do ácido. Além disso, apresenta elevado teor de carbono residual, necessita da reposição de reagente com frequência, além da possibilidade de perda do analito ou contaminação da amostra, o que pode comprometer o resultado (Nogueira, 2003; Oliveira, 2003; Krug & Rocha, 2016).

Já a decomposição por via úmida em sistema fechado, reduz o tempo de preparo de amostras e os problemas associados com perdas dos elementos voláteis e contaminação, além do aumento na velocidade das reações, devido às altas temperaturas e pressões (Nemati *et al*., 2010; Krug, 2010; Souza, 2018, Pinto, 2019). A maior eficiência do aquecimento por radiação micro-ondas, pode ser explicada pelas interações das ondas eletromagnéticas, as quais provocam o movimento das moléculas em solução, gerando migrações iônicas e rotações de dipolo, causando o aquecimento pela interação entre as micro-ondas e as moléculas da amostra (Nemati *et al*., 2010; Krug & Rocha, 2016).

No entanto, uma desvantagem relatada sobre esse sistema é a quantidade de amostra que não deve ser elevada, com o intuito de evitar o aumento da pressão interna e, consequentemente, a explosão ou abertura dos frascos. Outra desvantagem, é o elevado custo de aquisição e manutenção destes equipamentos em laboratórios de análises de rotinas e pesquisas (Oliveira, 2003; Krug & Rocha, 2016). Como pode ser observado na Tabela 1, a maioria dos trabalhos utilizam a radiação

micro-ondas como um dos métodos de preparo de amostras de diferentes partes da carcaça ovina. Além disso, são métodos que utilizam volumes elevados de ácido e, em alguns métodos elevado tempo de decomposição.

Tabela 1 - Métodos de preparo de amostras em diferentes partes da carcaça ovina.

Amostra	Método de preparo de amostra	Analito	Técnica	Referência
Carne ovina	0,5 e 1,0 g de amostra + 15 mL de HNO_3 + 3 mL de H_2O_2 Decomposição ácida por radiação micro-ondas	Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn	ICP OES	Ikem *et al.* (2015)
Peixe, carne ovina e bovina	100 mg de cada amostra + 8 mL de HNO_3 4,2 mol L^{-1} + 2 mL de H_2O_2 Decomposição ácida por radiação micro-ondas	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn	MIP OES	Sá *et al.* (2020)
Carne ovina e caprina liofilizada	100 mg de carne seca + 0,6 mL de HNO_3 + 2 mL HF Decomposição em um forno anticorrosivo (150 ºC por 12 h) Após a solução foi levada a secura e 2 mL de HNO_3 foi adicionado e novamente colocado em um forno anticorrosivo (150 ºC por 12 h)	Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Rb, Sr e Zn	ICP-MS	Wang *et al.* (2021)
Fígado, rim e carne ovina	1 g de cada amostra + 8 mL de HNO_3 + 2 mL de H_2O_2 Decomposição por radiação micro-ondas	As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb. Se e Zn	ICP-MS	Pereira *et al.* (2021)
Carne ovina *in natura* e cozida	100 mg amostras liofilizadas + 8 mL de HNO_3 (4,2 mol L^{-1}) + 2 mL H_2O_2 Decomposição por radiação micro-ondas	Fe, K, Mg, P e Zn	ICP OES	Higueira *et al.* (2021)

MIP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas. ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. ICP-MS: Espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado.

Um sistema de decomposição ácida de amostras, o qual é uma alternativa aos sistemas descritos acima, foi apresentado por Ferreira *et al*. (2013). Esse sistema consiste de um dedo frio que é colocado sobre o tubo digestor. Durante os procedimentos de decomposição ácida com aquecimento, os vapores de ácidos condensam na superfície do dedo frio, voltando à solução novamente. O sistema de refluxo evita perdas por volatilização, não sendo necessária a reposição de reagentes durante a decomposição, o que diminui o consumo de reagentes e os riscos de contaminação das soluções (Ferreira *et al*., 2013). Porém, alguns inconvenientes ainda foram observados, como o aquecimento da água na parte superior, comprometendo o processo de condensação e os riscos de projeções das amostras, uma vez que não ocorria o alívio de pressão, pois o dedo frio era colocado diretamente no tubo digestor (Ferreira *et al*., 2013; Oreste *et al*., 2013a).

Com o intuito de aprimorar o sistema e eliminar os inconvenientes observados, Oreste *et al*. (2013a) desenvolveram um novo sistema de decomposição com dedo frio. Esse sistema, consiste no acoplamento de um tubo de vidro (dedo frio) no tubo de decomposição com o auxílio de um encaixe de politetrafluoroetileno (PTFE). O encaixe contém uma ranhura lateral, a qual permite o alívio da pressão interna, evitando riscos de explosão, conforme pode ser observado na Figura 8 (Oreste *et al*., 2013a).

Além disso, no tubo de vidro ocorre a circulação contínua de água refrigerada por meio de um banho termostatizado. Com isso, é possível o resfriamento da superfície do tubo ao longo do tempo de decomposição, ocorrendo a condensação dos vapores gerados por meio do aquecimento do tubo contendo a amostra mais o ácido. Esses vapores, formam um filme líquido de uma solução absorvedora com elevada força iônica, basicamente constituída de água e ácido e retornam ao meio reacional. Com isso, nesse sistema não ocorrem perdas de elementos e reagentes por volatilização (Oreste *et al*., 2013a; Pereira, 2014).

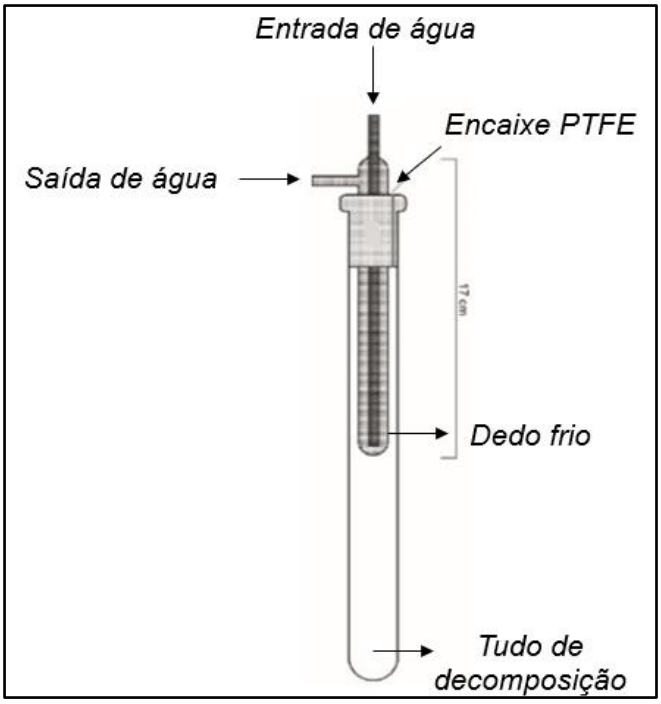


Figura 8 - Esquema do sistema de refluxo acoplado ao tubo digestor.
Fonte: Oreste *et al*., 2013a.

Diversas matrizes alimentares já foram estudadas com a utilização desse sistema. Dentre elas: goma xantana (Souza *et al*., 2015; Rosa *et al*., 2016); leite em pó (Oreste *et al*., 2016); arroz (Oliveira *et al*., 2016); erva-mate (Pereira *et al*., 2016); requeijão (Diniz *et al*., 2017); cerveja (Leão *et al*., 2018); suco de frutas (Pereira *et al*., 2018); cereal infantil (Souza *et al*., 2019); cana de açúcar (Sampaio *et al*., 2020); feijão (Pereira *et al*., 2020); tomate e derivados (Bonemann *et al*., 2021); casca de uva (Jacobs et al., 2021). Esse sistema também já foi utilizado na decomposição de carne bovina (Oreste *et al*., 2013b) e peito de frango (Pinto *et al*., 2019), além de peixe (Alves *et al*., 2018) e camarão (Silva *et al*., 2019).

Como pode ser observado, esse sistema já foi utilizado na decomposição de diferentes tipos de matrizes mostrando ser eficiente, simples e uma alternativa para suprir as deficiências dos métodos convencionais de sistema de copo aberto. Além disso, permite utilizar uma massa de amostra e um volume de reagente maior comparado, por exemplo, a decomposição por radiação micro-ondas.

2.9.2. Bioacessibilidade

A maioria das determinações de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos estimam somente a quantidade total desses elementos presentes. No

entanto, essas informações não são suficientes para afirmar quanto desse elemento pode ser liberado para posterior absorção, pois fatores extrínsecos e intrínsecos influenciam no aproveitamento desses nutrientes. Os fatores intrínsecos que podem ser destacados são a espécie do nutriente, a ligação molecular e a matriz na qual o nutriente está incorporado. Em relação aos fatores extrínsecos destacam-se a quantidade desse nutriente na dieta associada as interações que ele pode sofrer, o estado principal do indivíduo e os fatores genéticos em relação ao indivíduo (Cozzolino, 2016; Menezes *et al*., 2018).

Para avaliar a qualidade nutricional de um alimento, se faz necessário determinar o quanto de um nutriente, por exemplo, os minerais, são liberados do alimento, ficando disponível para posterior absorção pelo intestino, ou seja, sua bioacessibilidade (Cozzolino, 2016). Os métodos utilizados para avaliar a bioacessibilidade podem ser *in vitro* ou *in vivo*. Os métodos *in vivo* fornecem informações mais específicas, pois utilizam modelo de animais e os estudos são realizados em cabelos, unhas e amostras de sangue desses animais. No entanto, nem sempre está dentro dos princípios da ética, apresenta um custo elevado e um maior tempo de análise quando comparado com o método *in vitro* (Do Nascimento da Silva *et al*., 2018; Brodkorb *et al*., 2019; Thakur *et al*., 2020).

Como alternativa a esses inconvenientes, os métodos *in vitro* vêm sendo bastante empregado, visto que possuem um baixo custo, menos tempo de análise, simplicidade, reproduzível e sem restrições éticas. Além disso, esse método consiste em avaliar o comportamento do alimento no sistema digestivo, estudando as três principais etapas: boca, estômago e intestino (Minekus *et al*., 2014; Do Nascimento da Silva *et al*., 2018; Pereira *et al*., 2018; Bonemann *et al*. 2021). Na etapa da boca, porta de entrada dos alimentos, simula-se o processo de mastigação e envolve o contato do alimento com a saliva artificial, α-amilase, a qual tem a função de degradar as ligações glicosídicas do amido em maltose. A etapa do estômago, tem como função armazenar temporariamente o alimento e liberar de forma lenta para o duodeno, ocorre a adição de pepsina antes de acidificar as amostras para o pH 3. Grande parte das proteínas e carboidratos sofrem degradação em meio ácido. Além disso, ocorre a mistura do alimento com as secreções gástricas para produzir o quimo. Após o tempo de residência no estômago, o quimo passa para o intestino delgado, completando o processo de digestão. Nesta etapa, que tem como função a decomposição das macromoléculas e absorção de água e nutrientes, a quebra das moléculas é

completada, pois ocorre a adição de pancreatina e sais biliares, que agem na digestão intestinal dos lipídios, com reajuste para pH 7 (Minekus *et al*., 2014; Brodkorb *et al*., 2019; De Souza *et al*., 2021; Louzada *et al*., 2022).

No final do processo de digestão gastrointestinal, os produtos são o bolo fecal e o quilo. O bolo fecal, é o que será excretado e contém todo o resíduo que não será absorvido pelo corpo humano. O quilo, contém os nutrientes que passam pela parede do intestino e vão para a corrente sanguínea e, assim, os componentes são distribuídos para todas as células do corpo. Sendo assim, a absorção de todos os elementos presentes nos alimentos pode ser afetada pelas propriedades físicas e bioquímicas, como a solubilidade, teores de fibras e proteínas, entre outros fatores. Além disso, a composição do alimento também é um fator limitante, pois pode dificultar ou facilitar a liberação dos elementos, influenciando então a sua bioacessibilidade (Minekus *et al*., 2014; Do Nascimento da Silva *et al*., 2018; Souza *et al*., 2018).

A carne ovina é um alimento que fornece nutrientes benéficos e necessários para o bom desenvolvimento e manutenção do organismo humano. No entanto, a maioria dos trabalhos relatados na literatura determinam a concentração total dos nutrientes em amostras cruas. (Montossi *et al*., 2013; Ikem *et al*., 2015; Praches *et al*., 2022). Mas, sabe-se que seu consumo se dá após algum tipo de tratamento térmico, o qual pode acarretar perdas desses nutrientes. Com isso, as informações sobre elementos essenciais e potencialmente tóxicos em carne ovina tratadas termicamente, bem como a bioacessibilidade desses elementos ainda são poucos relatados na literatura. Até o presente momento, o trabalho de Higueira *et al*. (2021), relatou o estudo da bioacessibilidade em uma amostra de lombo ovino da região de São Paulo, após serem tratadas termicamente. Com isso, este trabalho se torna extremamente importante em relação a bioacessibilidade de elementos em amostras de carne ovina tratadas termicamente.

2.10. Otimização Multivariada

Os procedimentos de otimização multivariada têm sido utilizados com maior frequência na Química Analítica, pois reduzem o número de experimentos, o tempo e os custos finais de uma análise. Além disso, permitem que as variáveis estudadas sejam otimizadas simultaneamente e com maior eficiência em relação a estratégia

univariada, avaliando efeitos individuais e interações com essas variáveis (Rodrigues & Lemma, 2014; Costa Junior *et al*., 2019).

Dentre as variáveis, as independentes são os fatores que influenciam em um processo, por exemplo em uma decomposição ácida (tempo, temperatura, volume e concentração de reagente, entre outras). Já as variáveis dependentes, são as respostas obtidas experimentalmente (sinal analítico de absorbância ou intensidades de emissão, resolução entre picos cromatográficos, rendimento de uma reação, entre outros) (Novaes *et al.*, 2016; Bezerra *et al*., 2019).

Sendo assim, se faz necessário definir quais variáveis independentes serão estudadas e realizar as combinações experimentais possíveis. A principal técnica empregada é o delineamento fatorial completo de dois níveis, cujo número de experimentos estabelecido pela matriz é determinado pela expressão (2^k), sendo (k) o número de fatores investigados. Por exemplo, para um planejamento com 2, 3 e 4 fatores são realizados 4, 8, 16 experimentos, respectivamente (Rodrigues & Lemma, 2014; Pereira Filho, 2015). Com isso, é possível determinar um conjunto de experimentos, os quais buscam encontrar as condições ideais para otimizar um método que possa produzir as melhores respostas, proporcionando também condições de maior sensibilidade, precisão e exatidão (Ferreira *et al*., 2018; Bezerra *et al*., 2019; Ferreira *et al*., 2019).

Ao considerar apenas uma resposta, a análise do modelo pode indicar a área do delineamento em que se obtém a resposta desejada. Porém, ao trabalhar com várias respostas são necessários funções matemáticas que possibilitem uma condição compromisso, ou seja, ajustar diferentes respostas em uma única. Sendo assim, a função de desejabilidade, proposta por Derringer e Suich (1980), pode levar em consideração diferentes tipos de respostas e estabelecer uma correlação entre essas, podendo auxiliar na otimização das mesmas (Costa *et al*., 2011; Candioti *et al*., 2014; Novaes, *et al*., 2016; Bezerra *et al*., 2019).

Para cada resposta, um valor de desejabilidade parcial que varia de zero a um é considerado conforme a proximidade da resposta desejada. O valor 0 caracteriza uma resposta inaceitável, enquanto 1 determina o valor mais aceitável. Ao otimizar as melhores condições para determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos, é praticamente impossível obter um ponto ótimo para cada um. Uma condição experimental que melhora a resposta de algum elemento pode causar efeitos negativos em outros (Breitkreitz *et al*., 2009; Costa *et al*., 2011; Hadjmohammadi &

Sharifi, 2012). Com isso, se faz necessário um ponto em que todas as respostas apresentem valores aceitáveis, permitindo a otimização simultânea das várias respostas baseadas na função de desejabilidade global (Candioti *et al*., 2014; Novaes *et al*., 2016). Na literatura, já há relatados de trabalhos que utilizam a decomposição ácida para carne ovina. Porém são métodos que utilizam decomposição por radiação micro-ondas, bloco digestor aberto, quantidades e concentrações de ácidos diferentes. Sendo assim, otimizar um método de decomposição com sistema de refluxo utilizando os conhecimentos quimiométricos se faz necessário, uma vez que será possível determinar diferentes elementos em um único preparo de amostra.

2.11. Técnicas de espectrometria para determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos

Outra etapa de grande importância dentro da sequência analítica é a escolha da técnica a ser utilizada na quantificação dos elementos. Essas técnicas devem apresentar uma boa sensibilidade, detectabilidade e precisão, já que a concentração do elemento presente na amostra é um fator que deve ser considerado, além de quais elementos serão determinados (Krug, 2010; Krug & Rocha, 2016). Dentre as técnicas instrumentais mais citadas na literatura destacam-se as de Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (F AAS) ou em Forno de Grafite (GF AAS); Espectrometria de Emissão Atômica em Chama (F AES); Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES); Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) e a Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) (Skoog, 2002; Holler *et al.,* 2009; Lima *et al*., 2016; Müller *et al*., 2020).

As técnicas de absorção atômica (AAS) são bastante difundidas dentro da química analítica e caracterizam-se pelo baixo custo operacional quando comparadas com as técnicas de plasma. Podem operar com diferentes atomizadores, tornando possível a quantificação de diversos elementos com distintas sensibilidades (Chalyavi *et al*., 2017).

2.11.1. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS)

A GF AAS é uma técnica empregada para a determinação elementar em baixas concentrações na faixa de ppb ou em alguns casos em ppt, em diversos tipos de amostras. Apresenta vantagens importantes em relação a outras técnicas, como F AAS e ICP OES, tais como, maior tempo de residência dos átomos no atomizador, a utilização de toda amostra introduzida para a determinação dos elementos (Oliveira *et al*.,2016; Oreste *et al*., 2020; Butcher, 2023). O volume de amostra requerido para análise é pequeno (aproximadamente 20 µL), a qual é introduzida por um amostrador automático. Essas amostras podem ser na forma sólida, em suspensão ou na forma líquida que é a mais utilizada. Sendo assim, para cada tipo de análise a ser realizada por GF AAS se faz necessário o conhecimento da amostra e as características físico-químicas do elemento, uma vez que é necessário adotar um programa de temperatura e tempo específico (Amorim *et al*., 2008; Butcher, 2023). Na Figura 9 está representado o espectrofotômetro de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) com ampliação do sistema de atomização da amostra e na Figura 10 o esquema do atomizador forno de grafite.

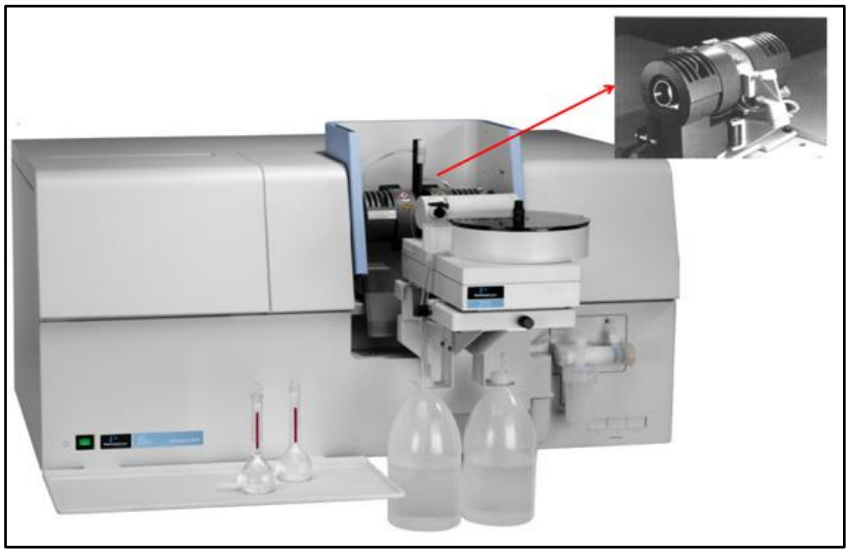


Figura 9 – GF AAS comercial com ampliação do atomizador.
Fonte: Adaptado de Silva, 2011.

Na etapa de pirólise, objetiva-se utilizar a maior temperatura para garantir a máxima eliminação da matriz. Já na etapa de atomização, o objetivo é utilizar a menor temperatura de atomização, com intuito de também preservar a vida útil do tubo de grafite. No entanto, uma temperatura elevada na etapa de pirólise pode acarretar perdas dos elementos por volatilização. Para a utilização de maiores temperaturas na etapa de pirólise, se faz necessário a utilização de modificadores químicos. Esses,

tem a finalidade de melhorar a separação entre o elemento químico e os concomitantes da matriz da amostra, garantindo estabilidade térmica ao analito. O mais utilizado é a mistura entre os nitratos de paládio e magnésio (Pd/Mg), o qual é chamado “modificador universal”, pois este modificador consegue ser eficiente para uma grande quantidade de elementos em diversas matrizes (Welz *et al*., 1992; Welz & Sperling, 1999; Borges *et al*., 2014).

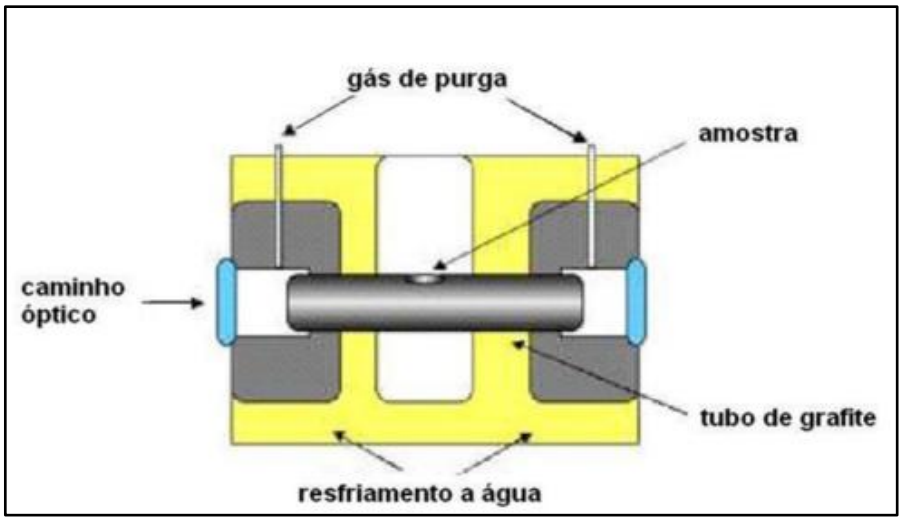


Figura 10 – Atomizador do GF AAS.
Fonte: Adaptado de Silva, 2011.

Dentre as fontes de excitação para átomos têm sido utilizadas fontes de linha (LS), tais como lâmpadas de cátodo oco (HCLs) e lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDLs). Além disso, a utilização de corretores de fundo em técnicas espectrométricas permite reduzir ou eliminar os efeitos indesejados que podem ocorrer durante a análise de amostras. Os corretores são responsáveis por medir a intensidade do fundo separadamente do sinal de absorbância total, e assim por subtração de ambos os valores é possível obter o sinal analítico sem interferências. Cada corretor apresenta suas características para medir e corrigir o sinal de fundo, no entanto, o corretor de efeito Zeeman é o mais recomendado, pois ele atua nos comprimentos de onda de 190 a 900 nm (Welz & Sperling, 1999; Nomura *et al*., 2008).

2.11.2. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES)

As técnicas que utilizam o plasma como fonte de atomização/excitação são amplamente utilizadas para determinações de metais em uma grande variedade de

amostras. Nas duas últimas décadas, a técnica de ICP-MS tornou-se bastante atrativa, uma vez que, apresenta elevada sensibilidade, permitindo determinar concentrações na ordem de ppb. A técnica de ICP OES, permite determinações multielementares e possui um plasma mais energético quando comparada com outras técnicas que utilizam plasma. Todavia, o elevado custo operacional é apontado como a principal desvantagem, pois o plasma necessita de um alto consumo de gás argônio (Lima *et al*., 2016; Chalyav *et al*., 2017).

Uma alternativa, frente ao alto custo dessas técnicas que utilizam plasma de argônio, é a técnica de MIP OES. Essa técnica foi desenvolvida em 1950, porém apresentou algumas dificuldades para se estabelecer na área de espectrometria atômica. Dentre elas estava a instabilidade, intolerância a algumas matrizes, apresentava interferências espectrais e o volume de amostra deveria ser muito pequeno para evitar a extinção do plasma (Müller *et al*., 2020; Rocha *et al*., 2020). Devido a esses problemas a técnica apresentou pouco interesse por parte dos analistas e fabricantes de equipamentos na época. No entanto, em 2011 a *Agilent Technologies* lançou um espectrômetro (MIP OES) comercial com plasma induzido por micro-ondas sustentado por N_2, o qual não é um gás inflamável e é produzido em alta pureza a partir de um gerador de nitrogênio acoplado a um compressor de ar. Apresenta vazão suficiente para o instrumento operar, reduzindo significativamente os custos de operação. Além disso, permite medidas multielementares sequenciais (Souza *et al*., 2019; Rocha *et al*., 2020; Bonemann *et al*., 2021).

Os principais componentes do MIP OES, apresentados na Figura 11, são um sistema de introdução de amostra, um gerador de micro-ondas como fonte de excitação, um sistema de alimentação do plasma e um espectrômetro (Jankowski & Reszke, 2010; Agilent Technologies, 2016; Silva *et al*., 2020). A formação do plasma ocorre quando é liberado um fluxo momentâneo de gás argônio e um campo magnético é gerado para excitação do gás argônio. Essa ignição é feita com argônio pois é necessária uma maior energia para gerar o plasma e o nitrogênio precisar ser dissociado para sua posterior ionização. Após, a formação do plasma, o gás argônio é substituído pelo gás nitrogênio e este é mantido durante todo o funcionamento do plasma. No entanto, sua sensibilidade é menor para alguns elementos ao comparar com o plasma de argônio, pois sua temperatura atinge 5.000 °C, enquanto o plasma de argônio pode chegar a 10.000 °C (Agilent Technologies, 2016, Souza, 2018).

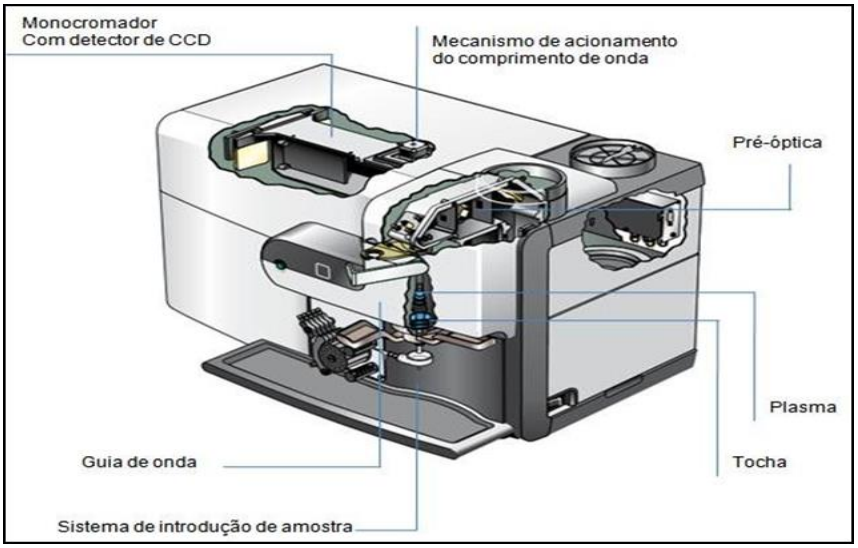


Figura 11 - Imagem do MIP OES com seus principais componentes.
Fonte: Adaptado de Agilent Technologies, 2016.

A introdução da amostra se dá através de uma bomba peristáltica, a qual leva a solução até o nebulizador, local em que ocorrerá a conversão do líquido em aerossol. As finas gotículas do aerossol são separadas em uma câmara de nebulização convencional, conforme ilustra a Figura 12 e introduzidas por meio de um gás de arraste diretamente para a região do plasma. Ao atingir o plasma, o aerossol é convertido em átomos, moléculas e íons. A radiação emitida pela espécie excitada no plasma é coletada através de uma série de componentes ópticos, dispersa por um monocromador, e então é encaminhado ao detector de dispositivo de carga acoplada (CCD) (Jankowski & Reszke, 2010; Agilent Technologies, 2016).

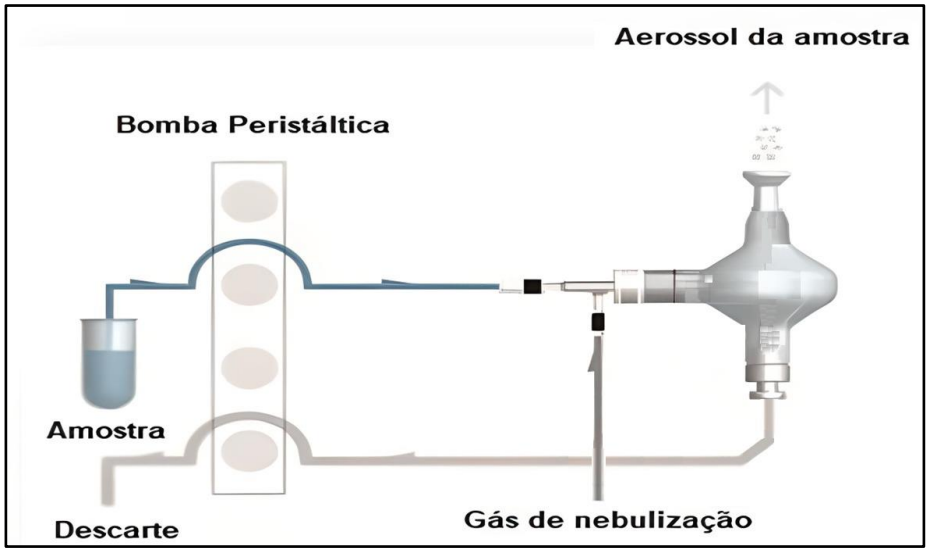


Figura 12 - Sistema de introdução de amostra para o modo convencional.
Fonte: Adaptado de Agilent Technologies, 2016.

A técnica de MIP OES, vem sendo amplamente utilizada na análise elementar de diversos tipos de matrizes. Um levantamento de publicações utilizando a técnica foi realizado por Müller et al. (2020) e demonstra essa aplicabilidade nos últimos 10 anos conforme apresentado na Figura 13. Além disso, é possível observar uma maior utilização em matrizes alimentares como cereais (Souza *et a*l., 2019); peixe e camarão (Silva *et al*., 2019); tecidos de aves (Pinto *et al*., 2019); feijão (Pereira *et al*., 2020); carnes bovina, ovina e peixes (Sá *et al*., 2020); produtos da cana de açúcar (Sampaio *et al*., 2020); tomates, molhos e extratos (Bonemann *et al*., 2021), barras de chocolates (Oliveira *et al*., 2021), pêssegos (Louzada *et al*., 2022), entre outros.

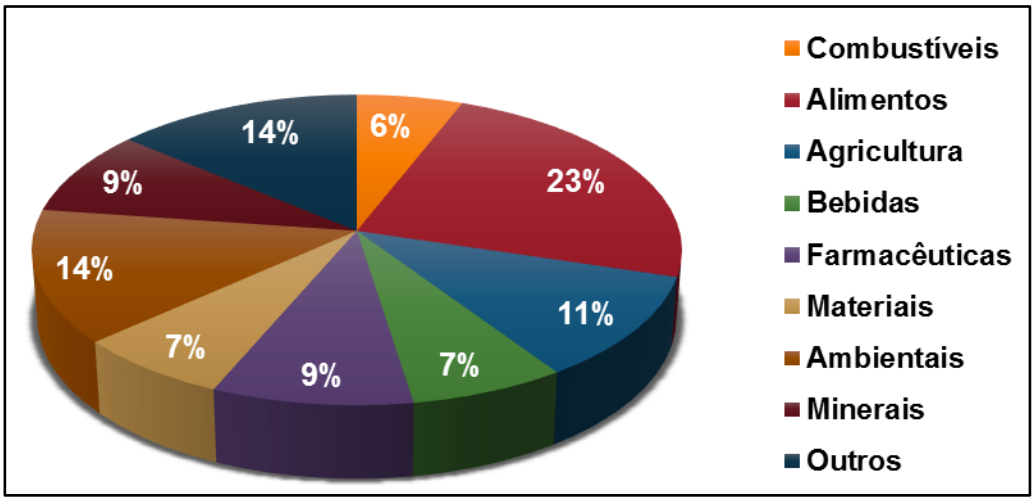


Figura 13 - Aplicações da técnica de MIP OES nos últimos 10 anos.
Fonte: Adaptado de Müller *et al*. (2020).

2.12. Tratamento de dados

Através de uma análise química, pode-se obter muitas informações sobre um grupo de amostras, as quais demandam da utilização de ferramentas estatísticas para compreensão dos diversos resultados que podem ser obtidos. Essas amostras podem ser semelhantes ou diferentes entre si e, isso permite que possam ser agrupadas e classificadas (Ferreira, 2015; Granato *et al*., 2018). Diante disso, a análise exploratória de dados tem como objetivo evidenciar similaridades ou diferenças entre amostras em um determinado conjunto de dados. Para isso, os métodos multivariados mais utilizados são análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Esses são ditos como métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões, uma vez que são capazes de agrupar as amostras com base nos dados experimentais, sem conhecimento prévio sobre os dados (Scheneider *et al*., 2019; Kemsley *et al*., 2019; Ferreira *et al*., 2022).

Sendo a mais utilizada dentre as técnicas de análises, a PCA, projeta os dados em um espaço de menor dimensão, ou seja, as informações são comprimidas por combinações lineares das variáveis originais para formação de um novo sistema de eixos, denominados componentes principais (PC). Essas são ortogonais entre si e em ordem decrescente explicam a variância dos dados (Lima *et al*., 2021; Pérez-Rodríguez *et al*., 2021). Logo, a primeira componente principal (PC1) consiste na combinação linear de máxima variância dos dados originais, ou seja, detém de mais informações estatísticas. Já a PC2, que é ortogonal à PC1, apresenta a maior variância dos dados originais em relação a PC3 e assim sucessivamente (Scheneider *et al*., 2019; Kemsley *et al*., 2019; Lima *et al*., 2021).

Para obter as componentes principais, são utilizados cálculos que envolvem a decomposição da matriz original dos dados em uma matriz de *loadings* e *scores*. Os *loadings* fornecem a composição das PCs em relação às variáveis e os *scores* fornecem a composição das PCs em relação as amostras. Tendo em vista que as componentes principais são ortogonais, se torna possível examinar as relações entre as amostras e variáveis a partir dos dois gráficos, de *scores* e de *loadings,* estimando a influência de cada amostra (Sayes *et al*., 2019; Kemsley *et al*., 2019, Ferreira *et al*., 2022).

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Quantificar elementos essenciais, potencialmente tóxicos e teor de proteínas em amostras de carne ovina de diferentes municipios da Região Sul do Rio Grande do Sul, antes e após a aplicação de tratamento térmico, determinando a fração bioacessível pós cocção através de técnicas espectrométricas.

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver um método de preparo de amostra para carne ovina por decomposição ácida com uso do sistema de refluxo, utilizando planejamento multivariado;
- Determinar em amostras de carne ovina de diferentes criadores da Região Sul a concentração de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn por MIP OES e Cd e Pb por GF AAS;
- Realizar análise de componentes principais (PCA) para avaliar se a localização tem influencia nas concentrações dos elementos;
- Avaliar três métodos de tratamento térmico (cocção em água, forno convencional e micro-ondas);
- Determinar a fração bioacessível dos elementos Al, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn nas amostras tratadas termicamente;
- Correlacionar os valores obtidos nas frações bioacessíveis com o indice diário recomendado e os valores dos elementos potencialmente tóxicos com os valores permitidis pelas legislações;
- Determinar a porcentagem de proteínas nas amostras *in natura* e tratadas termicamente.

4. Experimental

4.1. Instrumentação

Para a determinação dos elementos Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) modelo Agilent 4200 (Agilent Technologies, Austrália), equipado com um nebulizador OneNeb series 2 e uma câmara de nebulização ciclônica. O nitrogênio utilizado para manter o plasma foi extraído do ar atmosférico por meio de um gerador de nitrogênio modelo 4107 (Agilent Technologies, Austrália), com vazões de 20 L min^{-1} e 1,5 L min^{-1} para o gás de plasma e de 1,5 L min^{-1} para o gás auxiliar (nebulização). Para a ignição do plasma foi utilizado um pequeno fluxo de gás Argônio (Ar) fornecido por cilindro de armazenamento interno instalado no aparelho (Agilent Technologies, USA).

As medidas foram realizadas em triplicata com velocidade da bomba peristáltica de 15 rpm, tempo de aspiração das amostras de 15 s, tempo de estabilização de 15 s, tempo de leitura de 3 s e correção automática dos sinais de fundo por meio de subtração entre espectros das amostras e do branco. Os demais parâmetros instrumentais utilizados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros instrumentais utilizados para as determinações multielementares por MIP OES.

Analito	Comprimento de onda (nm)	Posição de visualização do plasma (mm)	Vazão de nebulização (L min^{-1})
Al	396,1	-10	1
Ba	455,4	10	0,65
C	193,0	0	0,75
Ca	393,3	10	0,6
Cu	324,7	0	0,6
Fe	371,9	0	0,75
K	766,4	10	1
Mg	285,2	10	0,7
Mn	403,0	0	0,85
Na	588,9	0	1
Zn	213,8	0	0,55

Para a determinação de Cd e Pb foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite modelo PinAAcle 900z (Perkin-Elmer, Walthan, EUA), equipado com correção de fundo por efeito Zeeman longitudinal, autoamostrador para

forno AS 900, câmera colorida para forno (Tubeview) e o atomizador com aquecimento transversal (THGA). Para cada elemento foi utilizado lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL) (Perkin Elmer, Shelton, EUA). Como gás de purga e proteção, foi utilizado argônio (Ar) com uma pureza de 99,996% (Linde, Barueri, SP).

Todas as amostras de carne ovina foram homogeneizadas em um mixer modelo BMX201 (Britânia, Brasil) e pesadas utilizando uma balança analítica modelo AR 2140 (Ohaus Adventurer, EUA), com uma resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g. Para as decomposições ácidas foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Brasil). Em cada tubo digestor foi acoplado um sistema de refluxo com recirculação de água controlada à 15 °C, mantida por uma unidade de refrigeração termostatizado modelo Q MA083 (Marconi, Brasil).

Para a determinação das proteínas foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Brasil) e um destilador de nitrogênio modelo TE-0364 (Tecnal, Piracicaba, SP). Na cocção das amostras foi utilizada uma chapa de aquecimento (Magnus, Piracicaba, SP, Brasil), e dois fornos de uso doméstico, sendo um com aquecimento por micro-ondas modelo NN-ST571WRU (Panasonic, Manaus, AM) e outro convencional com aquecimento resistivo modelo PFE44PI (Philco, Manaus, AM).

Para a determinação da fração bioacessível, utilizou-se um pHmetro modelo pHS-3B (PHtec, Brasil), um banho Dubnoff com agitação e aquecimento a 37 °C modelo Q226M2 (Quimis, Brasil) e uma centrifuga modelo 5804 (Eppendorf, Alemanha) de velocidade máxima de 10.000 rpm.

4.2. Reagentes

Os reagentes utilizados para este estudo foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas utilizando água desionizada, a qual foi obtida a partir de um sistema de destilação de vidro, modelo MA078/5 (Marconi, Brasil), seguida de desionização através de uma coluna modelo CS1800 Evolution (Permution, Brasil). As soluções multielementares dos analitos foram preparadas a partir da solução estoque nº 6 para ICP (Sigma-Aldrich, Alemanha) contendo 100 mg L^{-1} de cada um dos analitos. O HNO_3 (Synth, Brasil) utilizado na etapa de preparo de amostra foi bidestilado abaixo do ponto de ebulição em um destilador de quartzo, modelo MA-075 (Marconi, Brasil). Para esta etapa também foi utilizado H_2O_2 35 % (m/v) (Êxodo

científica, Brasil). As soluções resultantes do processo de decomposição e a fração biocessível foram filtrados em filtros de membrana *Milipore* com tamanho do poro de 0,45 µm (Kasvi, Brasil) e papel filtro quantitativo JP41 (faixa preta), diâmetro de 9 cm (Unifil, Alemanha), respectivamente. A análise do carbono foi realizada partindo-se de uma solução estoque de dextrose (Synth, Brasil), com faixa de concentração de carbono de 0,05 a 1,0% (m/v).

Para a determinação do teor de proteínas foi utilizado H_2SO_4 98% (Vetec, Brasil); NaOH 40% (Vetec, Brasil); H_3BO_3 99,5% m/m (Sigma-Aldrich, EUA); HCl 38% (Sigma-Aldrich, Brasil). Para os estudos de bioacessibilidade foram utilizados os seguintes reagentes: α- Amylase a partir de Aspergillus oryzae, Pepsina, Bile e Pancreatina 3x (Sigma, EUA); $CaCl_2(H_2O)_2$ (Vetec, Brasil), NaOH (Vetec, Brasil), KCl (Merck, Alemanha), NaCl (Merck, EUA), $NaHCO_3$ (Synth, Brasil), $MgCl_2(H_2O)_6$ (Sigma, EUA), $(NH_4)2CO_3$ (Synth, Brasil), HCl (Qhemis, Brasil), KH_2PO_4 (Sigma-Aldrich, EUA).

Nas análises por forno de grafite, todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura obtida a partir da água destilada submetida ao sistema de purificação Direct-Q 3 da Millipore (Millipore Corporation, Billerica, EUA), com resistividade de 18,3 MΩ cm. Soluções padrões de Cd e Pb foram preparadas por diluições feitas a partir de uma solução estoque para AAS contendo 5 e 100 mg L^{-1}, respectivamente (Perkin Elmer, Shelton, USA). Todos os materiais e vidrarias utilizados em todas as análises foram lavados com água e detergente e, em seguida ficaram por 48 horas imersos em HNO_3 10 % (v/v). Posteriormente foram lavados com água desionizada e secos à temperatura ambiente antes de seu uso.

4.3. Amostras

Para o desenvolvimento e aplicação do método proposto, foram adquiridas amostras de carne ovina de diferentes munícipios da região Sul e Campanha do RS, totalizando 14 amostras, os quais foram Arroio Grande (amostras A e B); Capão do Leão (amostra C); Herval (amostras D, E e F); Pelotas (amostras G, H e I); Santana do Livramento (amostra J); Bagé (amostra K); Porto Alegre (amostra L); Canguçu (amostra M) e Pedro Osório (amostra N). As amostras E e H são animais criados em sistema semiextensivo. As demais amostras são animais criados em sistema extensivo. Foi adquirido um dos cortes mais consumidos desta carne, o quarto ou popularmente conhecido também como pernil de ovelha traseiro com osso. Ao

chegarem no laboratório, foram retiradas as gorduras e cortadas em pedaços de aproximadamente 100 g. Três tratamentos térmicos foram utilizados, os quais consistem cozinhar em água (CA), assar em forno micro-ondas (M) e assar em forno convencional (F).

As amostras *in natura* e processadas termicamente foram homogeneizadas e acondicionadas em frascos de polipropileno (PP) de 50 mL, identificadas e congeladas em um freezer a -16º C, até o momento do preparo das amostras.

4.4. Teor de umidade

Para a determinação do teor de umidade foram pesadas aproximadamente 2 g das amostras diretamente em béqueres, as quais foram posteriormente levadas ao aquecimento em estufa a uma temperatura de aproximadamente 105 °C por 3 h, conforme metodologia descrita por Adolfo Lutz, 2008. Após, as amostras foram retiradas da estufa e deixadas em um dessecador até chegarem à temperatura ambiente para proceder à pesagem das mesmas. Esse processo foi realizado até as amostras adquirirem o peso constante.

4.5. Otimização multivariada do método de decomposição das amostras

Para o desenvolvimento do método de decomposição ácida de amostras de carne ovina em bloco digestor com sistema de refluxo, foi realizada a otimização através de planejamento multivariado completo 2^3, com 4 pontos centrais e 6 pontos axiais, totalizando 18 ensaios. As seguintes variáveis independentes foram investigadas: temperatura do bloco digestor (°C); tempo de decomposição (min) e volume de H_2O_2 (mL), nos níveis apresentados na Tabela 3. A massa de amostra de carne ovina foi fixada em 1 g. O volume de HNO_3 foi mantido em 5,0 mL, uma vez que é a mínima quantidade utilizada para geração do refluxo e condensação dos vapores no momento da decomposição, possibilitando o perfeito funcionamento do sistema. O tempo de 60 min após a adição do H_2O_2 também foi mantido fixo para todos os ensaios.

Tabela 3 - Variáveis e níveis estudados no planejamento multivariado para a otimização das condições de decomposição das amostras.

Variáveis	Níveis				
	-1,68	**-1**	**0**	**+1**	**+1,68**
Temperatura de decomposição (°C)	133	150	175	200	217
Tempo de decomposição (min)	60	90	135	180	210
Volume de H_2O_2 (mL)	1,3	2	3	4	4,7

Como variáveis dependentes foram avaliadas as concentrações, em mg kg^{-1}, de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn. A porcentagem de C residual foi avaliada nas soluções resultantes, uma vez que através desta quantificação pode se obter informações sobre a eficiência de decomposição de uma amostra.

As respostas obtidas foram analisadas através da Análise de Variância para estabelecer modelos matemáticos válidos para realizar predições. Os modelos obtidos foram combinados através da função de desejabilidade de Deringer e Suich (1980) para estabelecer a condição ótima de decomposição para todos os elementos. Em seguida, a condição ótima foi validada experimentalmente (n=3) e os valores foram comparados às concentrações preditas pelos modelos. Para a análise dos dados foi utilizado o software *Design Expert 6.0* (Menneapolis, EUA).

4.6. Decomposição ácida com sistema de refluxo

O preparo das amostras foi realizado em bloco digestor com sistema de refluxo. Para isso, foram pesadas massas referentes a 250 mg de massa seca de amostras de carne ovina *in natura*, cozida em água, assada em forno micro-ondas e forno convencional, o que corresponde a 1,0; 0,810; 0,526 e 0,767 g, respectivamente. As amostras foram pesadas separadamente, nos tubos de digestão e posteriormente adicionados de 5,0 mL de HNO_3. Logo após, acoplou-se o sistema de refluxo e foi encaminhado ao bloco a temperaturas variando entre os níveis de 133 e 217 °C por tempos entre 60 e 210 min (conforme os níveis do planejamento multivariado). Após, as soluções foram retiradas do bloco para resfriamento até temperatura ambiente. Então foi adicionado entre 1,3 e 4,7 mL de H_2O_2 para auxiliar na decomposição da matéria orgânica, (conforme os níveis do planejamento multivariado) e as amostras retornaram ao bloco por mais 1 h na mesma temperatura. Ao final da decomposição as soluções resultantes foram aferidas a 20 mL com água desionizada, filtradas em filtros

de membrana *Milipore* com tamanho do poro de 0,45 µm e diluídas 5 vezes. Todas as amostras foram feitas em triplicata e os brancos analíticos foram preparados empregando as mesmas condições dos experimentos das amostras.

4.7. Determinação da acidez e carbono residual

Para a determinação da acidez, seguiu-se o método do Instituto Adolfo Lutz (2008), no qual uma alíquota de 500 µL do digerido foi diluída em 25 mL de água desionizada e titulada com NaOH 0,1 mol L^{-1} previamente padronizado com biftalato de potássio. Como indicador, utilizou-se a fenolftaleína.

Para a determinação do teor de carbono residual seguiu-se o trabalho descrito por Gouveia et al. (2001). Para isso, foi construída uma curva analítica a partir de uma solução de dextrose com faixa de concentração de carbono de 0,05 a 1,0 % (m/v) e as determinações foram realizadas por MIP OES em um comprimento de onda de 248,7 nm.

4.8. Determinação Cd e Pb por GF AAS

Para a determinação de Cd, foi avaliado o teste de múltiplas injeções para aumentar a massa de analito no tubo de grafite. Sendo assim, foi realizado um estudo com a solução padrão de 1,5 µg L^{-1} em meio aquoso, a qual foi injetada um volume de 20 µL (3 vezes) e um estudo com a solução padrão de 4,5 µg L^{-1} injetada somente uma vez. Para realizar esse estudo, o *software* do equipamento foi programado para pipetar 20 µL do padrão de 1,5 µg L^{-1} (1 vez), seguido das etapas de secagem 1 e 2 entre as injeções para eliminar o solvente. Após a terceira injeção foram adicionados também os modificadores e então realizado todas as etapas do programa de aquecimento, as quais são secagem 1, secagem 2, pirólise, atomização, limpeza e resfriamento, para obter o sinal analítico. O sinal de absorbância obtido para a solução de 1,5 µg L^{-1} e 4,5 µg L^{-1} foram comparados através do teste *t* de Student a 95% de confiança. Para realizar este estudo as temperaturas de pirólise e atomização utilizadas foram as descritas pelo *cookbook* do equipamento.

Um estudo de massa de modificares (Pd/Mg) foi realizado para avaliar o comportamento das soluções padrões de 1,5 µg L^{-1}; 4,5 µg L^{-1} e Material de Referência (MR) de rim bovino (MR 2018) sem modificadores e com diferentes massas. Posteriormente, as temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas variando

de 200 a 800 °C e de 1100 a 1900 °C, respectivamente. Para esta otimização utilizou o padrão de 4,5 µg L^{-1} e o MR, além de teste de adição de analito em meio da amostra com as concentrações de 1,5 µg L^{-1} e 4,5 µg L^{-1}.

Para o Pb também foi realizado o teste de múltiplas injeções, primeiramente em três amostras, porém não apresentaram sinal de absorbância para este elemento após 3 injeções de 20 µL^{-1} de amostras. Sendo assim, optou-se por utilizar as temperaturas de pirólise e atomização descritas pelo *cookbook* do equipamento. As condições operacionais utilizadas para a determinação de Cd e Pb estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Programa de tempo e temperatura do forno de grafite para a determinação de Cd e Pb em amostras de carne ovina tratadas em meio de HNO_3.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (°C s^{-1})	Tempo de permanência (s)	Vazão do gás (L min^{-1})
Secagem 1	110**	5	30	250
Secagem 2	130**	15	30	250
Pirólise	500[a] 800[b]	10	20	250
Atomização	1600[a] 1700[b]	0	5	0
Limpeza	2450	1	3	250

a: Cd; b: Pb; **na determinação por múltiplas injeções essas etapas foram repetidas 2x.

4.9. Parâmetros de mérito

A linearidade da curva de calibração foi avaliada para cada elemento através do teste de ajustamento a 95 % de confiança, que consiste em decompor a variância total em três componentes devido à regressão, modelo e resíduos. Sendo assim, para os elementos que apresentaram o modelo quadrático significativo, estes foram ajustados para faixas que permitam estabelecer modelo linear significativo e com ajuste adequado. Este teste foi feito com a utilização do *software Statistica 7.0* da *Statsoft* (Tulsa, EUA).

Os limites de detecção e quantificação do método para os elementos determinados por MIP OES foram calculados conforme as equações de 1 a 4.

$$LD = \frac{3\ X\ SD_{branco}\ X\ BEC}{100} \qquad \text{Eq. 1}$$

$$LQ = \frac{10\ X\ SD_{branco}\ X\ BEC}{100} \qquad \text{Eq. 2}$$

$$BEC = \frac{C_{padrão}}{SBR} \qquad \text{Eq. 3}$$

$$SBR = \frac{I_{padrão} - I_{branco}}{I_{branco}} \qquad \text{Eq. 4}$$

Sendo: SD: Desvio padrão da leitura do branco (n=10); BEC: Concentração equivalente do fundo; $C_{padrão}$: Concentração de um padrão da curva analítica; $I_{padrão}$: Intensidade do sinal de emissão do padrão da curva escolhido e I_{branco}: Intensidade do sinal de emissão do branco analítico; SBR: Razão entre o sinal de emissão e sinal de fundo.

Já para o Cd e o Pb os limites de detecção e quantificação foram calculados levando em consideração a medida de 10 replicatas do branco utilizado na curva de calibração

$$LD = \frac{3{,}3\ x\ \sigma}{a} \qquad LQ = \frac{10\ x\ \sigma}{a} \qquad \text{Eq. 5 e 6}$$

Onde: σ é o desvio padrão das medidas do branco e a é o coeficiente angular da curva.

4.10. Avaliação da exatidão

A exatidão do método foi avaliada através da decomposição de dois Materiais de Referência Certificados (CRM). Foram utilizados os CRMs de carne homogeneizada (NIST 1546a) e o de fígado bovino (NIST 1577c) para os elementos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn. Para Cd e Pb foram utilizados o MR de rim bovino (MR 2018) e o CRM fígado bovino (NIST 1577c). Os resultados obtidos foram comparados com os valores certificados através do teste *t* de Student a 95% de confiança. Testes de adição de analito também foram realizados em três níveis de concentrações diferentes 0,75, 1,5 e 2,25 mg L^{-1} para Al, Ba; em dois níveis 1,5 µg L^{-1} e 4,5 µg L^{-1} para Cd e três níveis 15, 30 e 45 µg L^{-1} para Pb.

4.11. Tratamento térmico

O tratamento térmico das amostras seguiu os métodos descritos por Menezes *et al*. (2018). *Cocção em água (CA):* Colocou-se em um recipiente de vidro, previamente descontaminado, 500 mL de água desionizada e levou-se a chapa de

aquecimento até que a água começou a ebulir. Posteriormente colocou-se, aproximadamente, 100 g de carne e deixou-se por 30 min.

Assada em forno micro-ondas: aproximadamente 100 g de amostras foram colocadas em um recipiente de vidro e cobertas com tampa de silicone. Posteriormente foram colocadas no micro-ondas por 6 min a uma potência de 650W.

Assadas em forno convencional: as amostras, 100 g, foram colocadas em um recipiente de vidro coberto com papel alumínio e levadas ao forno, pré-aquecido, á uma temperatura de 180 °C por 45 mim.

Todas as 14 amostras foram submetidas aos 3 tipos de tratamentos térmicos separadamente, sem adição de qualquer tipo de tempero. Todo material utilizado foi previamente descontaminado em banho de HNO_3 10% (v/v), após cada tratamento térmico. Após cada procedimento as amostras eram resfriadas, cortadas, homogeneizadas em um mixer de alimentos, colocadas em frascos de PP e congeladas até o momento das análises.

4.12. Fração Bioacessível

Para os estudos de bioacessibilidade nas amostras tratadas termicamente, utilizou-se o processo de digestão *in vitro*, o qual foi adaptado de Minekus *et al*. (2014). No desenvolvimento deste estudo, foram pesados aproximadamente 3 g de cada amostra de carne ovina submetida aos três diferentes métodos de cocção, separadamente em frascos de PP. Na primeira etapa, 4 mL de saliva sintética e 1 mL de $CaCl_2$ 7,5 mmol L^{-1} foram adicionados diretamente as amostras, o pH da solução foi ajustado para 7 com a adição de NaOH 1 mol L^{-1} e, posteriormente encaminhadas ao banho Dubnoff com aquecimento a 37 °C e agitação, por 10 min. Na segunda etapa, foram adicionados 9,1 mL de suco gástrico sintético, 700 µL de $CaCl_2$ 2 mmol L^{-1} e HCl 1 mol L^{-1} , para ajustar o pH da solução para 3, e novamente encaminhadas ao banho *Dubnoff* com aquecimento a 37 °C e agitação por 2 h. Já na terceira etapa, adicionou-se 18,5 mL de suco intestinal, 1,35 mL de $CaCl_2$ 9 mmol L^{-1} e NaOH 1 mol L^{-1} , para ajustar o pH a 7, e encaminhou-se as soluções novamente ao banho à 37 °C com agitação por mais 2 h. Após as soluções foram colocadas em um banho de gelo por 20 min para inativação da atividade enzimática e, posteriormente, centrifugadas por 10 min a 10.000 rpm para separação da fração bioacessível (sobrenadante), a qual foi utilizada para determinação dos analitos por MIP OES e da

fração não bioacessível (parte sólida). Para análise da fração bioacessível, as amostras foram filtradas em papel filtro JP41 (faixa preta), diluída 5 vezes a analisada por MIP OES.

A fração não bioacessível, correspondente à parte sólida obtida por centrifugação, foi submetida à decomposição ácida para avaliação da exatidão da bioacessibilidade por meio de um balanço de massa, conforme já relatado na literatura por Souza *et al*. (2019). O procedimento foi realizado em triplicata e um experimento de decomposição da parte sólida do branco foi realizado em paralelo, para eliminar quaisquer interferências de impurezas contidas nos reagentes empregados. O cálculo da fração bioacessível (%FB) foi realizado considerando a razão entre a concentração bioacessível e a concentração total obtida na decomposição ácida, conforme descrito por Souza *et al*. (2019).

4.13. Determinação de proteínas

A proteína bruta foi determinada de acordo com método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), o qual consiste em três etapas: digestão, destilação e titulação. A etapa da digestão ocorre com aquecimento da amostra, tendo como objetivo a quebra das ligações orgânicas e a conservação do nitrogênio em amônia. Nesta etapa, foram pesadas aproximadamente 0,3 g de amostras de carne ovina (*in natura* e as amostras tratadas termicamente) diretamente em tubos de digestão, após adicionou-se 0,5 g da mistura catalítica (K_2SO_4:$CuSO_4$) na proporção 10:1. Posteriormente, foram adicionados 5 mL de H_2SO_4 e os tubos foram levados ao bloco digestor a 350 °C por aproximadamente 3 h ou até que as paredes internas dos tubos estivessem límpidas e não houvesse mais desprendimento de fumaça branca de SO_2. A digestão é completada quando a solução apresentar uma coloração verde água transparente. Após as soluções são retiradas do bloco, deixadas esfriar e adicionados 10 mL de água destilada.

No processo de destilação, as amostras são transferidas, uma a uma, para os frascos de destilação, adicionados 25 mL de NaOH 50% (m/v) e o frasco é conectado ao destilador, iniciando o processo. Um erlenmeyer contendo 10 mL de H_3BO_3 2% (m/v) e 3 gotas de indicador misto (vermelho de metila e verde de bromocresol) é acoplado do outro lado do destilador para recolher o condensado até destilação de toda a amônia.

Na titulação, o destilado no erlenmeyer é titulado com uma solução de HCl 0,1 mol L^{-1}, até que a coloração mude do verde para o rosa. O volume gasto de HCl é utilizado para os cálculos do teor de proteína conforme equação 7.

$$proteína\ bruta\ (\%) = \frac{100\ x\ 0{,}014\ x\ 6{,}25\ x\ (Va - Vb) x\ F\ x\ C}{peso\ da\ amostra\ (g)} \qquad \text{Eq. 7}$$

Onde: Va = volume de HCl 0,1 mol/L gasto na titulação. Vb = volume de HCl 0,1 mol/L gasto na prova em branco. F = fator de correção da solução de HCl 0,1 mol/L. C = concentração do HCl em mol/L. 6,25 = fator de transformação do nitrogênio em proteína, considerando 16% de nitrogênio (100/16=6,25). 0,014 = miliequivalente grama do nitrogênio.

4.14. Tratamento estatístico

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *Statistica 7.0* (*Statsoft*., 2004) e o *software* Microsoft Excel (Microsoft, 2021). Foram realizados os seguintes testes: análises multivariadas de PCA, considerando correlações entre as grandezas das concentrações obtidas.

5. Resultados e Discussões

5.1. Teor de umidade e acidez

A umidade caracteriza a água contida no alimento, podendo encontrar-se nas formas livre ou ligada. A água livre é facilmente removida e compõe a maior fração de umidade presente nos alimentos (IAL, 2008). Neste trabalho, o teor de umidade encontrado na carne ovina *in natura* foi de 75,4 ± 1,3 %. De acordo com Bhatt *et al*. (2012) e Lopes *et al*. (2012) o teor de umidade da carne ovina é de 75 %, demonstrando assim, concordância com o valor encontrado neste trabalho. Já Higueira *et al*., (2021) encontrou 73,4 % de umidade em lombos de cordeiro.

Nas amostras tratadas termicamente, observou um teor de umidade de aproximadamente 69,3 ± 3,9 % nas amostras cozidas em água; 52,5 ± 2,4 % nas amostras de micro-ondas e 67,4 ± 2,3 % nas amostras tratadas no forno. Com esses resultados, foi possível observar que as amostras tratadas por micro-ondas apresentam um menor teor de umidade e consequentemente uma maior perda de massa. Menezes *et al*. (2018) e Higueira *et al*. (2021) avaliaram diferentes métodos de cocção em amostras de carne bovina, frango, suína e ovina e relataram uma menor porcentagem de umidade nas amostras tratadas por micro-ondas. Esse fenômeno é explicado pela temperatura, pois quanto maior a temperatura interna da carne maior a perda de água durante o cozimento. No entanto, o percentual de umidade também está relacionado ao método de cozimento, ao período de exposição à temperatura, ao tipo de carne utilizada e à taxa de aquecimento (Bejerholm *et al*., 2014).

A determinação da umidade é uma das medidas mais relevantes e utilizadas na análise de alimentos, pois está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição. A água, do ponto de vista quantitativo, é o constituinte mais importante da carne e exerce influência na qualidade, tanto na suculência, como no sabor, textura e cor da carne (TACO, 2011; Bhatt *et al*., 2012; Lopes *et al*., 2012). Já do ponto de vista analítico, é importante determinar a quantidade de água presente nos alimentos, uma vez que pode influenciar na eficiência dos reagentes adicionados durante o preparo das amostras (Krug, 2010).

Em relação à acidez, a Agilent Technologies recomenda que as amostras sejam introduzidas no MIP OES com um teor máximo de até 5 % (v/v). Isso se faz necessário, uma vez que preserva os componentes do equipamento e permite um perfeito funcionamento do plasma. Sendo assim, todas amostras foram diluídas 5

vezes (Agilent Technologies, 2016) com água desionizada, pois apresentaram um teor médio de 16 % de acidez.

5.2. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito obtidos a partir das curvas analíticas para determinação multielementar das concentrações por MIP OES estão apresentados na Tabela 5 e par as determinações de Cd e Pb por GF AAS estão apresentados na Tabela 6. Observa-se que para Al, Ba, Cu, Mg, Mn, Na e Zn a faixa linear foi de 0,1 a 2 mg L^{-1}, com modelos significativos, sem falta de ajuste e com resíduos aleatórios. Já para o Ca, Fe e K a faixa linear foi de 0,1 a 5 mg L^{-1}.

Os limites de detecção instrumental foram comparados com os encontrados por Pinto *et al.* (2019) que utilizou o MIP OES para determinar elementos em amostras de tecidos de aves e obteve valores de 0,0006; 0,0005; 0,002; 0,006; 0,002; 0,0009; 0,003; 0,006 mg L^{-1} para Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn, respectivamente. Já Silva (2023) ao analisar amostras de ervilha por MIP OES obteve valores de LD instrumental para Al, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn de 0,001; 0,0001; 0,0004; 0,005; 0,002; 0,001; 0,001; 0,003 mg L^{-1}, respectivamente. Esses valores são comparáveis aos encontrados neste trabalho utilizando a mesma técnica de quantificação.

Em relação aos limites de detecção obtidos por GF AAS, é possível verificar que essa técnica apresenta um ganho significativo de sensibilidade para determinação de elementos traços em comparação ao MIP OES. Comparando os $LD_{(m)}$ com trabalhos relatados na literatura utilizando a mesma técnica, GF AAS, foram obtidos $LD_{(m)}$ de 1,20 ng g^{-1} para Cd e 26,6 ng g^{-1} para Pb para determinação destes elementos em amostras de arroz (Oliveira *et al*., 2016). Já no trabalho De Souza *et al*. (2015) ao determinar esses elementos em amostras de goma xantana, obteve $LD_{(m)}$ de 2,2 ng g^{-1} para Cd e de 33,8 ng g^{-1} para Pb. Esses resultados da literatura estão concordantes com o presente trabalho para Cd e superiores para o Pb.

Tabela 5 - Parâmetros de mérito obtidos por MIP OES para as determinações das concentrações dos elementos investigados.

Elementos	Faixa Linear (mg L^{-1})	*a* (L mg^{-1})	R^2	$LD_{(i)}$ (mg L^{-1})	$LQ_{(i)}$ (mg L^{-1})	$LD_{(m)}$ (mg kg^{-1})	$LQ_{(m)}$ (mg kg^{-1})
Al	0,1 - 2	45.706	0,999	0,0025	0,0082	0,051	0,168
Ba	0,1 - 2	542.474	0,996	0,0014	0,0046	0,028	0,092
C*	0,05 - 1	3.026	0,998	0,0011	0,0023	0,022	0,073
Ca	0,1 - 5	747.447	0,998	0,0016	0,0053	0,032	0,105
Cu	0,1 - 2	209.407	0,998	0,0014	0,0046	0,029	0,096
Fe	0,1 - 5	16.456	0,999	0,0061	0,020	0,122	0,402
K	0,1 - 5	73.544	0,991	0,0029	0,0096	0,058	0,191
Mg	0,1 - 2	289.429	0,997	0,0007	0,0024	0,015	0,049
Mn	0,1 - 2	61.818	0,997	0,0005	0,0017	0,011	0,036
Na	0,1 - 2	604.326	0,998	0,0032	0,0106	0,064	0,211
Zn	0,1 - 2	20.048	0,996	0,0008	0,0028	0,016	0,056

a: coeficiente angular; R^2: coeficiente de correlação linear ao quadrado; LDi = limite de detecção instrumental; LQi = limite de quantificação instrumental; LD_m: limite de detecção do método; LQ_m: limite de quantificação do método; *concentração em %.

.

Tabela 6 – Parâmetros de mérito obtidos para Cd e Pb por GF AAS

Elementos	Faixa linear (µg L^{-1})	a (L µg^{-1})	R^2	$LD_{(i)}$ (µg L^{-1})	$LQ_{(i)}$ (µg L^{-1})	$LD_{(m)}$ (µg kg^{-1})	$LQ_{(m)}$ (µg kg^{-1})
Cd	1 – 5	0,0542	0,999	0,062	0,205	1,24	4,09
Pb	10 – 50	0,0224	0,999	0,886	2,92	17,72	58,47

a: coeficiente angular; R^2: coeficiente de correlação linear ao quadrado; LDi = limite de detecção instrumental; LQi = limite de quantificação instrumental; LD_m: limite de detecção do método; LQ_m: limite de quantificação do método.

5.3. Otimização das condições de decomposição

Na Tabela 7, são apresentadas as variáveis dependentes e independentes e a Tabela 8 apresenta os modelos gerados para cada elemento estudado neste planejamento.

Tabela 7 - Variáveis codificadas e decodificadas do planejamento multivariado e respostas obtidas expressas em concentrações.

Variáveis e níveis codificados			Variáveis e níveis decodificados			Concentração (mg kg^{-1})										%
A	B	C	Tempo (min)	Temperatura (°C)	H_2O_2 (mL)	Al	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn	C
-1	-1	-1	90	150	2	0,197	0	34,44	0,69	218,39	3295,7	198,53	0,177	463,38	24,59	0,200
1	-1	-1	180	150	2	0,520	0,94	35,92	0,76	228,07	3352,1	202,38	0,179	476,78	25,52	0,188
-1	1	-1	90	200	2	0,185	0,71	32,04	0,46	234,87	2921,5	200,32	0,148	405,65	23,24	0,144
1	1	-1	180	200	2	0,413	0,92	34,43	0,55	197,55	3197,0	183,14	0,138	440,46	23,42	0,193
-1	-1	1	90	150	4	0,612	0,89	27,75	0,47	246,45	3301,1	203,77	0,179	473,29	19,75	0,115
1	-1	1	180	150	4	0,510	0,79	34,72	0,57	219,11	3317,6	191,78	0,178	469,21	23,44	0,089
-1	1	1	90	200	4	0,436	0,028	23,73	0,51	245,34	3069,7	197,85	0,150	435,22	20,34	0,090
1	1	1	180	200	4	0,190	0,57	33,33	0,42	190,32	2968,2	183,36	0,171	398,05	21,90	0,089
-1,68	0	0	59,3	175	3	0,642	0,59	34,08	0,39	238,89	3235,5	197,55	0,178	438,46	23,21	0,113
1,68	0	0	210,7	175	3	0,365	0,78	32,60	0,44	211,06	3020,8	194,65	0,175	417,49	20,43	0,092
0	-1,68	0	135	132,9	3	0,051	0,63	32,90	0,58	216,31	3242,1	190,25	0,165	447,44	22,32	0,091
0	1,68	0	135	217	3	0,536	0,73	32,15	0,34	186,19	2630,8	162,72	0,146	356,61	18,51	0,081
0	0	-1,68	135	175	1,32	0,599	0,78	34,60	0,49	212,93	3313,8	196,51	0,171	469,49	22,59	0,229
0	0	1,68	135	175	4,68	0,188	0,79	25,93	0,42	231,33	3185,7	197,24	0,132	452,22	18,37	0,047
0	0	0	135	175	3	0,527	0,75	33,53	0,36	216,67	3266,0	195,35	0,168	465,00	22,50	0,068
0	0	0	135	175	3	0,561	0,78	32,61	0,22	207,46	3183,6	187,28	0,153	449,78	21,44	0,054
0	0	0	135	175	3	0,536	0,63	33,68	0,31	224,05	3121,4	196,69	0,156	442,38	20,02	0,049
0	0	0	135	175	3	0,521	0,74	30,54	0,20	216,76	3172,9	192,00	0,159	450,15	22,05	0,058

Tabela 8 - Coeficientes significativos dos modelos e seus respectivos erros para os elementos determinados.

Resposta	Modelo	Coeficientes significativos (erros)[1]										Significância Regressão (F)[2]	Falta de Ajuste do Modelo (F)[3]
		Inter-Cepto	A Tempo	B Temperatura	C Vol. H_2O_2	A^2	B^2	C^2	AB	AC	BC		
Al	Médio	0,42 (0,044)										-	137,03 (S)
Ba	2FI	0,67 (0,047)	0,14 (0,054)								-0,22 (0,070)	3,18 (S)	12,20 (S)
Ca	Linear	32,17 (0,538)			-2,34 (0,618)							6,80 (S)	2,90 (NS)
Cu	Quadrático	0,27 (0,043)		-0,07 (0,023)		0,07 (0,024)	0,09 (0,024)	0,09 (0,024)				4,48 (S)	1,50 (NS)
Fe	Quadrático	215,91 (3,860)	-11,49 (2,093)	-6,93 (2,093)					-9,34 (2,734)	-6,84 (2,734)		8,34 (S)	1,47 (NS)
K	Linear	3155,3 (28,805)		-156,62 (33,084)								7,66 (S)	5,03 (NS)
Mg	Quadrático	192,55 (3,116)		-5,72 (1,690)			-4,59 (1,758)					3,49 (S)	2,95 (NS)
Mn	Médio	0,16 (0,004)										-	6,40 (NS)
Na	Quadrático	451,01 (7,306)		-26,08 (3,962)			-14,10 (4,121)					7,48 (S)	3,21 (NS)
Zn	Linear	21,87 (0,361)			-1,35 (0,414)							4,79 (S)	2,29 (NS)
% C	Quadrático	0,06 (0,010)			-0,05 (0,006)	0,02 (0,006)	0,02 (0,006)	0,03 (0,006)				13,64 (S)	9,68 (S)

[1] A: tempo (min); B: Temperatura (°C); C: Volume de H_2O_2 (mL).
[2] F crítico para a significância da regressão: $F_{(14,12)} = 2,62$ para modelo quadrático e $F_{(4,22)} = 2,82$ para modelo linear.
[3] F crítico para a falta de ajuste: $F_{(5,3)} = 9,01$ para modelo quadrático, $F_{(11,3)} = 8,74$ para modelo linear e $F_{(8,3)} = 8,85$ para modelo 2FI (Modelo linear com interações significativas).
S: Significativo para o modelo (significância da regressão) e modelo com falta de ajuste. NS: Modelo não apresenta falta de ajuste.

Para o percentual de carbono (% C), o modelo apresentou pequena falta de ajuste (1,08 vezes o valor crítico), com 95 % de confiança. Segundo Ballus *et al*. (2014) e Dias et al. (2015) modelos com leve falta de ajuste (até 10 vezes o valor crítico) ainda podem ser úteis, de forma cautelosa, para realizar predições. A variável C (volume de H_2O_2) foi a que mais exerceu efeito sobre a % de carbono. Quando esta variável foi aumentada o % de carbono reduziu (efeito linear negativo), caracterizando que a adição deste reagente auxilia no processo de decomposição da amostra. Porém, não há necessidade de um grande volume para decomposição das amostras de carne ovina visto que o coeficiente quadrático da variável C foi significativo e positivo.

As demais variáveis também exerceram efeito quadrático positivo, indicando que seu uso nos níveis intermediários favorecem a obtenção do teor mínimo de carbono. É importante determinar a quantidade de carbono residual, uma vez que o alto teor na amostra após decomposição pode afetar a exatidão dos métodos analíticos (Krug & Rocha, 2016). Além disso, serve como parâmetro para avaliar a extensão do processo de decomposição, e, menores resultados de carbono, indicam uma melhor eficiência de decomposição (Gouveia *et al*., 2001; Krug & Rocha, 2016; Pinto *et al*., 2019). Na Tabela 5 pode-se observar que em todos os experimentos do planejamento multivariado foram obtidos percentuais de carbono menor que 0,20 % (m/v), indicando que, para essa resposta, todos os níveis estudados para as três variáveis atendem o propósito da análise.

Entre os elementos estudados, oito deles (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn) não apresentaram falta de ajuste dos modelos, com 95 % de confiança e apresentaram resíduos aleatórios. Destes, quatro tiveram seus dados explicados por modelos quadráticos, três por modelos lineares e um pelo modelo médio (nenhuma variável apresentou efeito de interação). Os resultados obtidos para o Ba foram explicados, com leve falta de ajuste (1,38 vezes o F crítico) através do modelo 2FI (modelo linear com uma interação significativa). Apesar da leve falta de ajuste este modelo foi empregado na otimização. No entanto, para os dados do Al não foi possível estabelecer um modelo com ajuste adequado.

O efeito do tempo de decomposição (variável A) apresentou significância negativa para o Fe e positiva para o Ba. Sendo assim, é possível observar que um aumento do tempo de decomposição pode impactar na concentração dos elementos na solução. Pinto *et al*. (2019) relata que, em amostras de frango, um tempo maior

permite melhores resultados no processo de decomposição da amostra utilizando o mesmo sistema de refluxo. Também observaram que ao realizar decomposições em menos de 180 min, ocorria decomposição incompleta da amostra, corroborando com os resultados observados para o Ba. Já no trabalho de Oreste *et al*. (2013), ao decompor amostras de carne no sistema de refluxo, foi utilizado um tempo de somente 1 h, porém com uma temperatura relativamente alta, de 220 °C. O tempo está diretamente relacionado com a temperatura de decomposição, a qual deve ser suficiente para que as energias de ativação dos processos químicos sejam atingidas e as ligações químicas sejam rompidas.

A variável temperatura (B) foi a que mais afetou o processo de decomposição. Seu efeito linear foi significativo e negativo para os elementos Cu, Fe, K, Mg e Na, indicando que uma menor temperatura é o suficiente para que a maioria dos elementos esteja livre em solução e torne possível sua quantificação pela técnica analítica a ser utilizada. Para Mg e Na o efeito quadrático da temperatura foi negativo, indicando que o aumento da temperatura até um certo ponto crítico é favorável para obtenção de uma maior concentração destes elementos. Ao fixar a temperatura de decomposição é importante salientar que há relatos na literatura os quais recomendam que as amostras sejam decompostas em temperaturas um pouco acima do ponto de ebulição do azeótropo formado entre o ácido nítrico e a água (120 °C), garantindo a quebra das ligações entre os analitos e as proteínas e os lipídeos (Kpee *et al*., 2009; Alves *et al*., 2018).

O aumento da variável C (volume de H_2O_2 em mL), foi significativa e impactou negativamente nos resultados de C, Ca e Zn, indicando que pequenas quantidades de H_2O_2 no preparo de amostras são suficientes, conforme já foi observado para a % de carbono. Isso demonstra que o H_2O_2 é um oxidante auxiliar e se faz necessário na decomposição de amostras de carne ovina. Além disso, é considerado um reagente versátil e ambientalmente amigável, uma vez que seus principais produtos de decomposição são o O_2 e H_2O (Krug & Rocha, 2016). Já para o Cu, a variável C teve coeficiente quadrático positivo, indicando que seu uso em quantidades intermediárias reduziu a concentração deste elemento. Isso é observado para as variáveis quadráticas A e B, indicando que um aumento no tempo e na temperatura reduz a concentração de Cu.

Com o aumento simultâneo do tempo, temperatura e volume de H_2O_2 nos efeitos de interação é possível observar que somente o Fe apresentou efeitos entre

as interações AB e AC significativos e negativos, indicando que ao aumentar essas variáveis simultaneamente há uma diminuição da resposta analítica para o Fe. O aumento simultâneo de AC também afetou negativamente a resposta do Fe, da mesma forma que o aumento simultâneo de B e C afetou negativamente a resposta do Ba. Efeitos de redução da resposta analítica possivelmente podem ser explicados pela matriz da amostra, a qual pode interferir e comprometer o desempenho da análise, pois seus componentes podem aumentar ou reduzir uma resposta analítica (Ferreira *et al*., 2019). Com isso, aplicar as melhores condições de decomposição combinando todas as variáveis para que todos os elementos estejam em solução nem sempre é possível, pois uma variável pode ser ideal em um determinado nível para alguns elementos, porém pode reduzir a concentração de outros. Para isso, se faz necessário o estudo multivariado das condições de preparo de amostras, principalmente de carne ovina, visto que os trabalhos relatados na literatura utilizam a decomposição por radiação micro-ondas. Para uma melhor visualização das interações entre as variáveis, as Figuras 14 e 15 mostram os gráficos de superfícies de respostas entre as variáveis estudadas que apresentaram efeitos significativos para os elementos Ba, Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn.

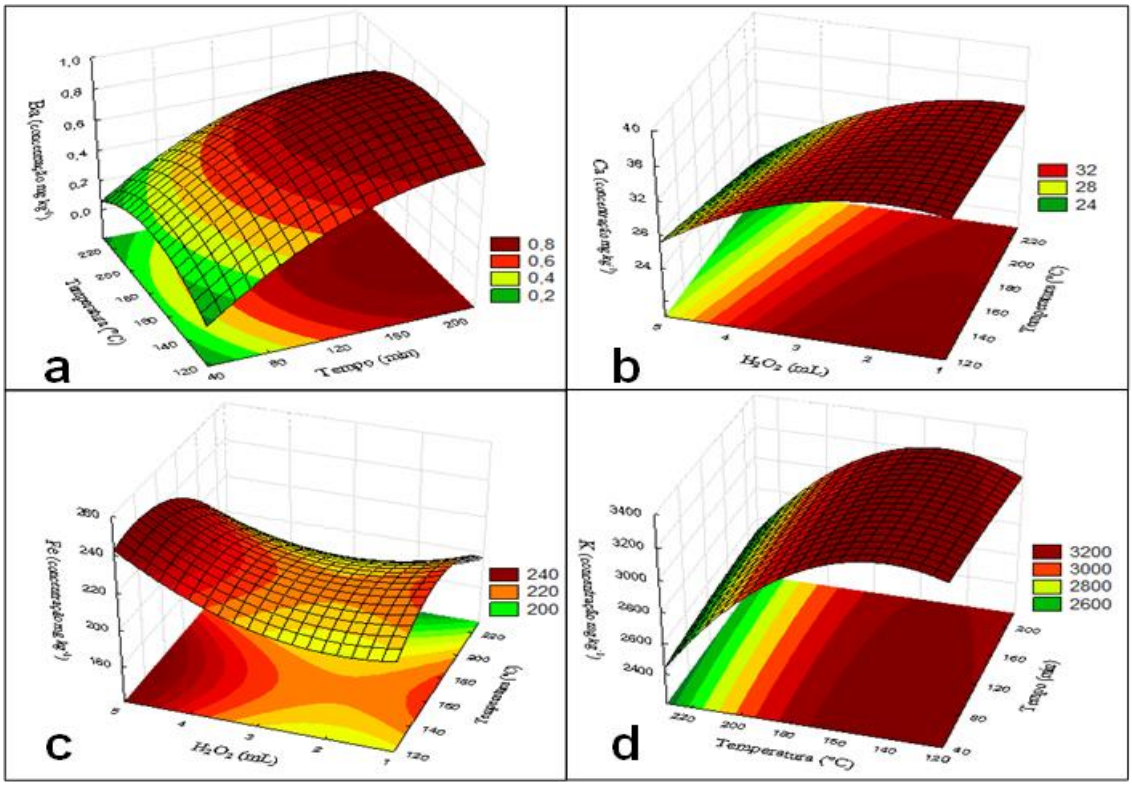


Figura 14 - Superfícies de respostas (a): Ba – temperatura (°C) *versus* tempo (min); (b): Ca – volume H_2O_2 (mL) *versus* temperatura (°C); (c): Fe - volume H_2O_2 (mL) *versus* temperatura (°C); (d): K – temperatura (°C) *versus* tempo (min).

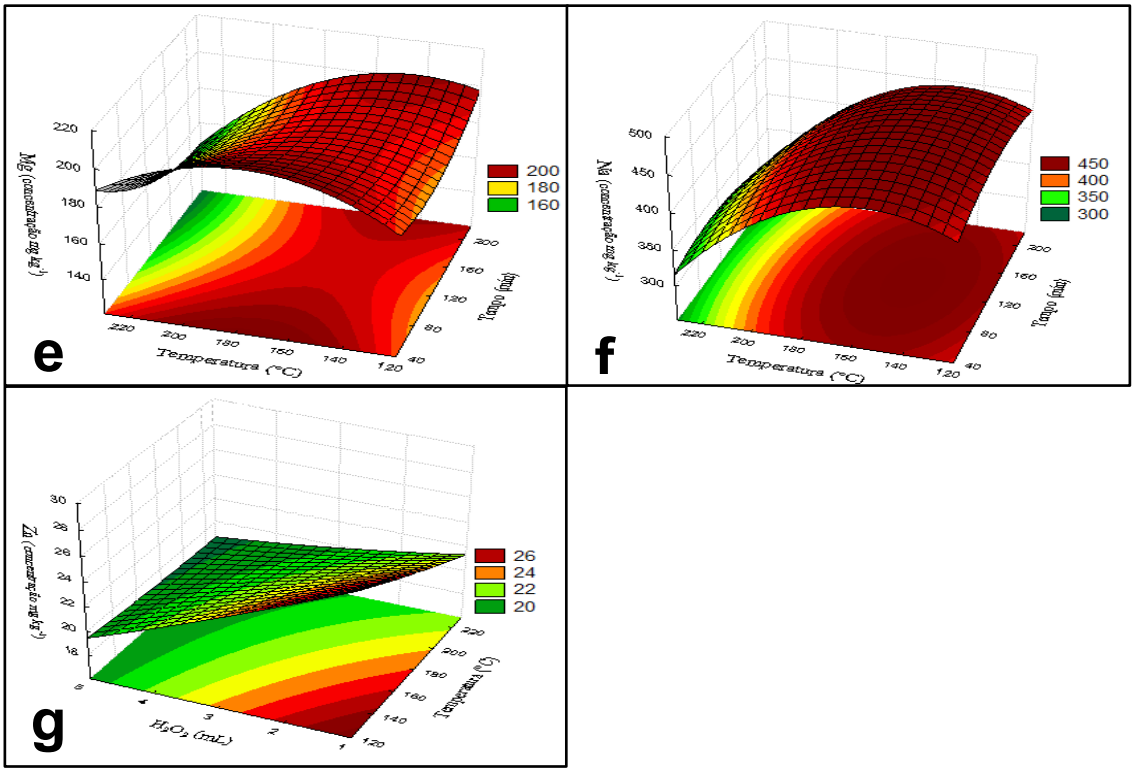


Figura 15 – Superfícies de respostas (e): Mg – temperatura (°C) *versus* tempo (min); (f): Na - temperatura (°C) *versus* tempo (min); (g): Zn - volume H_2O_2 (mL) *versus* temperatura (°C).

5.4. Condição ótima de decomposição e validação

Na Tabela 9 estão apresentados os elementos, as condições de desejabilidade estabelecidas, as condições ótimas preditas para decomposição da amostra simultânea para que todos os elementos estejam livres em solução. Além dos resultados preditos, os resultados experimentais observados e o erro relativo em porcentagem, calculado conforme a expressão ([(predito - observado) /preditol] x 100) (Lorini *et al*., 2022).

Tabela 9 - Condições de desejabilidade empregadas para otimização simultânea da decomposição ácida para quantificação de metais em amostras de carne ovina, respostas previstas pelos modelos e valores observados experimentalmente (mg kg^{-1}).

Variáveis e Respostas	**Desejabilidade**	**Limite inferior**	**Limite superior**	**Valor predito**	**Valor observado**	**Erro Relativo**
Tempo (min)	Mínimo	-1,68	1,68	1,15		
Temperatura (°C)	Na faixa	-1,68	1,68	-1,47		
Volume de H_2O_2 (mL)	Na faixa	-1,68	1,68	-1,18		
Elementos	**Concentração (mg kg^{-1})**					
Al	Na faixa			0,42	0,33	21,42 %
Ba	Máximo			0,62	0,52	16,12 %
Ca	Máximo			37,57	41,9	-11,52 %
Cu	Máximo			0,98	0,92	6,12 %
Fe	Máximo			232,3	242,5	-4,39 %
K	Máximo			3403	3446,5	-1,28 %
Mg	Máximo			202,5	210,7	-4,05 %
Mn	Máximo			0,162	0,14	13,58 %
Na	Máximo			477,2	441,4	1,22 %
Zn	Máximo			24,8	25,4	-2,42 %
C	Na faixa			0,23	0,21	8,69 %

A combinação dos modelos foi possível com uma desejabilidade global de 53%. A desejabilidade atendida não foi maior devido à dificuldade da combinação perfeita dos modelos uma vez que o comportamento dos elementos depende da forma como eles estão ligados a matriz orgânica da amostra e isso pode ser observado nas distintas interações entre os efeitos para os elementos. Considerando a complexidade da matriz da amostra de carne ovina, por conter proteínas e gorduras, o método

apresentou boa adequação dos modelos e permitiu a decomposição da amostra e a liberação dos analitos em solução.

A condição ótima de decomposição resultou nas seguintes condições para as variáveis: A (tempo): 187 min; B (temperatura): 140 °C e C (volume de H_2O_2) 1,8 mL. Os valores experimentais observados para a condição ótima apresentaram pequenas variações em relação aos valores preditos (menor que 22%), exceto para o Al cujos dados não permitiram realizar um modelamento adequado. Ao comparar a condição ótima obtida neste trabalho com outros trabalhos relatados na literatura, é possível perceber que esses trabalhos, como o de Ikem *et al*. (2015); Sá *et al*. (2020); Pereira *et al*. (2021) e Higueira *et al*. (2021) utilizam forno de micro-ondas para decomposição de amostras de amostras de carne ovina. Porém, nem todos os laboratórios de pesquisas possuem esse tipo de equipamento, além do que, na Tabela 1, é possível observar que são métodos que utilizam pouca massa de amostra ou grandes quantidades de reagentes. Já o trabalho reportado por Wang *et al*. (2021) utiliza uma decomposição em forno anticorrosivo onde o tempo de decomposição é de 12 h na primeira etapa e mais 12 h na segunda etapa, a uma temperatura de 150 °C. Essas informações evidenciam que o método utilizado no presente trabalho faz uso de um sistema de decomposição que apresenta parâmetros distintos do método por micro-ondas, no qual as principais diferenças são a quantidade de amostras, o volume de reagentes e a pressão interna durante a decomposição que é maior comparada com o sistema de refluxo. Sendo assim, há necessidade da otimização para esse tipo de amostra utilizando o sistema de dedo frio, uma vez que a composição da matriz e as diferentes condições experimentais são afetadas de formas distintas pelas mesmas variáveis.

5.5. Otimização das condições do programa de aquecimento do GF AAS

Para o Cd, primeiramente, foi realizado um estudo da massa de modificares de paládio e magnésio nas soluções padrões de 1,5 µg L^{-1} (injetada 3x); 4,5 µg L^{-1} e no MR de rim bovino com uma única injeção no atomizador. Este estudo foi realizado com o intuito de avaliar se haveria grande diferença da quantidade de modificador, uma vez que foi adicionado mais massa de analito e consequentemente mais matriz da amostra no atomizador nas etapas de pirólise e atomização empregando a injeção múltipla. Para isso, foram utilizadas as temperaturas de pirólise e atomização do

cookbook do equipamento, 500 °C e 1500 °C, respectivamente. Os resultados das absorbâncias para as diferentes massas estão apresentados na Figura 16. É possível perceber que sem modificadores os valores de absorbância foram bem inferiores e isso pode ser explicado, pois elementos como Cd, Pb, As, Cr, entre outros possuem grande afinidade com este modificador, pois são termicamente estáveis na presença do mesmo. Esta característica do modificador com os elementos é um ponto essencial para que a separação da matriz do elemento seja eficaz, visto que se pode empregar temperaturas mais elevadas na etapa de pirólise, volatilizando e eliminando apenas os concomitantes da matriz (interferentes) (Froes *et al*., 2006).

Sendo assim, os resultados entre as massas de Pd/Mg (5/3 e 10/6 μg) não apresentaram grandes diferenças nos valores de absorbâncias obtidos para as soluções padrões e CRM. Porém, a proporção 5/3 μg de Pd/Mg foi a que apresentou os menores RSDs e os picos mais definidos para ambos os meios analisados. Com isso foi possível verificar que a mesma massa de modificador que já vem sendo relatada por diferentes trabalhos na literatura pode ser utilizada mesmo em análises que necessitam de mais injeções de alíquota de amostras no atomizador.

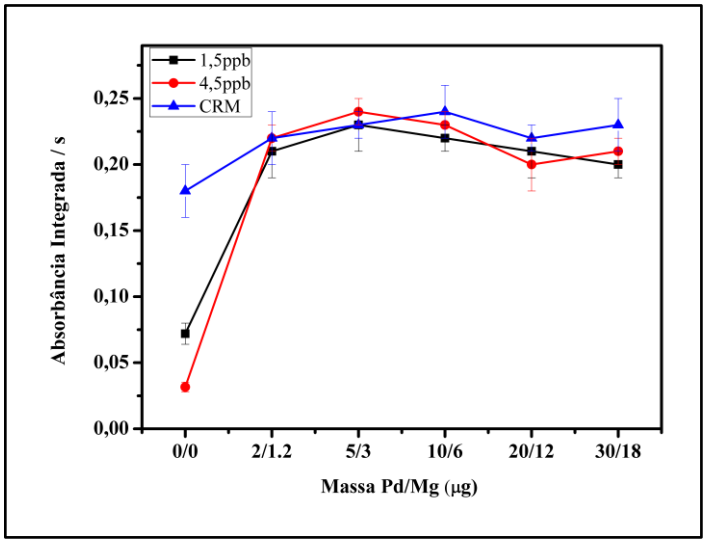


Figura 16 – Estudo da massa de modificadores Pd/Mg. Padrão de 1,5 ppb (injetados 3 vezes); padrão de 4,5 ppb e MR (injetado 1 vez).

Além disso, com a Figura 16, é possível perceber que não há diferença significativa nos valores de absorbância para 3 vezes a injeção da solução padrão de 1,5 μg L^{-1} e uma injeção para a solução padrão de 4,5 μg L^{-1}, os quais foram 0,2211 ± 0,014 e 0,2389 ± 0,007, respectivamente. Sendo assim, os estudos das

temperaturas de pirólise e atomização foram realizados somente com a solução padrão de 4,5 µg L^{-1} e o MR de rim bovino. A Figura 17 apresenta os resultados de absorbância integrada para as temperaturas avaliadas.

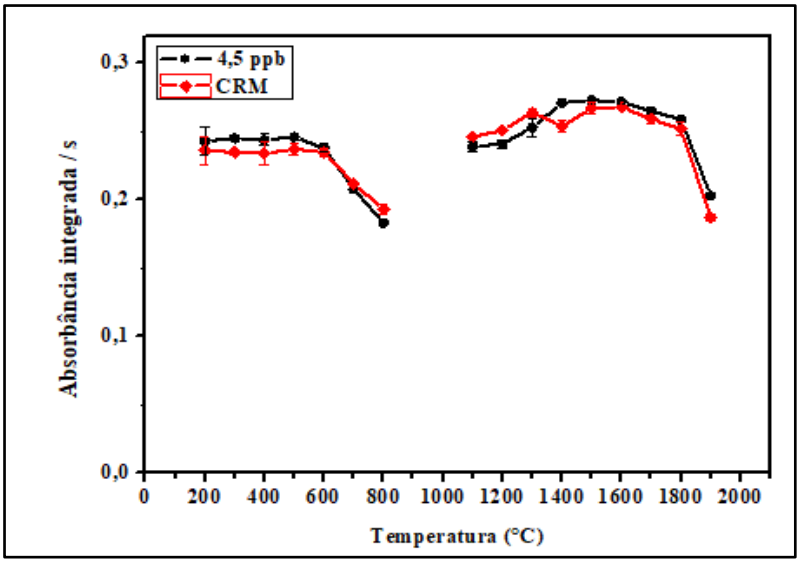


Figura 17 – Otimização das temperaturas de pirólise e atomização para o Cd com adição de 5 µg de Pd e 3 µg de Mg.

Para a etapa de pirólise foi avaliada uma faixa de temperatura de 200 a 800 °C e foi possível perceber uma estabilidade térmica do Cd até a temperatura de 600 °C na presença de modificador químico. Já na etapa de atomização, a faixa de temperatura foi de 1100 a 1900 °C e os melhores resultados de absorbância com RSDs menores e pico mais definido foram obtidos na temperatura de 1600 °C. Com isso, o programa de aquecimento ficou com as temperaturas de pirólise e atomização para Cd de 500 °C e 1600 °C, respectivamente.

Já para o Pb, as temperaturas de pirólise e atomização utilizadas foram as descritas pelo cookbook do equipamento, as quais são 800 °C e 1700 °C, respectivamente.

5.6. Avaliação da exatidão

A exatidão do método foi avaliada em materiais de referências certificados de carne de carne homogeneizada (1546a), fígado bovino (1577c) e rim bovino (MR 2018). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Concentrações obtidas para os elementos investigados nos CRMs por MIP OES. (n = 3)

	CRM 1546a		**CRM 1577c**	
	Valor certificado (mg kg^{-1})	Valor encontrado (mg kg^{-1})	Valor certificado (mg kg^{-1})	Valor encontrado (mg kg^{-1})
Ca	360 ± 130	369 ± 19 (5,1)	131 ± 10	114 ± 3 (2,6)
Cu	0,605 ± 0,051	0,637 ± 0,045 (7,1)	275,2 ± 4,6	278,1 ± 5,6 (2,0)
Fe	10,17 ± 0,35	9,95 ± 0,75 (7,5)	197,9 ± 0,7	183,3 ± 2,3 (1,3)
K	2.490 ± 210	2.611 ± 152 (5,8)	10.230 ± 640	9.450 ± 410 (4,3)
Mg	178,1 ± 4,8	188,3 ± 7,5 (4,0)	620 ± 42	689 ± 1 (0,1)
Mn	0,286 ± 0,024	0,298 ± 0,01 (3,4)	10,46 ± 0,47	10,33 ± 0,31 (3,0)
Na	9.600 ± 1100	10.368 ± 236 (2,3)	2.033 ± 64	1.790 ± 28 (1,5)
Zn	17,88 ± 0,35	17,66 ± 0,43 (2,4)	181 ± 1	172 ± 3 (1,7)

Média ± desvio-padrão (desvio-padrão relativo).

Tabela 11 - Concentrações obtidas para Cd e Pb no MR 2018 e CRM 1577c por GF AAS. (n = 3)

	MR 2018		**CRM 1577c**	
	Valor certificado (µg kg^{-1})	Valor encontrado (µg kg^{-1})	Valor certificado (µg kg^{-1})	Valor encontrado (µg kg^{-1})
Cd	2.311,8 ± 570,7	2.357 ± 39 (1,6)	97 ± 1,4	94,4 ± 1,7 (1,8)
Pb	777,6 ± 216,4	737 ± 42 (5,7)	62,8 ± 1,0	66,1 ± 4,6 (6,9)

Média ± desvio-padrão (desvio-padrão relativo).

Através dos resultados encontrados para os CRMs, é possível verificar que os valores de concentração para os analitos são concordantes com os valores certificados com 95% de confiança através do teste *t* de Student. Além disso, os desvios padrões relativos foram inferiores a 7,5%, atestando uma boa precisão dos resultados nos materiais. Também foram realizados testes de adição de analito em três níveis de concentrações e os resultados estão apresentados na Tabela 12. Observa-se que foram obtidas recuperações entre 101 e 112% para Al e Ba com desvios padrões relativos inferiores a 8,9%. Já para Cd e Pb foram obtidas recuperações variando de 91 a 106% com desvios padrões inferiores a 6,1%.

Tabela 12 - Resultados dos testes de adição de analito na amostra A para Al e Ba por MIP OES e Cd e Pb por GF AAS, (n = 3).

Elementos	Adição	Amostra A	Recuperação (%)
Al (mg L^{-1})	0	0,35 ± 0,02 (5,7)	-
	0,75	1,12 ± 0,01 (8,9)	103
	1,5	1,88 ± 0,02 (1,1)	102
	2,25	2,86 ± 0,17 (5,9)	112
Ba (mg L^{-1})	0	0,012 ± 0,001 (8,3)	-
	0,75	0,78 ± 0,038 (4,9)	102
	1,5	1,57 ± 0,026 (1,6)	104
	2,25	2,28 ± 0,08 (3,5)	101
Cd (µg L^{-1})	0 (3x)	0,678 ± 0,007 (1,1)	-
	1,5 (3x)	4,76 ± 0,25 (5,2)	91
	0 (1x)	0,191 ± 0,005 (2,6)	-
	4,5 (1x)	4,56 ± 0,28 (6,1)	97
Pb (µg L^{-1})	0	< 0,886	-
	15	16,08 ± 0,38 (2,4)	101
	30	31,38 ± 0,14 (0,4)	102
	45	48,71 ± 2,17 (4,4)	106

Média ± desvio-padrão (desvio-padrão relativo).

5.7. Determinação da concentração total em amostras de carne ovina

Após estabelecer a melhor condição para o tratamento da amostra e avaliar sua exatidão, o método desenvolvido foi aplicado para amostras de carne ovina na determinação das concentrações de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn por MIP OES. Os resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina *in natura* obtidas por MIP OES. Valores expressos em mg kg^{-1}.(n = 3). Média ± desvio padrão.

	Amostra A	**Amostra B**	**Amostra C**	**Amostra D**	**Amostra E**	**Amostra F**	**Amostra G**
Al	6,69 ± 0,42	3,33 ± 0,22	4,76 ± 0,12	2,85 ± 0,18	2,77 ± 0,24	3,51 ± 0,21	3,82 ± 0,02
Ba	0,27 ± 0,02	0,25 ± 0,02	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028
Ca	478 ± 44	340 ± 12	67,3 ± 2,05	66,5 ± 1,66	68,3 ± 1,64	102 ± 6	120 ± 7
Cu	1,51 ± 0,05	1,52 ± 0,01	1,59 ± 0,07	1,62 ± 0,06	1,97 ± 0,04	2,09 ± 0,10	0,95 ± 0,01
Fe	67,4 ± 0,6	70,1 ± 5,6	80,1 ± 0,7	95,2 ± 6,3	88,6 ± 4,8	98,2 ± 7,3	79,1 ± 2,5
K	4.650 ± 161	4.855 ± 106	5.373 ± 161	5.240 ± 140	3.609 ± 207	3.707 ± 229	4.320 ± 229
Mg	276 ± 23	324 ± 17	332 ± 10	304 ± 21	324 ± 12	314 ± 20	343 ± 5
Mn	0,263 ± 0,014	0,301 ± 0,025	0,598 ± 0,052	0,642 ± 0,038	0,601 ± 0,023	0,711 ± 0,058	0,510 ± 0,002
Na	745 ± 39	703 ± 58	605 ± 47	423 ± 31	473 ± 39	442 ± 29	517 ± 22
Zn	99,4 ± 5,7	87,5 ± 2,3	81,4 ± 4,1	72,3 ± 2,4	70,4 ± 2,9	82,4 ± 2,9	79,4 ± 1,9
	Amostra H	**Amostra I**	**Amostra J**	**Amostra K**	**Amostra L**	**Amostra M**	**Amostra N**
Al	4,76 ± 0,02	3,71 ± 0,14	3,41 ± 0,17	3,09 ± 0,06	5,75 ± 0,21	3,07 ± 0,31	3,01 ± 0,15
Ba	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028	< 0,028
Ca	284 ± 25	140 ± 3	60,3 ± 3,4	165 ± 9	186 ± 6	264 ± 7	285 ± 5
Cu	2,75 ± 0,02	1,71 ± 0,01	1,53 ± 0,08	2,13 ± 0,11	1,81 ± 0,13	2,38 ± 0,06	2,21 ± 0,13
Fe	111 ± 10	33,5 ± 2,1	39,8 ± 5,4	53,1 ± 3,7	60,7 ± 2,5	55,6 ± 3,3	45,8 ± 2,3
K	4.178 ± 29	5.697 ± 271	3.837 ± 305	3.689 ± 122	4.100 ± 85	3.976 ± 235	4.140 ± 126
Mg	381 ± 3	306 ± 23	228 ± 18	202 ± 15	245 ± 15	226 ± 6	230 ± 8
Mn	0,169 ± 0,008	0,155 ± 0,001	0,191 ± 0,013	0,159 ± 0,002	0,113 ± 0,006	0,231 ± 0,001	0,209 ± 0,002
Na	621 ± 10	771 ± 35	329 ± 13	348 ± 29	696 ± 52	514 ± 2	507 ± 7
Zn	48,7 ± 1,7	41,6 ± 2,9	31,2 ± 1,4	50,9 ± 1,7	61,1 ± 1,7	34,3 ± 2,2	37,2 ± 3,5

Como pode ser observado na Tabela 13, as amostras de carne ovina dos diferentes munícipios do RS, apresentam grandes variações nas concentrações. As maiores concentrações foram observadas na seguinte ordem K > Na > Mg > Ca > Fe > Zn. O Al apresentou concentrações superiores a 2,7 mg kg^{-1} em todas as amostras e as maiores concentrações foram obtidas nas amostras A e L, as quais são de Arroio Grande e Porto Alegre, RS, respectivamente. Já para o Ba, somente as amostras A e B apresentaram concentrações, as demais ficaram abaixo do $LD_{(m)}$ (0,028 mg kg^{-1}). A presença desses elementos nas amostras de carne ovina pode ser proveniente da alimentação, principalmente quando os animais são criados no sistema extensivo, uma vez que depende das características do solo e raramente é adicionado como um elemento de reforço em suplementos alimentares (Jiao *et al*., 2016; Wang *et al*., 2021).

As maiores concentrações de Ca (478 e 340 mg kg^{-1}) e Zn (99,4 e 87,5 mg kg^{-1}) foram encontradas nas amostras A e B, respectivamente. Já a menor concentração para esses dois elementos foi observada na amostra J (60,3 mg kg^{-1} para Ca e 31,2 mg kg^{-1} para o Zn). As amostras A e B são da mesma região, o que caracteriza sua semelhança nas concentrações desses elementos. Além disso, esses animais são criados em sistema extensivo, isso indica que a localização geográfica, os métodos de criação e os padrões de alimentação dos animais podem ser os principais fatores que afetam o conteúdo dos elementos em carnes ovinas (Jiao *et al*., 2016; Wang *et al*., 2021).

Para o Cu, Fe e Mg, as maiores concentrações foram encontradas na amostra H (2,75 mg kg^{-1}, 111 mg kg^{-1} e 381 mg kg^{-1}, respectivamente), a qual é da região de Pelotas, porém criada em sistema semiextensivo. E essa maior concentração pode ser influenciada pela diferença na alimentação, uma vez que durante o dia esses animais se alimentam a campo e durante a noite são confinados e alimentados com ração.

Para o K as concentrações variaram de 3.609 a 5.697 mg kg^{-1}, sendo a amostra E do município de Herval que apresentou a menor concentração e a amostra I da região de Pelotas que apresentou a maior concentração. No trabalho de Ikem *et al.* (2015), os autores encontraram concentrações para o K variando de 2.426 a 2.505 mg kg^{-1}, resultados bem inferiores aos encontrados no presente trabalho.

O Mn apresentou as maiores concentrações nas amostras D, E e F (0,642; 0,601; 0,711 mg kg^{-1}), as quais são da mesma localidade, Herval. Porém, dessas três amostras a que apresentou a menor concentração foi a amostra E que é de um animal

criado no sistema semiextensivo. Por fim, para o Na as concentrações variaram de 329 mg kg^{-1} a 771 mg kg^{-1}, as quais foram observadas nas amostras J e I, respectivamente. No trabalho de Ikem *et al.* (2015), os autores determinaram as concentrações de alguns elementos em amostras de ovinos. No músculo, os autores encontraram concentrações variando de 323 a 843 mg kg^{-1} para o Na, esses valores estão próximos aos encontrados neste trabalho.

Para um melhor entendimento de como é o comportamento referente a composição elementar, foi aplicada uma análise de componentes principais (PCA). A mesma está apresentada na Figura 18, composta pelo componente principal 1, que explica 34,55%, enquanto a componente principal 2, explica 27,70%, totalizando 62,25%.

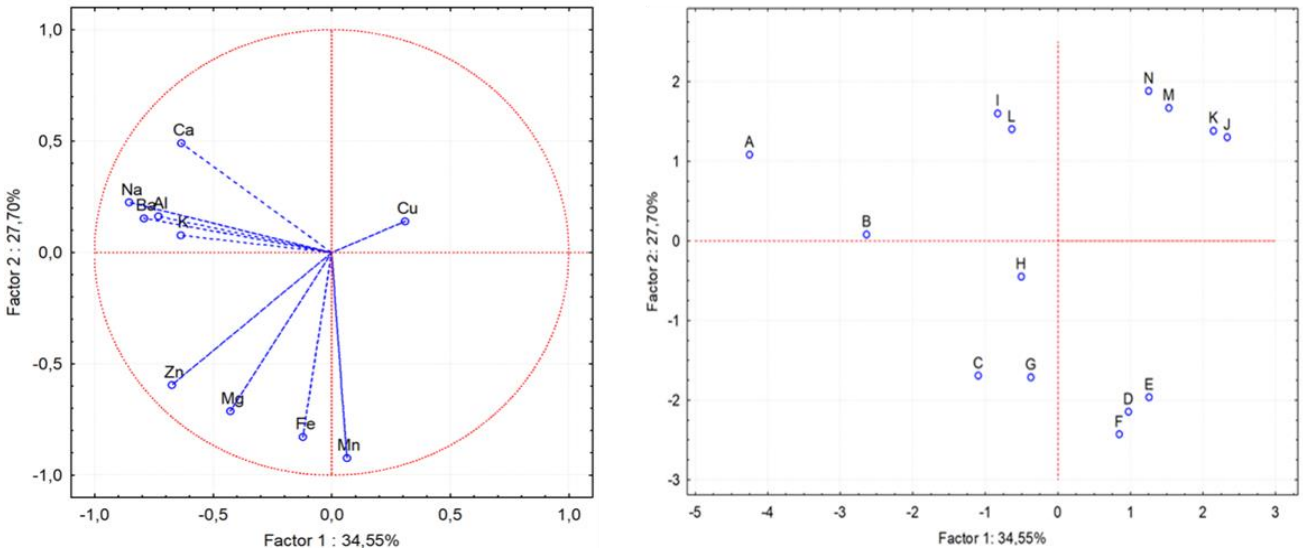


Figura 18 – Análise de componentes principais.

Com o gráfico de correlação das variáveis obtido através das análises de componentes principais (PCA), pode-se constatar como cada analito se encontra em relação ao outro. Para esse conjunto de dados, nota-se uma correlação negativa entre os valores de K, Al, Ba e Na com o eixo PC1 da PCA. Já o Cu apresenta uma correlação positiva essa relação supõe que amostras com altos teores de Cu apresentam menos concentração de K, Al, Ba e Na.

No eixo da PC2 nota-se uma relação positiva fraca entre o Cu e Ca e pouca interação entre esses analitos. Já em posição negativa ao eixo percebe-se um crescimento na concentração do Mn, Fe, Mg e Zn. Uma correlação importante

observada é entre o Zn e o Cu, os quais são inversamente, colocando o Cu em correlação negativa para a maioria dos analitos estudados, onde a ocorrência em grande quantidade desses analitos resulta em uma menor concentração de Cu como pode ser observado nas concentrações obtidas. Isso é explicado pela competição que ocorre entre os elementos essenciais ao serem absorvidos pelo organismo, uma vez que uma maior quantidade de Zn, por exemplo, pode afetar a absorção de Cu.

No gráfico de dispersão de pontos, pode se observar como as amostras se distribuem no plano cartesiano gerado pelas PC1 e PC2, que explicam aproximadamente 62% da variância dos resultados obtidos. A análise dos dois gráficos simultaneamente pode nos fornecer a informação sincronizada entre a dispersão das amostras e a relação com a variáveis. Com essa dispersão é possível perceber certos agrupamentos entre as amostras, de acordo com sua composição elementar. No quadrante 1 (lado superior direito), configurado pelas amostras com menores concentrações de Zn e Mg, estão dispostas as amostras N, M, K e J, as quais apresentam concentrações próximas entre si para a maioria dos elementos. No quadrante 2 há um agrupamento formado pelas amostras F, D e E, configuradas por terem menores concentrações de Ca, Na, Ba, Al e K são amostras proveniente do mesmo munícipio, o que explica sua classificação pela PCA. No entanto, a amostra E é de animais criados no sistema semiextensivo, ou seja, são criados a campo durante o dia e confinados durante a noite, sendo alimentados com ração. No entanto, essa amostra não apresenta grandes diferenças nas suas concentrações, comparadas com a do mesmo grupo (D e F) que são criadas em sistema extensivo. As amostras I e L apresentaram similaridade na sua composição, isso está relacionado com a baixa concentração de Mn que as duas amostras apresentam.

Já as demais amostras não apresentaram grandes correlações entre si, possivelmente por serem de diferentes munícipios, a alimentação com pastagens, características do solo, quantidade de alimentação e idade de abate influenciarem diretamente na quantidade dos elementos presentes nas carnes. Isso também foi observado nos trabalhos de Jiao *et al.* (2016) e Wang *et al.* (2021), os quais atribuem que a localização geográfica, os métodos de criação e os padrões de alimentação dos animais podem ser os principais fatores que afetam o conteúdo dos elementos em carnes ovinas.

5.8. Determinação da concentração total de Cd e Pb nas amostras de carne ovina obtidos por GF AAS

Na Tabela 14, estão apresentados os resultados das concentrações de Cd nas amostras de carne ovina *in natura* obtidos por GF AAS. O Pb apresentou concentrações inferiores ao $LD_{(m)}$ (< 17,72 µg kg^{-1}), mesmo realizando múltiplas injeções no atomizador para todas as amostras.

Tabela 14 - Resultados das concentrações totais de Cd nas amostras de carne ovina *in natura* obtidas por GF AAS. Valores expressos em µg kg^{-1}.(n = 3). Média ± desvio padrão.

	Concentração µg kg^{-1}		
Amostra A	87,6 ± 0,4	**Amostra H**	96,8 ± 0,4
Amostra B	91,9 ± 3,9	**Amostra I**	49,8 ± 2,3
Amostra C	< 1,24	**Amostra J**	< 1,24
Amostra D	54,1 ± 3,8	**Amostra K**	< 1,24
Amostra E	73,2 ± 2,2	**Amostra L**	30,9 ± 0,5
Amostra F	47,7 ± 1,8	**Amostra M**	16,9 ± 1,2
Amostra G	77,3 ± 1,2	**Amostra N**	19,3 ± 0,6

Nas amostras C, J e K as concentrações obtidas ficaram inferiores ao $LD_{(m)}$ (<1,24 µg kg^{-1}). Nas demais amostras, as concentrações para Cd variaram de 16,9 a 96,8 µg kg^{-1}, sendo a amostra H e a amostra M que apresentaram as maiores e menores concentrações, respectivamente. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os limites máximos para contaminantes inorgânicos em carnes, incluindo a ovina, através da Resolução N.º 42 de 29 de agosto de 2013 (BRASIL, 2013), os quais são de 50 µg kg^{-1} para Cd e 100 µg kg^{-1} para Pb. Comparando os resultados obtidos com o limite máximo, metade das amostras analisadas estão com as concentrações próximas ou superiores a este valor, as quais são amostra A, B, D, E, F, G, H e I. A presença de Cd em alimentos pode ser proveniente de atividades industriais, como mineração, fundição de metais, produção de baterias e queima de combustíveis fósseis e no organismo humano pode acarretar disfunção renal, problemas ósseos, problemas respiratórios e cardiovasculares (Pereira *et al*., 2016; Bonemann *et al*., 2021).

No trabalho de MacLachlan *et al*. (2016), foram encontrados valores de 853 µg kg^{-1} e 3,5 µg kg^{-1} nas amostras de rim e músculo ovino, respectivamente. Já no

trabalho de Pereira *et al*. (2021), as concentrações obtidas foram de 751 µg kg^{-1}; 149 µg kg^{-1} e 5,2 µg kg^{-1} em amostras de rim, fígado e músculo ovino. Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os valores relatados na literatura para as amostras de músculo, observa-se resultados superiores nas amostras de carne ovina *in natura* deste estudo.

5.9. Determinação da concentração total nas amostras tratadas termicamente

Nas Tabelas 15, 16 e 17 estão apresentados os resultados de concentração dos elementos Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn nos três tratamento térmicos aplicados nas amostras de carne ovina. Foi possível observar que as amostras A e B que mostraram presença de Ba ficaram abaixo do $LD_{(m)}$ (0,028 mg kg^{-1}) nos três métodos de cocção. Já o Mn que apresentou concentrações menores que 1 mg kg^{-1} nas amostras *in natura*, também apresentou valores inferiores ao $LD_{(m)}$ (< 0,011 mg kg^{-1}). Da mesma forma o Cd por GF AAS, que apresentou concentrações inferiores ao $LD_{(m)}$ (< 1,24 µg kg^{-1}) em todas as amostras nos três métodos de tratamento térmico.

Comparando as concentrações obtidas nos três métodos de cocção para os elementos Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn é possível observar que houve um decréscimo na concentração, resultando em perdas dos elementos em todos os métodos para as quatorze amostras estudas. Isso se deve, principalmente a desnaturação das proteínas e quebra das ligações entre as proteínas e os elementos químicos, liberando os para o meio e consequentemente, sendo lixiviados durante os tratamentos térmicos. Além disso, houve grande variação entre as amostras, mesmo sendo carne do mesmo corte e espécie animal, ou seja, pernil de carne ovina. Isso pode estar relacionado com a raça, gênero, fatores genéticos, ao teor de gordura intrínseca na carne, idade de abate do animal, além do tempo entre o abate e as reações bioquímicas *post mortem* que geram a transformação de músculo em carne. Nesta etapa, o pH é capaz de modificar as características de qualidade da carne como capacidade de retenção de água e maciez e influenciar na disponibilidade de minerais após os tratamentos térmicos (Lopes *et al*., 2015; Suleman *et al*., 2020).

As maiores concentrações, em média, foram obtidas nas amostras submetidas ao tratamento térmico por micro-ondas. No entanto, somente pela concentração em

mg kg^{-1} não é o suficiente para evidenciar qual método de cocção apresentou maiores perdas de elementos. Sendo assim, se faz necessário a correlação das concentrações obtidas após os diferentes tratamentos térmicos com a concentração das amostras *in natura.* As Figuras 19 e 20 apresentam as porcentagens de perdas dos elementos nos três diferentes métodos de cocção.

Tabela 15 – Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina cozidas em água (CA) obtidas por MIP OES. Valores expressos em mg kg^{-1}.(n = 3). Média ± desvio padrão.

	Amostra A	**Amostra B**	**Amostra C**	**Amostra D**	**Amostra E**	**Amostra F**	**Amostra G**
Al	3,67 ± 0,04	2,18 ± 0,02	3,88 ± 0,03	2,03 ± 0,15	1,96 ± 0,02	1,04 ± 0,08	0,992 ± 0,001
Ca	78,8 ± 1,4	96,3 ± 3,9	59,1 ± 2,7	57,5 ± 1,4	65,7 ± 0,8	80,4 ± 1,9	95,1 ± 3,5
Cu	0,572 ± 0,019	0,584 ± 0,007	0,713 ± 0,051	0,964 ± 0,014	0,840 ± 0,068	0,597 ± 0,003	0,494 ± 0,001
Fe	17,8 ± 1,1	24,8 ± 0,4	46,4 ± 1,2	44,2 ± 3,8	35,4 ± 2,4	34,1 ± 2,3	36,3 ± 2,4
K	2.030 ± 23	2.126 ± 156	4.684 ± 48	2.235 ± 76	1.480 ± 51	2.009 ± 177	2.953 ± 172
Mg	171 ± 8	188 ± 1	263 ± 7	280 ± 6	184 ± 8	156 ± 7	199 ± 6
Na	168 ± 10	272 ± 18	215 ± 4	185 ± 7	250 ± 14	217 ± 10	230 ± 1
Zn	55,5 ± 2,7	40,9 ± 0,5	35,4 ± 2,4	28,6 ± 1,1	50,1 ± 3,2	54,7 ± 2,3	48,2 ± 1,2
	Amostra H	**Amostra I**	**Amostra J**	**Amostra K**	**Amostra L**	**Amostra M**	**Amostra N**
Al	1,99 ± 0,01	2,08 ± 0,14	1,52 ± 0,04	2,72 ± 0,09	2,34 ± 0,09	1,86 ± 0,14	1,33 ± 0,02
Ca	82,7 ± 2,3	76,2 ± 4,3	18,1 ± 0,5	52,5 ± 5,1	40,1 ± 3,3	80,5 ± 1,2	88,2 ± 9,3
Cu	0,589 ± 0,005	0,694 ± 0,002	1,08 ± 0,06	1,30 ± 0,11	0,927 ± 0,052	1,18 ± 0,06	0,94 ± 0,03
Fe	41,6 ± 1,3	23,8 ± 2,1	18,7 ± 0,27	30,8 ± 0,6	38,7 ± 12,1	34,4 ± 0,07	31,2 ± 1,7
K	2.416 ± 196	2.255 ± 148	1.233 ± 59	1.083 ± 35	1.741 ± 42	1.393 ± 64	1.683 ± 153
Mg	174 ± 7	242 ± 17	170 ± 4	175 ± 13	215 ± 16	173 ± 4	193 ± 2
Na	195 ± 12	411 ± 35	197 ± 3	195 ± 17	310 ± 26	211 ± 11	375 ± 7
Zn	37,6 ± 1,3	29,7 ± 1,1	25,1 ± 0,7	38,9 ± 1,7	33,9 ± 1,6	29,1 ± 1,8	31,7 ± 2,5

Tabela 16 – Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina assada em forno micro-ondas (M) obtidas por MIP OES. Valores expressos em mg kg^{-1} (n = 3). Média ± desvio padrão.

	Amostra A	**Amostra B**	**Amostra C**	**Amostra D**	**Amostra E**	**Amostra F**	**Amostra G**
Al	2,93 ± 0,15	1,44 ± 0,07	1,54 ± 0,08	1,18 ± 0,01	0,989 ± 0,003	1,93 ± 0,05	0,982 ± 0,007
Ca	133 ± 5	140 ± 5	55,1 ± 3,8	62,4 ± 2,1	74,3 ± 5,6	77,7 ± 5,4	85,1 ± 6,1
Cu	0,709 ± 0,063	0,729 ± 0,056	0,759 ± 0,054	0,821 ± 0,062	0,834 ± 0,063	0,597 ± 0,002	0,495 ± 0,002
Fe	35,8 ± 2,2	40,4 ± 0,4	47,4 ± 3,7	34,1 ± 1,5	40,7 ± 0,8	43,1 ± 2,3	34,1 ± 1,8
K	3.339 ± 103	4.061 ± 217	3.865 ± 154	3.678 ± 81	2.367 ± 130	2.732 ± 28	3.521 ± 116
Mg	210 ± 15	195 ± 12	249 ± 5	233 ± 3	274 ± 1	265 ± 9	271 ± 12
Na	511 ± 18	539 ± 3	454 ± 16	385 ± 7	381 ± 28	358 ± 8	452 ± 16
Zn	77,9 ± 5,2	65,9 ± 0,8	56,1 ± 2,1	55,1 ± 1,4	60,4 ± 1,6	46,4 ± 2,2	43,6 ± 1,2
	Amostra H	**Amostra I**	**Amostra J**	**Amostra K**	**Amostra L**	**Amostra M**	**Amostra N**
Al	0,975 ± 0,012	1,61 ± 0,08	1,31 ± 0,08	2,27 ± 0,08	2,16 ± 0,12	0,971 ± 0,002	1,06 ± 0,03
Ca	121 ± 2	130 ± 4	131 ± 2	138 ± 8	117 ± 11	215 ± 14	224 ± 8
Cu	0,591 ± 0,007	1,03 ± 0,07	0,908 ± 0,073	1,03 ± 0,09	1,09 ± 0,07	0,871 ± 0,061	1,04 ± 0,07
Fe	40,1 ± 1,5	23,2 ± 1,2	18,9 ± 0,3	43,9 ± 3,4	38,3 ± 1,6	40,6 ± 1,1	37,5 ± 2,7
K	3.516 ± 133	3.338 ± 65	2.161 ± 98	2.033 ± 167	3.401 ± 817	2.616 ± 45	3.439 ± 261
Mg	275 ± 6	230 ± 18	201 ± 8	197 ± 2	226 ± 8	197 ± 3	201 ± 2
Na	434 ± 23	675 ± 18	276 ± 16	287 ± 11	236 ± 9	297 ± 8	221 ± 4
Zn	39,8 ± 1,2	31,4 ± 2,1	24,4 ± 1,8	39,3 ± 2,4	43,1 ± 0,3	26,4 ± 6,5	27,8 ± 1,9

Tabela 17 – Resultados das concentrações totais para os elementos investigados nas amostras de carne ovina assada em forno convencional (F) obtidas por MIP OES. Valores expressos em mg kg^{-1} (n = 3). Média ± desvio padrão.

	Amostra A	**Amostra B**	**Amostra C**	**Amostra D**	**Amostra E**	**Amostra F**	**Amostra G**
Al	2,15 ± 0,03	2,44 ± 0,07	3,05 ± 0,12	1,71 ± 0,04	0,976 ± 0,004	0,993 ± 0,007	1,93 ± 0,05
Ca	98,1 ± 6,1	115 ± 1	59,2 ± 4,2	45,7 ± 0,9	38,1 ± 1,7	65,9 ± 3,1	55,3 ± 2,6
Cu	0,583 ± 0,004	0,919 ± 0,069	0,816 ± 0,075	0,914 ± 0,064	0,846 ± 0,053	0,663 ± 0,056	0,599 ± 0,002
Fe	25,9 ± 1,6	28,9 ± 1,5	46,2 ± 2,3	41,2 ± 1,1	38,1 ± 0,1	26,5 ± 0,5	29,2 ± 1,7
K	2.786 ± 37	2.788 ± 127	2.142 ± 91	2.153 ± 89	2.762 ± 140	2.473 ± 73	2.957 ± 62
Mg	232 ± 1	248 ± 7	298 ± 1	259 ± 5	214 ± 2	195 ± 2	239 ± 7
Na	488 ± 5	421 ± 23	505 ± 19	397 ± 13	416 ± 6	431 ± 9	442 ± 16
Zn	28,5 ± 0,6	20,1 ± 0,2	29,2 ± 1,5	26,1 ± 0,2	25,4 ± 1,5	24,2 ± 0,4	32,3 ± 0,6
	Amostra H	**Amostra I**	**Amostra J**	**Amostra K**	**Amostra L**	**Amostra M**	**Amostra N**
Al	0,979 ± 0,013	1,91 ± 0,08	1,48 ± 0,05	2,17 ± 0,13	2,28 ± 0,19	0,785 ± 0,043	0,845 ± 0,045
Ca	94,5 ± 6,4	43,4 ± 1,9	34,3 ± 2,3	132 ± 5	39,3 ± 3,3	101 ± 3	129 ± 7
Cu	0,586 ± 0,011	0,889 ± 0,08	1,22 ± 0,05	1,24 ± 0,07	0,978 ± 0,022	1,02 ± 0,07	0,722 ± 0,057
Fe	33,6 ± 0,8	17,5 ± 1,1	27,4 ± 1,3	38,5 ± 1,3	19,5 ± 0,2	32,3 ± 1,1	34,2 ± 0,17
K	2.870 ± 107	3.098 ± 128	2.165 ± 158	2.183 ± 115	3.376 ± 318	2.562 ± 219	3.016 ± 162
Mg	226 ± 2	243 ± 3	188 ± 4	122 ± 6	210 ± 18	197 ± 3	201 ± 2
Na	361 ± 5	424 ± 23	288 ± 15	215 ± 13	651 ± 38	483 ± 14	427 ± 15
Zn	31,6 ± 1,1	28,5 ± 2,6	26,1 ± 2,3	34,6 ± 2,6	45,6 ± 1,2	22,6 ± 1,3	11,9 ± 0,5

O método de cocção em água (CA) foi o que apresentou, em média, menores concentrações quando comparado com os outros dois métodos (M e F), e, consequentemente as maiores perdas, principalmente para os elementos K, Mg e Na. Gerber *et al.* (2009) observaram que quando o cozimento é feito em uma porção de água, as perdas são mais acentuadas, principalmente para os elementos Ca, Na, K, Mg e P, os quais diminuíram após o processamento térmico das amostras de carne bovina, suína e de vitela, concluindo que o tempo, o meio e a temperatura de cozimento influenciam a perda de elementos inorgânicos.

Em relação ao Al, o maior percentual de perdas foi observado nos métodos de tratamento no forno convencional e forno micro-ondas. Essa diminuição na sua concentração após cocção se torna relevante, uma vez que este elemento é considerado potencialmente tóxico para o organismo humano. Já para Ca e Fe, as maiores perdas foram observadas quando as amostras foram submetidas ao tratamento por forno convencional seguido das amostras cozidas em água. O Cu apresentou grandes perdas (> 50%) na maioria das amostras investigadas. Porém, não apresentou grandes variações nas concentrações para os três diferentes tratamentos térmicos aplicados.

No trabalho de Higueira *et al*. (2022), as perdas mais significativas de elementos foram observadas quando a carne foi cozida em panela de pressão uma vez que parte desses elementos lixiviou para a água de cozimento. Além disso, a perda desses elementos pode estar ligada à quantidade de açúcares, aminoácidos e proteínas, as quais são reduzidas por reações de Maillard durante o cozimento (Trevisan *et al*., 2016).

Já para o Zn, as maiores perdas foram observadas nas amostras que foram tratadas no forno convencional. E as menores perdas, em média, nas amostras tratadas por micro-ondas. Higueira *et al*. (2022) relatam que as menores perdas de Zn foram encontradas nas amostras preparadas por micro-ondas e, para algumas amostras a concentração para esse elemento foi maior que para as amostras *in natura.*

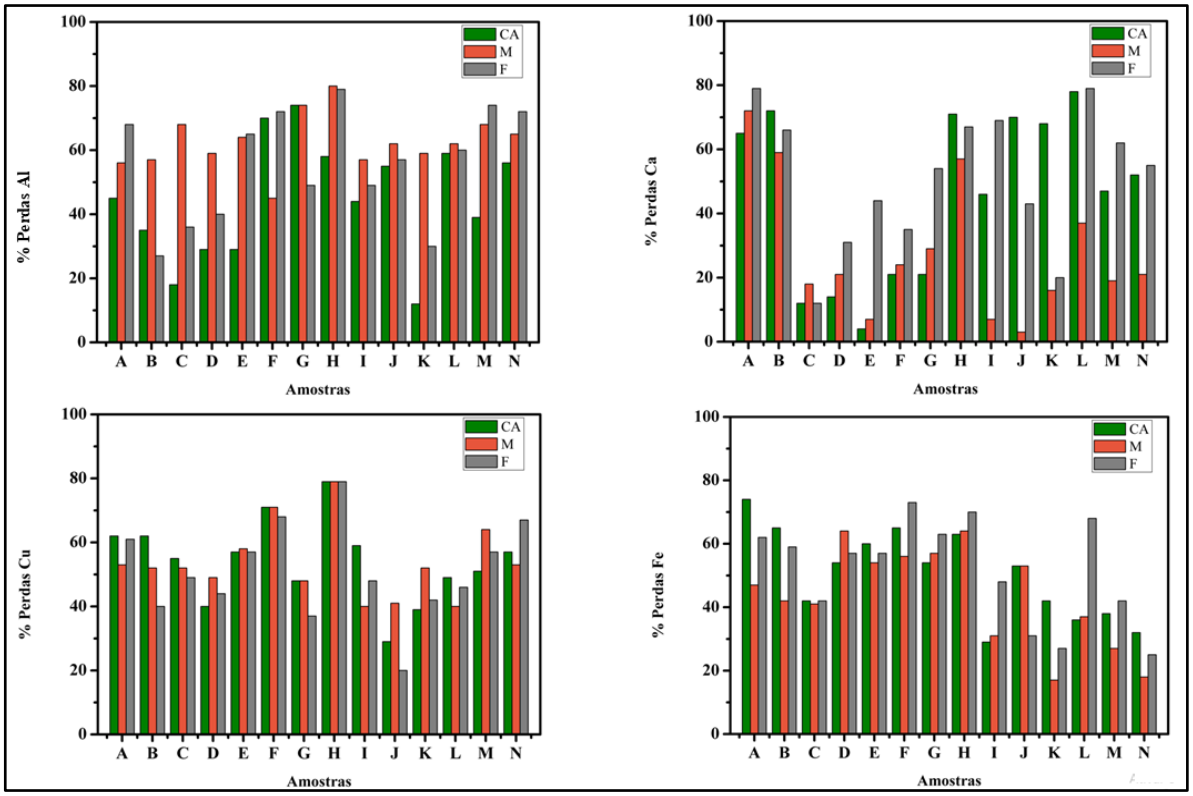


Figura 19 - Porcentagens de perdas em relação aos tratamentos térmicos para Al, Ca, Cu e Fe. As letras de A até N representam as amostras e as letras CA (cocção em água); M (cocção em micro-ondas) e F (cocção em forno).

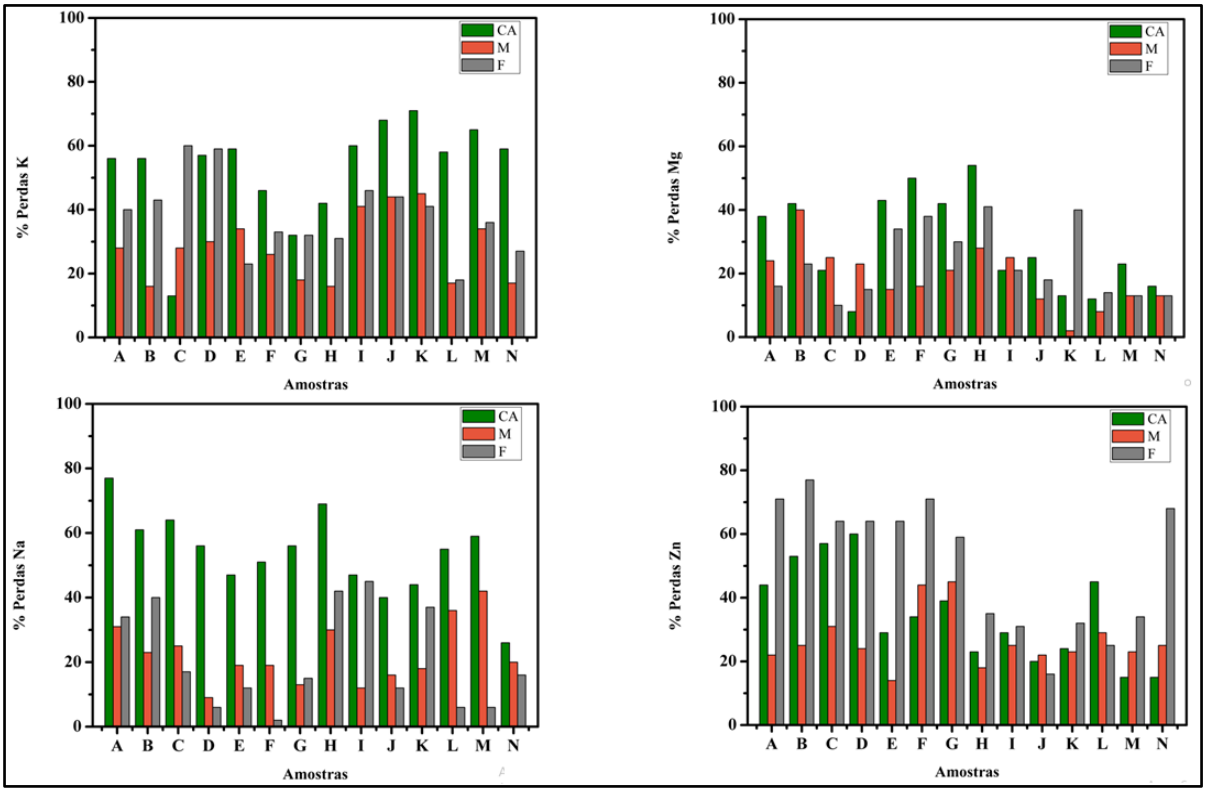


Figura 20 - Porcentagens de perdas em relação aos tratamentos térmicos para K, Mg, Na e Zn. As letras de A até N representam as amostras e as letras CA (cocção em água); M (cocção em micro-ondas) e F (cocção em forno).

5.10. Determinação da fração bioacessível nas amostras de carne ovina tratadas termicamente

Os estudos de bioacessibilidade foram realizados nas amostras submetidas aos diferentes tratamentos térmicos, uma vez que esse tipo de carne é consumido após passar por algum tipo de cocção. Os limites de detecção do método foram de 0,093 mg kg^{-1} para Al; 0,084 mg kg^{-1} para Ba; 0,087 mg kg^{-1} para Cu; 0,246 mg kg^{-1} para Fe; 0,174 mg kg^{-1} para K; 0,045 mg kg^{-1} para Mg; 0,033 mg kg^{-1} para Mn e 0,048 mg kg^{-1} para Zn.

Sendo assim foram determinadas as frações bioacessíveis de Al, Cu, Fe, K, Mg e Zn. Os elementos Ca e Na não foram determinados pois estão em grande quantidade nos sais que são adicionados nas soluções para simulação *in vitro* do sistema digestivo. Já o Ba e o Mn ficaram com suas concentrações abaixo dos $LD_{(m)}$, os quais são de < 0,084 e < 0,033 mg kg^{-1}. A avaliação da exatidão dos resultados de bioacessibilidade foi verificada através do balanço de massa para a amostra A nos três métodos e os resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Resultados da concentração total (CT), concentração bioacessível (CB), fração bioacessível (FB), concentração não bioacessível (CNB), fração não bioacessível (FNB) e balanço de massa em % (BM) em amostras carne ovina cozidas em água (CA), micro-ondas (M) e forno convencional (F). Valores em mg kg^{-1} (n = 3).

Elemento	Cocção em água (CA)					
	CT (mg kg^{-1})	CB (mg kg^{-1})	% FB	CNB (mg kg^{-1})	% FNB	BM (%)
Al	3,67 ± 0,04	< 0,093	-	3,74 ± 0,11	102	102
Cu	0,572 ± 0,019	0,356 ± 0,001	62	0,184 ± 0,003	32	94
Fe	17,8 ± 1,1	1,39 ± 0,12	8	17,3 ± 0,5	97	105
K	2.030 ± 23	1.637 ± 122	81	391 ± 13	19	100
Mg	171 ± 8	63,2 ± 1,2	37	80,5 ± 0,1	47	84
Zn	55,5 ± 2,7	0,285 ± 0,018	0,5	44,5 ± 3,9	80	80,5
Elemento	**Micro-ondas (M)**					
Al	2,93 ± 0,15	< 0,093	-	3,35 ± 0,17	114	114
Cu	0,709 ± 0,063	0,418 ± 0,002	59	0,283 ± 0,01	40	99
Fe	35,8 ± 2,2	8,07 ± 0,22	22	22,7 ± 1,1	63	85
K	3.339 ± 103	3.194 ± 22	96	668 ± 21	20	116
Mg	210 ± 15	136 ± 3	65	91 ± 5	43	108
Zn	77,9 ± 5,2	5,67 ± 0,08	7,3	58,6 ± 2,9	75	82,3
Elemento	**Forno Convencional (F)**					
Al	2,15 ± 0,03	< 0,093	-	2,04 ± 0,04	95	95
Cu	0,583 ± 0,004	0,443 ± 0,035	76	0,283 ± 0,01	39	115
Fe	25,9 ± 1,6	5,21 ± 0,46	20	22,7 ± 1,1	88	108
K	2.786 ± 37	2.717 ± 80	98	461 ± 14	16	114
Mg	232 ± 1	161 ± 13	69	96,1 ± 1,6	41	110
Zn	28,5 ± 0,6	0,474 ± 0,007	2	28,6 ± 2,4	100	102

Como pode ser observado, as quantidades dos analitos recuperados da fração bioacessível somada com a fração não bioacessível em relação à concentração total, variaram de 80,5 a 105 % na carne cozida em água, de 82,3 a 116 % na carne assada em micro-ondas e de 95 a 115% na carne assada em forno convencional, comprovando assim a exatidão do método para a determinação da fração bioacessível.

A simulação *in vitro* foi aplicada nas demais amostras e os resultados estão apresentados na Tabela 18. Importante salientar que o Al, apesar de apresentar elevadas concentrações mesmo após ser tratada termicamente, não se mostrou bioacessível, ou seja, não está disponível para absorção pelo sistema digestivo. Isso indica que o consumo de carne ovina não oferece riscos à saúde do consumidor em relação a presença de Al. Paiva *et al.* (2020) relata que a fração bioacessível de Al depende de alguns parâmetros como a forma como o elemento está ligado formando diferentes compostos, o comportamento de espécies e complexos organometálicos no trato gastrointestinal e as interações com a matriz alimentar.

Tabela 19 - Resultados da concentração bioacessível (CB) em mg kg^{-1} e porcentagem da fração bioacessível (% FB) nas amostras de carne ovina cozida em água (CA), assada em forno micro-ondas (M) e assada em forno convencional (F) dos diferentes munícipios. (n = 3)

	Cu	Fe	K	Mg	Zn
			Amostra A		
CA	0,356 ± 0,001 (62%)	1,39 ± 0,12 (8%)	1.637 ± 122 (81%)	63,2 ± 1,2 (37%)	0,285 ± 0,018 (0,2%)
M	0,418 ± 0,002 (59%)	8,07 ± 0,22 (22%)	3.194 ± 22 (96%)	136 ± 3 (60%)	5,67 ± 0,08 (1,1%)
F	0,443 ± 0,035 (76%)	5,21 ± 0,46 (20%)	2.717 ± 80 (98%)	161 ± 13 (69%)	0,474 ± 0,007 (1,7%)
			Amostra B		
CA	0,119 ± 0,001 (20%)	3,92 ± 0,04 (16%)	1.904 ± 164 (90%)	87,9 ± 7,9 (47%)	3,66 ± 0,016 (1,3%)
M	0,179 ± 0,001 (25%)	8,74 ± 0,18 (22%)	3.911 ± 12 (96%)	117 ± 2 (60%)	5,83 ± 0,21 (1,1%)
F	0,472 ± 0,004 (51%)	2,86 ± 0,11 (10%)	2.355 ± 84 (84%)	195 ± 17 (79%)	0,177 ± 0,001 (0,9%)
			Amostra C		
CA	0,228 ± 0,018 (32%)	2,32 ± 0,17 (5,1%)	1.826 ± 145 (39%)	92,3 ± 7,5 (35%)	0,805 ± 0,007 (0,4%)
M	0,284 ± 0,019 (37%)	14,6 ± 0,74 (31%)	2.757 ± 147 (71%)	83,5 ± 3,9 34%)	5,02 ± 0,07 (1,1%)
F	0,434 ± 0,037 (53%)	1,44 ± 0,12 (3,1%)	1.568 ± 68 (73%)	203 ± 5 (68%)	0,238 ± 0,012 (0,8%)
			Amostra D		
CA	0,258 ± 0,011 (27%)	4,94 ± 0,35 (11%)	1.771 ± 28 (79%)	125 ± 3 (45%)	0,405 ± 0,007 (0,2%)
M	0,296 ± 0,001 (36%)	7,49 ± 0,37 (22%)	2.474 ± 37 (67%)	129 ± 2 (55%)	5,29 ± 0,08 (1,4%)
F	0,422 ± 0,009 (46%)	5,16 ± 0,35 (12%)	1.854 ± 42 (86%)	163 ± 3 (63%)	2,57 ± 0,01 (9,8%)
			Amostra E		
CA	0,299 ± 0,001 (36%)	5,45 ± 0,41 (15%)	1.255 ± 121 (85%)	134 ± 10 (73%)	2,27 ± 0,01 (0,9%)
M	0,238 ± 0,002 (28%)	7,19 ± 0,43 (18%)	2.152 ± 136 (91%)	191 ± 11 (70%)	3,45 ± 0,02 (0,9%)
F	0,398 ± 0,028 (47%)	6,03 ± 0,43 (16%)	1.857 ± 62 (67%)	203 ± 2 (95%)	2,86 ± 0,01 (11%)
			Amostra F		
CA	0,239 ± 0,002 (40%)	5,14 ± 0,01 (15%)	1.654 ± 122 (82%)	131 ± 11 (84%)	2,87 ± 0,02 (1,3%)
M	0,299 ± 0,001 (50%)	6,63 ± 0,39 (15%)	2.932 ± 74 (89%)	142 ± 3 (54%)	4,38 ± 0,34 (1,2%)
F	0,476 ± 0,001 (72%)	4,82 ± 0,43 (18%)	2.037 ± 60 (82%)	170 ± 1 (87%)	2,27 ± 0,01 (9,4%)

Continuação da Tabela 19

	Cu	Fe	K	Mg	Zn
Amostra G					
CA	0,240 ± 0,011 (49%)	8,87 ± 0,21 (24%)	1.865 ± 26 (63%)	159 ± 8 (80%)	2,81 ± 0,08 (1,2%)
M	0,179 ± 0,008 (36%)	10,5 ± 0,9 (31%)	2.445 ± 79 (69%)	219 ± 3 (81%)	3,47 ± 0,02 (0,8%)
F	0,447 ± 0,041 (75%)	3,98 ± 0,32 (14%)	1.706 ± 60 (58%)	223 ± 8 (93%)	2,17 ± 0,18 (6,7%)
Amostra H					
CA	0,339 ± 0,012 (58%)	6,33 ± 0,02 (15%)	1.331 ± 37 (55%)	108 ± 3 (62%)	1,68 ± 0,11 (0,9%)
M	0,298 ± 0,002 (50%)	7,78 ± 0,25 (19%)	3.174 ± 158 (90%)	124 ± 4 (45%)	2,86 ± 0,13 (0,7%)
F	0,406 ± 0,021 (69%)	5,51 ± 0,18 (16%)	2.502 ± 72 (87%)	149 ± 2 (66%)	2,26 ± 0,02 (7,1%)
Amostra I					
CA	0,342 ± 0,003 (49%)	1,74 ± 0,08 (7%)	1.948 ± 112 (86%)	113 ± 6 (47%)	6,51 ± 0,03 (1,6%)
M	0,318 ± 0,017 (31%)	3,99 ± 0,34 (17%)	2.448 ± 51 (73%)	120 ± 4 (52%)	7,05 ± 0,04 (1,1%)
F	0,449 ± 0,042 (50%)	1,59 ± 0,13 (9,1%)	2.118 ± 127 (68%)	173 ± 5 (71%)	5,98 ± 0,25 (21%)
Amostra J					
CA	0,739 ± 0,033 (68%)	3,69 ± 0,13 (20%)	997± 81 (81%)	37,5 ± 1,3 (22%)	6,24 ± 0,25 (3,2%)
M	0,678 ± 0,035 (75%)	5,09 ± 0,43 (27%)	2.054 ± 82 (95%)	33,8 ± 3,1 (17%)	7,86 ± 0,36 (2,8%)
F	0,867 ± 0,045 (71%)	3,98 ± 0,31 (14%)	1.916 ± 151 (88%)	73,9 ± 4,4 (39%)	6,44 ± 0,08 (25%)
Amostra K					
CA	0,747 ± 0,042 (58%)	7,87 ± 0,22 (26%)	942 ± 11 (87%)	87,2 ± 2,4 (50%)	4,12 ± 0,17 (2,1%)
M	0,189 ± 0,013 (18%)	12,5 ± 0,04 (28%)	1.714 ± 17 (84%)	85,9 ± 0,8 (44%)	4,91 ± 0,01 (1,7%)
F	0,808 ± 0,041 (65%)	9,11 ± 0,08 (24%)	1.276 ± 27 (58%)	92,3 ± 0,8 (76%)	3,69 ± 0,03 (11%)
Amostra L					
CA	0,308 ± 0,013 (33%)	2,39 ± 0,17 (6,2%)	1.018 ± 67 (58%)	93,8 ± 0,5 (44%)	5,63 ± 0,16 (1,8%)
M	0,296 ± 0,005 (27%)	8,72 ± 0,47 (23%)	2.204 ± 25 (65%)	107 ± 2 (47%)	7,58 ± 0,08 (3,2%)
F	0,566 ± 0,041 (58%)	3,03 ± 0,08 (16%)	1.753 ± 132 (52%)	126 ± 1 (60%)	3,94 ± 0,02 (8,6%)
Amostra M					
CA	0,957 ± 0,086 (81%)	6,14 ± 0,04 (18%)	1.265 ± 52 (91%)	159 ± 1 (92%)	3,35 ± 0,16 (1,6%)
M	0,797 ± 0,038 (92%)	8,09 ± 0,38 (20%)	2.230 ± 16 (85%)	190 ± 1 (96%)	6,03 ± 0,03 (2,1%)
F	0,852 ± 0,034 (83%)	6,69 ± 0,29 (21%)	1.964 ± 69 (77%)	192 ± 5 (98%)	3,51 ± 0,11 (16%)
Amostra N					
CA	0,921 ± 0,052 (98%)	7,63 ± 0,14 (24%)	1.421 ± 129 (84%)	131 ± 6 (68%)	4,62 ± 0,36 (1,2%)
M	0,861 ± 0,042 (83%)	10,3 ± 0,1 (28%)	3.097 ± 165 (90%)	134 ± 1 (67%)	6,23 ± 0,25 (2,8%)
F	0,596 ± 0,042 (82%)	8,19 ± 0,08 (24%)	1.987 ± 104 (66%)	148 ± 2 (74%)	1,59 ± 0,09 (13%)

O Cu apresentou percentuais bioacessíveis variando de 20 a 98% na carne cozida em água, 18 a 92 % na carne assada em micro-ondas e de 46 a 83 % na carne assada em forno convencional. Conforme descrito por Khouzam *et al*. (2011), a bioacessibilidade de um elemento depende da sua solubilidade nas condições intestinais. Para o Cu por exemplo, os autores relatam que os complexos Cu-fitato permanecem solúveis no pH do lúmen intestinal. Assim, a elevada bioacessibilidade desses elementos pode ser devido a formação de compostos solúveis no trato gastrointestinal.

Já o Fe apresentou baixa fração bioacessível nos três métodos de tratamento térmico, variando de 6 a 26% para a carne cozida em água e de 3,1 a 24 % para as amostras assadas em forno convencional. O método de micro-ondas foi o que apresentou a maior fração, porém baixa, de 15 a 31 %. Com isso, é possível constatar que apesar da carne ovina *in natura* apresentar concentrações expressivas de Fe, este é perdido durante o processo de cocção e sua bioacessibilidade é baixa. No trabalho de Higueira *et al.* (2021), os autores avaliaram a bioacessibilidade em lombos ovinos submetidos a diferentes tratamentos térmicos e constataram baixa fração bioacessível de 4 a 10 %. Já Silva *et al.* (2017) avaliaram a fração bioacessível em fígado bovino cozido em água e obtiveram frações entre 11 e 39 %. A baixa bioacessibilidade do ferro em carnes pode estar relacionado a forma como o ferro está presente nas carnes vermelhas, o qual está na forma de ferro heme e quando aquecido é liberado do complexo heme, pois ocorre a desnaturação das proteínas como a hemoglobina e a mioglobina, seguida por uma liberação e degradação da molécula heme. Assim, ocorre a conversão do ferro em ferro iônico, a qual afeta significativamente a disponibilidade de ferro, uma vez que a forma não-heme é menos absorvida em relação a forma heme. Por isso, o ferro se torna menos bioacessível em amostras que foram tratadas termicamente (Lombardi-Boccia *et al*., 2002; Suleman *et al*., 2020).

Em relação ao K, as frações bioacessíveis foram superiores a 50 % nos três tratamento térmicos para todas as amostras. No método de cocção em água, as frações variaram de 55 a 91 %, para o método utilizando micro-ondas variaram de 65 a 96 % e para as amostras assadas em forno convencional, as frações variaram de 52 a 98 %. Essa alta bioacessibilidade também foi relatada no trabalho de Higueira *et al*. (2021), a qual apresentou 76 % para o K e foi o elemento que apresentou a maior fração bioacessível.

O Mg, apresentou frações bioacessíveis maiores, de 39 a 98 % para as amostras tratadas termicamente no forno convencional, seguido das amostras cozidas em água 35 a 92 % e das amostras tratadas pelo micro-ondas, de 17 a 96 %. Menezes *et al.* (2018) avaliaram a bioacessibilidade de Mg em amostras de carnes suínas, bovinas e frango submetidas a diferentes tratamentos e observaram que as amostras assadas em micro-ondas e grelhadas em menores temperaturas apresentaram maior bioacessibilidade para esse elemento, variando de 15 a 37 % para carne bovina, 10 a 26 % para carne de frango e de 7 a 27 % para carne suína. Já no trabalho de Higueira *et al.* (2021), determinaram a bioacessibilidade em amostras de lombo ovino da região de São Paulo e encontraram porcentagens para o Mg de 48 % nas amostras assadas em forno convencional e *air fryer* e de 41 % nas amostras assadas em forno micro-ondas. Os autores relatam que a baixa fração bioacessível do Mg pode estar relacionada com a quantidade de gordura presente nas carnes e isso é depende do tipo de corte.

O Zn foi o elemento que apresentou as menores frações bioacessíveis dentre os elementos estudados, variando de 0,2 a 3,2 % para amostras cozidas em água, de 0,7 a 3,2 % para as amostras assadas em forno micro-ondas e de 0,9 a 25 % para as carnes assadas em forno convencional. Este último tratamento foi que apresentou as maiores frações para o Zn em relação aos demais tratamentos. No trabalho de Higueira *et al.* (2021), os autores também encontraram baixas frações bioacessíveis para o Zn, 1 %, 3 % e 7 % na amostra de lombo ovino submetido aos tratamentos de panela de pressão, micro-ondas e forno convencional, respectivamente, demostrando que a maior fração bioacessível também foi encontrada na carne assada em forno convencional. Menezes *et al.* (2018) também determinaram a fração bioacessível de Zn em amostras de carne bovina, suína e de frango e obtiveram baixas frações, as quais variaram de 12 a 20 %; 10 a 20 % e de 8 a 16 %, respectivamente. O processo de cozimento diminui os teores de Zn presente nas carnes, alterando o perfil das espécies químicas presentes e prejudicando a sua disponibilidade para absorção pelo organismo humano (Andrade *et al.,* 2004).

5.11. Contribuição para o valor nutricional dos elementos bioacessíveis

Segundo a recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS), o ideal é ingerir 300 gramas de carne vermelha por semana (ou três porções de 100 gramas

semanais). Sendo assim, para avaliar a contribuição do valor nutricional dos elementos essenciais nos três diferentes métodos de cocção da carne ovina, foram realizados os cálculos de contribuição (%) em relação a ingestão diária recomendada (IDR) para adultos, atribuindo um consumo de 100 g de carne. Para isso, foi realizado uma média, para cada elemento, das quatorze amostras considerando as concentrações bioacessíveis para Cu, Fe, K, Mg e Zn e para o cálculo do IDR utilizou a fórmula descrita por Silva *et al*. (2017) conforme equação 8.

$$\% \text{ IDR} = \text{CB/IDR} \times 100 \qquad \text{Eq. 8}$$

Onde: IDR = índice diário recomendado e CB = concentração bioacessível (mg/100g)

Sendo assim, foram considerados os IDR com base no *Institute of Medicine* (2011) que atribui para Cu, Fe, K, Mg e Zn valores de 0,9 mg, 18 mg, 4.700 mg, 400 mg e 8 mg, respectivamente. Considerando 100 g de carne ovina tratada termicamente, as % IDR calculadas foram de 4,8; 2,7; 3,2; 2,7 e 4,0 % para Cu, Fe, K, Mg e Zn, respectivamente, na cocção em água. Já no forno micro-ondas foram de 4,2; 4,7; 5,5; 3,1 e 3,8 % e no forno convencional o %I DR foi de 6,0; 2,7; 4,2; 4,1 e 3,4, respectivamente. O Cu e o Mg foram os elementos que apresentaram as maiores % IDR nas amostras que são submetidas ao tratamento térmico em forno convencional, sendo superior a 6,0 % e 4,1 % para Cu e Mg, respectivamente. Já o Fe e o K apresentaram IDR de 4,7 e 5,5 % nas amostras que foram tratadas no forno micro-ondas. O Zn apresentou um IDR maior nas amostras cozidas em água, porém próximo das amostras tratadas em forno micro-ondas, as quais foram 4,0 e 3,8 %, respectivamente.

Sendo assim, verifica-se que a carne ovina, após os tratamentos térmicos, contribui com uma porção significativa dos elementos Cu, Fe, K, Mg e Zn para o bom funcionamento do organismo humano. Além disso, o método de tratamento térmico influencia diretamente na liberação dos elementos no sistema gastrointestinal. Esses elementos são essenciais para o organismo humano, pois o Cu atua como redutor de algumas enzimas e é importante para o desenvolvimento dos tecidos conjuntivo e dos ossos e sua deficiência do sistema imunológico, aumenta a suscetibilidade á infecções. No entanto seu excesso pode causar um distúrbio hereditário, chamado Doença de Wilson, podendo ainda danificar o fígado e o sistema nervoso (Iaquinta *et al.,* 2021; NIH, 2022).

O Fe, atua principalmente nos processos metabólicos que envolvem o transporte e armazenamento de oxigênio, sua deficiência pode causar principalmente anemia e alterações no metabolismo celular. Porém, em excesso pode acarretar o aumento de incidências e gravidade de doenças isquêmicas cardiovasculares (Zoroddu *et al*., 2019; LPI, 2023). Já o K, é importante para o crescimento e fortalecimento dos músculos, contração cardíaca e atua no equilíbrio iônico e na função celular, além de ser importante para o bom funcionamento do intestino e dos músculos (Zoroddu *et al*., 2019; NIH, 2022).

Em relação ao Mg, este elemento atua como cofator em mais de 300 reações enzimáticas que regulam as reações bioquímicas do corpo, além da sua essencialidade para estabilizar o sistema nervoso; auxilia no bom funcionamento do coração e rins e é fundamental para estrutura óssea e muscular (Zoroddu *et al*., 2019; NIH, 2022). O Zn, atua em inúmeras funções corporais como replicação, transcrição e síntese proteica. Além disso, possui um papel importante na função imune e cicatrização de feridas. Sua deficiência pode produzir déficit de crescimento, diarreia crônica e pouco apetite, se estiver em baixa concentração no organismo. No entanto, seu excesso, pode inibir a absorção de outros elementos, como por exemplo o Cu (NIH, 2022; LPI, 2023).

5.12. Teor de proteínas na carne ovina

O teor de proteínas foi determinado nas amostras in natura, cozida em água, assada em forno micro-ondas e em forno convencional. Os resultados estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 – Teor de proteína em % (g/100g de carne) nas amostras de carne ovina in natura, cozida em água (CA); assada em forno micro-ondas (M) e assada m forno convencional (F), determinada pelo método *Kjeldahl.* Resultados expressos em média ± desvio padrão, (n=3).

	% proteínas (g/100g)			
	IN NATURA	**CA**	**M**	**F**
A	18,01 ± 1,62	26,06 ± 0,84	41,33 ± 2,18	31,18 ± 1,16
B	19,55 ± 0,28	31,01 ± 0,86	43,20 ± 2,25	30,62 ± 0,87
C	20,25 ± 0,76	29,22 ± 2,79	49,93 ± 1,54	33,66 ± 0,11
D	19,93 ± 0,99	32,97 ± 0,08	33,77 ± 1,77	34,96 ± 1,67
E	19,49 ± 1,09	33,99 ± 1,87	34,82 ± 1,79	30,91 ± 0,05
F	18,10 ± 1,04	28,36 ± 1,29	33,35 ± 1,42	29,37 ± 0,11
G	18,07 ± 1,55	37,12 ± 2,30	38,30 ± 0,79	33,43 ± 1,23
H	19,40 ± 1,02	28,79 ± 1,71	35,14 ± 1,76	30,13 ± 0,55
I	20,28 ± 0,02	27,45 ± 1,21	35,40 ± 1,36	28,38 ± 1,17
J	18,36 ± 0,31	29,64 ± 0,09	37,24 ± 1,94	31,68 ± 1,76
K	20,41 ± 0,02	31,30 ± 0,47	33,98 ± 2,03	32,91 ± 1,32
L	20,18 ± 0,86	32,94 ± 0,44	34,27 ± 1,99	28,56 ± 0,23
M	20,51 ± 1,35	27,91 ± 0,88	34,73 ± 2,86	31,90 ± 0,07
N	19,23 ± 0,07	31,27 ± 1,44	35,80 ± 1,05	29,65 ± 1,32

O teor de proteínas nas amostras in natura variou de 18 a 20,5 %. Praches *et al.* (2022), relata que a carne ovina apresenta um teor de proteínas de 20 g em 100 g de carne (20 %). Já Pinheiro *et al.* (2008), obteve um teor de proteína de 18,85 % no corte denominado paleta. Apesar do corte não ser o mesmo deste estudo, os valores encontrados estão semelhantes aos relatados na literatura.

Já em relação as amostras tratadas termicamente, é possível observar um teor de proteínas variando de 26,06 % a 33,99 % para carne cozida em água, de 28,56 % a 34,96 % para amostras de carne assada em forno convencional e de 33,35 % a 49,93 % nas amostras tratadas termicamente por radiação micro-ondas. Com isso, é possível verificar que os maiores teores de proteínas foram encontrados nas amostras tratadas em micro-ondas, seguido das amostras assada em forno convencional. Esses resultados estão relacionados a perda de água, uma vez que as amostras por micro-ondas foram as que tiveram mais perda de água, no presente trabalho e, consequentemente maior teor de proteínas e na sequência, as amostras assadas no forno. Pinheiro *et al.* (2008) e Fabre *et al.* (2018) relatam que carnes que passam por

algum tipo de processamento térmico apresentam menor teor de umidade e maior percentual de proteínas. Um aumento da temperatura causa modificações na microestrutura da carne, isso faz com o que a interação da água com as proteínas miofibrilares enfraqueça, permitindo a migração da água pelos vasos que se formaram pela desnaturação das proteínas, resultando no encolhimento das fibras musculares (Scussat *et al.*, 2017).

Vieira *et al*. (2007), relata que carnes assadas em micro-ondas apresentam maior teor de proteínas e isso pode ser relacionado com a temperatura uniforme no interior e na superfície dos cortes. O contrário ocorre nos demais métodos de tratamento térmico, em que a superfície dos cortes atinge temperaturas mais elevadas antes do interior, causando a desnaturação das proteínas superficiais, tornando-as insolúveis e resultando na formação de uma camada que contribui para a redução de perdas de água e diminuição dos teores de proteínas.

6. Conclusão

O preparo de amostras desenvolvido através da utilização do planejamento multivariado, aliado à função de desejabilidade de Deringer e Suich, mostrou-se eficiente para obter a melhor condição de decomposição ácida em copo aberto com o sistema de refluxo. Além disso, permitiu uma condição ótima para análise multielementar (10 elementos), o que não havia sido relatado em nenhum trabalho utilizando esse sistema de decomposição.

A condição ótima de decomposição foi de 140 °C para temperatura; 187 min para o tempo e 1,8 mL para o volume de H_2O_2. Com essa condição foi possível obter modelos sem falta de ajuste para 8 elementos e estes, apresentaram resíduos aleatórios. A exatidão da condição estabelecida foi avaliada pela análise de dois CRMs de carnes e pelo teste de adição de analitos, apresentando valores concordantes para os CRMs, ótimos valores de recuperação e uma boa precisão, com RSDs inferiores a 10 %. Além disso, mostrou-se eficiente na decomposição de carne ovina devido aos baixos teores de carbono residual obtidos, sem comprometer a vida útil da tocha e/ou do perfeito funcionamento do plasma durante as análises pelo MIP OES. Também foi possível obter resultados concordantes para Cd e Pb por GF AAS, através dos materiais de referência certificados e de recuperação para o Cd no método de múltiplas injeções. Para a bioacessibilidade forma obtidos bons valores de recuperação através do balanço de massas.

Em relação as concentrações obtidas, foi possível verificar que para as amostras *in natura* há uma grande variação nas concentrações dos elementos e que a localização e o sistema de criação influenciam na concentração elementar. Além disso, o tratamento térmico da carne antes de ser consumida, acarreta mudanças na concentração dos elementos, principalmente no método de cocção em água, no qual ocorrem as maiores perdas. Já no método por micro-ondas, ocorrem perdas, no entanto bem menores quando comparada aos outros dois tratamentos (forno e cocção em água). Isso afeta diretamente a bioacessibilidade dos elementos, uma vez que o Cu, Mg e o Zn apresentaram maiores frações bioacessíveis no método por forno convencional, enquanto o Fe e o K apresentaram as maiores frações bioacessíveis no forno convencional. Além disso, os métodos de tratamento térmico também alteram o teor de proteína presente na carne ovina, uma vez que ao comparar o teor de proteína na carne ovina *in natura*, a qual apresentou um valor de aproximadamente

20% e, após o tratamento térmico em forno micro-ondas os valores aumentaram aproximadamente 50 %.

Em relação ao IDR, as concentrações bioacessíveis apresentaram valores abaixo, demonstrando que a carne ovina contribui com a ingestão de elementos essenciais como Cu, Fe, K, Mg e Zn e juntamente com outros alimentos complementa a quantidade de ingestão diária recomendada desses elementos.

A análise de PCA mostrou que, embora existam diferenças nas concentrações dos elementos, foi possível identificar a formação de grupos distintos em relação à concentração total dos elementos, separando por localidade, o que pode estar relacionada à sistema de criação, alimentação, idade de abate e características genéticas.

Já em relação aos elementos potencialmente tóxicos, o Al apresentou concentrações elevadas nas amostras *in natura,* as quais diminuíram após os tratamentos térmicos e não está bioacessível após a simulação *in vitro*. Para Cd e Pb, a técnica de GF AAS mostrou de grande importância para a determinação desses elementos, uma vez que apresentaram baixas concentrações, assegurando um limite de detecção menor do que o limite exigido pelas legislações brasileiras para o Pb. Já o Cd, permitiu a determinação através do método de múltiplas injeções, com bons resultados de recuperações através dos testes de uma única injeção comparado a múltiplas injeções. Com isso, esse método mostra ser uma alternativa para elementos que apresentam baixas concentrações com somente uma injeção.

Em relação a concentração nas amostras, oito do total de quatorze apresentaram concentrações próximas ou superiores ao limite máximo permitido para Cd. Porém, após os tratamentos térmicos nenhuma amostra apresentou concentração de Cd, concluindo que este elemento não apresenta riscos à saúde do consumidor, pois é degradado durante o tratamento térmico da carne.

REFERÊNCIAS

AGILENT TECHNOLOGIES. Microwave plasma atomic emission spectroscopy (MP-AES) - Application Handbook. 167 p., 2016.

ALVES, L. G. C.; OSÓRIO, J. D. S.; FERNANDES, A. R. M.; RICARDO, H. D. A.; CUNHA, C. M. Produção de carne ovina com foco no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 2400-2408, 2014.

ALVES, M.; MEDINA, A.; PINTO, A. M.; ANTUNES, A. C.; SANCHES FILHO, P. J.; Ribeiro, S. A.; Vieira, A. M. Evaluation of the Concentration of Cu, Zn, Pb and Cr in Different Fish Species from the São Gonçalo Channel in Pelotas-RS, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 285-196, 2018.

AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multielementares. **Química Nova**, v. 31, p. 1784-1790, 2008.

ANDRADE, E, C, B.; BARROS, A. M.; MELLO, V. S.; TAKASE, I. Avaliação do teor de cobre e zinco em cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 393-398, 2004.

ARANHA, T. S. C. P.; OLIVEIRA, A.; QUEIROZ, H. M.; CADORE, S. A fast alkaline treatment for cadmium determination in meat samples. **Food Control**, v. 59, p. 447-453, 2016.

ARCO. Associação Brasileira de Criadores de Ovinos. Como estimular o consumo de carne ovina. **Arco Revista**, v. 6, p. 1-39, 2018.

ATSDR – Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for Barium and Barium compounds. Atlanta: ATSDR, 2007. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp24.pdf> Acesso em: 13 abr. 2021.

BALLUS, C. A.; MEINHART, A. D.; DE SOUZA CAMPOS, F. A. JR.; BRUNS, R. E.; GODOY, H. T. Doehlert design-desirability function multi-criteria optimal separation of 17 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary zone electrophoresis. **Food Chemistry**, v. 146, p. 558-568, 2014.

BEHRENDT, K.; WEEKS, P. How are global and Australian sheep meat producers performing? Global agri benchmark network results 2016. **Meat & Livestock Australia Limited**, v. 3, p. 1-14, 2017.

BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C.; NOVAES, C. G.; SANTOS, A. M. P.; VALASQUES, G. S.; CERQUEIRA, U. M.F. M.; ALVES, J. P. S. Simultaneous optimization of multiple responses and its application in Analytical Chemistry - A review. **Talanta**, v. 194, p. 941-959, 2019.

BHATT, R. S.; SOREN, N. M.; SAHOO, A.; KARIM, S. A. Re-alimentation strategy to manoeuvre body condition and carcass characteristics in cull ewes. **The Animal Consortium**, v. 6, p. 61-69, 2012.

BIESALSKI, H. K. Meat as component of a healthy diet - Are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? **Meat Science**, v. 70, p. 509-524, 2005.

BONAGURIO, S. P.; GARCIA, J. R. O.; FURUSHO I. F.; BRESSAN, M. C.; LEMOS, A. L. S. C. Quality of meat production of purebred Santa Ines and crossbred Texel x Santa Ines lambs at different slaughter weights. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1981-1991, 2003.

BONEMANN, D.H.; LUCKOW, A. C. B.; PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; CADORE, S.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in tomatoes and their derivatives by MIP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 96, p. 103716, 2021.

BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 92, p. 1-8, 2014.

BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS Nº 42/2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos.

BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C. S. F.; BRUNS, R. E. Combined column–mobile phase mixture statistical design optimization of high-performance liquid chromatographic analysis of multicomponent systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 1439-1449, 2009.

BRODKORB, A.; EGGER, L.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; ASSUNÇÃO, R.; BALLANCE, S., BOHR, T.; BOURLIEU-LACANAL, C.; BOUTROU, R., CARRIÈRE, F.; CLEMENTE, A.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EDWARDS, C.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A. R.; MARTINS, C.; MARZE, S.; McClements, D. J.; MÉNARD, O.; MINEKUS, M.; PORTMANN, R.; SANTOS, C. N.; SOUCHON, I.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIES, W.; RECIO, I. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, p. 991-1014, 2019.

BUTCHER, D. J. Innovations and developments in graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS). **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 58, p. 65-82, 2023.

CALABRÒ, E.; MAGAZÙ, S. Modulation of Maillard reaction and protein aggregation in bovine meat following exposure to microwave heating and possible impact on digestive processes: An FTIR spectroscopy study. **Electromagnetic Biology and Medicine**, v. 39, p. 129-138, 2020.

CAMPOS, N. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; IZUMI, C, M. S.; DE SOUSA, R. A. Alkaline Solubilization of Chicken Tissues Monitored by Raman Spectroscopy Followed by Pb Determination by GF AAS. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 353-362, 2018.

CANDIOTI, L. V.; ZAN, M. M.; CÁMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiplex response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123-138, 2014.

CHALYAVI, N.; DOIDGE, P. S.; MORRISON, R. J. S.; PARTRIDGE, G. B. Fundamental studies of an atmospheric-pressure microwave plasma sustained in nitrogen for atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, p. 1988-2002, 2017.

COSTA JUNIOR, F. A. S.; PETRARCA, M. H.; MEINHART, A. D.; FILHO, M. J.; GODOY, H. T. Multivariate optimization of extraction and validation of phenolic acids in edible mushrooms by capillary electrophoresis. **Food Research International**, v. 126, p. 108685, 2019.

COSTA, N. R.; LOURENÇO, J.; PEREIRA, Z. L. Desirability function approach: a review and performance evaluation in adverse conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, p. 234-244, 2011.

COSTA, R. G.; SANTOS, N. M. S.; SOUSA, W. H. Qualidade física e sensorial da carne de cordeiros de três genótipos alimentados com rações formuladas com duas relações volumoso: concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p.1781-1787, 2011.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de Nutrientes. 5. Ed. Barueri-SP: editora Manole, 2016. 1443p.

CRUZ, B. C. C.; SANTOS, C. L.; AZEVEDO, J. A. G.; SILVA, D. A. Avaliação e composição centesimal e as características físico-químicas da carne de ovinos. **Publicações em Medicina Veterinária**, v. 10, p. 147-162, 2016.

DE SOUZA, A. O.; DA SILVA, E. N.; PEREIRA, C. C.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Characterization of the Bioaccessibility of Minerals from Commercial Breakfast Cereals by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). **Analytical Letters**, v. 54, p. 2874-2882, 2021.

DE SOUZA, A. O. **Cereal matinal e infantil: concentração total, bioacessível e pré-concentração de metais por técnicas de espectrometria atômica.** 2018. 130f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

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

DE SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; JADO, B. M.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; NUNES, A. M. Determinação de Cd e Pb em amostras de goma xantana por GF AAS. **Química Nova**, v. 38, p. 209-213, 2015.

DIAS, C. B.; MEINHART, A. D.; PANE, D. Q.; BALLUS, C. A.; GODOY, H. T. Multivariate optimization and validation of a method for the separation of five artificial sweeteners by UPLC-DAD in nine food matrice. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 1824-1835, 2015.

DINIZ, L. M. N.; CARRASCO, T. S.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M. Use of MIP OES and F AAS/AES for determination of Ca, L, Na and Mg in brazilian cream cheese. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 711-718, 2017.

DO NASCIMENTO DA SILVA, E.; FARIAS, L. O.; CADORE, S. The total concentration and bioaccessible fraction of nutrients in purées, instant cereals and infant formulas by ICP OES: a study of Dietary Recommended Intakes and the importance of using a standardized in vitro digestion method. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 65-72, 2018.

DOMINGUEZ, R.; BORRAJO, P.; LORENZO, J. M. The effect of cooking methods on nutritional value of foal meat. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 43, p. 61–67, 2015.

EIRAS, C. E.; ORNAGHI, M. G.; VALERO, M. V.; RIVAROLI, D. C.; GUERRERO, A.; PRADO, I. N. How does the dietary cottonseed hull affect the carcass characteristics and meat quality of young bulls finished in a high concentrate diet? **Acta Scientiarum Animal Sciences,** v. 38, p. 301-310, 2016.

EMBRAPA. Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos. Boletim n° 10, 2020. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/

FABRE, R.; DALZOTTO, G.; PERLO, F.; BONATO, P.; TEIRA, G.; TISOCCO, O. Cooking method effect on Warner-Bratzler shear force of different beef muscles. **Meat Science**, v. 138, p. 10-14, 2018.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize> Acesso em 10 abr. 2023.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice**. 2016. 4. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016. 563p.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria – conceitos, métodos e aplicações**. Campinas: Editora Unicamp, 2015, 493p.

FERREIRA, S. L. C.; JUNIOR, J. B. P.; LEÃO, D. J.; REIS, P. S.; CHAGAS, A. V. B.; SANTOS, L. O. Determination and multivariate evaluation of the mineral composition of red jambo (*Syzygium malaccense (L.*)). **Food Chemistry**, v. 371. p.131381, 2022.

FERREIRA, S. L. C.; LEMOS, V. A.; CARVALHO, V. S.; SILVA, E. G. P.; QUEIROZ, A. F. S.; FELIX, C. S. A.; SILVA, D. F. L.; DOURADO, G. B.; OLIVEIRA, R. V. Multivariate optimization techniques in analytical chemistry - an overview. **Microchemical Journal,** v. 140, p. 176-182, 2018.

FERREIRA, S. L. C.; SILVA JUNIOR, M. M.; FELIX, C. S. A.; SILVA, D. L. F.; SANTOS, A. S.; SANTOS NETO, J. H.; SOUZA, C. T.; CRUZ JUNIOR, R. A.; SOUZA, A. S.

Multivariate optimization techniques in food analysis – A review. **Food Chemistry**, v. 273, p. 3-8, 2019.

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

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Ora Laboratory Procedure. Methods, method verification. Rockville, 2003. Disponível em: <https://www.fda.gov/ora/science>. Acesso: 09 abr. 2021.

FOOD INGREDIENTS BRASIL – **Dossiê: Proteínas** – N° 22, 2012. Disponível em: < https://revista-fi.com/upload_arquivos/201606/20160602184490014649760 98.pdf> Acesso em 25 abr. 2023.

FROES, R. E. S.; WINDMÖLLER, C. C.; DA SILVA, J. B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. **Revista Analytica**, v. 23, p. 32-42, 2006.

GORAN, G. V.; TUDOREANU, L.; ROTARU, E.; CRIVINEANU, V. Comparative study of mineral composition of beef steak and pork chops depending on the thermal preparation method. **Meat Science**, v. 118, p. 117-121, 2016.

GOUVEIA, S. T.; SILVA, F. V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Determination of residual carbon by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations. **Analytica Chimica Acta**, v. 445, p. 269-275, 2001.

GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; ESCHER, G. B. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, p. 83-90, 2018.

GUERRERO, A.; VALERO, M. V.; CAMPO, M. M.; SAÑUDO, C. Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork: Review. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 35, p. 335-347, 2013.

HADJMOHAMMADI M.; SHARIF V. Simultaneous optimization of the resolution and analysis time of flavonoids in reverse phase liquid chromatography using Derringer's desirability function. **Journal of Chromatography B**, v. 880, p. 34-41, 2012.

HASHIMOTO, J. H.; OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; BONACINA, M. S.; LEHMEN, R. I.; PEDROSO, C. E. S. Qualidade de carcaça, desenvolvimento regional e tecidual de cordeiros terminados em três sistemas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 438-448, 2012.

HIGUEIRA, J. M.; SANTOS, H. M.; OLIVEIRA, A. F.; NOGUEIRA, A. R. Bioaccessibility assessment of Cu, Fe, K, Mg, P and Zn in thermally treated lamb meat. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 2111-21119, 2021.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental.** 6 ª edição, Bookman: Porto Alegre, 2009, 1059p.

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

IAQUINTA, F.; PISTÓN, M.; MACHADO, I. In vitro bioaccessibility of Cu and Zn in cooked beef cuts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 150, p. 112027, 2021.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939> Acesso em: 10 mar. 2023.

IKEM, A.; SHANKS, B.; CALDWELL, J.; GARTH, J.; AHUJA, S. Estimating the daily intake of essential and nonessential elements from lamb m. longissimus thoracis et lumborum consumed by the population in Missouri (United States). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 126-135, 2015.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes (DRIs). (2011). Disponível em: http://nationalacademies.org/hmd/~/media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRI-Tables/6_%20Elements%20Summary.pdf?la=en. Acessado em 17 abr. de 2023.

JACOBS, B.; BONEMANN, D. H.; PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; LUCKOW, A. C. B.; LISBOA, M. T.; RIBEIRO, A. S.; CADORE, S.; NUNES, A. M. Avaliação da concentração total e da fração bioacessível de metais em amostras de casca de uva de cultivares Tannat e Cabernet Suavignon por MIP OES. **Química Nova**, v. xy, p. 1-6, 2021.

JANKOWSKI, K. J.; RESZKE, E. Microwave induced plasma analytical spectrometry. **Analytical Spectroscopy**, v. 264 p. 446-459, 2010.

JIAO, T.; NIE, Z.; ZHAO, G.; CAO, W. Changes in soil physical, chemical, and biological characteristics of a temperate desert steppe under different grazing regimes in northern China. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, p. 338-347, 2016.

JOUQUAND, C.; TESSIER, F. J.; BERNARD, J.; MARIER, D.; WOODWARD, K.; JACOLOT, P.; WIDEHEM, P. G.; LAGUERRE, J. C. Optimization of microwave cooking of beef burgundy in terms of nutritional and organoleptic properties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 60, p. 271-276, 2015.

KEMSLEY, E. K.; DEFERNEZ, M.; MARINI, F. Multivariate statistics: Considerations and confidences in food authenticity problems. **Food Control**, v. 105, p. 102-112, 2019.

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

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

KPEE, F.; OZIOMA, E.; IHUNWO, L. Seasonal variation of Cd, Ni, Cu and Pb in catfish, sediment and water samples from ipo stream in Ikwerre District of Rivers State, Nigeria. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v.13, n.2, 2009.

KRUG, F. J.; **Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** 1ª ed. Piracicaba, 2010, 340p.

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

LEÃO, P. R. P.; MEDINA, A. L.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; Decomposição de amostras de cerveja com sistema de refluxo para determinação monoelementar por F AAS/AES e determinação multielementar por MIP OES. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2017062, 2018.

LIMA, A. F.; LIMA, F. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Combination of sonication and heating for metal extraction from inorganic fertilizers prior to microwave-induced plasma spectrometry determinations. **Applied Acoustics**, v. 103, p. 124-128, 2016.

LIMA, A. M. S.; SANTOS, L. O.; DAVID, J. M.; FERREIRA, S. L. C. Mineral content in mustard leaves according to the cooking method. **Food Chemistry**, v. 273, p. 172-177, 2021.

LOMBARDI-BOCCIA, G.; MARTINEZ-DOMINGUEZ, B.; AGUZZI, A. Total heme and non heme iron in raw and cooked meats. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 1738-1741, 2022.

LOPES, J. E. L.; SALES, R. O.; AZEVEDO, A. R.; OLIVEIRA, A. L. T. Composição centesimal, perfil de ácidos graxos e colesterol da carne de cordeiros submetidos aos sistemas de produção com dieta experimental e convencional. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 6, p.31-50, 2012.

LORINI, A.; DAMIN, F. M.; DE OLIVEIRA, D. N.; RAMIRES, T.; ROMBALDI, C. V.; ZAVEREZE, E. R.; DIAS, A. R. G.; GODOY, H. T.; DA SILVA, W. P.; GALLI, V.; MEINHART, A. D. Multivariate optimization results in an edible extract from *Ilex paraguariensis* unexplored residues with a high amount of phenolic compounds. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 57, p. 23-38, 2022.

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

LPI - Linus Pauling Institute, Minerals. 2023. Disponível em: < https://lpi.oregonstate.edu/> Acesso em 06 mai. 2023.

MACIEL, M. V.; AMARO, L. P. A.; LIMA JÚNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; FREIRE, D.A. Métodos avaliativos das características qualitativas e organolépticas da carne de ruminantes. **Revista Verde**, v. 6, n. 3, p. 17-24, 2011.

MACLACHLAN, D. J.; BUDD, K.; CONNOLLY, J.; DERRICK, J.; PENROSE, L.; TOBIN, T. Arsenic, cadmium, cobalt, copper, lead, mercury, molybdenum, selenium and zinc concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep. **Journal of Food Composition and Analysis,** v.50, p. 97-107, 2016.

MADELLA-OLIVEIRA, A. F.; QUIRINO, C. R. Pre-slaughter management, welfare and its relationships with the meat quality of ovine: Review. **Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.11, p. 554-560, 2017.

MARQUES, A.; LOURENÇO, H. M.; NUNES, M. L.; ROSEIRO, C.; SANTOS, C.; BARRANCO, A.; RANIERI, S.; LANGERHOLC, T.; CENCIC, A. New tools to assess toxicity, bioaccessibility and uptake of chemical contaminants in meat and seafood. **Food Research International**, v. 44, p. 510-522, 2011.

MCAFEE, A. J.; MCSORLEY, E. M.; CUSKELLY, G. J.; MOSS, B. W.; WALLACE, J. M. W.; BONHAM, M. P.; FEARON, A. M. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. **Meat Science**, v. 84, p. 1-3, 2010.

MD NOH M. F.; GUNASEGAVAN, R. D.; KHALID, N. M.; BALASUBRAMANIAM, V.; MUSTAR, S.; RASHED, A. A. Recent techniques in nutrient analysis for food composition database: a review. **Molecules**, v. 25, p. 1-45, 2020.

MENEZES, E. A. **Determinação da disponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em amostras de carnes bovinas, suínas e de frango in natura e processadas termicamente.** 2010. 127f. Tese (Química) - Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2010.

MENEZES, E. A.; OLIVEIRA, A. F.; FRANÇA, C. J.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. N. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork, and chicken after thermal processing. **Food Chemistry**, v. 240, p. 75-83, 2018.

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

MONAHAN, F. J.; SCHMIDT, O.; MOLONEY, A. P. Meat provenance: Authentication of geographical origin and dietary background of meat. **Meat Science**, v. 144, p. 2-14, 2018.

MONTE, A. L. S.; GONSALVES, H. R. O.; VILLARROEL, A. B. S.; DAMACENO, M. N.; CAVALCANTE, A. B. D. Qualidade da carne de caprinos e ovinos: uma revisão. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, v.8, p11-17, 2012.

MONTEIRO, M. M.; BRISOLA, M. V.; FILHO, J. E. R. V. **Diagnóstico da cadeia produtiva de caprinos e ovinos no Brasil**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Brasília. 2021. 38p.

MONTOSSI, F.; FONT-I-FURNOULUS, M.; DEL CAMPO, M.; JULIÁN, R. S.; BRITO, G.; SAÑUDO, C. Sustainable sheep production and consumer preference trends: Compatibilities, contradictions, and unresolved dilemmas. **Meat Science**, v. 95, p. 772-789, 2013.

MORAES, R. E.; SOARES, M. F.; VAZ, R. Z.; PEREIRA, G. M.; MASCARENHAS, M. W.; MOREIRA, S. M.; ARAUJO, L. A. P.; SILVEIRA, I. D. B. Profile consumption of sheep meat front to animal welfare in the view of producers and consumers. **Research, Society and Development**, v. 9, p. e089108158, 2020.

MÜLLER, A.; POZEBON, D.; DRESSLER, V. L. Advances of nitrogen microwave plasma for optical emission spectrometry and applications in elemental analysis: a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 35, p. 2113-2131, 2020.

NEMATI, K; BAKAR, N. K. A.; ABAS, M. R. B.; SOBHANZADEH, E.; LOW, K. H. Comparative study on open system digestion and microwave assisted digestion methods for metal determination in shrimp sludge compost. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182, p. 453-459, 2010.

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

NIH. **National Institute of Health**. (2022). https://ods.od.nih.gov/ em 05 de maço de 2023.

NÓBREGA, G. H.; CÉZAR, M. F.; PEREIRA FILHO, J. M, SOUSA, W. H.; SOUSA, O. B.; CUNHA, M. G. G.; SANTOS, J. R. S. Regime alimentar para ganho compensatório de ovinos em confinamento: composição regional e tecidual da carcaça. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p.469-476, 2013.

NOGUEIRA, A. R. D. A. **Preparo de Amostras: Novas Perspectivas para os Laboratórios da Embrapa.** VIII Encontro Nacional sobre Métodos de Laboratório da Embrapa. Jaguariúna – SP, 2003, 20p.

NOMURA, C. S.; SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, v. 31, p. 104-113, 2008.

NOVAES, C. G.; BEZERRA, M. A.; SILVA, E. G. P.; SANTOS, A. M. P.; ROMÃO, I. L. S.; NETO, J. H. S. A review of multivariate designs applied to the optimization of

methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 331-346, 2016.

NUNES, A. M; DE SOUSA, R. A.; SILVA, C. S.; PEIXOTO, R. R. A.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CADORE, S. Fast determination of Fe, Mg, Mn, P and Zn in meat samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after alkaline solubilization. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 32, p.1-5, 2013.

OECD/FAO. Agricultural Outlook 2019-2028, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2019-en> Acesso em 10 mar. 2021.

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

OLIVEIRA, L. B.; MELO, J. C.; BOA MORTE, E. S.; JESUS, R. M.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A. Multi-element determination in chocolate bars by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Food Chemistry**, v. 351, p. 129285, 2021.

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

ORESTE, E. Q., OLIVEIRA, R. M., NUNES, A. M., VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. **Microchemical Journa**l, v. 109, p. 5-9, 2013a.

ORESTE, E. Q.; DE SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; BONEMANN, D. H.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of Cd, Cr and Pb in ceramic tableware by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Letters**, v. 53, p. 3, 2020.

ORESTE, E. Q.; OLIVEIRA, R. M.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Sample preparation methods for determination of Cd, Pb and Sn in meat samples by GFAAS: use of acid digestion associated with a cold finger apparatus versus solubilization methods. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1590-1595, 2013b.

ORESTE, E. Q.; SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; LISBOA, M. T.; CIDADE, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of Ca, Cu, Fe, K, and Na in milk powder samples by ICP-OES. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 777-784, 2016.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; VARGAS JUNIOR, F. M.; FERNANDES, A. R. M.; SENO, L. O.; RICARDO, H. A.; ROSSI, F. C.; ORRICO JUNIOR, M. A. P. Critérios para abate do animal e a qualidade da carne. **Revista Agrarian**, v. 5, p. 433-443, 2012.

PAIVA, E. L.; MEDEIROS, C.; FIORAVANTI, M. I. A.; MILANI, R. F.; MORGANO, M. A.; PALLONE, J. A. L.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. Aluminum in infant foods: Total

content, effect of in vitro digestion on bioaccessible fraction and preliminary exposure assessment. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 90, p. 103493, 2020.

PANEA, B.; RIPOLL G.; JOY M. Caracterización y agrupamiento de algunos tipos comerciales de cordero por su perfil sensorial. **ITEA – Información Técnica Económica Agraria**, v. 109, p. 303-318, 2013.

PANNIER, L.; PETHICK, D.W.; BOYCE, M.D.; BALL, A.J.; JACOB, R.H.; GARDNER, G.E. Associations of genetic and non-genetic factors with concentrations of iron and zinc in the longissimus muscle of lamb. **Meat Science**, v. 96, p. 1111-1119, 2014.

PAREJA-CARRERA, J.; MARTINEZ-HARO, M.; MATEO, R.; RODRÍGUEZ-ESTIVAL, J. Effect of mineral supplementation on lead bioavailability and toxicity biomarkers in sheep exposed to mining pollution. **Environmental Research**, v. 196, p. 110364, 2021.

PEREIRA FILHO, E. R. **Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados.** São Carlos: Editora UFSCar, 2015, 88p.

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

PEREIRA, C. C. **Avaliação do sistema aberto com refluxo no preparo das amostras de suco e erva-mate e análise por técnicas de espectrometria atômica.** 2014. 146 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2014.

PEREIRA, C. C.; SILVA, E. N.; SOUZA, A. O.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; CADORE, S. Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 73-78, 2018.

PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; CIDADE, M. J. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. V. Acid decomposition of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using a reflux system for the evaluation of Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn contents by atomic spectrometric techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 685-693, 2016.

PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of the use of a reflux system for sample preparation of processed fruit juices and subsequent determination of Cr, Cu, K, Mg, Na, Pb and Zn by atomic spectrometry techniques. **Food Chemistry**, v. 240, p. 959-964, 2018.

PEREIRA, V.; MIRANDA, M.; SIERRA, J.; BENEDITO, J. L.; ALONSO, M. L. Toxic and essential trace element concentrations in different tissues of extensively reared sheep in northern Spain. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 96. p. 103709, 2021.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, M.; DIRCHWOLF, P. M.; RODRÍGUEZ-NEGRÍN, Z.; PELLERANO, R. G. Assessing mineral profiles for rice flour fraud detection by principal component analysis based data fusion. **Food Chemistry**, v. 339, p. 128125, 2021.

PINHEIRO, R. S. B.; JORGE, A. M.; FRANCISCO, C. L.; ANDRADE, E. N. Chemical composition and yield of in natura and roast sheep meat. **Science and Technology of Foods**, v. 28, p. 154-157, 2008.

PINTO, A. M. T. P. **Desenvolvimento de método analítico para determinação de metais em tecidos de aves por técnicas de espectrometria atômica.** 2019. 124f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

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

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

POLLI, V. A.; COSTA, P. T.; GARCIA, J. A. B.; RESTLE, J.; DUTRA, M. M. M.; VAZ, R. Z. Estresse térmico e qualidade da carne ovina – uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, p. e595997578, 2020.

PONNAMPALAM, E. N.; HOLMAN, B. W. B.; SCOLLAN, N. D. Sheep: Meat. **Encyclopedia of Food and Health**, v. 1, p. 750-757, 2016.

PRACHE, S.; SCHEURS, N.; GUILLIER, L. Review: Factors affecting sheep carcass and meat quality attributes. **The International Journal of Animal Biosciences,** v. 16, p. 100330, 2022.

RICARDO, H. A.; TAVARES, S. A.; SURGE, C. A.; ANDRADE, E. N.; ROÇA, R. O. Influência do tipo ovino comercial sobre a produção de cortes e características qualitativas da carne. **Nutrição Animal**, v. 4, p. 60-76, 2012.

RIVAROLI, D. C.; GUERRERO, A.; VALERO, M. M.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C. E.; CAMPO, M. M.; SAÑUDO, C.; JORGE, A. M.; PRADO, I. N. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. **Meat Science**, v. 121, p. 278-284, 2016.

ROCHA, A. A.; COSTA, L. G. B. A.; DUYCK, C.; BARBOSA, J. R.; LORENÇATTO, R. Aerosol dilution as a new sample introduction strategy for microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1140, p. 41-49, 2020.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos.** Campinas, SP: editora: Cárita, 2014, 3. ed.

ROSA, F. C.; BRESAN, M. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; VIEIRA, J. O.; FARIA, P. B.; SAVIAN, T. V. Effect of cooking methods on carcass chemical composition and cholesterol of poultry breast and thigh meat. **Revista Ciência Agrotécnica**, v. 30, p. 707-714, 2006.

ROSA, M. B.; ORESTE, E. Q.; BONEMANN, D. H.; RODRIGUES, A. A.; VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M. Evaluation of the use of a reflux system for sample preparation of xanthan gum and subsequent determination of Ca, Cu, K, Mg, Na and Zn by atomic spectrometry techniques. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, p. 919-924, 2016.

RUSSAK, A.; SIVAN, O.; YECHIELI, Y. Trace elements (Li, B, Mn and Ba) as sensitive indicators for salinization and freshening events in coastal aquifers. **Chemical Geology**, v. 441, p. 35-46, 2016.

SÁ, I. P.; HIGUERA, J. M.; COSTA, V. C.; COSTA, J. A. S.; SILVA, C. M. P.; NOGUEIRA, A. R. A. Determination of Trace Elements in Meat and Fish Samples by MIP OES Using Solid-Phase Extraction. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 238-248, 2020.

SAEED, O. A.; SAZILI, A. Q.; AKIT, H.; EBRAHIMI, M.; ALIMON, A. R.; SAMSUDIN, A. A. Effects of corn supplementation on meat quality and fatty acid composition of Dorper lambs fed PKC-urea treated rice straw. **BMC Veterinary Research**, v. 15, p. 9-17, 2019.

SAEYS, W.; NGUYEN DO TRONG, N.; VAN BEERS, R.; NICOLAÏ, B.M. Multivariate calibration of spectroscopic sensors for postharvest quality evaluation: A review. **Postharvest Biology Technology**, v. 158, p.110981, 2019.

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

SANDOVAL JR. P.; OLIVEIRA, R. V.; XIMENES, F. H. B.; MENDES, C. Q. **Manual de criação de caprinos e ovinos**. 1 ed. Brasília: Codevasf, 2011, 142p.

SANTOS, L. L.; BORGES, G. R. Fatores que influenciam no consumo de carne ovina. **Consumer Behavior Review**, v. 3, p. 42-56, 2019.

SCHNEIDER, M.; VACARO, B. B.; CAETANO, M.; MARCELO, A. FERRÃO, M. F. Métodos de Análise Exploratória Aplicadas ao Ensino de Espectroscopia na Região do Infravermelho. **Revista Virtual de Química**, v. 10, p. 229-243, 2018.

SCUSSAT, S.; VAULOT, C.; OTT, F.; CAYOT, P.; DELMOTTE, L.; LOUPIAC, C. The impact of cooking on meat microstructure studied by low field NMR and Neutron Tomography. **Food Structure**, v. 14, p. 36-45, 2017.

SENAR. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Ovinocultura: criação e manejo de ovinos de corte**. Brasília: Senar, 2019, 92p.

SILVA, F. L. F.; LIMA, J. P. S.; MELO, L. S.; SILVA, Y. S. M.; GOUVEIA, S. T.; LOPES, G. S.; MATOS, W. O. Comparison between boiling and vacuum cooking (sous-vide) in the bioaccessibility of minerals in bovine liver samples. **Food Research International**, v. 100, p. 566-571, 2017.

SILVA, F. N.; TEIXEIRA, D. S.; PAIVA, O.; ZIOTO, P.; MARCHIORO, S.; SAICK, K. W.; ULIANA, M. P.; LAIGNIER, E. P.; LOOS, R. Riscos Relacionados á intoxicação por alumínio. **Infarma**, v. 24, p. 120-125, 2012.

SILVA, S. A.; BONEMANN, D. H.; SILVA, J. S.; TIMM, J. G.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Determinação de metais em peixes e camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) do estuário da Lagoa dos Patos (Pelotas-RS, Brasil) por MIP OES. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v. 22, p. e2018049, 2019.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002, 836p.

SOBRAL, M. M. C.; CUNHA, S. C.; FARIA, M. A.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Domestic Cooking of Muscle Foods: Impact on Composition of Nutrients and Contaminants. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety***,* v.17, p. 309-333, 2018.

SU, Y.; ZHANG, M.; ZHANG, W.; ADHIKARI, B.; YANG, Z. Application of novel microwave-assisted vacuum frying to reduce the oil uptake and improve the quality of potato chips. **LWT-Food Science and Technology**, v. 73, p. 490-497, 2016.

SULEMAN, R.; WANG, Z.; AADIL, R. M.; HUI, T.; HOPKINS, D. L.; ZHANG, D. Effect of cooking on the nutritive quality, sensory properties and safety of lamb meat: Current challenges and future prospects. **Meat Science**, v. 167, p. 108172, 2020.

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 4ª ed. 2011.

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

THIRUMDAS, R.; JANVE, M.; SILIVERU, K.; KOTHAKOTA A. Determination of food quality using atomic emission spectroscopy. **Evaluation Technologies for Food Quality**, v. 22, p. 175-192, 2019.

TREVISAN, A. J. B.; LIMA, D. A.; SAMPAIO, G. R.; SOARES, R. A. M.; BASTIS, D. H. M. Influence of home cooking conditions on Maillard reaction products in beef. **Food Chemistry**, v. 196, p. 161-169, 2016.

VERBEKE, W.; MARCU, A.; RUTSAERT, P.; GASPAR, R.; SEIBT, B.; FLETCHER D.; BARNETT, J. Would you eat cultured meat? Consumers' reactions and attitude formation in Belgium, Portugal and the United Kingdom. **Meat Science**, v. 102, p. 49-58, 2014.

VIEIRA, J. O.; BRESSAN, M. C.; FARIA, P. B.; FERREIRA, M. W.; FERRÃO, S. P. B.; DE SOUZA, X. R. Effect of cooking methods on the Chemical composition and cholesterol of the breast in different chickens strains. **Science and Technology**, v. 31, p. 164-170, 2007.

VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; KEMPINSKI, E. M. B. C.; MONTESCHIO, J. O.; SARY, C.; RAMOS, T. R.; CAMPO, M. M.; PRADO, I. N. Consumer profile and acceptability of cooked beef steaks with edible and active coating containing oregano and rosemary essential oils. **Meat Science**, v. 143, p. 153-158, 2018.

WANG, Q.; LIU, H.; ZHAO, S.; QIE, M.; BAI, Y.; ZHANG, J.; GUO, J.; ZHAO, Y. Discrimination of mutton from different sources (regions, feeding patterns and species) by mineral elements in Inner Mongolia, China. **Meat Science**, v. 174, p. 108415, 2021.

WANG, X.; ZHANG, Y.; GENG, Z.; LIU, Y.; GUO, L.; XIAO, G. Spatial analysis of heavy metals in meat products in China during 2015–2017. **Food Control**, v. 104, p. 174-180, 2019.

WATKINS, P. J.; FRANK, D.; SINGH, T. K.; YOUNG, O. A.; WARNER, R. D. Sheep meat Flavor and the Effect of Different Feeding Systems: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3561-3579, 2013.

WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J. R. Palladium nitrate–magnesium nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5. Performance for the determination of 21 elements. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, p. 1257-1271, 1992.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3nd edition, Wileyvch: Germany, 1999, 995p.

WINTER, W.E., BAZYDLO, L.A., HARRIS, N.S. The molecular biology of human iron metabolism. **Laboratory Medicine**, v. 45, p. 92-102, 2014.

WOLF, M. **Modificação das propriedades físico-químicas de lombo suíno (*M. longissimus dorsi*) durante o assamento em forno com temperatura controlada.** 2022. 140 f. Tese (Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2022.

ZEN, S.; SANTOS, M. C.; MONTEIRO, C. M. Evolução da caprino e ovinocultura. **Boletim Ativos da Pecuária de Caprino e Ovinocultura**, v. 9, p. 1-3, 2014.

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