Ministério da Educação Universidade Federal de Pelotas Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos Curso de Bacharelado em Química



Trabalho de Conclusão de Curso

Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Avaliação Elementar de Carnes Vegetarianas por MIP OES

Kaiane de Quevedo Ribeiro

Pelotas, 2022.

Kaiane de Quevedo Ribeiro

Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Avaliação Elementar de Carnes Vegetarianas por MIP OES

> Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Kaiane de Quevedo Ribeiro

Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Avaliação Elementar de Carnes Vegetarianas por MIP OES

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para a obtenção do grau de Bacharel em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 28/11/2022.

Banca examinadora:

0

Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro (Orientador) Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

manona Q. Viere

Profa. Dra. Mariana Antunes Vieira Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

William Bachett

Prof. Dr. Wiliam Boschetti (Convidado) Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Jenize e Marcio, por todo amor, auxílio e por serem meu porto seguro em todos esses anos de graduação. Por todo o incentivo para nunca desistir dos meus sonhos mesmo com as dificuldades que encontramos pela frente.

Ao meu irmão, por sempre perguntar como foi meu dia e ser meu ouvinte tanto para bons acontecimentos quanto para reclamações. Por todos os dias que me ajudou a ver as coisas pelo lado bom e tentou me alegrar. Desculpinhas pelas brigas de madrugada!

Ao meu orientador Prof. Dr. Anderson pela oportunidade de realização deste trabalho e por todo o conhecimento compartilhado.

Aos colegas e amigos do LabMeQui, por toda a ajuda e por me tratarem tão bem.

Á Jéssica, por toda a atenção, ajuda e por aguentar o meu desespero nesses últimos meses conturbados. Por toda a paciência em me explicar tudo nos mínimos detalhes e pelas brincadeiras.

Ao Charlie e a Daísa que correram contra o tempo comigo. Por toda a paciência e pela ajuda para a realização deste trabalho, muito obrigada por todo o conhecimento compartilhado.

A Yasmin que se tornou a melhor amiga que eu poderia ter e que aguentou minhas alegrias e minhas tristezas durante toda a graduação e por todos esses anos em que esteve na minha vida.

Aos meus amigos que fiz na universidade e os que mantive fora dela. Obrigada pelas risadas e por todos os outros momentos bons que me fizeram mais feliz.

A Universidade Federal de Pelotas e aos órgãos de fomento pelo suporte financeiro.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e para minha formação acadêmica, muito obrigada!

Resumo

RIBEIRO, Kaiane de Quevedo. **Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Avaliação Elementar de Carnes Vegetarianas por MIP OES.** Trabalho de Conclusão de Curso - Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

O conhecimento nutricional das carnes convencionas já é estabelecido, mas carnes vegetais ainda carecem de maiores estudos a respeito. Os minerais são importantes na dieta humana e em alimentos de origem vegetal, muitas vezes estão presentes em formas químicas ou ligados a compostos que tendem a influenciar na sua absorção e funcionalidade no organismo. Para compreensão dos efeitos das diferentes formas químicas dos elementos essenciais e todas essas interações, são realizados ensaios de simulação da digestão gastrointestinal in vitro a fim de avaliar a fração bioacessível e a fração nãobioacessível de minerais em amostras de carnes vegetais. A aplicação de um planejamento de composto central auxilia na obtenção de uma condição ótima para a decomposição ácida de amostras de carnes de origem vegetal e concentração total dos elementos Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn. Para avaliar a exatidão foram realizados ensaios de recuperação de analitos utilizados materiais de referência certificados e posteriormente a determinação utilizando a técnica de MIP OES. O planejamento aplicado no método de decomposição utilizado para a amostra de hamburguer, foi possível determinar as condições ótimas para a decomposição, as quais foram: temperatura de 134 °C, tempo total de decomposição de 4 horas, molaridade de HNO3 de 6,5 mol L-¹ utilizando ácido diluído e volume de H₂O₂ de 2 mL. As recuperações médias variaram de 81 a 117% e desvio padrão relativo (RSD) foi inferior a 10% para todos os analitos, comprovando a exatidão do método. Para as concentrações totais, nas amostras cruas e cozidas, o quibe foi o que apresentou maiores concentrações e o empanado foi o que apresentou menores concentrações. Para a fração bioacessível, as amostras de empanado, hamburguer e quibe apresentaram maiores concentrações.

Palavras-chave: carne vegetal; planejamento de composto central; decomposição ácida; MIP OES.

Lista de figuras

Figura 1	Modelo esquemático do sistema de dedo frio. a: dedo frio; b:	
	tubo digestor; c: dedo frio acoplado ao tubo	
	digestor	19
Figura 2	Diagrama esquemático do sistema de refluxo com auxílio do	
	dedo frio acoplado ao tubo de decomposição. 1: entrada de	
	água; 2: saída de água; 3: encaixe de politetrafluoretileno	
	(PTFE); 4: ranhura para alívio de pressão; 5: frasco de	
	reação	
		20
Figura 3	Imagem do MIP OES com seus principais	
	componentes	25
Figura 4	Sistema de introdução de amostra para o modo	
	convencional	26
Figura 5	Planejamento Composto Central representando duas das	
	quatro variáveis	28
Figura 6	Gráfico de Pareto de Ba, Mn e Zn	41
Figura 7	Gráfico de Pareto de Fe	42
Figura 8	Gráfico de Pareto de K	42
Figura 9	Gráfico de Pareto de Mg	42
Figura 10	Gráfico de Pareto de Ni	43
Figura 11	Gráfico de Pareto de Na	43
Figura 12	Gráfico de Pareto de Si	44
Figura 13	Gráfico de Pareto de Carbono	44
Figura 14	Superfície de Resposta para o Fe	45
Figura 15	Superfície de Resposta para o K	45
Figura 16	Superfície de Resposta para o Mg (Molaridade -	
	Tempo)	46
Figura 17	Superfície de Resposta para o Mg (Volume -	
	Tempo)	47
Figura 18	Superfície de Resposta para o Na (Volume -	
	Temperatura)	48

Figura 19	Superfície	de	Resposta	para	0	Na	(N	lolaridade	_	
	Tempo)									48
Figura 20	Superfície	de	Resposta	para	0	Na	(Tei	mperatura	_	
	Tempo)									49
Figura 21	Superfície de	e Re	sposta para	a o Ni						49
Figura 22	Superfície	de	Resposta	para	0	Si	(M	lolaridade	_	
	Tempo)									50
Figura 23	Superfície	de	Resposta	par	а	0	Si	(Volume	_	
	Tempo)									51
Figura 24	Superfície	de	Resposta	par	а	0	Si	(Volume	_	
	Molaridade).									51
Figura 25	Superfície		de	Resp	osta	l	F	bara	0	
	Carbono									52

Lista de tabelas

Tabela 1	Condições operacionais para as determinações	
	multielementares utilizando o MIP OES	31
Tabela 2	Valores encontrados para o teor de umidade	37
Tabela 3	Variáveis independentes e valores encontrados	38
Tabela 4	Variáveis dependentes obtida para as decomposições ácidas	
	a amostra de hamburguer para posterior determinação de	
	elementos essenciais por MIP OES	39
Tabela 5	Parâmetros de mérito para Al, Ba, C, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg,	
	Mn, Na, Ni, Si e Zn por MIP OES em alimentos processados a	
	base de plantas	53
Tabela 6	Resultados das concentrações analíticas em materiais de	
	referência certificado	54
Tabela 7	Concentração dos analitos nas amostras de carne vegetal por	
	MIP OES após diferentes adições. Valores em mg kg ⁻¹	55
Tabela 8	Concentrações totais de Al, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si	
	e Zn em amostras de carne vegetais cruas e cozidas por MIP	
	OES. Valores em mg kg ⁻¹	58
Tabela 9	Resultados da fração bioacessível (FB) e fração não-	
	bioacessível (FNB) em amostras de carne vegetais. Valores	
	em mg kg ⁻¹	60

Lista de abreviaturas e siglas

а	Coeficiente de correlação angular						
ANOVA	Análise de variância, do inglês "Analysis of variance"						
BEC	C Concentração Equivalente de Fundo, do inglês Backgr						
	Equivalent Concentration						
Co	Ponto central						
CCRM	Valor de concentração certificado						
CPadrão	Concentração de um padrão da curva analítica						
CRM	Material de referência certificado, do inglês Certified reference						
	material						
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional, do inglês Central						
	Composite Rotational Design						
FB	Fração Bioacessível						
FNB	Fração Não-Bioacessível						
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						
IAL	Instituto Adolfo Lutz						
IBOPE	Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística						
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente						
	Acoplado, do inglês "Inductively Coupled Plasma Optical Emission						
	Spectrometry"						
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado,						
	do inglês Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry						
Branco	Intensidade do sinal de emissão do branco analítico						
Padrão	Intensidade do sinal de emissão do padrão da curva						
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia						
LD	Limite de Detecção						
LQ	Limite de Quantificação						

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por MIP OES Microondas, do inglês Microwave Induced Plasma Optical **Emission Spectrometry** Polipropileno PP PTFE Politetrafluoroetileno R² Coeficiente de correlação linear ao quadrado RSD Desvio-padrão relativo, do inglês Relative standard deviation SBR Razão entre o sinal de emissão e sinal de fundo, do inglês Signal to Background Ratio SVB Sociedade Vegetariana Brasileira TACO Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TVP Proteína Vegetal Texturizada, do inglês Textured Vegetable Protein

Sumário

1.	Introdução	13
2.	Revisão da literatura	14
2.1.	Alimentação a base de plantas: vegetarianismo	14
2.2.	Carne Vegetal	15
2.3.	Valor Nutricional	16
2.4.	Preparo de amostra	16
2.5.	Bioacessibilidade e Biodisponibilidade	21
2.6.	Técnica pra Determinação Elementar	24
2.7.	Planejamento Fatorial	27
3.	Objetivo	29
3.1.	Objetivos gerais	29
3.2.	Objetivos específicos	29
4.	Metodologia	30
4.1.	Instrumentação	30
4.2.	Materiais e Métodos	31
4.3.	Amostras	32
4.4.	Teor de Umidade	33
4.5.	Otimização multivariada do método de decomposição das amostras.	33
4.6.	Avaliação dos Parâmetros de mérito	34
4.7.	Concentração Total do Analito	35
4.8.	Cozimento das amostras	36
4.9.	Fração Bioacessível e Não-Bioacessível	36
5.	Resultados e Discussão	37
5.1.	Teor de Umidade	37
5.2.	Otimizações do método para decomposição ácida com sistema de	
	refluxo	38
5.3.	Parâmetros de Mérito	52
5.4.	Avaliação do Material de Referência Certificado	53
5.5.	Concentração total dos analitos em amostras de carne vegetal	55

5.6.	Estudo	da	bioacessibilidade	dos	elementos	por	digestão	
	gastroint	estin	al <i>in vitro</i>					59
6.	Conside	eraçõ	es Finais					64
7.	Referên	cias	Bibliográficas					65
8.	Anexos							73

1. Introdução

Com a crescente preocupação e a cobrança da população em relação à alimentação para que indústrias se posicionem e executem ações sustentáveis o setor de alimentação também tem percebido a necessidade de inovar. As carnes vegetais, vistas como alternativas mais conscientes, começaram a surgir conquistando sua visibilidade, enquanto, ao mesmo tempo, grandes marcas que vendem carne têm lançado linhas de "carnes" à base de vegetais. Dessa forma, é importante a identificação e caracterização dos principais nutrientes e proteínas em prol do consumo sustentável e do consumidor (Nóbrega, 2021).

Os análogos de carne têm se destacado nesta nova tendência do mercado alimentício, por serem uma boa fonte de proteína e sua consistência, cor, nutrição e sabor podem combinar com carnes convencionais (Ahmad, *et al.*,2022). Além disso, receitas e alimentos substitutos de carne são fabricados a décadas, utilizando alimentos como cogumelos, arroz, lentilhas, proteína de soja e glúten de trigo, os quais são tratados e aromatizados para ter aparência e sabor da carne tradicional (Joshi & Kumar, 2015). A ingestão de alimentos à base de plantas pode acarretar inúmeros benefícios relacionados a saúde do consumidor, como a diminuição dos níveis de colesterol e, assim, evitar doenças relacionadas ao coração que podem ser evitadas consideravelmente com a redução do consumo de carne vermelha. Além disso, também pode prevenir doenças como diabetes tipo 2 e o desenvolvimento de câncer colorretal, o qual tem sido associado ao consumo excessivo de carnes vermelhas não processadas, como carne suína e bovina (Ahmad, *et al.*, 2022; Hu *et al.*, 2019).

2. Revisão da literatura

2.1. Alimentação a base de plantas: vegetarianismo

Ao longo da história, o termo vegetarianismo se expandiu de forma expressiva, o qual é utilizado para se referir a uma dieta isenta de carnes e predominantemente a base de plantas. Sendo assim, com o aumento do interesse em conhecer uma dieta a base de plantas e constante preocupação com a comercialização e com os animais a disponibilização de alimentos atraentes para esse tipo específico de alimentação vem crescendo cada vez mais. Visto que, as dietas vegetarianas possuem elevado consumo de carboidratos, fibras, magnésio, potássio, folato e antioxidantes, podendo apresentar deficiências em aminoácidos e ácidos graxos essenciais, cálcio, zinco, ferro e cobalamina (Ferreira, *et al.*, 2006).

No Brasil, de acordo com a pesquisa do IBOPE encomendada pela Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB) em 2018, 14% da população se declara vegetariana e esse número cresce cada vez mais. A população adota a uma dieta isenta de produtos de origem animal por diversos motivos, como: ética, saúde, meio ambiente, cresça religiosa, como o budismo, ou por apenas não gostar de consumir qualquer tipo de carne.

No vegetarianismo há um subgrupo denominado veganismo, que consiste não somente um tipo de dieta alimentar, mas uma filosofia de vida em respeito ao meio ambiente e aos animais (Markus, 2018). O indivíduo que opta por uma alimentação vegana, não ingere qualquer tipo de produtos animais e derivados, como ovos, leite e mel. Sendo assim, é uma dieta baseada no consumo de alimentos à base de vegetais, como verduras, leguminosas, cereais, frutas, entre outros. Além disso, não utiliza roupas, sapatos, medicamentos e cosméticos com formulação à base ou que foram testadas em animais, dessa forma, não aprovam qualquer conteúdo de exploração ou sofrimento animal (Angus, 2019).

2.2. Carne vegetal

As carnes vegetais são substituintes da carne convencional, tanto para a população vegetariana como quem mantem uma dieta sem alimentos de origem animal. Seu surgimento se deu em meados do século XX, desde então, a produção para substituir a carne começou a avançar com a fabricação da proteína vegetal texturizada seca (TVP) (Ismail *et al.,* 2020). A TVP deu origem a substitutos de carne sendo fabricados contendo farelo de soja desengordurado, concentrado proteico de soja e glúten, apresentando textura fibrosa e esponjosa. Porém, sua produção permaneceu muito pequena e restrita a vegetarianos por muito tempo (Franca *et al.,* 2022).

Os ingredientes selecionados para a fabricação das carnes são atributos de qualidade das alternativas à carne, como consistência, sabor, cor, etc. As alternativas à carne têm de 50 a 80% de teor de água, proteína não texturizada de 4 a 20%, proteínas de textura vegetal de 10 a 25%, aditivos para realçar o sabor de 3 a 10%, gorduras de 0 a 15%, corantes de 0 a 5 % e agentes aglutinantes 1 a15%. Quando esses componentes ou ingredientes se combinam, eles fornecem alternativas de carne com as características sensoriais e de textura necessárias (Ahmad *et al.*, 2022).

Os análogos de carnes, geralmente, são derivados da proteína de soja porque possui características específicas desejadas e está disponível a baixo custo. Juntamente com a proteína de soja, a proteína de outras plantas oleaginosas e as proteínas produzidas por fermentação em vários substratos por microorganismos, têm sido utilizadas para a produção de alternativas à carne (Kim *et al.*, 2011).

Com a crescente preocupação da população com o impacto à grande produção de carne e tendo em vista o impacto ambiental e o cuidado com a saúde animal, a demanda por produtos que possam substituir a carne aumentou. Com base em tecnologias de fabricação nas indústrias de alimentos e visando o comprometimento com consumidores vegetarianos, os produtos de origem vegetal possuem aparência, dados nutricionais, aroma e sabor muito semelhantes aos produtos cárneos autênticos, como carne desfiada inteira, tiras de frango com fibras proteicas estruturadas, carne moída, empanados, quibe e hamburgueres (He *et al.,* 2020).

2.3. Valor nutricional

De acordo com a literatura os produtos substitutos da carne têm menor valor energético, teor de gordura total, gordura saturada e níveis de colesterol em comparação com os produtos de origem animal. Dessa forma, diminui o risco de obesidade e doenças cardiovasculares por possuir alta fibra dietética, o que também é útil para melhorar a saúde gastrointestinal (Ahmad *et al.*, 2022).

As proteínas da carne têm alto valor biológico e para melhorar sua funcionalidade e promover a saúde do consumidor, alguns análogos de carne juntamente com quantidades significativas de minerais importantes como ferro, zinco e vitaminas do complexo B, o que resulta em um valor nutricional melhor comparando aos produtos à base de carne animal (Ishaq *et al.,* 2022).

Os minerais, os quais também são chamados de elementos essenciais, são substâncias inorgânicas necessárias à saúde por desempenhar diversas funções importantes no corpo humano, classificados como nutrientes. Dessa forma, devido a incapacidade de serem sintetizados pelo organismo humano, há a necessidade de serem fornecidos pela alimentação através da ingestão de alimentos de origem vegetal e animal. Em alimentos originados de vegetais, muitas vezes estão presentes em formas químicas que possuem diferentes potenciais de absorção pelo organismo, possuindo macronutrientes como cálcio, ferro, zinco e diversas vitaminas (Nutrition, 2008).

2.4. Preparo de amostra

Para a realização de uma análise química, a amostra precisa ser submetida a um preparo de amostra adequado, visando (Krug, 2010).

O procedimento de preparo da amostra deve apresentar baixo consumo de reagentes, simplicidade, além disso, possuir mínima contaminação e baixa geração de resíduos (Niu *et al.*, 2018). A escolha do procedimento de tratamento da amostra, a qual irá para análise, depende da natureza da amostra, dos analitos a serem determinados e sua concentração, da técnica escolhida para as determinações e da precisão e exatidão desejadas. Dentre todas as etapas da sequência analítica, esta é a mais crítica e, em geral, é onde se cometem mais erros, que se consome mais tempo, mais resíduo e possui um maior custo (Krug & Rocha, 2016). Geralmente, para análises elementares é necessário um procedimento para liberar os analitos da matriz, seja biológica ou orgânica, levando à completa oxidação da matriz, que é convertida em COx, H₂O, NOx e N₂, enquanto outros elementos são convertidos em espécies inorgânicas simples (Korn *et al.*, 2008; Krug, 2010).

Os métodos de decomposição frequentemente utilizados no preparo de amostras para liberar os analitos da matriz orgânica, consistem na quebra das ligações químicas, que podem ocorrer por via seca e por via úmida, apresentando um maior destaque para o segundo método, já que possibilita a diminuição dos inconvenientes da via seca, como perda de elementos por volatilização, tempo elevado de preparo e contaminações oriunda de falta de reagentes ultra puros (Hoenig *et al.,* 1998; Krug, 2010; Nogueira, 2003).

A decomposição por via úmida consiste no rompimento das ligações químicas através da adição de reagentes e uma fonte de energia. Os reagentes que podem ser utilizados no método por via úmida são geralmente ácidos ou a mistura deles, como HNO₃, HCl, H₂SO₄, HClO₄, entre outros (Mitra, 2003; Oliveira, 2003; Krug & Rocha, 2016).

O HNO₃ é frequentemente utilizado, pois se mostra eficiente no processo de oxidação da matéria orgânica e apresenta diversas vantagens, como o fácil manuseio, a sua obtenção que pode possuir um alto grau de pureza. Dessa forma, é menos reativo que o ácido perclórico, por exemplo, e as perdas por volatilização devido a alta temperatura são reduzidas, além de ser um reagente químico com baixo nível de interferências na grande maioria das técnicas analíticas. Além disso, em sistemas abertos o seu potencial de oxidação fica restrito ao da temperatura máxima de seu azeótropo, que é de aproximadamente 120 °C. Mas em sistemas fechados é possível explorar o potencial máximo de oxidação do ácido nítrico, permitindo alcançar temperaturas maiores do que 120 °C (Mitra, 2003; Krug, 2010).

Os sistemas de decomposição utilizados para o preparo de amostras são classificados como abertos ou fechados e podem dispor de fontes de energia: térmica (bloco digestor, chapa de aquecimento, entre outros), radiação microondas, ondas ultrassônicas, entre outras (Oliveira, 2003; Korn et al., 2008; Krug & Rocha, 2016). O método utilizando sistema aberto para decomposição da matriz é considerado, geralmente, simples e de baixo custo. Porém, apresenta algumas desvantagens relacionadas à eficiência de decomposição, tais como, elevado teor de carbono residual e a possibilidade risco de contaminação pelo ambiente, perdas de elementos e de ácido por volatilização, necessitando assim sua reposição ao longo do preparo da amostra, o que reflete em um aumento no sinal dos brancos e tempo prolongado de decomposição (Nogueira, 2003; Krug & Rocha, 2016).

Com as desvantagens citadas no método acima, tem se optado por sistemas fechados para o preparo de amostras, principalmente para a minimização de perdas de elementos voláteis. Mas a possibilidade de explosões com rompimento dos frascos durante a decomposição e/ou no momento de abrir o sistema, tendo como principal desvantagem a quantidade de massa da amostra e seu alto custo. Além disso, o sistema fechado para a decomposição das amostras possui equipamentos mais sofisticados, com controle de temperatura e pressão, que permitem análises de forma mais segura, mas que elevam consideravelmente os custos das mesmas (Oliveira, 2003; Krug & Rocha, 2016).

A decomposição assistida por radiação micro-ondas é bastante empregada, apresentando vantagens em relação ao aquecimento convencional, pois oferece maior velocidade no preparo da amostra, diminuição do risco de contaminação e perdas por volatilização (Costa *et al.*, 2009; Matusiewicz & Stanisz, 2010; Maher *et al.*, 2016). No entanto, os equipamentos para este tipo de decomposição ainda possuem algumas desvantagens, como a necessidade do uso de pequenas quantidades de amostra, a fim de evitar a elevação da pressão interna e levar a explosões dos frascos no interior do forno micro-ondas, como citado anteriormente e o alto custo, tanto para aquisição quanto para manutenção, o que pode ser uma desvantagem para laboratórios que fazem análise de rotina e/ou pesquisa (Korn *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2013; Krug & Rocha, 2016).

Sendo assim, devido à necessidade de realizar análises eficientes e que sejam acessíveis aos laboratórios, a busca para ampliar o uso de métodos já são conhecidos na literatura, como o sistema de decomposição ácida com refluxo (Rosa *et al.*, 2016; Diniz *et al.*, 2017; Alves *et al.*, 2018; Pinto *et al.*, 2019). Este

método tem se destacado, como uma boa alternativa frente aos sistemas fechados, devido à eficiência dos resultados obtidos, por possuir um baixo custo para aquisição e manutenção e evitar perdas de elementos e reagentes por volatilização.

A utilização de condensadores convencionais para o preparo das amostras foi relatada pela primeira vez em um artigo de revisão (Tölg, 1972). Em 2013, Ferreira e colaboradores, publicaram um novo sistema para ser utilizado sobre os tubos digestores, em bloco digestor convencional, chamado de "dedo frio", conforme mostrado na Figura 1.



Figura 1 - Modelo esquemático do sistema de dedo frio. a: dedo frio; b: tubo digestor; c: dedo frio acoplado ao tubo digestor.

Fonte: Adaptado de Ferreira et al., 2013.

Na parte superior do sistema de dedo frio é colocado água, a fim de manter a superfície fria, causando a condensação dos elementos voláteis e dos reagentes empregados no meio reacional, evitando a perda por evaporação. A adição de reagentes durante a decomposição não é necessária, consequentemente, menos reagentes são consumidos e o risco de contaminação é menor. Porém, o sistema apresentava algumas desvantagens, no qual não permite o refluxo de água, fazendo com que ao longo do tempo a

água não estivesse na temperatura correta o suficiente para o processo de condensação, além do sistema de refluxo ser colocados diretamente no tubo digestor, não apresentando um alívio de pressão.

Dessa forma, Oreste e colaboradores, em 2013, desenvolveram um novo sistema de refluxo, com uma circulação contínua de água, aumentando o resfriamento da superfície e a condensação dos reagentes. Esse sistema permite acoplar um tubo de vidro com recirculação de água, a qual é mantida a 15 °C por um banho termostatizado, permitindo assim, o uso de temperaturas maiores para as decomposições. Além disso, foi desenvolvido um encaixe de politetrafluoretileno (PTFE), com uma ranhura lateral para o alívio da pressão, diminuindo assim, a contaminação pelo ambiente, como pode ser observado na Figura 2.



Figura 2 - Diagrama esquemático do sistema de refluxo com auxílio do dedo frio acoplado ao tubo de decomposição. 1: entrada de água; 2: saída de água; 3: encaixe de politetrafluoretileno (PTFE); 4: ranhura para alívio de pressão; 5: frasco de reação. Fonte: Adaptado de Oreste *et al.*, 2013.

O sistema com as modificações propostas foi utilizado por Oreste e colaboradores, em 2013, para a determinação de Hg em amostras biológicas, em razão da sua eficiência ser aferida ao quantificar elementos voláteis, os quais não são quantificados quando se utiliza métodos de preparo de amostra em

sistema aberto. (Oreste et al., 2013; Da Silva et al., 2019; Bonemann et al., 2021).

Posteriormente o sistema mostrou-se eficiente para vários tipos de matrizes, como: goma xantana (Souza *et al.*, 2015), leite em pó (Oreste *et al.*, 2016), arroz (Oliveira *et al.*, 2016), erva mate (Pereira *et al.*, 2016), requeijão (Diniz *et al.*, 2017), entre outros.

2.5. Bioacessibilidade e biodisponibilidade

A química analítica vem aprimorando novos métodos para a determinação da concentração dos elementos em alimentos. Porém, essa informação já não é tão atrativa para se conhecer o total potencial nutricional dos alimentos, sendo assim é necessário o uso de estudos mais específicos sobre a disponibilidade dos minerais após passarem pelo sistema digestivo. (Minekus *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2019).

Para determinar se as concentrações dos analitos estão em níveis essenciais ou com potencial de toxicidade, é necessário avaliar como o alimento se comporta 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).

Estudos de bioacessibilidade e biodisponibilidade vêm sendo desenvolvidos, a fim de permitir uma melhor avaliação dessa interação dos nutrientes presentes nos alimentos com o sistema gastrointestinal. Os estudos da fração bioacessível referem-se à quantidade do elemento que é liberado de sua matriz no trato gastrointestinal, tornando-se disponível para a efetiva absorção intestinal. Já a fração biodisponível refere-se ao teor do composto ou do elemento que é absorvido pelo organismo humano a partir do trato gastrointestinal e está disponível para ser utilizado nas funções fisiológicas (Do Nascimento da Silva *et al.*, 2013; Minekus *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2018).

Os experimentos para avaliação da interação dos alimentos com o trato gastrointestinal podem ser feitos de duas formas: *in vivo* ou *in vitro*, para assim, determinar as frações bioacessível e biodisponível.

Os testes *in vivo*, geralmente, são feitos utilizando cobaias humanas ou animais, os quais possuem o sistema digestivo semelhante ao do ser humano

como: macacos, ratos ou coelhos. Para a avaliação, os estudos são realizados por balanço de massa, subtraindo-se a quantidade desse elemento da quantidade ingerida, ou monitorando a concentração do elemento de interesse no plasma sanguíneo. No entanto, esse método apresenta várias limitações, por necessitar de um longo período de análise, são caros, invasivos, dependem de fatores fisiológicos intrínsecos de cada espécie e devem assegurar o bem-estar das cobaias através de diversas diretrizes por meio dos princípios éticos para o uso de seres vivos em estudos científicos (Souza *et al.*, 2018).

Já os testes *in vitro*, apresentam-se como uma alternativa, uma vez que apresentam menor tempo e custo. Esse método simula as condições fisiológicas e de digestão no trato gastrointestinal utilizando reagentes bioativos para o preparo das soluções digestivas, como: saliva, suco gástrico, suco duodenal e bile. Porém, para uma boa reprodutibilidade e repetibilidade deste método, é necessário reproduzir de forma idêntica ao método proposto, controlar a temperatura, pH, movimentos peristálticos e a composição química da saliva, do suco gástrico, do suco duodenal e do suco biliar. Sendo assim, é necessário compreender as funções de cada parte do sistema digestivo humano após a ingestão dos alimentos (Minekus *et al.*, 2014; Do Nascimento da Silva *et al.*, 2015; Peixoto *et al.*, 2016).

A boca é a primeira etapa do sistema digestivo e é por onde inicia o processo de trituração e o alimento é misturado aos fluídos salivares, os quais são excretados pelas glândulas parótidas, submaxilar, sublingual e entre outras glândulas menores. A saliva apresenta pH médio de 6,7, é rica em mucina, que tem função de lubrificação, e α -amilase, a qual tem a função de degradar o amido em maltose ou a quebra da celulose em frutas e vegetais. O bolo alimentar, posteriormente, passa pelo esôfago por meio de movimentos peristálticos até chegar ao estômago, onde ocorre a segunda etapa do processo (Versantvoort *et al.*, 2005; Minekus *et al.*, 2014).

O estômago, é a segunda etapa do processo, a qual tem como função armazenar temporariamente o alimento e o liberar de forma lenta para o duodeno. Além disso, apresenta uma elevada acidez devido à presença de HCI, o qual é utilizado para eliminar as bactérias e desnaturar as proteínas, convertendo o pepsinogênio em pepsina, que atua na degradação de proteínas gerando aminoácidos, oligopeptídios e polipeptídios. O pH gástrico, no jejum, é de 1,5 a 2, podendo subir temporariamente para pH de 3 a 7, logo após as refeições. O esvaziamento gástrico é determinado por três fatores: volume da refeição, pressão osmótica e conteúdo calórico. A taxa de liberação para o duodeno depende do alimento. Gorduras, carboidratos e proteínas, apresentam uma taxa de liberação de 2 kcal min⁻¹, variando o tempo de 60 a 227 min. As refeições líquidas, apresentam um tempo de esvaziamento variando de 10 a 60 min. Sendo assim, é nesta etapa, que ocorre a mistura do alimento com as secreções gástricas para produzir o quimo (Versantvoort *et al.*, 2005; Minekus *et al.*, 2014).

Após o tempo de residência no estômago, o quimo entra no intestino delgado, dessa forma, a quebra das moléculas é completada, pois ocorre a liberação dos fluídos pancreáticos, da bile e o entérico. Os fluídos pancreáticos contêm tripsinogênio, quimotripsinogênio, procarboxipeptidases, pro-elastases, amilase, ribonuclease e desoxirribonuclease que são responsáveis pela finalização da digestão, além de conter bicarbonato (HCO₃-), o qual atua na neutralização da acidez do quimo. A bile é uma mistura complexa de água, bicarbonato de sódio (NaHCO₃), sais biliares, bilirrubina, colesterol, entre outros, que auxiliam na digestão da gordura. O suco entérico, é uma secreção intestinal volumosa (3L/dia) que contém, principalmente, NaCl e poucas enzimas, como sacarase, lactase, maltase e nucleotidases (Versantvoort *et al.*, 2005; Minekus *et al.*, 2014).

Ao final da digestão gastrointestinal, são formados dois produtos, o quilo e o bolo fecal. O quilo, contêm os nutrientes que atravessa a parede do intestino e vão para a corrente sanguínea e, assim, os componentes são distribuídos para todas as células do corpo. O bolo fecal, é o que será excretado e contêm todo o resíduo que não foi absorvido pelo organismo humano. Dessa forma, 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, um dos fatores limitantes é a composição do alimento, a qual pode dificultar ou facilitar a liberação dos elementos, influenciando a sua bioacessibilidade (Minekus *et al.*, 2014; Do Nascimento da Silva *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2018).

Estudos de bioacessibilidade em amostras de carnes vegetais são importantes, uma vez que, seu consumo tende a aumentar cada vez mais na população vegetariana. Porém, não há relatos na literatura avaliando se o consumo deste tipo de alimento fornece elementos essenciais ou potencialmente tóxicos em quantidades significativas que possam nutrir ou prejudicar o organismo, respectivamente, ao longo da ingestão. Dessa forma, é necessário o uso de técnicas analíticas sensíveis para a determinação da fração total e bioacessível.

2.6. Técnicas para determinação elementar

Para definir a melhor técnica analítica para uma análise, é importante entender não só a aplicação, mas também os prós e contras de cada técnica instrumental. Sensibilidade, melhor detecção e precisão são parâmetros importantes a serem considerados, já que a concentração do elemento presente na amostra é um fator limitante para a escolha da técnica (Krug & Rocha, 2016; Demattê *et al.,* 2019).

São encontradas, na literatura, diferentes técnicas para determinação elementar, tais como a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) ou em forno de grafite (GF AAS) ou de emissão atômica em chama (F AES); espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Skoog, 2002; Amorim *et al.*, 2008; Holler *et al.*, 2009).

Atualmente, as técnicas multielementar vêm ganhando cada vez mais visibilidade, devido à possibilidade de se obter um maior número de resultados em um intervalo de tempo menor, quando comparadas às técnicas monoelementares. A utilização de plasma como fonte de atomização, permite, em alguns casos, apresentar maior sensibilidade e menores limites de detecção (LD) (Nelson *et al.,* 2015; Lima *et al.,* 2016).

Embora uma técnica multielementar, como o ICP OES, seja muito atrativa devido à disponibilidade de várias linhas espectrais intensas para maioria dos elementos e a sua maior energia para atomização, a necessidade de utilizar argônio para formação e manutenção do plasma, atribui um custo elevado a essa técnica, devido ao elevado consumo desse gás (Holler, 2009; Lima *et al.*, 2016).

Dentre as técnicas que utilizam plasma, as quais possuem um alto custo, a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Microondas (MIP OES), tem sido considerada uma boa alternativa apresentando parâmetros de mérito próximos à técnica de ICP OES, mas com a vantagem de utilizar para manutenção do plasma, gás nitrogênio, fornecido através de um gerador de nitrogênio, proveniente do ar atmosférico, o que reduz drasticamente o custo de operação em comparação com qualquer outra técnica de espectrometria atômica que utiliza plasma. (Nelson *et al.,* 2015; Agilent Technologies, 2016b).

Para a formação do plasma é liberado um fluxo momentâneo de gás argônio e é gerado um campo magnético para excitação do gás. Assim que entra em operação, o gás argônio é substituído pelo gás nitrogênio, sendo mantido assim por todo tempo de funcionamento. O argônio é utilizado somente na ignição para gerar energia suficiente para ionizar os átomos de nitrogênio (Karlsson *et al.*, 2015; Agilent Technologies, 2016b).

Na Figura 3 está representado o MIP OES, ele é constituído basicamente de um sistema de introdução de amostras, um gerador de micro-ondas como fonte de excitação, um plasma, um sistema óptico. Além disso, possui um computador que serve para controlar o instrumento e para a aquisição dos resultados (Agilent Technologies, 2016b).



Figura 3 - Imagem do MIP OES com seus principais componentes. Fonte: Agilent Technologies, 2016.

O MIP OES funciona da seguinte maneira: O sistema de introdução de amostra consiste em uma bomba peristáltica, que leva a solução até o nebulizador, local em que ocorrerá a conversão do líquido em aerossol. O plasma emite uma radiação característica do nitrogênio e dos elementos que compõem a amostra. A radiação que é emitida pelo plasma é dirigida até um detector de dispositivo de carga acoplada de baixo ruído e de amplo alcance, que mede simultaneamente os espectros e o sinal de fundo garantindo precisão e melhorando os limites de detecção (Agilent Technologies, 2016).

O equipamento foi desenvolvido pela empresa Agilent e possui diferentes sistemas de introdução da amostra, neste trabalho foi utilizado o modo convencional (Figura 4), o qual consiste em uma bomba peristáltica, que 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 e introduzidas por meio de um gás de arraste diretamente para a região do plasma (Jankowski & Reszke, 2010; Agilent Technologies, 2016).





Em termos de sensibilidade, a técnica do MIP OES pode ser considerada superior ao F AAS para muitos elementos, sendo também uma alternativa ao ICP OES em várias aplicações.

O MIP OES possui como vantagens a redução do tempo de análise, baixo consumo de reagentes e amostras, e por ser economicamente mais viável em comparação as outras técnicas que utilizam o plasma de argônio. Isso se deve ao fato de o plasma ser mantido com nitrogênio o qual é convertido por meio de um gerador de nitrogênio acoplado ao MIP OES a partir do ar atmosférico comprimido.

2.7. Planejamento Fatorial

O método de preparo de amostras é uma das etapas de maior importância, sendo assim, otimizações se fazem necessárias para uma melhor performance dos analitos obtidos. A otimização de experimentos, em geral, pode ser realizada de duas maneiras: de forma univariada ou multivariada.

Na otimização univariada, são testadas uma variável por vez, porém, não são consideradas as interações entre as variáveis, além de não ser possível realizar predições para as condições que não foram testadas, sendo assim pode acarretar não deixar claro a real condição ótima (Ferreira *et al.,* 2018).

Na otimização multivariada, a utilização de mais ferramentas quimiométricas para a otimização de métodos analíticos, considerando suas vantagens como a redução do número de experimentos, resultando em menor gasto de reagentes e de tempo. Estas ferramentas baseiam-se no desenvolvimento de modelos matemáticos que permitem estabelecer a relevância e a significância estatística dos efeitos dos fatores estudados, bem como avaliar os efeitos de interação entre os mesmos (Novaes *et al.*, 2017).

O planejamento é importante para iniciar um estudo experimental e tem como objetivo aperfeiçoar o desempenho de um sistema, permitindo a obtenção de informações sobre como as variáveis influenciam o sistema, além de efeitos sinérgicos ou antagônicos das variáveis. Para que todos os testes, os experimentos precisam ser realizados de forma com que, sejam identificadas as variáveis que os influenciam experimentalmente e, posteriormente, seja feita uma combinação dessas variáveis em diferentes níveis. Sendo consideradas como variáveis independentes os fatores que influenciam no processo, e como variáveis dependentes, as respostas obtidas experimentalmente (Candioti *et al.,* 2014)

Dentre os diferentes modelos de otimização multivariada, tem-se o planejamento de composto central Rotacional (DCCR), o qual se realiza

ensaios para a determinação da condição ótima desejada, que consiste na utilização de pontos centrais e axiais, permitindo uma visão da curvatura da superfície de resposta e estimativa do efeito de ordem superior. Sendo assim, é estabelecido pela combinação de um desenho de delineamento fatorial completo em dois níveis, 2^n , sendo n o número de variáveis, e um desenho modelo estrela para os pontos axiais (2^n), além da adição de repetições no ponto central (C_o), resultando em um número de experimentos de 2^n+2n+C_o (Candioti *et al.,* 2014).

Na Figura 5, podemos observar um planejamento composto central rotacional que representa duas das quatro variáveis, onde apresenta os pontos extremos que se encontram fora do plano (-2 e +2), as variáveis dentro do plano (-1 e +1) e o ponto central (0).



Figura 5 – Planejamento Composto Central representando duas das quatro variáveis. Fonte: Autora.

Para avaliar os resultados dos planejamentos experimentais, usa-se algumas formas de representação, como o gráfico de Pareto, o qual consiste na apresentação dos efeitos das variáveis e suas interações em formas de barras verticais ou horizontais, sendo apresentados como efeitos padronizados, que são calculados a partir da razão entre o valor do efeito e seu desvio padrão obtido durante a otimização. Sendo traçada uma linha para mostrar as variáveis e suas interações as quais foram efetivamente significativas. Essa linha é correspondente ao valor crítico da distribuição de *t de Student*, que leva em consideração os graus de liberdade e o nível de confiança estabelecido (Ferreira *et al.,* 2018).

Além de analisar os resultados utilizando o gráfico de Pareto, também pode-se avaliar utilizando gráficos de superfície de resposta, a qual para quantificar e interpretar as relações entre as respostas e os efeitos dos fatores para cada elemento que se encontra no planejamento desejado e a interação entre as variáveis (Novaes *et al.*, 2017). Sendo ambas representações gráficas da análise de variância (ANOVA).

3. Objetivos

3.1. Objetivos gerais

O objetivo do presente trabalho foi o desenvolver um método analítico para avaliação elementar e bioacessível de carnes vegetarianas cruas e cozidas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver método de preparo de amostra empregando a decomposição ácida com uso do sistema de refluxo para carnes vegetais;

 Aplicação de um planejamento fatorial para a otimização de uma melhor condição para a decomposição da amostra de carne vegetal;

 Avaliar a exatidão dos métodos desenvolvidos através da análise de materiais de referência certificado e ensaios de recuperação;

- Aplicar o método de preparo de amostras desenvolvido para determinar a concentração total de Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn, nas amostras de empanado, hamburguer e quibe através da técnica de MIP OES;

- Verificar a aplicabilidade da simulação do trato gastrointestinal através do método *in vitro*, como preparo das amostras (empanado, hamburguer e quibe) cozidas e cruas, para posterior avaliação da fração bioacessível.

4. Metodologia

4.1. Instrumentação

As amostras foram trituradas utilizando um mixer de alimentos de uso doméstico modelo BMX201 (Britânia, Brasil) e pesadas utilizando uma balança analítica modelo AR 2140 (Ohaus Adventurer, Estados Unidos), com uma resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g. Para avaliar o teor de umidade das amostras, utilizou-se uma estufa de esterilização e secagem modelo Q317M (QUIMIS, Brasil) e armazenadas em um dessecador de sílica-gel.

Para o preparo das amostras por decomposição ácida, foi utilizado um bloco digestor convencional modelo MA-4025 (Marconi, Brasil) equipado com tubos de digestão. Aos tubos, foram acoplados sistemas de refluxo de vidro (dedo frio) com um encaixe de PTFE que apresenta uma ranhura lateral para alívio de pressão. O sistema possui um banho termostático com temperatura controlada de 15 °C, mantida por uma unidade de refrigeração modelo MA083 (Marconi, Brasil).

Para a determinação de AI, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn, foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por microondas (MIP OES) modelo 4200 (Agilent Technologies, Austrália), equipado com uma bomba peristáltica a qual possui uma tubulação para aspirar a amostra (diâmetro interno de 0,38 mm) e outra para o descarte do resíduo (diâmetro interno de 1,65 mm), uma câmara de nebulização ciclônica e um nebulizador OneNeb para introdução da amostra pelo modo convencional. 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 para o gás de plasma e 1,5 L min⁻¹ para o gás auxiliar. As leituras foram realizadas em triplicata, com velocidade da bomba peristáltica de 15 rpm, tempo de integração de 3 segundos e correção automática dos sinais de fundo por meio de subtração entre espectros do branco e das amostras. Os demais parâmetros operacionais estabelecidos pelo fabricante do equipamento estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Condições operacionais para as determinações multielementares utilizando o MIPOES.

	Comprimento de	Posição de	Vazão de
Analito	onda (nm)	visualização do	nebulização (I min ⁻¹)
		plasma (mm)	()
AI	396,152	-10	1,00
Ва	455,403	10	0,65
Cr	425,433	-10	0,95
Cu	324,754	0	0,60
Fe	371,993	0	0,75
К	766,491	10	1,00
Mg	285,213	10	0,70
Mn	403,076	0	0,85
Ni	352,454	0	0,60
Zn	213,857	0	0,55

Para a determinação da fração bioacessível, foi utilizado um medidor de pH modelo pHS-3B, pHtec, (Curitiba, Brasil), um banho Dubnoff com agitação e aquecimento a 37 °C modelo Q226M2, (QUIMIS, Brasil) e uma centrífuga de 10.000 rpm modelo 5804R (Hamburgo, Alemanha).

As amostras foram cozidas em um forno elétrico de 46 L convencional modelo 56102046 (Philco, Estados Unidos).

4.2. Materiais e reagentes

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água deionizada, obtida pelo uso de um sistema de destilação modelo MA078/5 (Marconi, Brasil), seguido de um deionizador modelo CS1800 Evolution (Permution, Brasil).

Para a decomposição das amostras, foi utilizado HNO_3 65% (v/v) (Synth, Brasil), que foi bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Brasil) e H₂O₂ 35% (v/v) (Êxodo científica, Brasil). Os digeridos foram filtrados utilizando papel filtro.

As soluções de calibração para a determinação dos analitos por MIP OES foram preparadas em meio de HNO₃ 2% (v/v) a partir da diluição de uma solução estoque multielementar número 6 para ICP (Sigma Aldrich, Alemanha) contendo 100 mg L⁻¹ de cada um dos analitos. Para determinar o teor de carbono (C), foi utilizada uma solução estoque de dextrose (Synth, Brasil) 5% (m/v) de C. O

material de referência certificado (CRM) NIST 1546 (Meat Homogenate) e o NIST 1577b (fígado bovino), produzidos pelo National Institute of Standards and Technology (NIST, USA), foi utilizado para avaliar a exatidão do método proposto para a determinação dos analitos.

Para os estudos de bioacessibilidade foram utilizados os seguintes reagentes: α- Amylase a partir de Aspergillus oryzae, Pepsina, Bile e Pancreatina 3x (Sigma, EUA); CaCl₂(H₂O)₂ (Vetec, Brasil), NaOH (Vetec,Brasil), KCl (Merck, Alemanha), NaCl (Merck, EUA), NaHCO₃ (Synth, Brasil), MgCl₂(H₂O)₆ (Sigma, EUA), (NH₄)₂CO₃ (Synth, Brasil), HCl (Qhemis, Brasil), KH₂PO₄ (Sigma-Aldrich, EUA).

Os materiais e vidrarias utilizados durante o processo foram previamente descontaminados antes do seu uso. Primeiramente, ambos foram lavados com água corrente e detergente líquido neutro. Posteriormente, foram imersos em uma solução de HNO₃ 10% (v/v), por 48 horas e após este período, foram enxaguados com água deionizada e secos em temperatura ambiente a fim de estarem aptos para serem reutilizados novamente após a secagem.

Os encaixes de PTFE utilizados no bloco digestor também foram lavados com água corrente e detergente líquido neutro, mas foram imersas em uma solução de 50% (v/v) de HNO₃. Após, foram lavados com água deionizada e secos em temperatura ambiente.

Para a descontaminação dos sistemas de refluxo de vidro (dedo frio), cada um foi submetido ao mesmo processo de aquecimento no tubo digestor contendo 5 mL de HNO₃ 65% (v/v) por 1 hora a uma temperatura de 150 °C.

4.3. Amostras

As três amostras, as quais são de hamburguer, empanado e quibe de diferentes marcas, foram adquiridos no comércio de Pelotas (RS), na forma de congelados. No laboratório, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente até seu descongelamento, em seguida foram trituradas e armazenadas em tubos de PP e armazenadas sob refrigeração a -16 °C.

Foram utilizadas até o presente momento, uma amostra de hamburguer para a realização do planejamento e além do hamburguer, utilizou-se também o empanado e o quibe para a avaliação da fração total e bioacessível.

4.4. Teor de umidade

Para a avaliação do teor de umidade foi realizado o método gravimétrico adaptado e descrito por Adolfo Lutz (IAL, 2008). Para este, foram pesados 3 gramas das diferentes amostras diretamente em béqueres previamente secos. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa a 105 °C por 4 horas e resfriadas em dessecador até atingir a temperatura ambiente. Na sequência, realizou-se a pesagem, repetindo a operação até peso constante e calculou-se o teor de umidade.

O teor de umidade foi calculado através da equação 1.

Umidade (%) =
$$\frac{100 \times N}{P}$$
 Equação 1

Onde, N é o número, em gramas, de umidade e P é a massa da amostra.

4.5. Otimização multivariada do método de decomposição das amostras

Foi escolhida uma amostra de hamburguer de uma determinada marca, a mesma foi utilizada para a avaliação dos seguintes parâmetros: temperatura (°C); tempo (min), molaridade de HNO₃ (mol L⁻¹) e volume de H₂O₂ (mL). A massa da amostra (g) foi fixada em 1,28 g, correspondendo a 500 mg de massa seca e a partir da solução com determinada molaridade de HNO₃ foi fixado o volume de 5 mL. Os parâmetros foram determinados, avaliando a eficiência das decomposições através do planejamento fatorial 2⁴, considerando 27 experimentos, divididos em 16 ensaios, 8 pontos axiais e 3 pontos centrais.

4.6. Avaliação dos parâmetros de mérito

A partir do desenvolvimento de métodos, serão avaliados neste estudo os seguintes parâmetros de mérito: limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão. Os cálculos aplicados estão de acordo com as

orientações do guia de validação do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (INMETRO, 2016).

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados utilizando as Equações 2 a 5.

$$LD = \frac{3 \times RSD_{Branco} \times BEC}{100}$$
Equação 2

$$LQ = \frac{10 \times 100 Branco \times 0.00}{100}$$
 Equação 3

$$BEC = \frac{C_{PADRÃO}}{SBR}$$
Equação 4

$$SBR = \frac{(I_{PADRÃO} - I_{BRANCO})}{I_{BRANCO}}$$
Equação 5

Sendo: RSD: 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. A exatidão do método foi avaliada através de dois materiais de referência certificados, o NIST 1546a e o NIST 1577b, os quais foram preparados utilizando o método de decomposição ácida mencionado no procedimento experimental e determinou-se a concentração de AI, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn por MIP OES. A recuperação reflete a exatidão e seu valor é calculado através da Equação 6 (Moretto, 2008).

$$R(\%) = \frac{C}{C_{CRM}} \times 100$$
 Equação 6

Onde C é a concentração média das recuperações obtidas para n repetições e Сскм é o valor de concentração certificado.

Para os analitos que não foram determinados pela análise do CRM, foram feitos ensaios de recuperação. Foram realizadas adições de diferentes

concentrações dos elementos na amostra de hamburguer e avaliou-se as recuperações. A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas (INMETRO, 2011). Seu valor é calculado através da Equação 7.

Recuperação (%) =
$$\frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$
 Equação 7

Onde C_1 é a concentração do analito na amostra fortificada, C_2 é a concentração do analito na amostra não fortificada e C_3 é a concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

4.7. Concentração Total do Analito

Para a determinação da concentração total dos analitos nas amostras de empanado de frango, hamburguer e quibe de origem vegetal, empregou-se o método de decomposição ácida em sistema de refluxo otimizado.

Para isso, pesou se 1,28 g de amostras, diretamente nos tubos de decomposição, com adição de 5,0 mL de solução de HNO₃ 6,5 ml L^{-1.} Colocouse sob aquecimento num bloco digestor com um sistema de refluxo durante 3 h à 134 °C. Após o resfriamento, adicionaram-se 2,0 mL de H₂O₂ e, em seguida, as soluções foram reaquecidas no bloco digestor por mais 1 h. Após o resfriamento, as soluções foram filtradas em papel filtro quantitativo, transferidas para frascos de PP e avolumadas a 20,0 mL , sendo preenchido com água deionizada. Todas as amostras foram decompostas em triplicata e os brancos analíticos foram preparados de forma idêntica as mesmas. As soluções foram filtradas e diluídas antes de serem analisadas por MIP OES.

4.8. Cozimento das amostras

As amostras de empanado, hambúrguer e quibe foram cozidas em um forno elétrico doméstico, dentro de um recipiente de vidro a 200°C durante 30 minutos, onde nos primeiros 15 minutos virou-se a amostra e a mesma cozinhou por mais 15 minutos.

Após seu cozimento, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente até esfriarem e foram trituradas com o auxílio de um mixer e armazenadas em tubos de PP sob refrigeração de -16 °C.

4.9. Fração Bioacessível e Não-Bioacessível

O método de digestão *in vitro* foi aplicado para estimar a fração elementar bioacessível e não-bioacessível, com base no modelo proposto na literatura por Minekus et al. (2014). Para isso, foram pesadas 3 g de amostras de empanado de frango, hamburguer e quibe cru e cozidos, separadamente em frascos de PP.

Na primeira etapa, adicionou-se 4,0 mL de simulado de saliva e 1,0 mL de CaCl₂ 7,5 mM. O pH ficou em 6,4 e a mistura foi posteriormente colocada em banho-maria com agitador térmico a 37 °C por 10 min.

Na segunda etapa, foram adicionados 9,1 mL de simulado de suco gástrico e 700 μ L de CaCl₂ 2,0 mM, e o pH da mistura foi ajustado para 3,0 com a adição de 300 μ L de HCl 1 mol L⁻¹. Os frascos foram deixados no banho-maria a 37 °C durante 2 h. Em seguida, após completar a digestão gástrica, foram acrescentados 18,5 mL de simulado de suco intestinal e 1,35 mL de CaCl₂ 9,0 mM (ajustado para pH 7), e a mistura foi mantida em banho-maria por 2 h a 37 °C.

Finalizando o processo, o hidrolisado gastrointestinal (fração solúvel) foi colocado em banho de gelo por 20 min e centrifugado a 10.000 rpm, por 10 min. Em seguida, o sobrenadante foi coletado e posteriormente analisado por MIP OES. Os brancos analíticos foram executados em paralelo para verificar a presença de analitos nos reagentes.

Antes das medidas serem lidas no MIP OES, o sobrenadante foi diluído 5 vezes para se obter no máximo 3,0% (m/v) dos sólidos totais dissolvidos, para a preservação a tocha e as demais partes do espectrômetro. A fração não bioacessível, que corresponde à ao sólido obtido por centrifugação, foi submetido à decomposição ácida com sistema de refluxo descrito anteriormente para posteriormente avaliação da exatidão da bioacessibilidade. Além disso, todo o procedimento foi realizado em triplicata.

5. Resultados e discussão
5.1. Teor de umidade

Para o controle de qualidade dos alimentos e para avaliação da ingestão de nutrientes necessária para o organismo humano, é de grande importância o conhecimento da composição centesimal dos alimentos (TACO, 2011). A umidade de um alimento corresponde à água contida no mesmo, podendo encontrar-se nas formas livre ou ligada. A maior parte da umidade presente nos alimentos corresponde à forma livre, que pode ser facilmente removida sob aquecimento. Dentro os alimentos, independentemente do método de industrialização a que tenham sido submetidos, possuem uma quantidade de água em maior ou menor proporção (Moretto, 2008).

Os valores encontrados para o teor de umidade nas amostras carnes vegetarianas estão descritas na Tabela 2.

Umidade (%)
61,07 ± 0,44 (0,7)
45,55 ± 0,29 (0,6)
41,23 ± 0,17 (0,4)

 Tabela 2 - Valores encontrados para o teor de umidade.

média ± desvio padrão (RSD)

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO), o hamburguer convencional, feito de carne animal, cru contém 63,6% de umidade, enquanto o empanado pré-cozido contém 32,0% e o quibe cru contém 74,5% de umidade. Dessa forma, observou-se que o hamburguer e o quibe convencionais, possuem um teor de umidade maior em comparação com os alimentos feitos de vegetais. Porém, o empanado possui um teor de umidade maior do que o convencional.

5.2. Otimizações do método para decomposição ácida com sistema de refluxo

Para a otimização do método foi realizado um planejamento do tipo DCCR, onde realizou-se testes a fim de se obter uma melhor condição do método proposto. Como descrito na Tabela 3, foram consideradas quatro variáveis independentes: temperatura (°C), tempo (min), molaridade HNO₃ (mol.L⁻¹) e volume de H₂O₂ (mL).

Variáveis			Níveis			
Independentes	-2	-1	0	1	2	
Temperatura (°C)	60	120	180	240	300	
Tempo (min)	90	120	150	180	210	
Mol. HNO ₃ (mol L ⁻¹)	1	4,25	7,5	10,75	14	
Volume de H₂O₂ (mL)	1	2	3	4	5	

Tabela 3 - Variáveis independentes e valores utilizados.

Dessa forma, foi gerado pelo software uma matriz com 27 ensaios, com 8 pontos axiais e 3 pontos centrais, contendo combinações distintas das variáveis mostradas na Tabela 3. Estes ensaios estão descritos na Tabela 4, bem como os resultados de emissão de sinal analítico obtidos para os elementos, os quais foram analisados utilizando a técnica de MIP OES na amostra de hamburguer, após a etapa experimental de decomposição ácida com sistema de refluxo. Os 27 ensaios foram realizados de forma aleatória.

Tabela 4 - Variáveis dependentes obtida para a decomposição ácida a amostra de hamburguer para posterior determinação de elementos essenciais por MIP OES. (continua)

Ensaios		Variáveis independentes					Variáveis dependentes							
LIISalos	Tempo	Temperatura	Molaridade	VH_2O_2	AI	Ва	Cr	Cu	Fe	к	Mg	Mn	Ni	Zn
1	120	120	4,25	2	21463,61	58057,21	169,09	34130,48	108610,67	25578919,56	19013693,89	38101,48	941,50	11037,25
2	240	120	4,25	2	13936,50	71363,53	312,28	35924,69	121628,72	23476406,76	19741426,50	38959,12	1301,86	12536,61
3	120	180	4,25	2	12134,11	51802,11	290,46	31698,92	94206,10	22304166,50	15852744,08	38848,03	835,75	13121,65
4	240	180	4,25	2	16301,98	76804,20	266,20	38493,97	118045,48	27383861,16	19244533,18	46496,01	752,99	15860,53
5	120	120	10,75	2	8218,26	50959,89	1382,92	28503,84	87770,34	12791499,40	18913096,50	36125,60	790,74	9954,87
6	240	120	10,75	2	14167,34	70077,52	175,23	34301,02	114591,09	11253247,68	19775470,22	43201,83	914,34	13824,82
7	120	180	10,75	2	15540,48	65855,22	0,00	29035,17	121654,71	11734689,75	18712959,75	15495,89	532,17	13924,71
8	240	180	10,75	2	13781,26	80224,91	427,24	38545,78	124257,64	1821873,90	16409081,50	41687,06	490,63	20166,70
9	120	120	4,25	4	13554,26	61672,07	405,31	33515,07	108877,39	12926766,00	21318147,00	44931,42	881,98	15957,27
10	240	120	4,25	4	18103,17	67964,44	786,43	34218,93	138439,30	13043201,74	22185247,68	48494,40	658,78	11963,57
11	120	180	4,25	4	14744,41	71484,53	313,49	33355,31	115994,97	26921834,12	22403420,25	41636,13	783,85	13720,03
12	240	180	4,25	4	10725,18	58690,81	217,82	36855,65	126349,77	20949196,40	16747695,50	33077,53	837,52	13508,81
13	120	120	10,75	4	12087,84	51416,24	254,01	32724,40	109365,78	19282181,56	14286391,00	39777,94	839,48	14772,75
14	240	120	10,75	4	19524,51	97141,31	633,91	44861,46	149131,38	19869721,76	14913988,00	45590,67	776,75	20848,77
15	120	180	10,75	4	11859,03	60803,28	155,31	34724,02	104782,06	14944436,20	21659764,24	40073,74	503,16	12479,76
16	240	180	10,75	4	11826,56	58757,65	337,21	33998,67	121413,48	21341724,20	15514564,50	41492,94	353,91	16972,84
17	60	150	7,5	3	18126,74	70077,56	401,25	42102,26	133072,03	20291758,90	14163685,00	50329,15	1168,22	19580,42
18	300	150	7,5	3	17219,19	56763,47	69,78	34295,39	138222,83	21482175,18	12394615,50	49282,23	482,44	19638,06

Tabela 4 - Variáveis dependentes obtida para a decomposição ácida a amostra de hamburguer para posterior determinação de elementos essenciais por MIP OES.

Fnsaios	Variáveis independentes				Variáveis dependentes									
Ensures	Tempo	Temperatura	Molaridade	VH_2O_2	AI	Ва	Cr	Cu	Fe	К	Mg	Mn	Ni	Zn
19	180	90	7,5	3	12542,17	65331,11	312,73	37203,55	124832,68	25090675,81	18459777,00	44856,23	1014,84	14920,04
20	180	210	7,5	3	12331,38	67613,94	293,78	34216,99	122418,16	21167403,93	18076415,00	35560,67	818,46	13494,30
21	180	150	1	3	10737,55	58551,24	170,11	39763,93	84539,17	9139618,94	19420372,30	45453,91	938,53	13313,11
22	180	150	14	3	10038,99	61784,07	233,28	159055,77	107873,71	9881796,30	20389072,54	39888,88	543,96	12492,32
23	180	150	7,5	1	15916,03	64265,14	315,89	34798,59	113968,35	23983980,52	18255256,00	41895,96	801,43	13093,35
24	180	150	7,5	5	15691,78	78667,83	358,58	36994,66	134251,03	23294447,82	20338612,50	39960,36	984,49	13789,08
25	180	150	7,5	3	19590,81	68071,62	566,49	40569,59	137228,15	22731678,73	15899995,50	56675,00	1018,85	21713,91
26	180	150	7,5	3	12859,77	56685,28	359,06	34963,19	108200,68	10986739,92	21616189,25	41536,77	660,92	12929,64
27	180	150	7,5	3	13948,40	59336,70	363,55	43303,47	109971,25	9648222,16	19434248,00	43102,55	936,30	14489,67

A significância dos efeitos das variáveis e das interações entre elas é possível ser observado pelos gráficos de Pareto. Em relação ao Ba, Mn e Zn é possível constatar que houve uma maior variação entre eles, sendo assim, não mostram interações significativas para nenhuma variável, como é destacado nas figuras 6.



Figura 6 – Gráfico de Pareto de Ba, Mn e Zn.

Para o Fe e o Mg (Figura 7 e 9), o tempo de decomposição apresentou efeito significativo, sendo positivo e negativo respectivamente. A molaridade apresentou efeito significativo negativo para Fe (Figura 7), K (Figura 8) e Ni (Figura 10). A temperatura apresentou comportamento negativo significativo apenas para Ni.

Para o K, houve interação significativa positiva entre as variáveis molaridade e volume de H_2O_2 . Porém o potássio apresentou efeito negativo também na variável molaridade, levando a se considerar a variável volume de H_2O_2 também em níveis baixos.







Figura 8 - Gráfico de Pareto de K.



Figura 9 - Gráfico de Pareto de Mg.

	Ni	
(3)Molaridade(L)		-2,696
(2)Temperatura(L)		-2,5145
(1)Tempo(L)	-1,45491	
2Lby3L	-1,10926	
Molaridade(Q)	-1,09467	
1Lby4L	-,947802	
2Lby4L	.8418989	
Tempo(Q)	-,598015	
(4)Volume(L)	583074	
1Lby2L	-,534425	
3Lby4L	.5312027	
1Lby3L	-,304321	
Volume(Q)	-,198545	
Temperatura(Q)	-,058631	
	p=.05	

Figura 10 - Gráfico de Pareto de Ni.

Para o Na (Figura 11), houve interação significativa negativa entre as variáveis tempo e molaridade, interação significativa positiva entre as variáveis temperatura e volume de H₂O₂ e interação significativa negativa entre as variáveis tempo e temperatura.



Figura 11 – Gráfico de Pareto de Na.

Para o Si (Figura 12), houve maiores significância na variável tempo, molaridade e volume de H₂O₂ sendo, positivo, negativa e positiva respectivamente. Onde, na variável tempo e volume ocorreu significância positiva e na molaridade ocorreu interação significativa negativa.

	Si
(1)Tempo(L)	5,134415
Molaridade(Q)	-3,07949
Volume(Q)	2,85041
(4)Volume(L)	1,51211
3Lby4L	1,278418
Temperatura(Q)	-1,02896
1Lby3L	,9760193
1Lby4L	-,875244
Tempo(Q)	,7816604
(2)Temperatura(L)	,6587153
1Lby2L	-,658501
2Lby3L	,3580241
(3)Molaridade(L)	,2889989
2Lby4L	,0808304
	p=.05

Figura 12 – Gráfico de Pareto de Si.

Por fim, foi realizado uma análise de carbono a fim de determinar a concentração de sólidos residuais. Dessa forma, para o C (Figura 13), é possível observar que houve efeitos significativos negativos para a molaridade e a temperatura.



Figura 13 - Gráfico de Pareto de Carbono.

Assim como os gráficos de Pareto, as superfícies de resposta foram construídas a partir dos percentuais de leitura dos elementos pela técnica de MIP OES após aplicação do planejamento fatorial 2⁴ e tomando-se como referência os valores determinados após a decomposição das amostras.

Para a superfície de resposta de Fe e K, foi possível observar que, assim como no gráfico de Pareto o Fe apresenta pontos ótimos em elevadas temperaturas, destacado em vermelho, e sua molaridade se mostra significativa em pontos intermediários, destacados na Figura 14. Para o K (Figura 15) apresentam pontos ótimos com uma baixa molaridade e um baixo volume de H_2O_2 .



Figura 14 – Superfície de resposta para o Fe.



Figura 15 – Superfície de resposta para o K.

Para o Mg, destaca-se duas superfícies de resposta, onde é possível observar que apresenta pontos ótimos próximos do ponto central (0) e nas variáveis dentro do plano (+1 e -1). Na Figura 16 é possível observar que para o tempo, quanto mais perto do ponto central, destacado em vermelho, melhor será a decomposição e a molaridade é dependente do tempo. Na figura 17, é possível constatar que apresenta pontos ótimos nas regiões destacadas em vermelho, as quais mostram que quanto maior o volume de H₂O₂, maior deve ser o tempo de decomposição.



Figura 16 – Superfície de resposta para o Mg (Molaridade - Tempo).



Figura 17 – Superfície de resposta para o Mg (Volume – Tempo).

Para o elemento Na, destaca-se três superfícies de resposta e, assim como nos gráficos de Pareto, é possível observar cada interação entre duas variáveis nas Figuras 18, 19 e 20. Na Figura 18 é possível observar a interação entre a variável volume e temperatura, as quais estão próximas ao ponto central, e quanto menor a temperatura, menor o volume de H₂O₂. Na Figura 19, é possível observar a interação entre a molaridade e o tempo, que nos mostra que para ter uma boa decomposição o tempo e a molaridade precisam ser altos. Já na figura 20 destaca-se a interação entre o tempo e a temperatura, onde é possível observar que quanto mais elevado for o tempo e a temperatura, melhor será a decomposição da amostra para esse elemento.



Figura 18 – Superfície de resposta para o Na (Volume – Temperatura).



Figura 19- Superfície de resposta para o Na (Molaridade - Tempo).



Figura 20 – Superfície de resposta para o Na (Temperatura – Tempo).

Na superfície de resposta para o Ni (Figura 21), é possível observar que quanto menor a temperatura, menor a molaridade para se obter as melhores condições.



Figura 21 – Superfície de resposta para o Ni.

Para o Si, destacam-se três superfícies de resposta, onde é possível observar que apresentam pontos ótimos nas regiões próximas das variáveis fora do plano (-2 e +2). Na Figura 22 é possível observar que quanto maior o tempo, melhor o tempo de decomposição e a molaridade destaca pontos ótimos quando está se aproximando do ponto central. Na Figura 23, é possível observar que quanto maior o tempo de decomposição, maior o volume de H₂O₂, os quais estão destacados em vermelho nas extremidades da superfície de resposta. Na terceira superfície de resposta para o Si destacada na Figura 24, observa-se que quanto menor a molaridade, maior o volume de H₂O₂.



Figura 22 – Superfície de resposta para o Si (Molaridade – Tempo).



Figura 23 – Superfície de resposta para o Si (Volume – Tempo).



Figura 24 – Superfície de resposta para o Si (Volume – Molaridade).

Para a avaliação dos teores de carbono residuais, observados pelo gráfico de superfície de resposta para o Carbono (Figura 25), apresenta pontos ótimos próximos ao ponto central. Dessa forma, analisando o gráfico observa-se que quanto menor a molaridade, menor a temperatura.



Figura 25 – Superfície de resposta para o Carbono.

Sendo assim, analisando todo o planejamento aplicado no método de decomposição utilizado para a amostra de hamburguer, foi possível determinar as condições ótimas para a decomposição, as quais foram: temperatura de 134 °C, tempo total de decomposição de 4 horas, molaridade de HNO₃ de 6,5 mol L⁻¹, onde utilizou-se ácido diluído e volume de H₂O₂ de 2 mL.

Para concluir o planejamento, nota-se através dos gráficos apresentado que as melhores condições experimentais são o Tempo em +1, Temperatura -1, Maioridade nível médio e o Volume de Peroxido em -1. Considerando um melhor aproveitamento para todas a variáveis.

5.3. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito obtidos para a determinação de Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn em amostra de hamburguer feito de plantas por MIP OES a partir da metodologia proposta estão apresentados na Tabela 5. Com base nos resultados obtidos, verifica-se que as curvas de calibração de todos os analitos apresentam bons coeficientes de correlação linear, com $R^2 >$ 0,99, bem como limites de detecção e sensibilidades adequadas para atender ao objetivo do trabalho. Na tabela 6 apresenta o teor de C obtido por meio da técnica de MIP OES.

Elementos	Curva analítica (mg L ⁻¹)	<i>a</i> (L mg ⁻¹)	R²	LD _(m) (mg kg ⁻¹)	LQ _(m) (mg kg ⁻¹)
AI	0,1 – 5,0	50138	0,999	0,05	0,17
Ва	0,1 – 5,0	636944	0,999	0,04	0,13
C*	0,05 – 1,0	5406	0,998	0,003	0,1
Са	0,1 – 5,0	927459	0,999	0,42	1,41
Cr	0,1 – 5,0	65396	0,999	0,02	0,05
Cu	0,1 – 5,0	218940	0,999	0,26	0,86
Fe	0,1 – 5,0	15805	0,999	0,27	0,92
K	0,1 – 5,0	65673	0,999	0,29	0,98
Mg	0,1 – 5,0	349714	0,999	0,03	0,10
Mn	0,1 – 5,0	60737	0,999	0,01	0,02
Na	0,1 – 5,0	563948	0,999	2,65	8,84
Ni	0,1 - 5,0	28348	0,999	0,03	0,11
Si	0,1 - 5,0	22573	0,999	7,32	24,41
Zn	0,1 - 5,0	25506	0,999	0,29	0,93

Tabela 5 - Parâmetros de mérito para Al, Ba, C, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn por MIP OES em amostras de alimentos processados à base de plantas.

a: coeficiente de correlação angular; R²: coeficiente correlação linear ao quadrado; LD(m): limite de detecção do método; LQ(m): limite de quantificação do método; *Concentração em %.

5.4. Análise do Material de Referência Certificado

A exatidão do método proposto para a determinação de metais em amostras de carnes vegetais foi avaliada utilizando o CRM 1546 e o CRM 1577b.. Para as análises, os dois materiais foram preparados usando o procedimento de decomposição ácida proposto e as concentrações de Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn foram determinadas, por MIP OES. Na Tabela 6 estão apresentados os resultados obtidos.

Flementos	Меа	t Homogeneat (1546a))
	Certificado (mg/kg)	Encontrado (mg/kg)	Recuperação (%)
Са	323 ± 28	345 ± 25	124
Cu	$0,6 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,1$	100
Fe	$10,1 \pm 0,7$	$11,28 \pm 0,88$	111
К	2370 ± 200	2740 ± 194	115
Mg	163 ± 11	161 ± 3	99
Na	9990 ± 716	11357 ± 421	113
Zn	18,3 ± 1,3	20 ± 0.5	111
		Bovine Liver (1577b)	
Ca	116 ± 4	97 ± 11	83
Cu	160 ± 8	165 ± 8	103
Fe	184 ± 15	193 ± 10	105
К	9940 ± 20	10845 ± 695	109
Mg	601 ± 28	556 ± 22	92
Mn	$10,5 \pm 1,7$	11 ± 0,4	100
Na	2420 ± 60	1948 ± 208	80
Zn	127 ± 16	130 ± 6	102

Tabela 6 - Resultados das concentrações analíticas em materiais de referência certificado.

média da concentração ± desvio padrão, % de recuperação

A exatidão dos resultados também foi avaliada pelo teste de adição de analito em três níveis de concentrações e os resultados são apresentados na Tabela 7. As recuperações médias variaram de 81 a 117% e desvio padrão relativo (RSD) foi inferior a 10% para todos os analitos, comprovando a exatidão e a precisão do método.

Analito	Adicionado	Encontrado	Recuperação (%)
AI	0	$4,832 \pm 0,645$	-
	15,62	21,506 ± 3,168	107
	31,25	40,073 ± 3,216	113
	46,87	59,088 ± 3,587	116
Ва	0	1,685 ± 0,105	-
	15,62	14,012 ± 0,725	80
	31,25	$27,050 \pm 0,429$	81
	46,87	40,266 ± 0,819	82
Cr	0	$0,092 \pm 0,001$	-
	15,62	$16,994 \pm 0,686$	108
	31,25	33,076 ± 0,514	105
	46,87	49,999 ± 0,401	106
Ni	0	$0,416 \pm 0,003$	-
	15,62	16,504 ± 0,663	103
	31,25	31,996 ± 0,723	101
	46,87	48,015 ± 0,020	101
Si	0	58,651 ± 0,578	-
	15,62	73,000 ± 4,328	91
	31,25	90,183 ± 4,851	101
	46,87	99,753 ± 2,601	88

Tabela 7 - Concentrações dos analitos nas amostras de carne vegetal por MIP OES após diferentes adições. Valores em mg kg⁻¹

média ± SD.

5.5. Concentração total dos analitos em amostras de carne vegetal

Após a avaliação da exatidão do método, foram analisadas três amostras de carnes vegetais, as quais foram analisadas cruas e cozidas para determinar as concentrações de AI, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn por MIP OES,

conforme apresentado na tabela 8. As amostras cruas e cozidas foram decompostas como citado anteriormente.

Com os resultados obtidos, é possível observar que as maiores concentrações de Ca e Na foram encontrados nas amostras de empanado. Já para o Ba as maiores concentrações foram encontradas nas amostras de hamburguer e empanado, as quais foram semelhantes. Em relação aos elementos Fe, K, Ni e Si as maiores concentrações foram encontradas nas amostras de hamburguer. Já na amostra de quibe os elementos AI, Cu, Mg, Mn e Zn apresentaram as maiores concentrações. A principal diferença nas concentrações pode ser explicada pela inclusão de uma variedade de aditivos para produzir textura, suculência, sensação na boca e sabor semelhantes à carne. Isso acarreta preocupações sobre nutrição, segurança alimentar, rótulo limpo, custo e confiança do consumidor (Ahmad *et al.*,2022).

As alternativas à base de plantas têm um número limitado de estudos nutricionais para mostrar seus benefícios precisos para a saúde em comparação com a composição nutricional da carne (Ayivi *et al.*, 2021). Por exemplo, a eficácia biológica de minerais inorgânicos adicionados à receita de um produto não está bem estabelecida. Para reduzir os níveis de sal e promover benefícios à saúde, os análogos de carne geralmente contêm mais sódio do que os itens de carne originais que pretendem substituir (Ahmad *et al.*, 2022).

Quando submetidas ao processo de cocção, observa que alguns elementos aumentaram suas concentrações em relação as amostras cruas, principalmente na amostra de hamburguer, o que pode estar associado à sua perda de água durante o cozimento, uma vez que esta foi a amostra que apresentou a maior porcentagem de umidade quando comparado as outras duas amostras neste estudo.

Os elementos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn são essenciais para o organismo humano, pois desempenham diversas funções biológicas importantes na manutenção do equilíbrio ácido-base, equilíbrio da pressão osmótica e condução nervosa normal do organismo humano (Winter *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2021). Além disso, fazem parte da composição de várias enzimas, como o

Cu e o Zn e necessitam do Mn para sua ativação e para desempenhar papéis importantes no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e colesterol.

Tabela 8 – Concentrações totais de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn em amostras de carnes vegetais cruas e cozidas obtidas por MIP OES. Valores em mg kg⁻¹

Amostra		Concentraç	ão, X ± SD (RSD)									
Crua	AI	Ва	Са	Cu	Fe	к	Mg	Mn	Na	Ni	Si	Zn
Empanado de Frango	1,92 ± 0,09 (4,88)	1,17 ± 0,09 (8,04)	406 ± 48 (11,87)	1,86 ± 0,10 (5,44)	140,08 ± 0,72 (0,52)	2243 ± 65 (2,90)	330,92 ± 1,30 (0,39)	7,51 ± 0,34 (4,48)	5720 ± 197 (3,46)	0,47 ± 0,03 (7,18)	28,14 ± 0,97 (3,47)	6,57 ± 0,8 (12,18)
Hamburguer	4,14 ± 0,10 (2,46)	1,42 ± 0,08 (5,58)	1060 ± 61 (5,81)	2,27 ± 0,31 (13,88)	135,4 ± 4,31 (3,19)	5439 ± 118 (2,17)	625 ± 4 (0,68)	9,68 ± 1,16 (12,0)	3120 ± 7 (0,24)	0,57 ± 0,06 (9,99)	71 ± 5 (6,89)	8,72 ± 0,5 (5,76)
Quibe	18,57 ± 1,06 (12,4)	1,42 ± 0,02 (1,80)	713 ± 69 (9,72)	3,43 ± 0,36 (10,39)	58,71 ± 4,52 (7,71)	2819 ± 65 (2,31)	668 ± 23 (3,53)	12,28 ± 0,85 (6,96)	5540 ± 402 (7,27)	0,40 ± 0,03 (7,33)	51,69 ± 2,81 (5,44)	10,01 ± 0,76 (7,65)
Amostra		Concentração, X ± SD (RSD)										
Cozida	AI	Ва	Са	Cu	Fe	к	Mg	Mn	Na	Ni	Si	Zn
Empanado de Frango	2,96 ± 0,005 (0,17)	1,14 ± 0,02 (2,32)	448 ± 49 (11,03)	2,63 ± 0,22 (8,28)	137 ± 10 (7,28)	2001 ± 142 (7,09)	334,27 ± 4,96 (1,44)	3,02 ± 0,03 (1,24)	5760 ± 499 (8,67)	0,42 ± 0,05 (11,03)	56,20 ± 2,59 (4,61)	3,54 ± 0,28 (7,79)
Hamburguer	6,63 ± 0,72 (10,83)	1,17 ± 0,04 (3,77)	1556 ± 142 (9,13)	3,63 ± 0,16 (4,54)	162 ± 6 (3,83)	7855 ± 368 (4,68)	824 ± 9 (1,14)	12,56 ± 0,65 (5,19)	4317 ± 93 (2,16)	0,95 ± 0,05 (5,77)	79 ± 7 (9,64)	16,64 ± 1,0 (6,04)
Quibe	10,79 ± 0,78 (7,27)	1,33 ± 0,06 (4,49)	777 ± 30 (3,85)	2,24 ± 0,13 (4,97)	71 ± 1 (1,44)	2751 ± 236 (8,6)	582 ± 23 (3,93)	13,96 ± 0,15 (1,05)	6939 ± 569 (8,84)	0,54 ± 0,04 (6,82)	60,32 ± 3,55 (5,89)	14,32 ± 0,5 (3,46)

Média ± Desvio padrão (Desvio padrão relativo)

5.6. Estudo da bioacessibilidade dos elementos por digestão gastrointestinal *in vitro*

Além de estudos para a determinação das concentrações de minerais, é importante também verificar sua bioacessibilidade e biodisponibilidade para absorção intestinal, após a digestão dos alimentos (Santana, 2018). A importância da avaliação sobre a possibilidade de absorção intestinal de um nutriente se deve ao fato de que a sua quantidade total contida em uma matriz alimentar, pode não refletir a quantidade real a ser absorvida (Moredapiñeiro *et al.*, 2011).

Dessa forma, fez-se o estudo da fração bioacessível (líquido) e nãobioacessível (sólido) nas amostras cruas e cozidas de empanado, hamburguer e quibe.

Após o processo, as soluções das amostras cruas e cozidas foram separadas da parte sólida, retirando-se o sobrenadante, que foi utilizado para a determinação dos analitos por MIP OES. Já a parte sólida foi realizada uma nova decomposição ácida conforme descrito anteriormente, a fim de avaliar a exatidão do método aplicado.

Para Ca e Na, não foi realizado o estudo da fração bioacessível, pelo fato que no processo, utiliza-se inúmeros sais e esses sair possuem os elementos Ca e Na.

Os valores obtidos para as concentrações são apresentados na Tabela 9.

Analito	Empanad	o de Frango		Empanado de Frango			
		Cru)			Cozido)		
	FB	FNB	R%	FB	FNB	R%	
AI	< LD	1,590 ± 0,309	82	< LD	1,819 ± 0,029	82	
Ва	< LD	1,271 ± 0,008	108	< LD	0,914 ± 0,009	80	
Cu	0,614 ± 0,003	1,146 ± 0,085	94	1,233 ± 0,005	1,506 ± 0,010	104	
Fe	27,041 ± 1,528	110 ± 9,415	97	$33,605 \pm 0,569$	94,326 ± 2,665	93	
K	2252 ± 86	47,486 ± 0,020	102	1808±104	127±0,741	96	
Mg	104 ± 7,026	163 ± 12,082	80	316 ± 8,963	55,429 ± 0,733	107	
Mn	< LD	6,557 ± 0,317	87	$0,252 \pm 0,008$	3,028 ± 0,187	108	
Ni	< LD	$0,454 \pm 0,004$	96	< LD	$0,457 \pm 0,004$	109	
Si	14,301 ± 0,666	$9,893 \pm 0,800$	85	21,889 ± 1,151	38,248 ± 0,222	107	
Zn	2,457 ± 0,012	$3,409 \pm 0,294$	89	3,082 ± 0,012	$0,452 \pm 0,003$	99	
Analito	Ham ((iburguer Cru)		Ha ((mburguer Cozido)		
Analito	Ham ((FB	iburguer Cru) FNB	R%	Ha (I FB	mburguer Cozido) FNB	R%	
Analito Al	Ham (0 FB 0,612 ± 0,002	burguer Cru) FNB 3,700 ± 0,058	R% 104	Ha (0 FB 1,575 ± 0,137	mburguer Cozido) FNB 4,594 ± 0,039	R% 93	
Analito Al Ba	Ham (0 FB 0,612 ± 0,002 < LD	Iburguer Cru) FNB 3,700 ± 0,058 1,388 ± 0,022	R% 104 97	Ha (0 FB 1,575 ± 0,137 < LD	mburguer Cozido) FNB 4,594 ± 0,039 1,288 ± 0,008	R% 93 109	
Analito Al Ba Cu	Ham (0 FB 0,612 ± 0,002 < LD 1,224 ± 0,006	Iburguer Cru) FNB 3,700 ± 0,058 1,388 ± 0,022 1,079 ± 0,017	R% 104 97 101	Ha (0 FB 1,575 ± 0,137 < LD < LD	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$	R% 93 109 104	
Analito Al Ba Cu Fe	Ham (0 FB 0,612 ± 0,002 < LD 1,224 ± 0,006 65,160 ± 4,419	Iburguer Cru) FNB 3,700 ± 0,058 1,388 ± 0,022 1,079 ± 0,017 76,480 ± 1,700	R% 104 97 101 104	Ha (0 FB 1,575 ± 0,137 < LD < LD 83,228 ± 2,116	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$	R% 93 109 104 99	
Analito Al Ba Cu Fe K	Ham (f) FB $0,612 \pm 0,002$ < LD $1,224 \pm 0,006$ $65,160 \pm 4,419$ 5313 ± 90	Iburguer FNB $3,700 \pm 0,058$ $1,388 \pm 0,022$ $1,079 \pm 0,017$ $76,480 \pm 1,700$ 563 ± 31	R% 104 97 101 104 108	Ha ((FB 1,575 ± 0,137 < LD < LD 83,228 ± 2,116 8044±421	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$ 614 ± 48	R% 93 109 104 99 110	
Analito Al Ba Cu Fe K Mg	Ham ((FB $0,612 \pm 0,002$ < LD $1,224 \pm 0,006$ $65,160 \pm 4,419$ 5313 ± 90 429 ± 51	burguer FNB $3,700 \pm 0,058$ $1,388 \pm 0,022$ $1,079 \pm 0,017$ $76,480 \pm 1,700$ 563 ± 31 241 ± 7	R% 104 97 101 104 108 107	Ha ((FB $1,575 \pm 0,137$ < LD < LD $83,228 \pm 2,116$ 8044 ± 421 620 ± 107	mburguer Cozido) FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$ 614 ± 48 212 ± 4	R% 93 109 104 99 110 101	
Analito Al Ba Cu Fe K Mg Mn	Ham ((FB $0,612 \pm 0,002$ < LD $1,224 \pm 0,006$ $65,160 \pm 4,419$ 5313 ± 90 429 ± 51 $1,839 \pm 0,005$	burguer FNB $3,700 \pm 0,058$ $1,388 \pm 0,022$ $1,079 \pm 0,017$ $76,480 \pm 1,700$ 563 ± 31 241 ± 7 $7,188 \pm 0,439$	R% 104 97 101 104 108 107 93	Ha ((FB $1,575 \pm 0,137$ < LD < LD $83,228 \pm 2,116$ 8044 ± 421 620 ± 107 $4,156 \pm 0,026$	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$ 614 ± 48 212 ± 4 $7,342 \pm 0,97$	R% 93 109 104 99 110 101 91	
Analito Al Ba Cu Fe K Mg Mn Ni	Ham ((FB $0,612 \pm 0,002$ < LD $1,224 \pm 0,006$ $65,160 \pm 4,419$ 5313 ± 90 429 ± 51 $1,839 \pm 0,005$ < LD	Iburguer Cru)FNB $3,700 \pm 0,058$ $1,388 \pm 0,022$ $1,079 \pm 0,017$ $76,480 \pm 1,700$ 563 ± 31 241 ± 7 $7,188 \pm 0,439$ $0,459 \pm 0,008$	R% 104 97 101 104 108 107 93 80	Ha ((FB $1,575 \pm 0,137$ < LD < LD $83,228 \pm 2,116$ 8044 ± 421 620 ± 107 $4,156 \pm 0,026$ $0,615 \pm 0,001$	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$ 614 ± 48 212 ± 4 $7,342 \pm 0,97$ $0,460 \pm 0,003$	R% 93 109 104 99 110 101 91 113	
Analito Al Ba Cu Fe K Mg Mn Ni Si	Ham ((FB $0,612 \pm 0,002$ < LD $1,224 \pm 0,006$ $65,160 \pm 4,419$ 5313 ± 90 429 ± 51 $1,839 \pm 0,005$ < LD $11,960 \pm 1,279$	burguer Cru) FNB $3,700 \pm 0,058$ $1,388 \pm 0,022$ $1,079 \pm 0,017$ $76,480 \pm 1,700$ 563 ± 31 241 ± 7 $7,188 \pm 0,439$ $0,459 \pm 0,008$ $48,047 \pm 0,911$	R% 104 97 101 104 108 107 93 80 84	Ha ((FB $1,575 \pm 0,137$ < LD < LD $83,228 \pm 2,116$ 8044 ± 421 620 ± 107 $4,156 \pm 0,026$ $0,615 \pm 0,001$ $36,181 \pm 1,071$	mburguer Cozido)FNB $4,594 \pm 0,039$ $1,288 \pm 0,008$ $3,292 \pm 0,123$ $78,294 \pm 8,041$ 614 ± 48 212 ± 4 $7,342 \pm 0,97$ $0,460 \pm 0,003$ $37,900 \pm 3,964$	R% 93 109 104 99 110 101 91 113 93	

Tabela 9 – Resultados da fração bioacessível (FB) e fração não bioacessível (FNB) em amostras de carnes vegetais. Valores em mg kg⁻¹. (continua)

Analito	Q	uibe Cru)		Quibe (Cozido)					
	FB	FNB	R%	FB	FNB	R%			
AI	0,615 ± 0,002	7,369 ± 0,721	87	0,616 ± 0,001	8,367 ± 1,230	84			
Ba	< LD	1,282 ± 0,001	90	<ld< th=""><th>1,302 ± 0,013</th><th>97</th></ld<>	1,302 ± 0,013	97			
Cu	2,064 ± 0,011	1,138 ± 0,001	93	1,081 ± 0,128	1,100 ± 0,142	97			
Fe	26,042 ± 0,667	6,042 ± 0,667 35,209 ± 2,598		28,573 ± 0,482	49,291 ± 4,105	110			
K	2753 ± 111	250 ± 7	106	2177 ± 128	230 ± 3	87			
Mg	361 ± 29	350 ± 39	106	329 ± 16	242 ±18	98			
Mn	2,147 ± 0,434	8,514 ± 0,896	86	4,920 ± 0,014	9,767 ± 0,559	105			
Ni	< LD	$0,459 \pm 0,003$	114	< LD	$0,465 \pm 0,003$	86			
Si	12,571 ± 0,324	$28,929 \pm 2,499$	80	18,697 ± 1,082	49,447 ± 1,152	112			
Zn	1,846 ± 0,004	6,888 ± 2,075	87	$3,072 \pm 0,005$	10,466 ± 0,223	94			

Tabela 9 – Resultados da fração bioacessível (FB) e fração não bioacessível (FNB) em amostras de carnes vegetais. Valores em mg kg⁻¹.

recuperação: R%.

Dentre os minerais mostrados na Tabela 9, as maiores frações bioacessíveis foram obtidas para K e Mg, e as menores foram obtidas para Al, Ba, Cu, Mn e Ni, tanto para as amostras cruas quanto para as cozidas.

Alguns elementos apresentaram valores abaixo do Limite de Detecção (LD) para as frações bioacessíveis, isso nos diz que sua concentração está na fração não-bioacessível.

O K foi o mineral que se destacou, apresentando a maior concentração da fração bioacessível para o hamburguer cozido, com 8043,91 mg kg⁻¹ e sua menor concentração foi de 1808,04 mg kg⁻¹ para o empanado de frango cozido.

Em relação aos minerais nas amostras cozidas, acredita-se que a fração bioacessível pode ser potencializada como resultado do tratamento térmico que a mesma é submetida, devido ao amolecimento da matriz alimentar e consequentemente a liberação de minerais ligados a proteínas. Além disso, podem ter modificado o conteúdo de inibidores de solubilidade como oxalatos, fitatos, taninos e compostos fenólicos (Cila, et al., 2018).

Segundo dados da literatura, este fato foi observado para Fe e Zn em frações bioacessíveis em cereais e leguminosas tratadas por cozimento sob pressão, micro-ondas e cozidas em panela comum (fervida) (Cila et al., 2018), o que pode ser associado ao cozimento das carnes de origem vegetal deste trabalho que tiveram seu cozimento em forno convencional. Observou-se para Fe a maior concentração em 83,23 mg kg⁻¹ para o hamburguer de origem vegetal e a menor concentração para o quibe com 28,57 mg kg⁻¹. Para o Zn observou-se concentrações baixas comparando aos outros elementos, mas para a sua fração bioacessível em amostras cozidas sua maior concentração foi de 3,69 mg kg⁻¹ para o hamburguer e sua menor concentração foi para o quibe com 3,07 mg kg⁻¹. Dessa forma, é possível constatar que para os dois elementos a amostra de hamburguer teve sua maior concentração de Fe e Zn e a amostra de quibe as menores concentrações.

A diminuição do teor de Fe e Zn nas frações bioacessíveis comparadas as frações não bioacessíveis também pode estar relacionado à degradação do ácido ascórbico, o qual é um potencializador da absorção de Fe, isso faz com que a geração de interações minerais-nutrientes negativas ocorra mudanças na estrutura química devido à oxidação do elemento (Menezes, et al., 2018).

Comparando as frações bioacessíveis para os três tipos de carne de origem vegetal, temos que a amostra de hamburguer tanto cru como cozido, apresentaram maiores concentrações e as amostras de empanado de frango apresentaram menores concentrações, tanto crua como cozidas. Porém, em estudos da literatura, amostras de frango obtiveram maiores concentrações da fração bioacessível que amostras de carne vermelha, o que destaca que a carne de frango de origem vegetal possui diferenças consideráveis com a convencional, podendo estar relacionado ao possuir altos teores de gorduras. (Campos, et al., 2018)

A amostra de hamburguer cozido apresentou a maior bioacessibilidade para Si (36,18 mg kg⁻¹), e o menor resultado, cerca de 11, 96 mg kg⁻¹, foi observado também para as amostras de hamburguer, porém, na amostra crua. Além disso, este elemento é mais bioacessível no hamburguer do que nas demais carnes de origem vegetal. Para avaliar a contribuição ao valor nutricional dos elementos essenciais em carnes vegetais, foi analisado a ingestão diária recomendada de carne de origem animal com base na concentração dos analitos, considerando as médias das concentrações totais e das frações bioacessíveis das amostras cozidas.

Para o Ca, a ingestão diária recomendada (IDR) é de 1000 mg para adultos (homens e mulheres), 0,3 e 0,9 mg para Cu; 7,1 e 10,5 mg para Fe; 79 e 348 mg para Mg, 2,3 mg para Mn e 3,0 e 9,0 mg para Zn. Bem como, com a concentração recomendada para o Na e K que é de 2000 e 4700 mg/dia para os adultos, respectivamente. Assim, para que pudéssemos correlacionar a concentração obtida para os analitos com a ingestão diária recomendada, levamos em consideração a recomendação do Ministério da Saúde para o consumo de carne por pessoa, que é de 100 g por dia (ANVISA, 2005).

Dessa forma, comparando os valores de ingestão diária com os valores da concentração total (Tabela 8) e com os valores da fração bioacessível (Tabela 9), podemos observar que os valores de K possui as maiores concentrações para ambos e está dentro da IDR. Para o Cu, as amostras apresentaram valores inferiores e para o Fe apresentaram valores bem altos em relação aos recomendados. Para o Mn, Mg e Zn os valores estão próximos aos recomendados.

Para Ca e Na, comparando seus valores apenas com a Tabela 8, suas concentrações estão dentro da IDR.

6. Considerações finais

O método desenvolvido nesse trabalho, empregando um planejamento de composto central como ferramenta estatística para a otimização da etapa de preparo da amostra possibilitou adquirir uma condição ótima para a decomposição das amostras, apresentando bons resultados de recuperação dos analitos para os Materiais de Referência Certificados e nos testes de adição de analito, desta forma comprovando a exatidão do método otimizado para análises de carnes de origem vegetal por MIP OES.

Contudo, foram avaliados a concentração total de Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Si e Zn e a fração bioacessível e não bioacessível dos analitos Al, Ba, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Si e Zn. Os resultados obtidos forneceram dados importantes sobre o teor de minerais em amostras de empanado de frango, hamburguer e quibe, e sobre as frações bioacessíveis de alguns analitos, que realmente contribuem para a nutrição humana. Além disso, estudos para a comprovação de minerais presentes nas proteínas a base de vegetais são de extrema importância para a população que mantém uma dieta isenta de carnes, visto que na literatura estes dados ainda não são encontrados.

7. Referências Bibliográficas

AGILENT TECHNOLOGIES. Flexibe sample introduction with the Multimode Sample Introduction System. Technical Overview, 4 p, 2016.

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

AHMAD, M.; QURESHI S.; AKBAR, M. H.; SIDDIQUI, S. A.; GANI, A.; MUSHTAGA, M.; HASSANA, I.; DHULL, S. B. Plant-based meat alternatives: Compositional analysis, current development and challenges. **Applied Food Research**, v. 2, p. 100154, 2022.

ALVES, M. M.; MEDINA, A. L.; PINTO, A. M. T.; ANTUNES, A. C. N.; FILHO, P. J. S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Evaluation of the Concentration of Cu, Zn, Pb and Cr in Different Fish Species from the São Gonçalo Channel in Pelotas-RS, Brazil. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 29, p. 285-296, 2018.

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.

ANGUS, A.; WESTBROOK, E. G. 10 Tendências Globais de Consumo 2019. **Euromonitor International**, p. 77, 2019.

AYVIV, R.; IBRAHIM, S.; COLLERAN, R.; SILVA, L.; WILLIAMS, L.; GALANAKIS, C. COVID-19: Resposta imune humana e a influência de ingredientes alimentares e compostos ativos. **Bioactive Compounds in Health** and **Disease**, v. 4, p. 6, 2021.

BONEMANN, D. H.; LUCKOW, A. C. B.; PEREIRA, C. C.; DE 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.

CAMPOS, N. S.; LOURDES, A. M. F. O.; ALVARENGA, F. B. M.; SABARENSE, C. M.; OLIVEIRA, M. A. L.; SOUSA, R. A. Multivariate approach to assess in vitro Fe bioaccessibility in chicken meat. **Food Science and -Technology**, v. 38, p. 157-163, 2018. CANDIOTI, L. V.; DE ZAN, M. M.; CÁMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development, **Talanta**, v. 124, p. 123-138, 2014.

CILA, A.; BOSCH, L.; BARBERÁA, R.; ALEGRÍAA, A. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds – A review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, p. 3-15, 2018.

COSTA, L. M.; SANTOS, D. C. M. B.; HATJE, V.; NOBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Focused-microwave-assisted acid digestion: evaluation of losses of volatile elements in marine invertebrate samples. **Jounal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 238–241, 2009.

Curtain, F., GRAFENAUER, S. Plant-based meat substitutes in the flexitarian age: an audit of products on supermarket shelves. **Nutrients**, v. 11, p. 2603, 2019.

DA SILVA, D. L. F.; DA COSTA, M. A. P.; SILVA, L. O. B.; DOS SANTOS, W. N. L.; Simultaneous determination of Mercury and selenium in fish by CVG AFS. **Food Chemistry**, v. 273, p. 24-30, 2019.

DEMATTÊ, J. A. M.; DOTTO, A. C.; BEDIN, L. G.; SAYÃO, V. M.; SOUZA, A. B. Soil analytical quality control by traditional and spectroscopy techniques:Constructing the future of a hybrid laboratory for low environmental impact. **Geoderma**, v. 337, p. 111–121, 2019.

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, 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.

FERREIRA, L. G.; BURINI, R. C.; MAIA, A. F. Vegetarian diets and sports performance. **Revista de Nutrição**, v. 14, p. 469-477, 2006.

FERREIRA, S. L. C.; LEMOS, V. A.; DE CARVALHO, V. S.; DA SILVA, E. G. P.; QUEIROZ, A. F. S.; FELIX, C. S. A.; DA SILVA, D. L. F.; 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, L. O. B.; SANTANA, F. A.; S. JUNIOR, M. M.; 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.

FRANCA, P. A. P.; DUQUE-ESTRADA, P.; FONSECA, B. F.; GOOT, S. A. J. V.; PIERUCCI, A. P. T. R. Meat substitutes - past, present, and future of products available in Brazil: changes in the nutritional profile. **Future Foods**, v. 5, p. 100133, 2022.

He, J.; EVANS, N. M.; LIU, H.; SHAO, S. A review of research on plant-based meat alternatives: Driving forces, history, manufacturing, and consumer attitudes. **Food Science and Food Safety**, v.19, p. 2639-2656, 2020.

HOENIG M.; BAETEN H.; VANHENTENRIJK S.; VASSILEVA E.; QUEVAUVILLER P. H. Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods. **Analytica Chimica Acta Part B**, v. 358, p. 85-94, 1998.

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

HU, F. B.; OTIS, B. O.; MCCARTHY, G. Can plant-based meat alternatives be part of a healthy and sustainable diet?. **JAMA**, v. 322, p. 1547-1548, 2019.

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

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia.Orientações sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE008, rev.5, 2016, 31 p.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientações sobre validação de métodos analíticos**. DOQCGCRE-008, 2011, rev. 4, 19 p.

ISHAQ, A.; IRFAN S.; SAMEEN A.; KHALID N. Plant-based meat analogs: A review with reference to formulation and gastrointestinal fate. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 973-983, 2022.

ISMAIL, I.; HWANG, Y.H.; JOO, S. T. Meat analog as future food: a review. **Journal of Animal Science and Technolog**, v. 62, p. 111-120, 2020.

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

JOSHI, K., & KUMAR, S. Meat analogues: Plant based alternatives to meat products a review. **International Journal of Food Fermentation & Technology**, v. 5, p. 107-119, 2015.

KARLSSON, S.; SJÖBERG, V.; OGAR, A. Comparison of MP AES and ICP-MS for analysis of principal and selected trace elements in nitric acid digests of Sunflower (Helianthus annuus). **Talanta**, v. 135, p. 124-132, 2015.

KIM, K.; CHOI, B.; LEE I.; LEE H.; KWON, S.; OH, K.; KIM, I. A. Bioproduction of mushroom mycelium of Agaricus bisporus by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue, v. 91, p. 1561-1568, 2011.

KORN, M. G. A.; BOA MORTE, E.S.; 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 Reviews**, v. 43, p. 67-92, 2008.

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

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar. 1ª ed., SBQ, 2016, 572 p.

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.

MAHER, W.; KRIKOWA, F.; FOSTER, S. Decomposition of six common selenium species found in animal tissues using microwave digestion with nitric acid and ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 126, p. 92-95, 2016.

MALAV, O.P.; TALIKDER, S.; GOKULAKRISHNANA, P.; Chand, S. Meat Analog: A Review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 55, p. 1241–1245, 2015.

MARKUS, G. A identidade vegana: um estudo exploratório baseado no "modelo unificado de identidade vegano" e na escala simplificada de valores de Schwartz. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

MATUSIEWICZ, H.; STANISZ, E. Evaluation of high pressure oxygen microwaveassisted wet decomposition for the determination of mercury by CVAAS utilizing UV-induced reduction. **Microchemical Journal**, v. 95, p. 268-273, 2010.

MENEZES, E. A.; OLIVEIRA, A. F.; FRANÇA, C. J.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. 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 standardized static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food Function**, v. 5, p. 1113-1124, 2014.

MITRA, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry. John Wiley & Sons, New Jersey, 2003, 472 p.

MOREDA-PIÑEIRO, J. et al. In-vivo and in-vitro testing to assess the bioaccessibility and the bioavailability of arsenic, selenium and mercury species in food samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 324–345, 2011.

MORETTO, E. Introdução à ciência de alimentos. 2.ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2008. 255p.

NELSON, J.; GILLELAND, G.; POIRIER, L.; LEONG, D.; HAJDU, P.; LOPEZ-LINARES, F. Elemental analysis of crude oils using microwave plasma atomic emission spectroscopy. **Energy Fuels**, v. 29, p. 5587-5594, 2015.

NIU, Z.; ZHANG, W.; YU, C.; ZHANG, J.; WEN, Y. Recent advances in biological sample preparation methods coupled with chromatography, spectrometry and electrochemistry analysis techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 102, p. 123-146, 2018.

NÓBREGA, P. S. Análise do comportamento do consumidor de carne bovina frente a carnes vegetais. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de Brasília, 2021.

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, p.20, 2003.

NUTRITION, E. Os minerais: tendência e complexidade de udo. Funcionais & Nutracêuticos, p. 22–29, 2008.

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

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

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 Journal**, v. 109, p. 5-9, 2013.

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.

PEIXOTO, R. R. A.; DEVESA, V.; VÉLEZ, D.; CERVERA, M. L.; CADORE, S. Study of the factors influencing the bioaccessibility of 10 elements from chocolate drink powder. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 41-47, 2016.

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 AI, 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.

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

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.

SANTANA, M. C. DE. Potencial nutricional de preparados sólidos para refresco: bioacessibilidade de minerais e controle de ácido ascórbico por espectroscopia no infravermelho e quimiometria. Universidade Estadual de Campinas, 2018. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5^a ed., Porto Alegre: Bookman, 2002, 836 p.

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

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.

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

TACO. **Tabela Brasileira de Composição Química de Alimentos**. 4.ed. Campinas: NEPA – Unicamp, 2011.

TÖLG, G. Extreme trace analysis of the elements – I, methods and problems of sample treatment, separation and enrichment. **Talanta**, v. 19, p. 1489-1521, 1972.

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

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.

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

Anexo A: Gráficos referentes à Tabela 6 sobre as concentrações analíticas em materiais de referência certificado.



Figura 1 – Comparação entre as concentrações obtidas para Ca, K, Mg e Na no material de referência certificado Meat Homogeneat.



Figura 2 – Comparação entre as concentrações obtidas para Cu, Fe e Zn no material de referência certificado Meat Homogeneat.



Figura 3 – Comparação entre as concentrações obtidas para Ca, Cu, Fe, Mn e Zn no material de referência certificado Bovine Liver.



Figura 4 – Comparação entre as concentrações obtidas para K, Mg e Na no material de referência certificado Bovine Liver.

Anexo B: Gráficos referentes à Tabela 8 sobre as concentrações totais em amostras de carnes vegetais cruas e cozidas obtidas por MIP OES.



Figura 5 – Comparação entre as concentrações totais para Al, Ba, Cu, Mn, Ni e Zn em amostras de carnes vegetais cruas obtidas por MIP OES.



Figura 6 – Comparação entre as concentrações totais para Ca, K, Mg e Na em amostras de carnes vegetais cruas obtidas por MIP OES.



Figura 7 – Comparação entre as concentrações totais para Fe e Si em amostras de carnes vegetais cruas obtidas por MIP OES.



Figura 8 – Comparação entre as concentrações totais para Al, Ba, Cu, Mn, Ni e Zn em amostras de carnes vegetais cozidas obtidas por MIP OES.



Figura 9 – Comparação entre as concentrações totais para Ca, K, Mg e Na em amostras de carnes vegetais cozidas obtidas por MIP OES.



Figura 10 – Comparação entre as concentrações totais para Fe e Si em amostras de carnes vegetais cozidas obtidas por MIP OES.

Anexo C: Gráficos referentes à Tabela 9 sobre as concentrações da fração bioacessível em amostras de carnes vegetais cruas e cozidas obtidas por MIP OES.



Figura 11 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para Al, Cu, Fe, Mn, Si e Zn em amostra de empanado obtidas por MIP OES.



Figura 12 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para K e Mg em amostra de empanado obtidas por MIP OES.



Figura 13 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para Al, Cu, Fe, Mn, Ni, Si e Zn em amostra de hamburguer obtidas por MIP OES.



Figura 14 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para K e Mg em amostra de hamburguer obtidas por MIP OES.



Figura 15 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para AI, Cu, Fe, Mn, Si e Zn em amostra de quibe obtidas por MIP OES.



Figura 16 – Comparação entre as concentrações da fração bioacessível para K e Mg em amostra de quibe obtidas por MIP OES.