

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Determinação da disponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn
em Amostras de Carnes Bovinas, Suínas e de Frango *In
natura* e Processadas Termicamente**

Eveline de Abreu Menezes*

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTOR EM
CIÊNCIAS, área de concentração:
QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientadora: Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira

*** Bolsista CNPq**

São Carlos – SP

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M543dd

Menezes, Eveline de Abreu.

Determinação da disponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em amostras de carnes bovinas, suínas e de frango *In natura* e processadas termicamente / Eveline de Abreu Menezes. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
108 f.

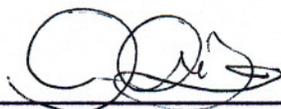
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Química analítica. 2. Carne. 3. Disponibilidade nutricional. 4. Nutrientes. 5. Proteínas. I. Título.

CDD: 543 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

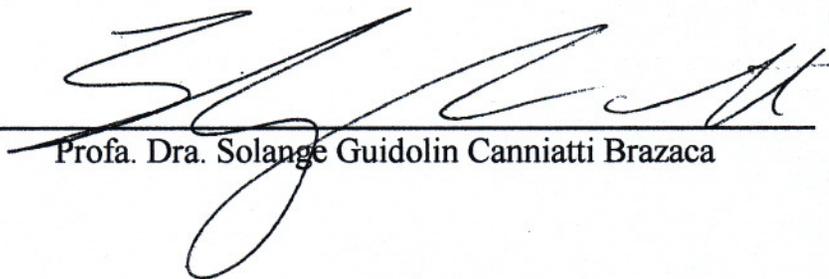
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado da candidata **Eveline de Abreu Menezes**, realizada em 30 de julho de 2010:*



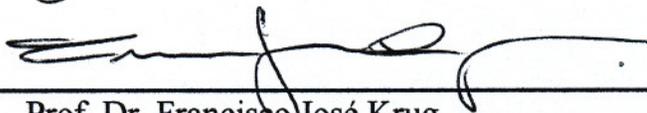
Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira



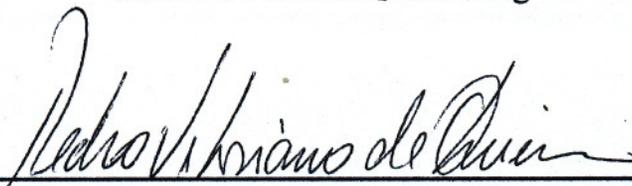
Profa. Dra. Solange Cadore



Profa. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca



Prof. Dr. Francisco José Krug



Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

“O verdadeiro lugar do nascimento é aquele em que lançamos pela primeira vez um olhar inteligente sobre nós mesmo.”

Marguerite Yourcenar

*Aos meus pais Francisco Xavier e Maria
Lúcia e à minha irmã Evilene que sem os quais
não conseguiria realizar este trabalho. A
distância entre nós foi imensa, mas o amor
recíproco me fortalecia para o cumprimento
desta etapa.*

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse realizado, em especial:

A Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela orientação, amizade, incentivo, confiança e apoio durante todo o desenvolvimento desse trabalho;

Ao Dr. Gilberto Batista de Souza pelo apoio e amizade durante todo o desenvolvimento desse trabalho;

Aos Professores Francisco José Krug (CENA / USP) e Pedro Vitoriano de Oliveira (IQ / USP), Solange Cadore (IQ/ UNICAMP) e Solange Guidolin Canniatti Brazaca (Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição/ESALQ/ USP) membros da Banca Examinadora, por todos os comentários e sugestões;

Ao Prof. Dr. Joaquim Araújo Nóbrega pelas importantes sugestões;

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho pelas importantes sugestões;

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade;

A todos os professores do DQ/UFSCar que contribuíram para minha formação acadêmica;

À Embrapa Pecuária Sudeste pelo espaço e oportunidade concedidos;

Ao CNPq pela bolsa concedida;

Aos funcionários do DQ/UFSCar em especial às funcionárias da Secretaria de Pós-Graduação;

Aos funcionários e estagiários da Embrapa Pecuária Sudeste: Lourdes, Marcão, Cristina, Mariana, Natália, Célia e Victor.

Ao meu amor Victor, por todo apoio, companheirismo, paciência e exemplo de amor durante todo esse trabalho.

Aos amigos e companheiros do GAIA: Amália, Amanda, Ana Beatriz, Caio, Carla Bossu, Catarinie, Clarice, Edivaldo, Érica, Kelber, Laís, Luana, Luciana, Lucimar, Manasses, Mário, Marcelo, Mirian, Naiara, Natália Sartarelli,

Natália Canevari, Patrícia, Paula, Poliana, Renata, Roberto, Rodolfo, Rodrigo, Rosileni, Silvia, e Wladiana pela amizade, bom ambiente de trabalho, sugestões e troca de conhecimentos.

A todos os amigos que passaram pelo Gaia em especial: Alexandra, Fabiana, Clésia, Dani, Edilene, Edivan, Sherlan, Lílian e o George.

Às amigas Clésia e Cris Iamamoto por todo apoio, carinho e amizade e por terem me recebido em suas casas quando cheguei a São Carlos;

À minha amiga Wladiana pelo apoio, amizade, companheirismo, desabafos e momentos de alegria mesmo distante;

Aos meus amigos Rodolfo, Patrícia (Paty), Carlinha e Caio pela amizade, companheirismo, caronas e pela ótima convivência no laboratório.

Ao amigo Prof. Dr. Sandro Tomaz Gouveia pelo incentivo e apoio;

Aos meus amigos e familiares de Fortaleza que apesar da distância estão sempre torcendo por mim;

Enfim, a Deus por tudo.

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1- Composição química e conteúdo energético de alguns tipos de carne (g/100g) FONTE: (SEUß, I. 1991,1993).....	7
TABELA 2.2. Composição nutricional de alguns cortes suínos (valor nutricional de carne crua em 100g) em comparação a carnes de frango e bovina FONTE: (SARCINELLI et al.,2007).....	10
TABELA 4.1 - Parâmetros empregados na análise por ICP OES.....	43
TABELA 4.2 – Programa de aquecimento em forno de micro-ondas com cavidade.....	46
TABELA 4.3- Programa de aquecimento para digestão das amostras de carne de frango <i>in natura</i> e processadas termicamente após a diálise, empregando forno de micro-ondas com cavidade.....	49
TABELA 5.1- Teores totais de Ca, Fe, Mg e Zn em amostras de frango (n=3).....	56
TABELA 5.2- Teores totais de Ca, Fe, Cu e Zn em amostras de carne suína (n=3).....	56
TABELA 5.3- Teores totais de Ca, Fe, Cu e Zn em amostras de carne bovina (n=3).....	56
TABELA 5.4- Concentração de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) em material de referencia certificado (CRM) após decomposição total (n=3).....	57
TABELA 5.5 – Valores dos limites de detecção (LOD) para os elementos cálcio, cobre, ferro, magnésio e zinco.....	58
TABELA 5.6 – Programa de aquecimento otimizado para a determinação de Cu por GF AAS.....	60

LISTA DE TABELAS

TABELA 5.7 Teores totais de cobre nas amostras de frango por GFAAS (n=3).....	62
TABELA 5.8 Teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e digestibilidade <i>in vitro</i> da proteína (DP) da amostra de carne bovina nos diferentes métodos de cocção.....	64
TABELA 5.9 Determinação da proteína bruta (PB) e digestibilidade <i>in vitro</i> da proteína (DP) da amostra de carne de frango nos diferentes métodos de cocção.	66
TABELA 5.10. Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e digestibilidade <i>in vitro</i> da proteína (DP) da amostra de carne suína nos diferentes métodos de cocção.....	67

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 2.1- Consumo de carnes no Brasil (kg/pessoa/ano) FONTE: (SAAB et al., 2009) 11
- FIGURA 2.2- Produção de carnes no Brasil FONTE: (SAAB et al., 2009). 12
- FIGURA 2.3- Etapas da Reação de Maillard FONTE: (OETTERER; SARMENTO, 2006) 32
- FIGURA 2.4 - Esquema da reação de Maillard 33
- FIGURA 2.5 - Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel FONTE: (STUART, 2006) 34
- FIGURA 2.6- Esquema dos processos que ocorrem no plasma. Adaptado de GINÉ- ROSIAS (1998) 38
- FIGURA 4.1 - (I) esquema do recipiente de amostras dentro do frasco do forno microondas com cavidade, (II) corte transversal do recipiente de amostras: 48
FONTE (ARAÚJO, 2004).
- FIGURA 5.1 – Curvas de temperaturas de pirólise e atomização para $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu em presença do branco da amostra 1% v/v HNO_3 . (♦) Curva de Pirólise e 59
(●) Curva de Atomização. Modificador utilizado: $1000 \mu\text{g L}^{-1} \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.
- FIGURA 5.2 – Curva analítica para Cu em meio do branco da amostra 1% vv⁻¹ 60
 HNO_3 . ($y = 0,0043 x + 0,0116$; $R = 0,997$).
- FIGURA 5.3 Disponibilidade das proteínas em amostras de carne bovina, de frango e suína após diferentes processamentos térmicos (IN) *in natura*; (CA) cozida em água; (GR) grelhado; (FC -1) forno convencional-1; (MW) forno de micro-ondas e (FC– 2) forno convencional-2. 70
- FIGURA 5.4 Média de porcentagem de Mg disponível pelo método digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos *in natura*, água (cozido em 71
água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).
- FIGURA 5.5 Porcentagem de Mg disponível no método digestibilidade *in vitro* em amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes 71
processamentos térmicos.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 5.6 Teores médios de Ca disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno 73 convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

FIGURA 5.7 Teores médios de Ca disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas e de frango submetidas a diferentes 73 processamentos térmicos.

FIGURA 5.8. Teores disponíveis de ferro após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas aos diferentes processamentos térmicos *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno 74 convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

FIGURA 5.9. Teores de Fe disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes 75 processamentos térmicos.

FIGURA 5.10 Teores de Zn disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos; *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno 77 convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

FIGURA 5.11 Teores de Zn disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas e de frango submetidas a diferentes 77 processamentos térmicos.

FIGURA 5.12. Teores de Cu disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos 79 térmicos; *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 5.13. Teores de Cu disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos 79

FIGURA 5.14 Espectro de FTIR característico de amostra de carne bovina *in natura*. 81

FIGURA 5.15 – Espectro FTIR para amostra de carne bovina *in natura* e processadas termicamente. 1- carne *in natura*, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2. 82

FIGURA 5.16 – Espectro FTIR para amostra de carne suína *in natura* e processadas termicamente 1- carne *in natura*, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2. 83

FIGURA 5.17 – Espectro FTIR para amostra de frango *in natura* e processadas termicamente. 1- carne *in natura*, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2. 83

FIGURA 5.18 – Gráfico de *scores* PC1 *versus* PC2 para a amostra de carne bovina *in natura* e processadas termicamente. C1- *in natura*, C2- cozida em água, C3-grelhada, C4- micro-ondas, C5- Forno convencional1 e C6- Forno convencional 2. 85

FIGURA 5.19– Gráfico de *loadings* PC1 *versus* PC2. (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS) 86

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 5.20 – Gráfico de *scores* PC1 *versus* PC2 para a amostra de carne de frango *in natura* e processadas termicamente. F1- *in natura*, F2- cozida em água, F3-grelhada, F4- micro-ondas, F5- Forno convencional1 e F6- Forno convencional 2. 87

FIGURA 5.21 – Gráfico de *loadings* PC1 *versus* PC2 (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS). 88

FIGURA 5.22 – Gráfico de *scores* PC1 *versus* PC2 para a amostra de carne suína *in natura* e processada termicamente. S1- *in natura*, S2- cozida em água, S3-grelhada, S4- micro-ondas, S5- Forno convencional1 e S6- Forno convencional 2. 89

FIGURA 5.23 – Gráfico de *loadings* PC1 *versus* PC2 (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS) 90

RESUMO

DETERMINAÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE Ca, Cu, Fe, Mg E Zn EM AMOSTRAS DE CARNES BOVINA, SUÍNA E DE FRANGO *IN NATURA* E PROCESSADAS TERMICAMENTE Neste trabalho estudou-se a disponibilidade dos nutrientes Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e após os seguintes tratamentos térmicos: Cozido em água, grelhado, micro-ondas, forno convencional I – 45 min 180 °C e forno convencional II – 60 min e 180 °C. A determinação dos teores totais de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn para amostras de carnes bovina e suína foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), enquanto que a determinação de Cu para as amostras de carne de frango foi feita por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS), após digestão das amostras em forno de micro-ondas com cavidade. A determinação da proteína bruta foi realizada a partir da determinação do teor de nitrogênio total e para a determinação da digestibilidade da proteína foi empregado o método proposto por Akeson e Stahman, no qual a amostra é digerida com enzimas digestivas em meio ácido, simulando *in vitro* as condições existentes no trato gastrointestinal humano. Para avaliação da disponibilidade dos minerais foi empregado procedimento *in vitro*, utilizando fluido gástrico simulado. Indiferente ao procedimento de cocção, comportamento similar foi observado para os diferentes tipos de carne. A elevação da temperatura e do tempo de exposição do alimento ao calor provocam diminuição da disponibilidade das proteínas, provavelmente em função da desnaturação das mesmas. A carne bovina apresentou cerca de 20% de disponibilidade de Cu, Fe e Zn o que a torna fonte importante desses nutrientes na nutrição humana. Quando a carne foi cozida em água maior eficiência foi observada, em relação à disponibilidade de nutrientes. Para todas as amostras, o processamento que empregou forno convencional por 60 min e 180 °C mostrou uma baixa disponibilidade de nutrientes e proteínas, o que indica que esse processo de aquecimento térmico pode ter alterado a digestibilidade e a absorção dos minerais nas amostras aqui estudadas.

ABSTRACT

AVAILABILITY OF Ca, Cu, Fe, Mg AND Zn IN BOVINE, PORK AND CHICKEN MEAT SAMPLES RAW AND TERMICALLY PROCESSED In this work, the availability of Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn in bovine, pork and chicken meat samples raw and after thermal treatments: water boiled, grilled, microwave, convention oven I – 180 °C (FCI) and conventional oven II – 60 min and 180 °C was evaluated. Total determination of Ca, Cu, Fe, Mg and Zn in bovine and pork samples was performed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), and Cu in chicken samples was determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS), after digestion assisted by microwave radiation. Total protein determination was performed based on total nitrogen determination and the protein digestibility determination was determined by using the method proposed by Akeson and Stahman, in which the sample is digested with digestive enzymes in an acidic medium, simulating *in vitro* conditions. To the mineral availability evaluation, an *in vitro* procedure, simulated gastric fluid was applied. Independent of the procedure of cooking, similar behavior was observed for all meat sample evaluated. Increasing temperature and exposition time of food to heat, decreases in proteins availability was observed, probably due to proteins denaturation. The bovine meat presented about 20% of Cu, Fe, and Zn availability, that became this kind of food an important source of these nutrients in human nutrition. When the meat was water boiled, it was observed increase in nutrients availability. For all samples, the use of conventional oven during 60 min at 180°C (FCII) presented reduces in nutrients and proteins availability, indicating that this thermal treatment can change the digestibility and mineral absorption of the evaluated meat samples.

SUMÁRIO

1 – Introdução	2
2 – Revisão Bibliográfica	6
2.1 – Carne bovina.....	6
2.1.1 – Composição da carne bovina.....	6
2.1.1.1- Água.....	6
2.1.1.2- Vitaminas.....	6
2.1.1.3- Proteínas.....	7
2.1.2- Fatores que influenciam na composição da carne.....	8
2.1.3- Qualidade sensorial da carne.....	8
2.2- Suíno.....	9
2.3-Frango.....	12
2.4- Processamentos térmicos das carnes	13
2.4.1- Calor úmido	15
2.4.2- Calor seco.....	15
2.4.3- Calor misto.....	16
2.4.4- Radiação micro-ondas.....	16
2.4.5- Congelamento.....	17
2.5- Biodisponibilidade.....	17
2.6- Importância do Ca, Cu, Fe, Mg e Zn no organismo.....	20
2.6.1- Cálcio.....	20
2.6.2- Cobre.....	21
2.6.3- Ferro.....	22
2.6.4- Magnésio.....	24
2.6.5- Zinco.....	24
2.7- Proteínas.....	26
2.7.1- Composição das proteínas.....	26
2.7.2- Função das proteínas.....	27
2.7.3- Digestibilidade da proteína.....	28
2.8- Reação de Millard.....	29

2.8.1- Etapas da “reação de Maillard”	30
2.9- Técnicas Espectroscópicas.....	33
2.9.1- Espectrometria por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	33
2.9.2- Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS).....	35
2.9.3- Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)	36
3- Objetivos	40
4 – Procedimento Experimental	42
4.1- Instrumentação.....	42
4.2 – Reagentes.....	43
4.3 – Amostras	44
4.3.1 – Preparo das Amostras de Carne.....	44
4.3.2- Métodos de Cocção.....	45
4.4- Determinação dos Teores Totais Ca, Cu, Fe, Mg e Zn.....	46
4.5- Estudos da disponibilidade <i>in vitro</i> de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn nas amostras de Carne bovina, suína e de frango <i>in natura</i> e processadas Termicamente.....	47
4.6- Determinação de cobre na carne de frango por GF AAS.....	48
4.7- Digestibilidade das proteínas	49
4.7.1- Matéria seca.....	50
4.7.2- Proteína Bruta	50
4.8- Digestibilidade <i>in vitro</i> das proteínas.....	51
4.9- FTIR.....	53
5 – Resultados e Discussão	55
5.1 – Determinação dos teores totais de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn nas amostras de carne bovina, suína e de frango.....	55
5.1.2. – Determinação dos teores total de cobre nas amostras de frango.....	58
5.2 – Determinação da digestibilidade das proteínas.....	62
5.2.1 – Carne bovina.....	62
5.2.2 – Frango.....	64
5.2.3 – Carne suína.....	66

5.3 – Determinação da disponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn.....	70
5.4- Análise de FTIR.....	81
5.5- Análise de Componentes Principal (PCA).....	84
6 – Conclusões	93
7 – Referências Bibliográficas	95

Capítulo 1

Introdução

1- INTRODUÇÃO

Uma alimentação saudável deve ser composta de uma variedade de fontes de nutrientes e fibras dietéticas em proporções adequadas. Nutrientes tais como proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais são essenciais para o crescimento e para a manutenção dos tecidos e dos órgãos¹. As carnes de um modo geral são alimentos fonte de várias vitaminas lipossolúveis, assim como de elementos traço^{2,3}. A carne bovina, de grande importância na alimentação justamente por ser fonte de lipídios e de proteínas de alto valor biológico, é a mais consumida em todas as classes sociais do Brasil, chegando a representar 41% do consumo total de carnes⁴.

Apesar de não conter fibras dietéticas como as encontradas nos grãos, nas frutas e nas hortaliças e ser praticamente desprovida de carboidratos, a carne é considerada um alimento nutricionalmente denso devido à quantidade de proteína completa, associada a um baixo conteúdo calórico, ou seja, 15 a 20 g de proteína por 100 kcal em carne magra grelhada. Também constitui uma excelente fonte de lipídios essenciais, de vitaminas do complexo B (principalmente a vitamina B12) e dos minerais ferro e zinco em uma forma altamente assimilável pelo organismo¹. Os consumidores estão se tornando cada vez mais esclarecidos e exigentes quanto à qualidade dos produtos de consumo diário. No caso específico das carnes, essa demanda acontece tanto pelos atributos intrínsecos de qualidade, tais como maciez, sabor e quantidade de gordura, como também pelas características de ordem ou natureza voltadas para as formas de produção e processamento, como os métodos de cocção empregados durante seu preparo⁵. Os métodos de cocção são importantes meios para deixar os alimentos fáceis de serem digeridos, porém se não forem realizados de forma correta podem formar compostos tóxicos, como os que podem ocorrer durante a reação de Maillard, escurecimento não enzimático que leva à produção de pigmentos escuros, ocasionando perdas na digestibilidade da proteína⁶.

Elementos essenciais tais como cálcio, cobre, ferro, magnésio e zinco são importantes para garantir vários processos metabólicos. No entanto, o intervalo de concentração que determina a essencialidade ou toxicidade,

geralmente é muito estreito, com implicações graves quando esses limites não são respeitados, seja para mais ou para menos⁷. Os elementos tóxicos afetam negativamente vários processos metabólicos e, quando presentes em concentrações relativamente altas, podem causar danos irreversíveis e até levar a morte do indivíduo^{7,8}. Informações sobre a distribuição dos constituintes químicos nos alimentos são importantes e necessárias para estimar a absorção de elementos essenciais e para avaliar os potenciais riscos à saúde causados pela exposição a elementos tóxicos.

O zinco é um componente essencial para a atividade de mais de 300 enzimas e estabilizador de estruturas moleculares. Participa da síntese e da degradação de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Pode estar presente na dieta, associado às moléculas orgânicas como por exemplo, às proteínas, aos fitatos e aos carboidratos, ou na forma de sais inorgânicos, como em suplementos ou em alimentos fortificados⁹.

O cálcio é responsável por algumas funções metabólicas quando ligado a enzimas, tais como: coagulação sanguínea, regulação da contração muscular, secreção de hormônios e neurotransmissores, adesão celular e funções de proteínas e citoesqueleto⁹.

O ferro tem funções metabólicas e enzimáticas. Como exemplo, participa da síntese da hemoglobina e da mioglobina. Além disso, as enzimas contendo Fe participam de reações redox e de transferência de elétrons¹⁰.

O cobre tem funções orgânicas específicas por ser constituinte de enzimas com atividade de oxidação e redução. Possui papel primordial em células fisiológicas, atuando como co-fator catalítico na química redox de enzimas para proteínas que realizam funções biológicas fundamentais, necessárias para o crescimento e desenvolvimento¹¹. O cobre também é necessário para a respiração mitocondrial e na absorção de Fe¹².

O magnésio participa da formação de dentes e ossos, ajuda na transmissão de impulsos nervosos, intervém no relaxamento muscular e na produção de energia celular. Em caso de carência, são verificados sintomas de

espasmos musculares, podendo mesmo alcançar um estado agravado de contração generalizada – tetania.

Durante o processamento dos alimentos ocorrem alterações químicas que podem melhorar ou piorar a biodisponibilidade de certos nutrientes, pelo favorecimento ou prejuízo da sua digestão e da sua absorção, ou pela inativação de determinadas substâncias presentes no alimento. Por outro lado, durante o processamento também podem ocorrer perdas de nutrientes, alterando o valor nutricional dos alimentos¹³. Os métodos empregados para avaliar a adequação do fornecimento alimentar de micronutrientes não têm como avaliar sua utilização verdadeira, pois levam em conta somente o total ingerido, estimado com base em tabelas de comparação de alimentos¹⁴. Para estimar a qualidade e as fontes dietéticas dos minerais é necessário definir precisamente a quantidade de minerais disponível para absorção e utilização (isto é, a biodisponibilidade)¹⁵.

Avaliar a biodisponibilidade dos minerais tem atraído o interesse em estudos nutricionais. Biodisponibilidade é o termo usado para descrever a proporção de um nutriente em um alimento que pode ser utilizado para as funções normais do organismo¹⁶. Embora existam relatos de vários fatores que possam afetar a absorção dos nutrientes, tem sido considerado biodisponível a fração dialisável (ou solúvel) que ao menos teoricamente está disponível no organismo, mesmo que outros fatores venham a prejudicar o acesso a esses nutrientes¹⁵.

Considerando os aspectos abordados quanto à biodisponibilidade dos minerais e de sua relevância do ponto de vista analítico e bioquímico, neste trabalho foi avaliado método de digestão *in vitro* baseado na utilização de enzimas em meio ácido e técnicas espectroscópicas para quantificação de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Carne bovina

O Brasil historicamente tem sido um dos grandes produtores de carne bovina, tendo se tornado a partir de 2005, o maior exportador mundial dessa carne. Segundo a FAO, um em cada cinco quilos de carne bovina comercializada no mundo é de origem brasileira. O volume exportado chega a 1,3 milhões de toneladas, gerando recursos em torno de US\$ 3 bilhões. Isso representa cerca de 15% da produção nacional. O restante da produção é direcionado ao mercado interno¹⁷.

A carne bovina é de grande importância na alimentação, justamente por ser fonte de lipídios e de proteínas de alto valor biológico. No Brasil, o consumo de carne bovina per capita fica ao redor de 40 kg por ano^{2,3}.

2.1.1. Composição química da carne bovina

A carne magra bovina apresenta em torno de 75% de água, 21 a 22% de proteína, 1 a 2% de gordura, 1% de minerais e menos de 1% de carboidratos¹⁸.

2.1.1.1. Água

Por ser um componente abundante, a água influi na qualidade da carne, afetando a suculência, textura, cor e sabor. Sendo a água o meio universal das reações biológicas, sua presença afeta diretamente as reações que ocorrem na carne durante o armazenamento e o processamento¹⁸.

2.1.1.2. Vitaminas

A carne e os miúdos constituem fontes inigualáveis de algumas vitaminas e minerais extremamente importantes para a manutenção da saúde. É o caso das vitaminas do complexo B presentes na carne, e da vitamina A, presente no fígado. Dentre as vitaminas do complexo B, o destaque é para a B12 (cobalamina), que só é encontrada nos produtos de origem animal, principalmente nas carnes bovina e ovina. Outras, como a B2 (riboflavina), a B6 (piridoxina), a niacina, a folacina e o

ácido pantotênico, também estão presentes na carne em quantidades significativas¹⁸.

2.1.1.3. Proteínas

A carne é considerada excelente fonte de proteínas tanto em quantidade como em qualidade. Por exemplo, 100 g de carne magra do corte “coxão mole”, depois do cozimento, contem 30 g de proteína, o que corresponde a 50% das necessidades diárias do ser humano adulto. Em qualidade, as proteínas da carne são as mais completas por apresentarem um perfeito equilíbrio de aminoácidos essenciais, isto é, aqueles que o corpo humano não sintetiza a partir dos demais e que, por isso, devem estar presentes nos alimentos ingeridos¹⁸.

O consumo de proteína animal, especialmente a carne bovina, é freqüentemente associado aos malefícios à saúde humana. A carne bovina magra, similarmente à carne branca das aves (sem pele) e o lombo suíno, são fontes importantes de proteína e devem fazer parte de uma dieta balanceada com os nutrientes dos demais grupos de alimentos (Tabela 2.1).

TABELA 2.1- Composição química e conteúdo energético de alguns tipos de carne (g/100g) FONTE: (SEUß, I. 1991,1993)^{19,20}.

Alimentos	Água	Proteína	Gordura	Cont. energético
Carne bovina magra, assada	58,4	30,4	9,2	213
Carne suína magra, assada	59,0	27,0	13,0	233
Carne de cordeiro magra, assada	60,9	28,5	9,5	207
Carne de vitelo magra, assada	61,7	31,4	5,6	184
Queijo edam	42,0	24,8	28,3	369
Ovo cozido	74,6	12,1	11,2	158
Leite pasteurizado	87,6	3,2	3,5	63
Pão de centeio	38,5	6,4	1,0	239

2.1.2. Fatores que influenciam na composição da carne

- Espécie: o efeito da espécie na composição da carne é o fator mais acentuado, porém nos músculos com pouca gordura, a variação da composição química é pequena.
- Raça: depois da espécie, a raça é o fator intrínseco que mais afeta a composição química e bioquímica do músculo. Os bovinos de corte possuem maior quantidade de gordura intramuscular do que os bovinos de leite.
- Sexo: em geral, os machos possuem menor quantidade de gordura subcutânea do que as fêmeas.
- Idade: de maneira geral, ao aumentar a idade, aumentam quase todos os parâmetros químicos, com exceção da água. Animais jovens possuem pouca quantidade de gordura subcutânea e intramuscular e não apresentam marmoreio.
- Nutrição: em geral, o nível de alimentação sobre o crescimento de animais reflete na composição de diversos músculos. O teor de gordura intramuscular também é um reflexo do plano de nutrição.
- Localização anatômica: é o fator intrínseco mais complexo. Há variações na composição química dos músculos de diferentes localizações. Um clássico exemplo é a composição dos músculos da coxa e peito de aves.
- Treinamento e exercício: a modificação mais acentuada ocorre no teor de mioglobina, que é relativamente mais elevada nos músculos mais ativos do que nos músculos menos ativos¹⁸.

2.1.3. Qualidade sensorial da carne

Devido à importância da carne como alimento e a exigência dos consumidores, que cada dia se tornam mais esclarecidos e conscientes, aumentou de forma significativa a procura por produtos de melhor qualidade²¹.

Essa demanda acontece tanto pelos atributos intrínsecos de qualidade da carne, tais como maciez, sabor e quantidade de gordura, como também pelas características de ordem ou natureza voltadas para as formas de produção, utilização do meio ambiente, processamento, comercialização, etc²¹.

Qualquer que seja a base científica dos atributos da qualidade sensorial da carne, sua importância é determinada pelas preferências regionais e pela visão individual do consumidor. Dos atributos da qualidade sensorial, a cor, a capacidade de retenção de água e um pouco do odor da carne fornecem ao consumidor uma sensação da suculência, textura, maciez e sabor da mesma²².

Tendo em vista a importância da carne bovina tanto para o consumo interno como para a economia do país devido às exportações e a geração de empregos, frente às dificuldades sanitárias e conseqüentemente econômicas enfrentadas pelo produtor atualmente, é necessária a promoção da carne bovina no Brasil através do esclarecimento sobre a importância do setor, do potencial do país e da intensificação e seriedade das medidas sanitárias que vêm sendo adotadas.

2.2. Suínos

A carne suína, classificada como carne vermelha, tem composição muito semelhante as demais e ao contrário do que muitos pensam, é um alimento rico em nutrientes, apresentando diversos benefícios indiscutíveis à saúde humana. Ela é rica em proteína de alto valor biológico, ácidos graxos monoinsaturados, vitaminas do complexo B e diversos minerais. O teor de gordura e o valor calórico dependem da localização da carne no animal, mas a quantidade dos demais nutrientes é pouco afetada (Tabela 2.2)²³.

TABELA 2.2. Composição nutricional de alguns cortes suínos (valor nutricional de carne crua em 100g) em comparação a carnes de frango e bovina FONTE: (SARCINELLI et al., 2007) ²³.

	Lombo	Pernil	Costela	Sobre – coxa de frango	Contra – filé bovino
Calorias (kcal)	136	222	282	211	243
Proteínas (g)	20	18,7	16,1	17,2	19,0
Lipídeos	5,4	15,6	23,5	15,2	17,9
Carboidratos (g)	-	-	-	-	-
Ac.Graxos saturados	1,87	5,44	8,73	4,38	7,29
Ac. Graxos mono-insaturados	2,42	6,98	10,65	6,51	7,78
Coletosrol (mg)	66	66	81	84	67
Ferro (mg)	1,2	0,77	0,91	0,99	1,58
Magnésio (mg)	25	21	16	20	18
Sódio (mg)	49	61	75	76	53
Potássio (mg)	359	333	233	192	295
Selênio (mg)	32,4	30,7	24	12,9	16,7

A composição geral de carne suína consiste de 72% de água, 20% de proteína, 7% de gordura, 1% de minerais e menos que 1% de carboidratos^{24,25}. Comparando-se a outros alimentos, a carne suína é um alimento rico em proteína, pobre em carboidratos e com relativamente baixo nível energético (em torno de 147 kcal/100g de carne suína). É a proteína animal mais produzida e mais consumida em todo o mundo²⁶.

A carne suína no Brasil representa 14% da produção nacional e 9,5% da exportação do complexo carnes. Responde por 13,7% do consumo nacional de carnes enquanto no mundo é a carne mais consumida, com 43,2% do consumo

total. A região Sul do Brasil responde por 70% da produção brasileira e por 80% das exportações. O Brasil exporta 20% da sua produção, sendo os principais destinos à Rússia, com 43% e a China (via Hong Kong), com 20%²⁷.

Apesar de ser a carne mais consumida no mundo, com cerca de 39% do consumo total de carnes²⁸, a carne suína figura apenas em terceiro lugar em consumo no Brasil (Figura 2.1). De acordo com um estudo coordenado pela Universidade de Copenhague e financiado pela União Europeia, que envolveu universidades de diferentes países, inclusive do Brasil²⁹, as principais razões pelas quais o consumo de carne suína no Brasil não é maior são culturais, já que o brasileiro ainda vê a produção de carne suína como uma atividade suja, na qual um animal extremamente gorduroso é alimentado com restos de comida³⁰.

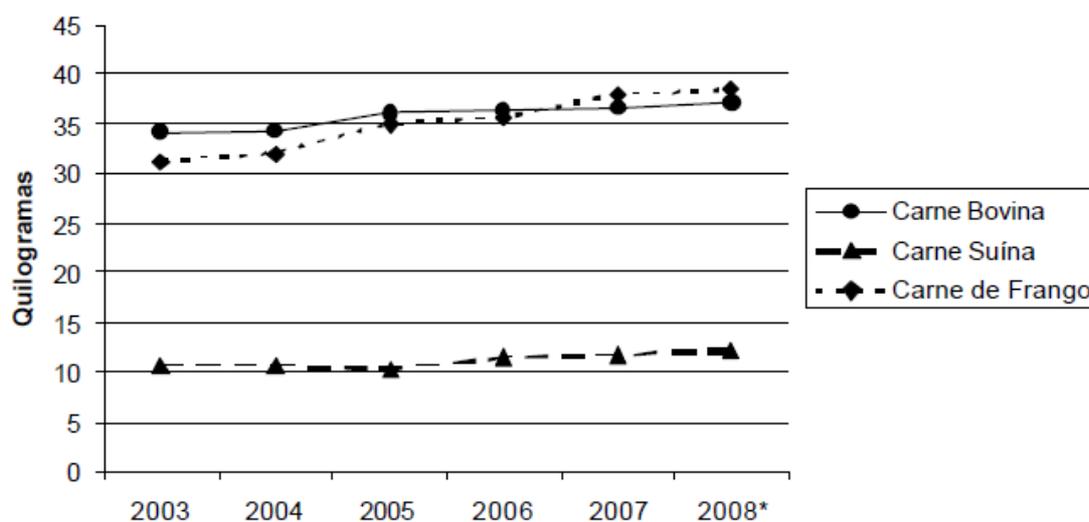


FIGURA 2.1- Consumo de carnes no Brasil (kg/pessoa/ano) FONTE: (SAAB et al., 2009)³⁰.

Quanto à produção, pode-se perceber pela Figura 2.2 que nos últimos anos a produção dos três tipos de carne tem percorrido trajetórias um tanto diferentes. Ainda que a carne suína apresente a menor produção, bastante inferior aos níveis das demais, ela tem mantido uma trajetória de crescimento constante, com poucas variações. O expressivo crescimento do Brasil no cenário internacional da carne suína é reflexo do aperfeiçoamento de toda cadeia produtiva, com a devida

adequação frente aos países consumidores e à conquista gradativa de mais mercados³⁰.

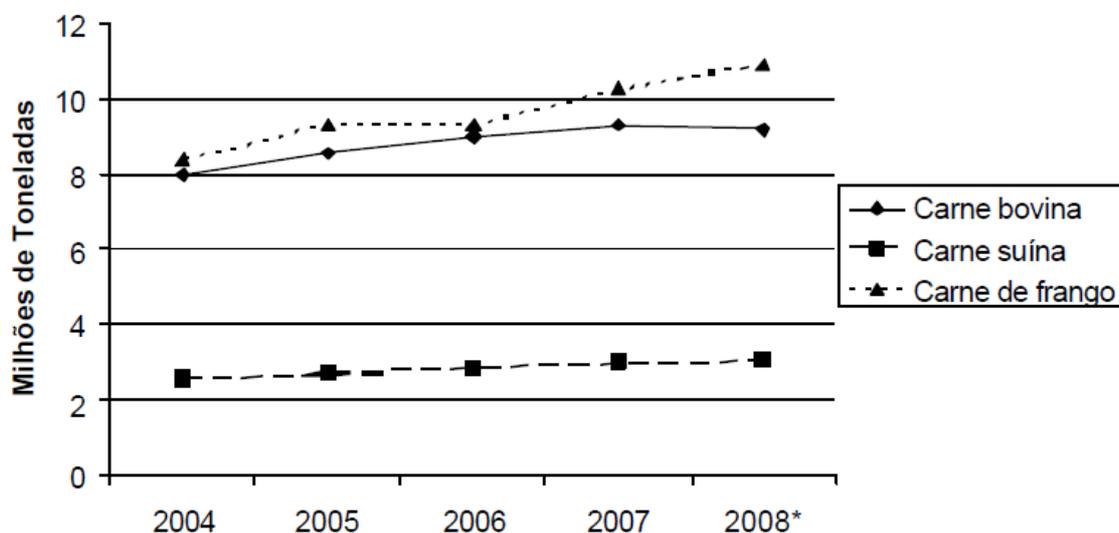


FIGURA 2.2- produção de carnes no Brasil FONTE: (SAAB et al., 2009)³⁰.

De acordo com o exposto, o consumo da carne suína é visto como tabu para alguns consumidores por acreditarem no mito que ela é rica em gordura e faz mal a saúde. No entanto, trata-se de carne rica em nutrientes necessários ao corpo humano e quando consumida sem exageros, não causa nenhum dano à saúde humana²³.

2.3. Frango

O Brasil é o terceiro maior produtor e líder mundial nas exportações de carne de frango, ocupando 40% do mercado mundial. Apresenta um dos maiores índices de consumo médio de frango por habitante, que se elevou de 12,7 para 37,8 kg entre 1989 e 2007, atrás apenas dos Estados Unidos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS – ABEF, 2007)³¹. Isso se deve ao preço mais baixo em relação ao das carnes bovina e suína, pela estabilidade promovida pelo plano real e pela diversidade e praticidade dos produtos oferecidos, associadas ao conceito de um produto saudável pobre em gorduras, desde que seja consumido sem pele³². Essa carne apresenta rico teor de proteínas de boa qualidade e pode ser consumida em todas as idades e,

sem pele, por alguém que tenha riscos cardiovasculares, pois contem uma baixa taxa de colesterol. Na realidade, a carne de aves constitui uma fonte importante de proteínas de boa qualidade, ricas em aminoácidos indispensáveis, com valor biológico comparável ao das outras carnes²¹.

2.4. Processamentos térmicos das carnes

O valor nutritivo de um alimento é o resultado de seu efeito sobre a saúde de quem o consumiu. Em relação à carne bovina, assim como para os demais alimentos, é determinado pela combinação de três fatores: sua composição, o modo de preparo e o estado de saúde do indivíduo consumidor. O valor nutricional da carne pode ser alterado quando a mesma é processada, no caso de descongelamento incorreto e durante a cocção. A diminuição do peso, ou rendimento também estão associados ao aumento da temperatura, tempo e equipamento utilizado para seu preparo³³.

Os diferentes métodos de cocção existentes podem ser um fator importante e interferente na qualidade da proteína da carne. Sabe-se que ao aplicar uma temperatura elevada na carne, suas proteínas se desnaturam e ocorre a reação de Maillard, responsável por produzir componentes que não serão absorvidos e aproveitados pelo organismo humano⁶.

Além da reação de Maillard, os tratamentos térmicos como a cocção de um alimento protéico promovem a conversão do colágeno em gelatina e a desnaturação das proteínas. O aquecimento da carne também pode provocar alterações nas gorduras, que resultam na formação de aromas particulares para cada tipo de carne. O cozimento da carne afeta a sua textura pelas alterações estruturais das proteínas microfibrilares, alteração do pH e capacidade de retenção de água, redistribuição da gordura e alteração do tecido conectivo. Todas essas alterações, que afetam a qualidade da carne, estão também ligadas à espécie do animal, sua alimentação, idade e sexo, bem como ao estado físico (maior ou menor teor de glicogênio) antes do abate³⁴.

As diversas formas de calor transmitem aos alimentos características especiais e perdas de parte ou de toda sua estrutura. As cocções em água ou

vapor se distinguem pelas perdas produzidas em alimentos, enquanto que as cocções pelo calor seco, pelo ar confinado ou ar livre, se destacam pelas transformações que operam. A cocção por ar confinado, pela menor perda líquida, exalta as qualidades suculentas do alimento, como por exemplo, em carnes e mantém quase integralmente seus componentes solúveis; a cocção por calor tanto em ar confinado quanto ao ar livre gera transformações superficiais nos alimentos, ocorridas quando há excesso de tempo de exposição calórica³⁵.

Os principais objetivos da cocção dos alimentos são³⁶:

- Manter ou melhorar o valor nutritivo
- Aumentar a digestibilidade;
- Aumentar a palatabilidade, diminuindo, acentuando ou alterando a cor, o sabor, a textura ou a consistência dos alimentos;
- Inibir o crescimento de organismos patogênicos ou o desenvolvimento de substâncias prejudiciais à saúde.

O processo de cozimento é fator determinante da capacidade de retenção de água da carne (suculência). Carne que atinge uma dada temperatura interna mais rapidamente apresenta-se mais suculenta, sendo que esse fato é melhor observado até 70°C, pois a partir dessa temperatura as alterações protéicas são tão intensas que o tempo de cozimento torna-se indiferente. Quando a carne é assada forma-se uma superfície (capa) de proteína coagulada que impede a perda de suco; quanto mais rápido o processo de aquecimento mais rápido será a formação dessa capa. Fato semelhante ocorre quando se cozinha a carne mergulhando-a em água já quente em comparação quando é cozida mergulhando-a em água que inicialmente estava fria³⁷.

Os procedimentos que envolvem aplicação de calor utilizado para cocção de alimentos são: calor úmido, calor seco, calor direto e calor misto³⁵.

2.4.1. Calor úmido

Na propagação de calor úmido participam a água e o vapor de água³⁵. É uma cocção lenta, na qual o vapor hidrata o alimento, abrandando as fibras³⁶.

Como características principais esperadas em alimentos pela cocção de calor úmido figuram as perdas de nutrientes e outras substâncias, por dissolução e a não formação de crostas³⁵.

Quando se utiliza o método de cocção por calor úmido, é importante destacar que podem haver perdas por dissolução de componentes hidrossolúveis, alterando-se desta forma, o valor nutritivo do alimento³⁶.

Quando se trata de carnes, o prestígio nutritivo de caldos se deve justamente à passagem para meio aquoso de compostos solúveis como proteínas, minerais, substâncias extrativas e vitaminas³⁵.

As diferentes formas de cocção por calor úmido são³⁶:

Cocção em líquido: consiste em cozinhar os alimentos em água. Os tipos de cocção que empregam o calor úmido são fervura em fogo lento e fervura em ebulição.

Cocção a vapor: consiste em cozinhar por meio do vapor que envolve o alimento. Este método apresenta a vantagem de realçar a aparência dos alimentos, além de reduzir as perdas por dissolução, preservando o valor nutritivo.

2.4.2. Calor seco

O calor seco ocorre quando, no método de cozimento, a ação é a desidratação do alimento. A aplicação desta forma de calor pode ser realizada por meio indireto ou direto³⁶.

A cocção por calor seco visa manter sempre o ar ambiente aquecido, que produz no alimento modificações de sua superfície. Em presença de produtos com grande teor de água, o calor seco provoca sua lenta evaporação³⁵. De acordo com PHILIPPI, os métodos de cocção por calor seco são:

Assar no forno: aplicação de ar quente e calor indireto.

Grelhar: método que consiste em preparar os alimentos por exposição ao calor seco e forte, utilizando-se grelha (meio indireto). Para grelhar são utilizadas chapas aquecidas que transferem calor ao alimento por meio direto³⁶.

2.4.3. Calor misto

A cocção é realizada em duas etapas, inicia-se com calor seco, para formar uma camada protetora em volta do alimento e impedir a saída dos sucos; posteriormente, submete-se o alimento a calor úmido, adicionando-se pequenas quantidades de líquido³⁶.

2.4.4. Radiação micro-ondas

O forno de radiação micro-ondas (MW) é um equipamento que passou a fazer parte da maioria dos lares nas duas últimas décadas. Talvez o ponto mais favorável na sua utilização em relação ao fogão, está relacionado com o menor tempo requerido para efetuar o cozimento dos alimentos³⁸.

A energia da radiação micro-ondas se converte em calor ao ser absorvida pela matéria. Algumas das principais características do aquecimento por micro-ondas em relação a outras formas convencionais de aquecimento são: o aumento da temperatura é muito rápido e a velocidade do aquecimento pode ser estimada como quatro vezes superior ao processo convencional; e o nível de potência pode ser ajustado eletronicamente em uma fração de segundos³⁹.

A cocção por radiação micro-ondas ocorre por meio de ondas eletromagnéticas, geradas por unidades emissoras chamadas magnetrons. O aquecimento se dá à medida que as micro-ondas penetram no alimento, causando fricção entre as moléculas de água e conseqüentemente, produzindo calor³⁶.

O forno de micro-ondas é um equipamento capaz de agilizar o preparo, o aquecimento e o descongelamento dos alimentos, permite ainda uma melhor preservação do valor nutritivo dos mesmos³⁶.

2.4.5. Congelamento

Processos de conservação através de refrigeração e congelamento podem alterar fisicamente as carnes, promovendo alterações nos teores dos elementos traço. O processo de refrigeração utiliza temperaturas entre -1°C e 10°C . Esse processo não possui ação esterilizante, apenas retarda as atividades microbianas já existentes e impede o surgimento de novos agentes deteriorantes. Apesar do método de refrigeração possibilitar a manutenção das qualidades nutritivas da carne, ele é menos eficaz quando se trata da manutenção dos caracteres sensoriais⁴⁰.

O congelamento, por empregar temperaturas mais baixas que a refrigeração, prolonga o tempo de conservação da carne. As temperaturas utilizadas diminuem ou paralisam a deterioração causada por microrganismos, enzimas ou agentes químicos. Além disso, o congelamento é um dos melhores métodos para manter a cor, o aroma e a aparência do alimento⁴¹⁻⁴³.

O processo de congelamento que ocorre geralmente nas amostras de carne é caracterizado pelo congelamento do tipo lento que leva à formação de cristais de gelo nos espaços intracelulares e no interior das células. Esses cristais podem gerar o rompimento das células e dos tecidos, o que pode acarretar no aprisionamento de sólidos no interior dos mesmos. Com o processo de descongelamento ocorrem perdas através do gotejamento da água formada e conseqüentemente dos sólidos ali dissolvidos, por não ocorrer reabsorção total do suco da carne^{44,45}.

2.5. Biodisponibilidade

Para que elementos químicos sejam utilizados pelos sistemas biológicos, é necessário que estejam disponíveis para absorção. Sendo assim apenas a sua abundância na natureza não é fator que garanta a sua absorção. Essa disponibilidade é influenciada por vários fatores como: capacidade de solubilização das espécies dos elementos, pela possibilidade de ionização dos compostos solúveis, pela formação de complexos e pelas condições de

prevalência dos diferentes estados de oxidação dos elementos na região da estabilidade da água^{3,46-49}.

Através da determinação do teor total do nutriente ingerido, não é possível medir o quanto deste nutriente será absorvido, pois existem diversos fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam no aproveitamento dos nutrientes. Dentre os fatores intrínsecos podem ser destacadas: a espécie do nutriente, a matriz onde o nutriente está incorporado e a ligação molecular desse nutriente. Com relação aos fatores extrínsecos destacam-se: a quantidade desse nutriente na dieta associada às interações que ele pode sofrer, os atenuadores de bioconversão, o estado nutricional do indivíduo e os fatores genéticos relacionados ao indivíduo⁴⁹⁻⁵¹.

Para estimar a qualidade de uma fonte dietética de um determinado mineral, é necessário definir com precisão a quantidade de minerais disponíveis para a absorção e utilização, ou seja, sua biodisponibilidade⁵². A biodisponibilidade de minerais e oligoelementos tem gerado crescente interesse no campo da nutrição. Biodisponibilidade deve ser determinada por medidas *in vivo*⁵³. Idealmente, esse tipo de pesquisa deve ser feito com seres humanos. No entanto, tais estudos são difíceis, caros e fornecem informações limitadas a cada experimento⁵⁴. Os ensaios em animais são mais baratos, porém bastante limitados, principalmente devido às diferenças existentes entre o metabolismo de animais e de seres humanos. Como alternativa para estudos em animais e *in vivo*, a disponibilidade de minerais ou elementos traço também pode ser estimada com base em métodos *in vitro*¹⁵.

As técnicas *in vitro* permitem estimar disponibilidade de elementos inorgânicos considerados essenciais. Esse método é capaz de quantificar a capacidade solúvel ou dialisável do nutriente, mas não a disponibilidade deste propriamente dito, uma vez que nem todo o material solúvel ou dialisável é absorvido. As principais vantagens da método são: (1) permite o melhor controle das variáveis, tornando-se um modelo importante no sentido de prever e sugerir estudos *in vivo*; e (2) o baixo custo metodológico. Porém esse procedimento apresenta como desvantagem o fato de não reproduzir a maioria dos fatores

fisiológicos envolvidos na absorção e na utilização do nutriente. Portanto, essa metodologia é um importante precursor para estudos envolvendo apenas a quantidade de mineral disponível no trato gastrointestinal para a absorção, ou seja, a bioacessibilidade¹⁵.

Estes métodos são amplamente utilizados por sua boa correlação com estudos *in vivo*^{55,56}. Valores de bioacessibilidade devem ser tomados como índices relativos de biodisponibilidade, o que significa que o método fornece uma boa base para o estabelecimento de tendências, comparações e na determinação dos efeitos causados por diferentes fatores⁵⁷.

A determinação da digestibilidade dos nutrientes empregando digestões enzimáticas com pepsina e pancreatina, simulando processos que ocorrem no sistema digestivo do indivíduo tem sido freqüentemente empregada na avaliação do valor nutricional dos alimentos⁵⁸. Esse modelo de simulação da digestão gastrointestinal foi proposto por MILLHER et al. e atualmente é o método de digestão simulado recomendado pela farmacopéia americana⁵⁹. Nesse processo, as enzimas digestivas liberam minerais, tornando-os bioacessíveis. Câmara e colaboradores (2005) determinaram as espécies de ferro e avaliaram a bioacessibilidade de cada espécie desse elemento em merenda escolar. Outros estudos, também visando especificação e bioacessibilidade de As, Hg, Cu, Mn, Se e Zn têm sido propostos⁶⁰⁻⁶⁵.

Do exposto acima é possível observar que os alimentos são nossa principal fonte de nutrientes minerais e a sua absorção é dependente da forma como o alimento é preparado. A qualidade nutricional dos alimentos está relacionada não só à concentração dos minerais, mas também à concentração e ao tipo de proteínas presentes, à existência de compostos antinutricionais, ao tipo de outros compostos presentes e também a ligação dos minerais com esses compostos⁹. Por isso, determinar os processos de absorção e utilização de micronutrientes em dietas mistas dos seres humanos em condições normais, provavelmente continuará sendo um importante desafio para nutricionistas, químicos e bioquímicos por muitos anos. Conhecer a influencia de micronutrientes de alimentos vegetais e animais é necessário para melhorar e manter a saúde

nutricional e bem estar das pessoas, especialmente mulheres, lactentes e crianças nos países em desenvolvimento⁶⁶.

2.6. Importância do Ca, Cu, Fe, Mg e Zn no organismo

Deficiências nutricionais de minerais essenciais como Ca, Cu, Fe, Mn e Zn têm enormes custos sociais, incluindo dificuldades na aprendizagem das crianças, aumento nas taxas de morbidade e mortalidade, menor produtividade do trabalhador e altos investimentos em saúde. Tudo isto provoca a diminuição do potencial humano e do desenvolvimento econômico⁶⁷.

2.6.1. Cálcio

O cálcio é responsável por algumas funções metabólicas quando ligado a enzimas tais como: coagulação sanguínea, regulação da contração muscular, secreção de hormônios e neurotransmissores, adesão celular e funções de proteínas e citoesqueleto⁹.

A eficiência na absorção do cálcio é praticamente similar na maioria dos alimentos, incluindo leite e seus derivados. Deve-se ressaltar que o cálcio pode ter baixa absorção em alimentos ricos em ácido oxálico, como espinafre, batata-doce e feijão. O ácido oxálico é o inibidor mais potente da absorção de cálcio. A absorção do cálcio do espinafre é de apenas 5%, comparada a 27% do leite em doses similares⁶⁸. Alimentos ricos em ácido fítico, como feijão cru, sementes, castanhas, cereais e isolados de soja, também podem proporcionar baixa absorção de cálcio. No entanto, o ácido fítico (forma de armazenamento de fósforo em sementes) é um inibidor moderado. A absorção de cálcio de vários produtos perecíveis parece ser equivalente. Fitatos, a cafeína, o ferro e o zinco em altos níveis também podem interferir de forma negativa na absorção⁶⁹. A ingestão de sódio em altas concentrações apresenta bastante influência na perda óssea, liberando quantidades consideráveis de cálcio na urina. Em relação à solubilidade dos sais de Ca, a faixa de absorção de sais de acetato, lactato, gluconato, citrato e carbonato estão entre 25 e 40% e esses têm sido utilizados em suplementos.

A presença da vitamina D é essencial na absorção de cálcio. Leite e seus derivados são as melhores fontes naturais de Ca, sendo que 75 a 89% da ingestão e absorção de todo o cálcio vêm destas fontes⁷⁰.

Outras fontes de Ca são vegetais, frutas, grãos, peixes, aves e carnes. A ingestão recomendada (DRIs) tem sido estabelecida em diferentes idades do indivíduo, variando entre 800 a 1300 mg/dia⁹.

A deficiência de cálcio pode causar osteoporose, hipertensão e raquitismo. E o excesso na ingestão pode provocar insuficiência renal, síndrome da hipercalcemia e formação de pedras nos rins^{9,71}.

2.6.2. Cobre

O cobre tem funções orgânicas específicas por ser constituinte de enzimas com atividade de oxidação e redução. Possui papel primordial em células fisiológicas, atuando como co-fator catalítico na química redox de enzimas para proteínas que realizam funções biológicas fundamentais necessárias para o crescimento e desenvolvimento¹¹. O cobre também é necessário para respiração mitocondrial e absorção de Fe¹².

Outro aspecto relevante é o estudo da deficiência e do excesso de cobre considerando dois erros congênitos raros do metabolismo; a síndrome de Menkes, na qual há um defeito na absorção intestinal de Cu, com adaptação defeituosa pelos tecidos, provocando deficiência funcional grave; e a doença de Wilson, na qual há um defeito na excreção de Cu pela bile, levando a maior acúmulo nos tecidos⁹.

Deficiências de cobre são menos freqüentes que deficiências de outros elementos e tem sido identificado em bebês prematuros e crianças com desnutrição ou quando ocorre baixa ingestão desse mineral na dieta⁷².

Fatores da dieta podem alterar significativamente a biodisponibilidade de cobre. O zinco em excesso prejudica a absorção de cobre, existindo dois mecanismos propostos para explicar esse fato. O primeiro sugere que ambos os íons competem pela mesma proteína ligante na mucosa intestinal. O outro está relacionado com a indução da síntese de metalotioneína pelo zinco nas células da mucosa intestinal, causando aumento na retenção intracelular de Cu e

conseqüente redução de transporte pelo plasma. Suplementos de cálcio também podem prejudicar a absorção de cobre, pois aumentam o pH do conteúdo intestinal, tornando os sais de Cu menos solúveis. Alta ingestão de ferro pode afetar o estado nutricional relativo a cobre⁹.

A biodisponibilidade de cobre pode ser discutida sob vários aspectos. No processamento dos alimentos devem ser considerados tratamentos químicos que envolvam oxidação ou redução, os quais podem diminuir e afetar a biodisponibilidade do mineral. A trituração de grãos integrais, que remova o farelo e o gérmen, pode reduzir o conteúdo de cobre em mais de 45%. Durante o tratamento térmico, prejuízos na biodisponibilidade de cobre são caracterizados, em razão da formação de compostos de produtos da reação de Maillard⁹.

Cerca de 30% de cobre, na forma de sulfato de cobre (CuSO_4) é absorvido do trato gastrointestinal em humanos. O aumento do pH reduz a absorção desse metal. Isto é provavelmente devido à diminuição Cu^{2+} e um predomínio de hidróxido de cobre (II) $[\text{Cu}(\text{OH})_2]$, que tende a precipitar^{73,74}. Uma fração do cobre em grãos de cereais pode formar quelato com lectinas e glicoproteínas, que se dissociam em valores baixos de pH e formam complexos insolúveis. Complexo de cobre, como o cobre metionina, é mais facilmente absorvido do que o cobre na forma de sais inorgânicos. Cisteína e ácido ascórbico, em contrapartida, podem reduzir a biodisponibilidade de cobre, provavelmente através da redução do Cu (II) para Cu (I)⁷³⁻⁷⁶.

2.6.3. Ferro

O ferro tem funções metabólica e enzimática. Como exemplo, participa da síntese da hemoglobina ou da mioglobina e as enzimas contendo Fe participam de reações redox e de transferência de elétrons¹⁰. De acordo com WHO/UNICEF, a deficiência de ferro é a mais simples e persistente deficiência nutricional do mundo⁷⁷.

Estima-se que quase 40% da população mundial apresente carência de ferro ou níveis baixos de hemoglobina, estabelecendo uma situação de risco que inclui indivíduos tanto dos estratos sociais mais privilegiados como dos mais

carentes, especialmente o grupo materno-infantil: lactentes, pré-escolares, escolares, gestantes e nutrizes. Como pode existir deficiência de ferro sem a presença de anemia, a ocorrência de carência de ferro na população apresenta uma magnitude ainda maior do que a prevalência da anemia ferropriva^{78,79}. A carência desse nutriente prejudica a nutrição e a saúde, o desenvolvimento físico e o aprendizado⁸⁰.

BIANCHI e colaboradores ressaltam que, embora a anemia seja um dos maiores problemas mundiais de saúde pública, paradoxalmente a média de ferro total presente na dieta de diversas regiões encontra-se acima das recomendações diárias necessárias para suprir o uso metabólico normal desse mineral. A anemia é decorrente da baixa biodisponibilidade do ferro nos alimentos, principalmente os de origem vegetal⁸¹.

O ácido ascórbico, quando ingerido juntamente com o ferro não-heme, potencializa sua absorção, mantendo-o na forma de quelato solúvel no intestino delgado⁸². O ácido ascórbico e a carne ou tecido animal são os dois maiores promotores dietéticos, conhecidos, da biodisponibilidade de ferro. Como agente redutor, o ácido ascórbico mantém o ferro dos alimentos no estado ferroso, mais solúvel. Também forma quelato ferro-ascorbato, que se mantém solúvel mesmo com o aumento do pH no intestino delgado proximal⁸³. O ferro contido em frutas e vegetais, que são ricos em ácido ascórbico, normalmente é 15% disponível^{81,84}.

Alguns fatores intraluminais afetam negativamente a quantidade de ferro disponível para absorção. Entre esses podem ser citados os fatores antinutricionais, tais como o ácido oxálico, o ácido fítico e polifenóis (taninos, por exemplo), que formam precipitados, quelatos insolúveis ou macromoléculas que diminuem a absorção do ferro^{81,84,85}.

As carnes podem aumentar de duas a quatro vezes a absorção do ferro não-heme. Esse fato ocorre pela presença de altas quantidades de aminoácidos sulfurados em conjunto com a ausência de fatores que inibem a absorção do ferro. Entretanto, as proteínas contidas no queijo e no leite reduzem significativamente a absorção de ferro devido às altas concentrações do cálcio⁸⁶.

Ferro na forma de Fe^{2+} geralmente é absorvido pelo trato gastrointestinal mais facilmente do que Fe^{3+} , provavelmente devido à sua maior solubilidade. Além disso, quelantes alimentares podem aumentar ou reduzir a formação de complexos insolúveis com íons Fe^{2+} e, portanto, afetar a absorção Fe^{2+} . Por exemplo, EDTA pode aumentar significativamente a biodisponibilidade do Fe^{2+} no pão, em contrapartida, os fitatos podem formar complexos insolúveis no lúmen intestinal em valores de pH em que não são absorvidos. Na presença de fitase, Fe^{2+} inorgânico é liberado e está disponível para a absorção como cátion bivalente⁸⁷⁻⁹⁰.

2.6.4. Magnésio

O magnésio é necessário para o metabolismo energético e está envolvido na síntese protéica. Participa de mais de cem sistemas enzimáticos, sendo que uma de suas principais funções é mediar o processo de catálise para as reações com fosfato e produção de energia, o ATP4-6. Os processos fisiológicos da contração muscular e da coagulação sangüínea são dependentes da presença de cálcio e de magnésio, devendo ser enfatizada a necessidade de se avaliar possíveis interações entre os dois minerais^{91,92}.

O magnésio está amplamente distribuído nas fontes alimentares vegetais e animais, porém em diferentes concentrações. Os vegetais folhosos são as melhores fontes, seguidos por legumes, produtos marinhos, nozes, cereais e derivados do leite. Fitatos, fibras, álcool ou excesso de fosfato e cálcio diminuem a absorção de magnésio, ao passo que a lactose e outros carboidratos podem aumentar⁹.

A recomendação diária de Mg é de aproximadamente 350 mg dia^{-1} e a deficiência pode ocasionar aumento da irritabilidade muscular e arritmias cardíacas⁹.

2.6.5. Zinco

O zinco é um componente essencial para a atividade de mais de 300 enzimas, além de atuar como estabilizador de estruturas moleculares. Participa da síntese e da degradação de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos.

Pode estar presente na dieta associado às moléculas orgânicas, por exemplo, proteínas, fitatos e carboidratos, ou na forma de sais inorgânicos, como em suplementos ou em alimentos fortificados. As principais fontes de zinco são leite, ostras, camarão, carne bovina, de frango e de peixe, fígado e gérmen de trigo, entre outros⁹.

O zinco é um espécie atômica pequena e se comporta quimicamente como um ácido de Lewis capaz de doar elétrons, o que determina a sua passagem pelas membranas biológicas tanto por mecanismos de difusão passiva quanto por transporte ativo. O metal é transferido do lúmen intestinal para o interior do enterócito (é um tipo de célula epitelial da camada superficial do intestino delgado e intestino grosso). Estas células podem quebrar moléculas e transportá-las para dentro dos tecidos, ultrapassando a borda em escova, e daí para a circulação sanguínea, em um processo que envolve os transportes paracelular e mediado por carreadores⁹³.

Uma boa fonte de zinco não deve conter constituintes químicos que inibem sua absorção. Além disto, a presença de alguns aminoácidos, como cisteína e histidina melhoram a sua solubilidade⁹.

O conteúdo de fitato presente nos alimentos reduz a biodisponibilidade de Zn. A razão molar fitato:Zn de 20 já pode produzir efeito negativo, pois o fitato é carregado negativamente; logo, tem um forte potencial para se ligar a cátions bivalentes, tais como o zinco, impedindo sua absorção^{47,94}.

Outros componentes de alimentos tais como fibras, taninos e cafeína parecem não afetar a utilização de zinco pelo organismo⁹. Por outro lado, DYCK e colaboradores, em estudo *in vitro* no qual foi avaliada a disponibilidade de Fe, Ca e Zn de uma refeição contendo 4 componentes alimentares diferentes (café, vitamina C, farinha de trigo e pectina), observaram que, com exceção da vitamina C, todos os demais componentes tiveram efeitos negativos na disponibilidade desses minerais, sendo que o maior efeito foi da farinha de trigo, sendo Zn o analito que sofreu maior interferência⁹⁵. O ferro, se fornecido junto com o zinco através de suplemento pode ter efeito negativo na absorção de Zn⁹⁶.

A deficiência de zinco pode provocar anorexia, baixo crescimento e defeito no crescimento fetal, cicatrização lenta, intolerância à glicose pela diminuição de produção de insulina, impotência sexual e atrofia testicular, atraso na maturação sexual e esquelética, restrição da utilização da vitamina A, desordens de comportamento, aprendizado e memória, diarreia e dermatites⁹⁷.

2.7. Proteínas

As proteínas são macromoléculas presentes em todas as células dos organismos vivos⁹⁸. Além de constituírem o componente celular mais abundante, são as moléculas mais diversificadas quanto à forma e função⁹⁹.

Elas podem ser de origens exógenas, provenientes das proteínas ingeridas pela dieta, ou endógenas, derivadas da degradação das proteínas celulares do próprio organismo⁹⁸. Segundo SGARBIERI, as proteínas são nutrientes essenciais ao organismo humano, devendo estar presentes na alimentação em quantidades adequadas⁶. Além de levar em consideração o aspecto quantitativo, deve ser considerado o aspecto qualitativo das proteínas, isto é, o seu valor nutritivo, o qual, por sua vez irá depender dos seguintes aspectos: composição, digestibilidade, biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e ausência de toxicidade e ou de propriedades antinutricionais.

As proteínas desempenham muitas funções nos alimentos e poderiam ser melhoradas se houvesse maior conhecimento acerca dos mecanismos que condicionam e regem seu comportamento. É fundamental que haja o entendimento profundo de todos os componentes dos alimentos e das relações entre eles para a otimização dos processos tecnológicos¹⁰⁰.

2.7.1. Composição das proteínas

Todas as proteínas, sejam das linhagens mais antigas de bactérias, sejam das formas mais complexas da vida, são compostas por 20 aminoácidos, ligados covalentemente em seqüência lineares características: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, tirosina, triptofano, serina, treonina, cisteína, metionina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, lisina, arginina e histidina¹⁰¹.

Alguns aminoácidos são considerados essenciais, pois devem estar presentes na dieta em quantidades e proporções definidas, uma vez que o organismo humano não possui a capacidade de sintetizá-los a partir de outras substâncias. Tais aminoácidos são os seguintes: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina⁶.

2.7.2. Funções das Proteínas

As proteínas estão entre as macromoléculas biológicas mais abundantes e também são extremamente versáteis em suas funções¹⁰¹. Exercem papel de grande importância no ciclo vital do homem e suas funções estão ligadas a um grande número (quase que a totalidade) de reações homeostáticas¹⁰².

As funções que as proteínas desempenham são estruturais e dinâmicas. Formam componentes do esqueleto celular e de estruturas de sustentação, além de participar de quase todos os processos biológicos⁹⁹. Entre outras, podem ser citadas as seguintes funções: plástica; formação de enzimas; formação de anticorpos; formação de hormônios; equilíbrio ácido-básico; distribuição de líquidos no organismo; transporte de substâncias; transporte de oxigênio; coagulação do sangue; atividade muscular além de apesar de em menor valor, como substrato energético¹⁰².

Segundo LEHNINGER as proteínas podem ser classificadas de acordo com suas funções biológicas, como as descritas a seguir:

Enzimas: o grupo de proteínas mais variado e altamente especializado e cujos componentes possuem atividade catalítica. Cada enzima é capaz de catalisar um tipo de reação química diferente¹⁰¹.

Proteínas transportadoras: estão no plasma sanguíneo, ligam-se a íons ou a moléculas específicas, os quais são transportados de um órgão para outro. Outros tipos de proteínas de transporte estão presentes nas membranas plasmáticas e nas membranas intracelulares de todos os organismos; estão aptas a ligarem-se, por exemplo, à glicose, aos aminoácidos ou a outras substâncias e a seguir transportá-las através dessas membranas.

Proteínas contráteis ou de motilidade: algumas proteínas habilitam células e organismos com a capacidade de contraírem-se, de mudarem de forma, ou de se deslocarem no meio ambiente.

Proteínas de defesa: muitas proteínas defendem o organismo contra a invasão de outras espécies. As imunoglobulinas ou anticorpos, proteínas especializadas sintetizadas pelos linfócitos dos vertebrados, podem reconhecer e precipitar ou neutralizar os invasores.

Proteínas reguladoras: algumas proteínas ajudam a regular a atividade celular ou fisiológica. Entre elas estão muitos hormônios; alguns deles incluem a insulina que regula o metabolismo dos açúcares e o hormônio de crescimento da hipófise.

2.7.3. Digestibilidade da Proteína

A digestibilidade da proteína deve ser entendida como a porção da proteína que pode ser hidrolisada pelas enzimas digestivas até aminoácidos e que, portanto, estariam disponíveis biologicamente, desde que não houvesse nenhuma interferência na absorção dos aminoácidos pelo organismo humano¹⁰³. A digestibilidade *in vitro* de uma proteína é estimada utilizando enzimas proteolíticas que agem normalmente na digestão, procurando imitar, inclusive, as condições de acidez características do estômago e do intestino, onde a digestão das proteínas se processa⁶.

As proteínas não sofrem modificações químicas na cavidade oral, porém a mastigação pode quebrá-las em partículas menores. A chegada da proteína no estômago estimula a mucosa gástrica a secretar o hormônio gastrina, o qual, por sua vez, estimula a secreção de ácido clorídrico pelas células parietais e de pepsinogênio pelas células principais das glândulas gástricas. O suco gástrico ácido (pH 1,0 – 2,5) é um agente desnaturante de proteínas globulares e torna as ligações internas dos peptídeos mais acessíveis à hidrólise enzimática. O pepsinogênio, precursor inativo (zimogênio), é convertido à pepsina ativa pela alteração do pH. Essa fase da digestão no estômago representa apenas de 10 a 20% de digestão total da proteína^{101,104}.

Segundo DUNKER et al., a próxima fase da digestão ocorre no duodeno e no jejuno. O conteúdo ácido do estômago passa para o intestino delgado, o pH baixo provoca a secreção do hormônio secretina no sangue, que vai estimular o pâncreas a secretar bicarbonato para neutralizar o ácido, aumentando o pH para cerca de 7,0¹⁰⁴.

A digestão das proteínas continua a ocorrer no intestino delgado. A entrada de aminoácidos na parte superior do intestino (duodeno) libera o hormônio colicistoquinina, que estimula a secreção de várias enzimas pancreáticas que exibem atividade ótima em valores de pH entre 7,0 e 8,0. Três dessas enzimas, tripsina, quimiotripsina e carboxipeptidases, são sintetizadas pelas células exócrinas do pâncreas na forma de seus zimogênios enzimaticamente inativos, tripsinogênio, quimiotripsinogênio e procarboxipeptidase¹⁰¹.

De acordo com LEHNINGER, pela ação seqüencial das enzimas proteolíticas e peptidases as proteínas ingeridas são hidrolizadas até uma mistura de aminoácidos livres, que pode então ser transportada através das células epiteliais que, por sua vez, recobrem internamente o intestino delgado. Os aminoácidos livres entram nos capilares sanguíneos das vilosidades e são transportados até o fígado, onde serão posteriormente metabolizados¹⁰¹.

2.8. Reação de Maillard

A reação entre carbonilas e aminas, conhecida como reação de Maillard, desempenha papel importante na estabilidade dos alimentos no desenvolvimento de cor, sabor, nutrição e saúde¹⁰⁵.

A “reação de Maillard” foi primeiramente descoberta pelo químico francês Louis-Camille Maillard em 1912, através da reação amino-carbonil durante a tentativa de síntese de peptídeos em condições fisiológicas¹⁰⁶. Nesse trabalho Maillard descreve o desenvolvimento de pigmentos marrons resultantes da reação entre a glicose e o aminoácido glicina⁶. No entanto, somente em 1953 foi proposto por Hodge um esquema coerente para esta reação, no qual um açúcar, como a glucose, se condensa com um composto que contém um grupo amino livre (de um

aminoácido ou proteína), resultando em um produto condensado N-substituído de glicosilamina, que se rearranja para formar o produto de Amadori¹⁰⁷.

O esquema de Hodge permanece útil até hoje, mas com algumas ressalvas. O esquema é um simples resumo das reações que ocorrem e, além disso, nos anos posteriores um grande número de pesquisas sobre a reação de Maillard foi realizada, sendo estabelecidas outras vias importantes que não originalmente visualizadas¹⁰⁵.

Hoje em dia, as reações que ocorrem entre proteínas e açúcares redutores são conhecidas como do tipo Maillard, altamente dependente da temperatura, do pH e da atividade da água no sistema. Como exemplo pode ser citada a velocidade da reação, que cresce linearmente com o aumento temperatura e do pH, sendo o resultado final o escurecimento do produto, bem como o acúmulo de certos compostos de degradação, que podem ser tóxicos, ocasionando perda de digestibilidade e de valor protéico. Por causa da produção de pigmentos escuros, a reação é também conhecida como reação de escurecimento não enzimático⁶.

Uma vez desencadeada a reação, fica muito difícil interrompê-la. No alimento, é dependente da presença do açúcar redutor que dará o grupamento carbonila C=O, advindo de um aldeído ou cetona¹⁰⁵.

As modificações induzidas pela “reação de Maillard” têm como principal consequência à diminuição do valor nutritivo das proteínas. Os produtos desta reação geralmente estão presentes em alimentos que contêm altos teores de açúcares redutores, armazenados com altos valores de umidade e que sofreram aquecimento acima de 60 °C, afetando as características da parede celular¹⁰⁸.

2.8.1. Etapas da “reação de Maillard”

Segundo os autores OUTERER E SARMENTO, a reação ocorre preferencialmente em meio alcalino em 3 etapas distintas, são elas¹⁰⁵:

Etapa 1: é necessário a abertura do anel do açúcar ou o açúcar na forma redutora. Inicialmente o açúcar redutor, glicose, condensa-se com o aminoácido. A ação do calor e a presença de água aceleram a reação. Essa condensação se faz no carbono reativo. A relação açúcar aminoácido é 1:1 no início.

O composto formado se desidrata, levando à formação da base de Schiff, insaturada e instável. A proporção de liberação de água é de 1:1 em relação ao açúcar combinado. O rearranjo para a forma cíclica é imediato, mais estável devido à formação da ligação hemiacetálica entre os carbonos 1 e 5. É a glicosilamina N substituída ou aldossilamina. Por ser o último componente da reação em equilíbrio com a solução aquosa, encerra a etapa 1.

Etapa 2: consta do rearranjo de Amadori, reação chave para o escurecimento. Ocorre a entrada e a saída de um H^+ , inicialmente formando o catiônico da base de Schiff (capaz de doar prótons) e isomerização, dando um amino, 1 desoxi, 2 cetose, N substituídos. É a forma ceto (cetoseamina) mais estável e que encerra a etapa 2.

Etapa 3: de "Maillard", composta por dois caminhos:

a) A partir do produto da etapa 2, que é sensível ao calor em estado seco, mesmo em valor de pH ácido. Caso aquecida se desidrata, sofrendo fissão, gerando substâncias marrons. Em estado líquido, se o valor do pH for alcalino, ocorre o escurecimento imediato.

b) A etapa 3 da reação de "Maillard", partindo da cetoseamina pode ser entendida como uma série de reações que ainda não estão totalmente elucidadas e generalizadas. Experimentalmente, partindo de 1 glicina, 1 deoxi, 2 cetose, D-frutose, chega-se ao hidroximetil furfural, que reage com os compostos iniciais ocorrendo à polimerização e a formação das melanoidinas.

Resumidamente, o escurecimento não enzimático pode ser representado pelas figuras 2.3 e 2.4³⁴.

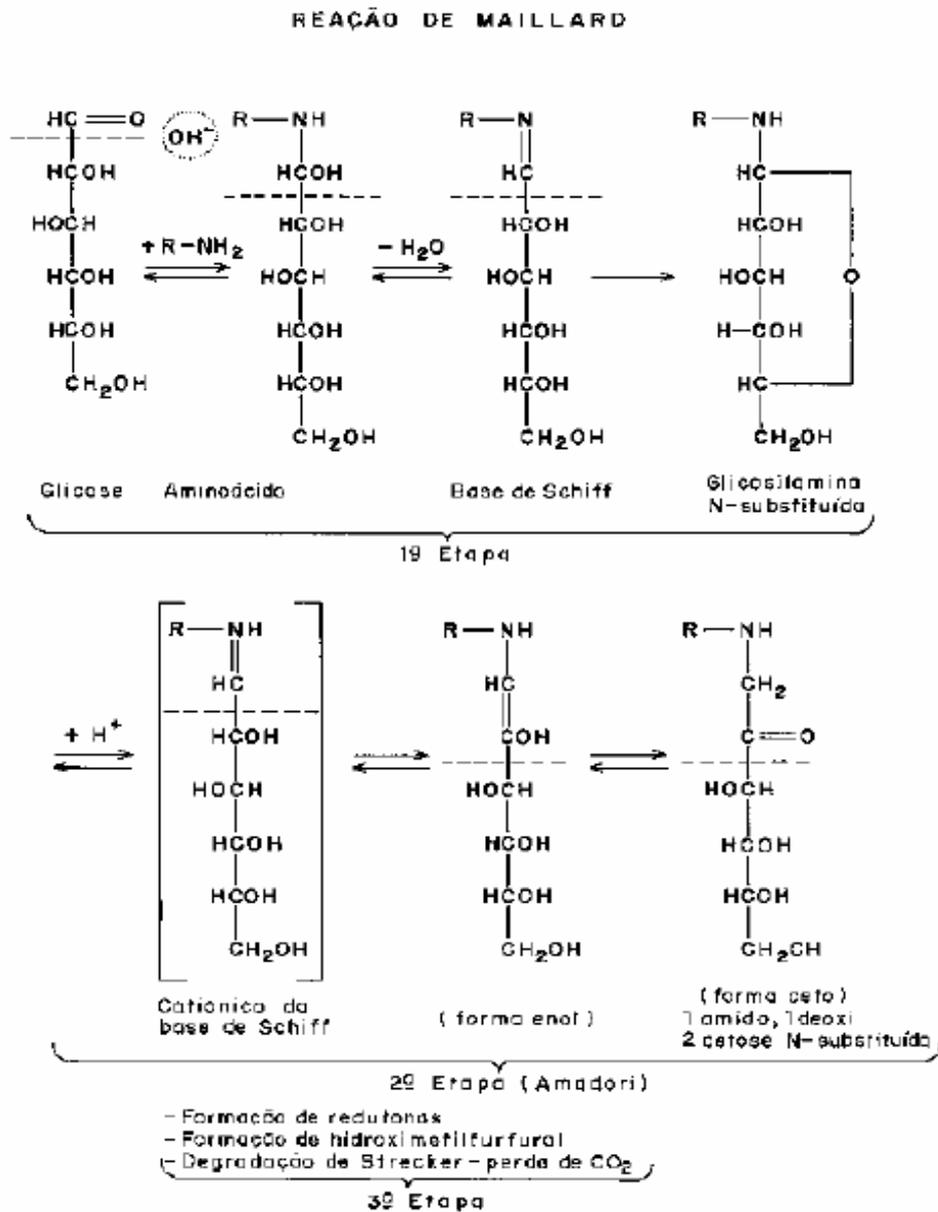


FIGURA 2.3- Etapas da Reação de Maillard FONTE: (OETTERER; SARMENTO, 2006)¹⁰⁵.

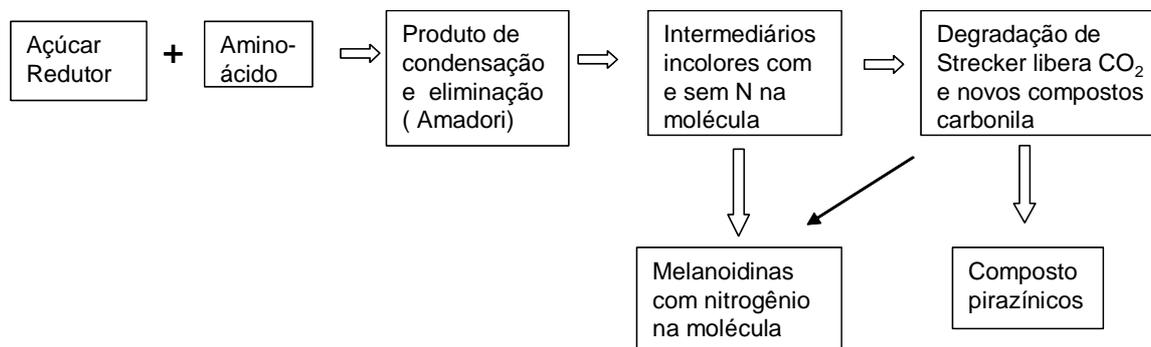


FIGURA 2.4 - Esquema da reação de Maillard

2.9. Técnicas Espectroscópicas

2.9.1. Espectroscopia por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A radiação de infravermelho é à parte do espectro eletromagnético entre a região visível e as micro-ondas. A região de maior interesse para a espectroscopia é de 4000 a 400 cm^{-1} ¹⁰⁹.

A absorção na região do infravermelho é causada por movimentos rotacionais e vibracionais dos grupos moleculares e ligações químicas de uma molécula. Essencialmente, existem duas vibrações fundamentais: estiramento, onde os átomos permanecem no mesmo eixo da ligação, porém a distância entre os átomos aumenta e diminui, e deformação, onde as posições dos átomos mudam em relação ao eixo de ligação original. Quando luz infravermelha de mesma frequência de vibração de estiramento ou de deformação incide na amostra a energia é absorvida e a amplitude de vibração é aumentada. Devido à energia de absorção na frequência de ressonância, o detector do espectrômetro de infravermelho registra um pico de absorção naquele comprimento de onda¹⁰⁹. Vibrações típicas de um grupo de átomos são ilustradas na Figura 2.5.

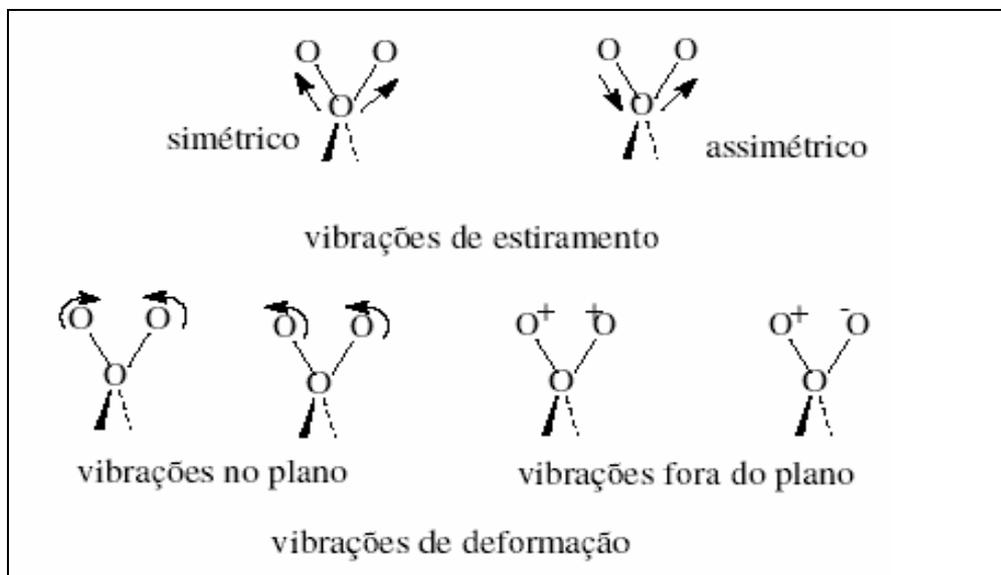


FIGURA 2.5 - Vibrações típicas de átomos. Os sinais + e – significam vibrações perpendiculares ao plano do papel FONTE: (STUART, 2006) ¹¹⁰.

A FTIR é uma ferramenta que permite informar sobre a natureza, reatividade e arranjo estrutural de grupos funcionais contendo oxigênio, a presença de proteínas e carboidratos, e a eficiência do processo de purificação da amostra quanto a contaminantes como argila, metais e sais¹¹¹. Os espectros de infravermelho podem revelar as interações entre grupos orgânicos, como os carboxílicos e íons metálicos, visto que a coordenação dos grupos funcionais orgânicos com metais provoca deslocamento na frequência de absorção das ligações do íon carboxilato, o que permite a identificação da natureza (iônica ou covalente) da ligação organometálica^{112,113}.

Em complementação aos dados obtidos por ressonância magnética nuclear (NMR), as análises de FTIR têm sido tradicionalmente usadas para identificar grupos funcionais como: grupos carboxila, amina, hidroxila, carbonila e outros^{111,114}.

Vibrações de deformação geralmente requerem menos energia e são encontradas em frequências menores do que as vibrações de estiramento. Estiramento devido à tripla ligação ($2300 - 2000 \text{ cm}^{-1}$) é mais forte do que duplas ligações ($1900 - 1500 \text{ cm}^{-1}$) e essas são mais fortes do que ligações simples, como C-C, C-O e C-N ($1300 - 800 \text{ cm}^{-1}$). Vibrações de estiramento envolvendo prótons (ex. C-H, O-H e N-H) ocorrem em frequências entre 3700 e 2650 cm^{-1} . O estiramento da ligação O-H ocorre em frequência mais alta ($3700 - 3200 \text{ cm}^{-1}$) do que para estiramento C-H ($3050 - 2850 \text{ cm}^{-1}$)¹¹¹.

2.9.2. Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GFAAS)

O acoplamento de um forno de grafite ao espectrômetro de absorção atômica deu origem à chamada espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. A amostra é introduzida no tubo de grafite através de um orifício localizado na parte superior do tubo, por meio de micropipeta ou amostrador automático. Após a injeção da amostra no tubo de grafite, este é submetido a um programa de aquecimento que inclui usualmente cinco etapas básicas: 1) secagem, 2) queima ou pirólise, 3) atomização, 4) limpeza do forno e 5) resfriamento. Na etapa de **secagem**, o solvente é evaporado lentamente da amostra de maneira controlada, para evitar respingos e perda do analito. A etapa de **pirólise** tem como objetivo remover a matriz tanto quanto possível antes da atomização, diminuindo a possibilidade de interferências e reduzindo a magnitude do sinal de fundo. Essa etapa é particularmente crítica na determinação de elementos voláteis como Hg, As, Se, Cd e Pb, que podem ser parcial ou totalmente volatilizados junto com a matriz. O tempo e a temperatura de pirólise devem ser controlados de tal forma que se elimine o máximo dos componentes da matriz sem perdas do analito, ou seja, são determinados pelas estabilidades térmicas relativas do analito e da matriz. O tempo de pirólise deve ser suficientemente longo para permitir que o sinal de fundo retome a linha base antes da atomização. Na etapa de **atomização** são formados átomos livres no estado fundamental. A temperatura de atomização deve ser alta suficiente para garantir a completa e rápida volatilização do analito.

Uma velocidade de aquecimento rápida e uma baixa temperatura de atomização são desejáveis, a fim de prolongar o tempo de vida útil do tubo. A limpeza é feita elevando a temperatura do atomizador até um valor máximo por um curto período de tempo, para eliminar qualquer resíduo que tenha permanecido no tubo. O **resfriamento** é feito para garantir que a plataforma esteja à temperatura ambiente antes da introdução de uma nova amostra. Em cada etapa, é utilizada uma rampa de aquecimento e um tempo de permanência. A rampa é a elevação gradual e controlada de temperatura entre duas etapas em um programa de aquecimento do forno e a permanência é o tempo em que o forno mantém determinada temperatura constante.

Uma atmosfera inerte durante todo o programa de temperatura é obtida por dois fluxos independentes de um gás inerte, geralmente argônio. O fluxo externo passa ao redor do tubo de grafite, protegendo-o da degradação a altas temperaturas por contato com oxigênio da atmosfera, enquanto que o fluxo interno elimina o ar e carrega vapores da matriz da amostra durante todo o programa, exceto na etapa de atomização. Durante a atomização, o fluxo interno de gás é interrompido e o tubo de grafite é aquecido rapidamente até uma temperatura suficientemente elevada para que o analito seja atomizado. Os átomos vaporizados absorvem a radiação que passa através do tubo na direção horizontal e a intensidade da radiação transmitida é medida¹¹⁵⁻¹¹⁷.

2.9.3. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) é uma técnica que possibilita a determinação rápida de vários elementos em diferentes faixas de concentrações. Como vantagens apresenta característica multielementar e simultânea, sensibilidade, precisão, rapidez, bem como ampla faixa dinâmica linear de trabalho¹¹⁸.

Na técnica de ICP OES são gerados espectros eletromagnéticos nas regiões do ultravioleta e visível, a partir de transições eletrônicas em átomos e íons excitados. O plasma fornece energia suficientemente alta para promover

excitação da maioria dos elementos, sendo medida a intensidade da radiação emitida em comprimentos de onda específicos, correspondendo à concentração do analito de interesse¹¹⁸.

O plasma é um gás parcialmente ionizado, produzido a partir de uma descarga em uma corrente de gás inerte (argônio), mediante aquecimento por indução em uma tocha de quartzo localizada dentro de uma bobina de indução ligada a um gerador de radiofrequência, que opera a frequência e potência apropriadas¹¹⁹.

Na bobina de indução, um campo eletromagnético alternado de alta radiofrequência proporciona colisões entre elétrons e átomos gerando alta energia, que é transferida para o gás formando o plasma. Essa conversão de energia cinética e energia térmica possibilita a formação de um plasma estável a temperaturas de 6000 e 10000 K¹¹⁹.

A introdução da amostra é realizada por um processo de nebulização, sendo que somente cerca de 2% a 3% do aerossol formado atinge o plasma. Na tocha ocorrem processos de dessolvatação, vaporização, atomização, excitação e ionização (Figura 2.6). Os processos de atomização e excitação dos átomos geram espectros atômicos, ao passo que a ionização e excitação das espécies iônicas geram espectros iônicos^{120,121}.

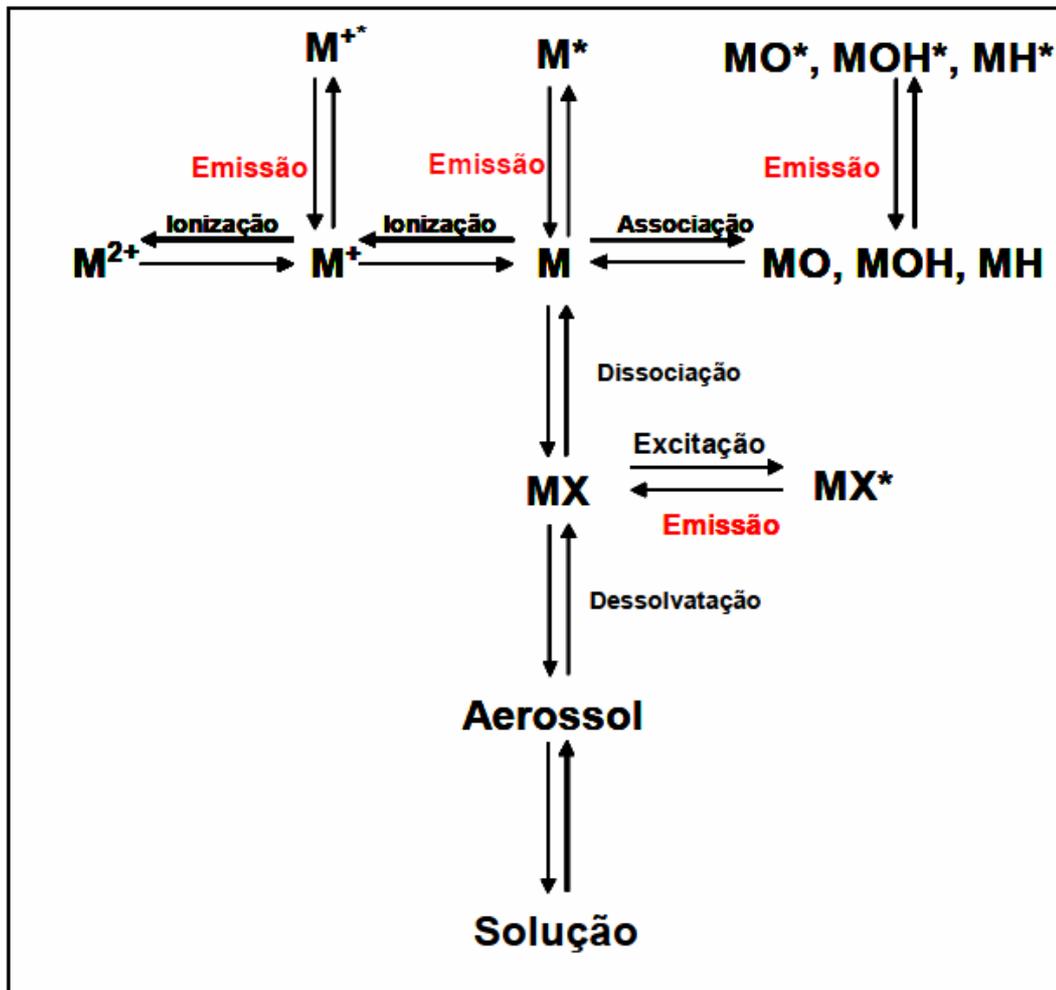


FIGURA 2.6- Esquema dos processos que ocorrem no plasma. Adaptado de (GINÉ- ROSIAS, 1996)¹¹⁸.

Capítulo 3

Objetivos

3. OBJETIVOS

Avaliar a biodisponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn em amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente utilizando método *in vitro*, bem como avaliar a digestibilidade da proteína dessas amostras, submetidas a diferentes métodos de cocção.

Capítulo 4

Procedimiento Experimental

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Instrumentação

Os seguintes equipamentos foram empregados durante o desenvolvimento desta tese:

Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) com visão radial (Varian, Austrália), empregado para a determinação de cálcio, cobre, ferro, magnésio e zinco. Os parâmetros instrumentais estão descritos na Tabela 4.1.

Espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite GTA 100 (Varian, modelo SpectrAA – 800, Austrália) equipado com corretor de fundo Zeeman transversal, amostrador automático, tubo de grafite recoberto piroliticamente com aquecimento longitudinal (HGA Varian) foi empregado nas determinações de cobre nas amostras de frango *in natura* e processada termicamente após a diálise. Todas as medidas foram feitas em absorbância integrada (integração do sinal transiente de absorbância em função do tempo). Para as determinações foi empregada lâmpada de cátodo oco de cobre, corrente elétrica aplicada 4,0 (mA), resolução espectral de 0,5 nm e comprimento de onda de 327,4 nm.

Espectrômetro FTIR Perkin- Elmer (Spectrum 1000, Estados Unidos), nas determinações estruturais.

Forno de micro-ondas com cavidade (Multiwave®, Anton Paar GmbH, Áustria).

Liofilizador (microModulyo, New York, EUA)

Moinho criogênico (Marconi MA 775).

Sistema de destilação semi-automático (Marconi MA 0-36)

Centrifuga (Fanem 206-R)

Sistema para destilação de ácido em sub-ebulição (Marconi, Piracicaba, Brasil).

TABELA 4.1 - Parâmetros empregados na análise por ICP OES

Parâmetros Instrumentais	ICP OES (visão radial)
Potência da rádio frequência (kW)	1,3
Vazão do nebulizador (L min ⁻¹)	0,6
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,50
Nebulizador	V-Groove
Câmara de nebulização	Sturman Master
Altura de observação mm	15
Comprimento de onda (nm)	Ca (II) (λ 396,847)
	Cu (I) (λ = 327,395)
	Cr(II) (λ = 267,716)
	Fe (II) (λ =238,204)
	Mg (II) (λ = 280,270)
	Zn (II) (λ = 213,857)

4.2. Reagentes

Todos os materiais (vidrarias, ponteiras, frascos etc) utilizados para a realização do trabalho foram descontaminados em banho de HNO₃ 10% (v v⁻¹) por 24 h. Água ultrapura (resistividade de 18,2 MΩcm), obtida de um sistema de purificação de água Milli-Q plus (Millipore, Estado Unidos) foi empregada para todas as diluições, preparo de amostras e limpeza de vidraria. Os padrões foram preparados a partir de soluções estoque individuais contendo 1000 mg L⁻¹ (Tritisol[®], Merck) de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn. Ácido nítrico HNO₃ (Merk, Alemanha) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Merck) foram utilizados como agentes oxidantes na

digestão das amostras. Na etapa de diálise foram usadas as enzimas pancreatina, pepsina e sais de bile (Sigma, St Louis, MO, EUA) e membranas de diálise (Cial, São Paulo, Brasil) de 10 a 12 kDa. Para a digestibilidade das proteínas foram usados ácido sulfúrico (H_2SO_4) e hidróxido de sódio (NaOH) (Merck) e os catalisadores sulfato de cobre (Cu_2SO_4), sulfato de potássio (K_2SO_4) e ácido tricloroacético (TCA) (Synth, São Paulo, Brasil).

As membranas de diálise (Cial) foram condicionadas de acordo com a recomendação do fabricante: limpeza com água por 3 h para remoção do glicerol e remoção de compostos de enxofre com solução do sulfeto de sódio 0,3 % (m v⁻¹), a 80 °C, por 1 min. Em seguida, as membranas foram enxaguadas com água a 60 °C, por 2 min, seguido pela acidificação com solução de H_2SO_4 0,2 % (m v⁻¹) e, novamente enxaguadas com água a 80 °C para remoção do ácido. As especificações da membrana eram para retenção de moléculas com pesos moleculares iguais ou superiores 12 kDa.

4.3. Amostras

Foram utilizados três tipos de carnes - bovina, suína e de frango, adquiridas no comércio da cidade de São Carlos, SP. Os cortes de cada amostra de carne foram escolhidos de acordo com os tipos mais consumidos e mais acessíveis pela população. Para a carne bovina foi utilizado o coxão mole, para a carne suína o pernil e para a carne de aves o peito de frango. As amostras foram moídas em multiprocessador, homogeneizadas, preparadas nos diferentes métodos de cocção e acondicionadas em refrigerador para a realização das análises. Não foram adicionados temperos em nenhuma etapa do preparo, para que estes não interferissem nas determinações. As análises foram realizadas em triplicata, garantindo assim maior confiabilidade nos resultados.

4.3.1. Preparo das amostras de carnes

Após a retirada dos tecidos adiposos das carnes bovina e suína e da pele do peito de frango, as peças de carne, de aproximadamente 1,0 kg foram cortadas

em pedaços de aproximadamente 5 cm, sendo a seguir homogeneizadas em liquidificador à baixa rotação, durante 2 minutos.

4.3.2. Métodos de Cocção

Para o preparo das amostras foi utilizado os procedimentos propostos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, descritos a seguir (MAPA, 2000):

- **In Natura:** as carnes foram trituradas e armazenadas sob refrigeração até o momento da análise.

- **Assada em forno convencional (FC-1):** as amostras foram colocadas em um recipiente de vidro e cobertas com papel alumínio. Foram assadas em temperatura médio-alta, em forno pré-aquecido por 45 min 180 °C.

- **Assada em forno de micro-ondas (MW):** as amostras foram colocadas em um recipiente de vidro e cobertas com filme plástico. Em seguida, foram cozidas em potência máxima de 650 W por 6 min.

- **Cozida em água (CA):** em uma panela de aço inoxidável colocou-se as amostras moídas e 500 mL de água fria. Em seguida a panela foi levada ao fogo alto, onde permaneceu por 30 min.

- **Grelhada (GR):** amostras foram grelhadas durante 10 min em grelha pré-aquecida.

- **Assada em forno convencional (FC-2):** as amostras foram colocadas em um recipiente de vidro e cobertas com papel alumínio. Foram assadas em temperatura médio-alta 180 °C durante 60 min, em forno pré-aquecido.

Após as diferentes formas de processamento as amostras foram trituradas em processador e armazenadas sob refrigeração para as realizações da diálise.

Para a determinação dos teores totais de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn as amostras *in natura* de todas as carnes e as carnes processadas termicamente foram liofilizadas.

4.4. Determinação dos teores totais de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn

As amostras de carnes trituradas foram liofilizadas por 24 horas e posteriormente pulverizadas em moinho criogênico usando recipiente imerso em nitrogênio líquido (SPEX), sendo que foi aplicado o seguinte programa para a moagem (dividido em 3 ciclos): Etapa 1. pré-congelamento: 4 min; Etapa 2. moagem: 2 min, intercalados por ciclos de recongelamento de 2 min. Os teores totais foram determinados nas amostras empregando forno com radiação micro-ondas para mineralização das amostras. Aproximadamente, 100 mg das amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente todas liofilizadas e 250 mg de material certificado de referência (NIST 8414–Bovine Muscle Powder) e Bovine Liver (NIST 1577b), foram utilizados.

Volumes de 1,0 mL de H₂O₂ (30% m/m) e 2,0 mL HNO₃ (7 mol L⁻¹) foram utilizados nas digestões. Após a digestão, as amostras foram diluídas para 10 mL com água deionizada e os teores de cálcio, cobre, ferro, magnésio e zinco foram determinados por ICP OES. Na Tabela 4.2 está descrito o programa de aquecimento utilizado durante a digestão micro-ondas e na Tabela 4.1 as condições utilizadas no ICP OES.

TABELA 4.2 – Programa de aquecimento em forno de micro-ondas com cavidade

Etapas	Potência (W)	Tempo (min)
1	300	2,0
2	0	3,0
3	650	4,0
4	850	5,0
5	1000	5,0
6	Vent.	15,0

4.5- Estudos da disponibilidade *in vitro* para Ca, Cu, Fe, Mg e Zn nas amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente

A disponibilidade do Ca, Cu, Fe, Mg, e Zn nas amostras de carne bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente foram determinadas empregando o procedimento *in vitro* proposto por MILLER et al. (1981)⁵⁹. O experimento baseou-se na simulação da digestão gastrointestinal com pepsina-HCl durante a fase gástrica e sais de bile-pancreatina na fase intestinal. A solução de pepsina foi preparada dissolvendo 16 g de pepsina em 100 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹. A solução de pancreatina e sais de bile foi preparada pela dissolução de 0,5 g de pancreatina e 3,13 g de extrato de bile em 125 mL de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹.

Adicionou-se a 20 g de cada amostra de carne, 100 mL de HCl 0,01 mol L⁻¹ e ajustou-se o pH para 2 com solução de HCl 2 mol L⁻¹. Em seguida adicionou-se 3,2 mL de pepsina em meio 0,1 mol L⁻¹ de HCl, agitou-se em banho termostatizado a 37° C durante 2 horas. Essa etapa simula a digestão do alimento que ocorre no estômago. Após esta etapa, 20 g do digerido de pepsina foi pesado em triplicata, sendo uma delas utilizada para o procedimento de titulação e as outras para a diálise.

Para o procedimento de titulação, 5 mL de solução de pancreatina e sais de bile foram adicionados aos digeridos de pepsina de cada amostra que, em seguida, foram tituladas com solução 0,5 mol L⁻¹ de NaOH até aproximadamente pH 7,5 para simular o valor de pH encontrado no meio intestinal de um indivíduo. A diálise foi realizada durante duas horas em sacos de diálise contendo NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ equivalente à acidez titulável. Dessa forma, o interior da membrana de diálise deve estar em meio tamponado (NaHCO₃) para que, durante o processo de diálise, não ocorra mudança brusca de pH e precipitação das proteínas.

Ao final das 2 horas de digestão, o conteúdo da membrana chamado de dialisado foi retirado e analisado por ICP OES. As condições de análise do ICP OES estão na Tabela 4.1. Na equação 2 pode ser observado como foi realizado o cálculo da porcentagem do elemento (E) dialisado.

$$\% E = \frac{\text{mg Fe x mL dialisado (25mL)}}{\text{mg Fe Total x peso inicial da amostra}} \quad (\text{Equação 2})$$

4.6. Determinação de cobre na carne de frango por GFAAS

Para a determinação de cobre nas amostras de frango *in natura* e processadas termicamente, 500 µL do dialisado foram colocados em um mini-frasco de Teflon®. Adicionou-se 75 µL de HNO₃ 65% v/v subdestilado e 75 µL de H₂O₂ 30% m/m conforme procedimento descrito por ARAÚJO (2004)¹²². Após a transferência, os mini-frascos abertos foram introduzidos nos frascos de PTFE do forno com radiação microondas com cavidade (Anton Paar), que continha 2 mL de água deionizada. Os 2 mL de água foram adicionados para a absorção de energia micro-ondas excedente, não entrando em contato com o interior dos recipientes que continham as amostras. A Figura 4.1 apresenta as dimensões dos recipientes utilizados (mini-frascos). O programa de aquecimento utilizado para a digestão das amostras de frango *in natura* e processadas termicamente após a diálise está descrito na Tabela 3.

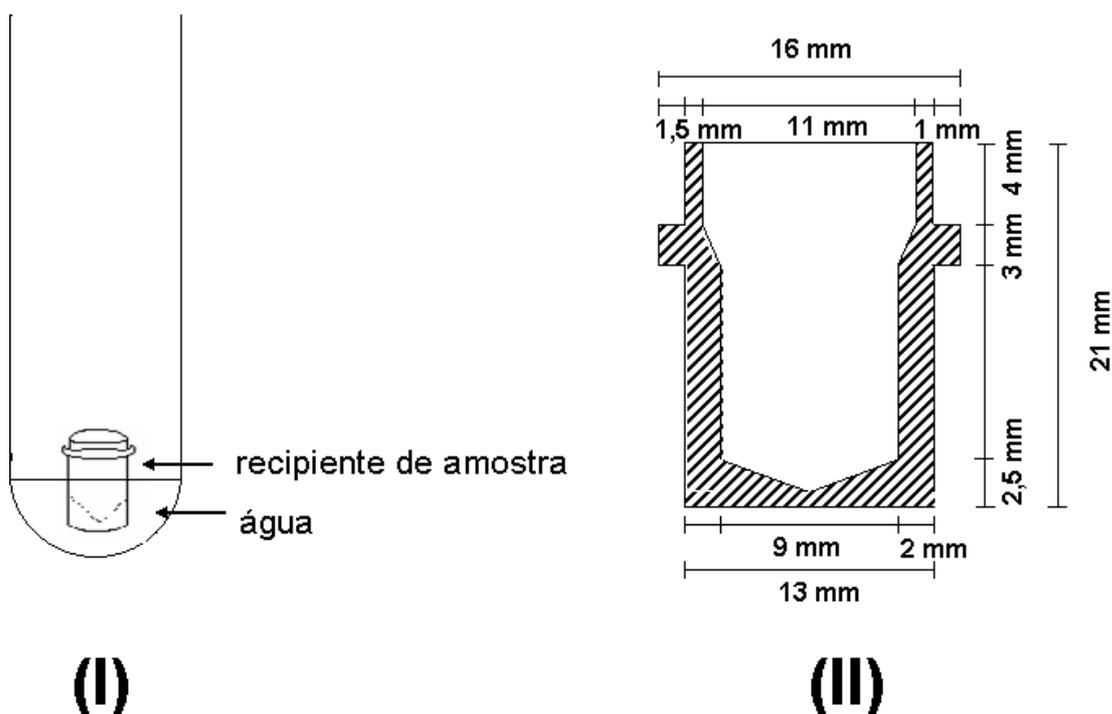


FIGURA 4.1 - (I) esquema do recipiente de amostras dentro do frasco do forno microondas com cavidade, (II) corte transversal do recipiente de amostras: FONTE (ARAÚJO, 2004).

TABELA 4.3- Programa de aquecimento para digestão das amostras de carne de frango *in natura* e processadas termicamente após a diálise, empregando forno de micro-ondas com cavidade.

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	250	1
2	0	1
3	250	5
4	400	5
5	750	10
6	0	10

Após digestão, as amostras foram transferidas para frascos tipo “Falcon” de 15 mL, sendo os volumes ajustados com água deionizada para 3,5 mL. Dessa forma, o elemento Cu foi determinado por GFAAS, sendo construídas curvas de pirólise e atomização com a introdução de 30 μL de solução analítica na concentração de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu e em presença do branco da amostra (branco da diálise após digestão por radiação micro-ondas) em meio 1% v/v HNO_3 e 3 μL de modificador químico 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. A curva analítica de calibração, obtida em uma faixa de concentração de 0,5 a 50 mg L^{-1} para Cu em presença do branco da amostra, com acidez 1,0 % v/v HNO_3 , foi feita a partir de solução analítica 1000 mg L^{-1} de Cu.

4.7. Digestibilidade das proteínas

Foram realizadas as seguintes análises nas amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente:

4.7.1. Matéria Seca

Para a determinação da matéria seca a 105°C, transferiu-se para pesa-filtro de 1 a 2 g de amostra moída. O pesa-filtro mais a amostra foram transferidos para estufa calibrada a 105°C por aproximadamente 8 h ou até peso constante, sendo em seguida transferidos para dessecador até atingir temperatura ambiente, sendo a seguir novamente pesados. Os cálculos foram realizados em função da diferença de massas inicial e final.

4.7.2. Proteína Bruta

De acordo com o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2004)¹²³, a determinação de proteínas baseia-se na determinação de nitrogênio total, geralmente feita pelo processo de digestão Kjeldahl. Este método, idealizado em 1883, tem sofrido numerosas modificações e adaptações, porém sempre se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação. A matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é finalmente transformado em amônia como o teor de nitrogênio das diferentes proteínas corresponde a aproximadamente 16% do teor total de nitrogênio, normalmente é considerado o fator empírico 6,25 para transformar o número de gramas de nitrogênio obtido em número de gramas de proteína.

Digestão – A matéria orgânica existente na amostra é decomposta com ácido sulfúrico e uma mistura catalisadora, normalmente K_2SO_4 : $CuSO_4$ (10:1). Sulfato de potássio é adicionado para elevar a temperatura de ebulição e sulfato de cobre é adicionado para favorecer a decomposição da matéria orgânica.

Destilação – A amônia é liberada do sal amoniacal pela reação com hidróxido de sódio e recebida numa solução ácida de volume e concentração conhecidos.

Titulação – Determina-se à quantidade de nitrogênio presente na amostra titulando-se o excesso do ácido utilizado na destilação com hidróxido.

Digestão- 0,100 mg da amostra é pesada e transferida a um tubo de digestão de 300 mL. A seguir são adicionados 1,5 g de mistura catalisadora e 2,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Em seguida os tubos são transferidos a um bloco digestor, elevando gradativamente a temperatura até atingir 400°C, temperatura

na qual é mantida por aproximadamente 3 horas, ou até que as paredes internas dos tubos estejam perfeitamente limpas, ou que a fumaça branca de SO₂ (dióxido de enxofre) praticamente desapareça. A digestão se completa quando a solução é transformada na coloração verde água transparente. A seguir os tubos contendo a solução das amostras são retirados do bloco digestor e transferidos para suporte adequado, onde são deixados esfriar.

Destilação - após o esfriamento, os tubos são conectados ao sistema de destilação semi-automático, cujo condensador esteja previamente conectado a um frasco tipo erlenmeyer de 250 mL contendo 10 mL de solução de 1% m v⁻¹ de H₃BO₃ e solução indicadora (solução 0,1% m v⁻¹ de verde de bromocresol e solução 0,1 % m v⁻¹ de vermelho de metila). À amostra são adicionados 25 mL de solução 40% m v⁻¹ de NaOH, sendo a seguir iniciada a destilação até que o volume destilado seja de aproximadamente 50 mL.

• **Titulação** - o destilado coletado é titulado com solução padronizada 0,05 mol L⁻¹ de H₂SO₄.

• **A porcentagem de nitrogênio das amostras é calculada a partir da seguinte expressão:**

$$\% N = ((14 * 0,05 * 100) / 100) * (V \text{ H}_2\text{SO}_4 - V \text{ branco})$$

14 = equivalente do nitrogênio

0,05 = concentração do ácido

100 = 100% (para expressar o resultado em porcentagem)

100 = massa utilizada (em miligrama – 0,100g * 1000)

V H₂SO₄ = volume de ácido consumido até o ponto de viragem (em mL)

V Branco = volume de ácido consumido até o ponto de viragem do branco (em mL)

• **% Proteína Bruta (PB) = % N * 6,25**

4.8. Digestibilidade *In Vitro* das Proteínas

A digestibilidade das proteínas foi determinada pelo método de AKESON & STAHPMAN (1964)¹²⁴, que é a avaliação *in vitro* por meio da determinação da taxa

de hidrólise por associações enzimáticas de pepsina e pancreatina, simulando as condições existentes no trato gastrointestinal, através da digestão das amostras com pepsina por 3 horas e posteriormente com pancreatina por 24 horas. O hidrolisado foi separado da fração não digerida (sólida) por precipitação com ácido tricloroacético (TCA) a 30% $m v^{-1}$ e posterior centrifugação. O mesmo processo foi utilizado para a obtenção das amostras referentes ao branco da enzima e da amostra. A porcentagem da digestibilidade da proteína foi calculada pela relação entre o nitrogênio hidrolisado (ou digerido) e o conteúdo de nitrogênio total das amostras (obtidos de acordo com o procedimento descrito no item anterior - micro-Kjeldahl)¹²⁵.

Pesou-se 500 mg de amostra previamente liofilizada e moída em moinho criogênico em um tubo tipo Falcon, adicionou-se 12,5 mg da enzima pepsina diluídas em 15 mL de HCl 0,01 mol L^{-1} . Levou-se a um banho termostatizado sob agitação, a temperatura 37°C, por três horas. Após esse intervalo de tempo a digestão foi neutralizada adicionando-se 7,5 mL de NaOH 0,01 mol L^{-1} , em seguida adicionou-se 4 mg da enzima pancreatina diluída em tampão fosfato com pH 8. As amostras foram levadas ao banho termostatizado, onde permaneceram incubadas por 24 horas, sob agitação e temperatura de 37 °C. A digestão foi interrompida após esse período, quando foi adicionado 5 mL de solução TCA a 30% $m v^{-1}$. Em seguida a solução foi centrifugada por 20 min a 4000 rpm. Após centrifugação, o sobrenadante foi separado e o resíduo submetido à digestão para determinação de proteína bruta, conforme descrito anteriormente. A determinação da digestibilidade é feita considerando os teores de proteína bruta total e os determinados após a digestibilidade *in vitro* e o branco da digestão (equação 1):

$$\% \text{ DIGESTIBILIDADE} = \frac{\text{PB dig} * 100}{\text{PB total}} \quad (\text{Equação 1})$$

4.9. FTIR

As medidas de FTIR foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por STEVENSON (1994)¹¹¹. As pastilhas foram preparadas na proporção de 1:100, ou seja, 1 mg de amostra de carne bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente, previamente liofilizadas e moídas para cada 100 mg de KBr. Os espectros foram obtidos a partir de 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução espectral de 4 cm^{-1} .

Capítulo 5

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação dos teores totais de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn nas amostras de carnes bovina, suína e de frango

A eficiência de digestão usando ácidos diluídos na decomposição de compostos orgânicos deve-se à ação do HNO_3 formando NO gasoso, removido do meio reacional e que reage com o O_2 presente na fase gasosa. Em seguida, o NO_2 é gerado e reabsorvido na solução, formando NO_3^- e NO . A geração de soluções com menor acidez é conveniente, quando se utilizam métodos que empregam sistemas de nebulização para a introdução dos digeridos e previnem a ocorrência de danos aos equipamentos. A adição de moléculas de água ao sistema micro-ondas é, em função da alta capacidade calorífica da água, o que facilita o aquecimento. Pode prevenir também tanto a formação de sais insolúveis, que poderiam ser formados com o emprego de HNO_3 concentrado, como elevadas pressões e temperatura em sistemas com cavidade, agindo como um amortecedor. Além disso, utilização de ácidos diluídos diminui resíduos, custos, contaminação e valores do branco analítico^{126,127}.

Nas Tabelas 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4 estão apresentados os teores de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn determinados nas amostras de carnes bovina, suína e de frango *in natura* e processadas termicamente e na tabela 5.5 são apresentados os resultados obtidos com as amostras certificadas utilizadas para verificar a exatidão do procedimento, os materiais de referência certificado Bovine Muscle Powder (Nist 8414) e Bovine Liver (NIST 1577b). Os valores encontrados mostram uma concordância com os valores certificados, considerando o teste *t*-Student, a um nível de confiança de 95 %.

Foi possível observar que houve variação significativa entre os teores dos analitos obtidos entre as amostras *in natura* e as amostras submetidas a diferentes processamentos térmicos. Esses resultados foram coerentes, tendo em vista a possível ocorrência de perdas por lixiviação nas amostras ao passarem por esses processamentos. As maiores diferenças de concentração foram verificadas no tratamento “cozido em água”.

TABELA 5.1- Teores totais de Ca, Fe, Mg e Zn em amostras de frango (n=3).

Amostras	Ca (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
<i>in natura</i>	157 ± 2	32 ± 2	1235 ± 1	39 ± 0,7
CA	142 ± 2	22 ± 3	826 ± 2	29 ± 1
Grelhado	142 ± 2	25 ± 1	1289 ± 1	33 ± 2
MW	122 ± 0,4	26 ± 0,7	1307 ± 0,8	28 ± 1
FCI	87 ± 2	23 ± 2	1140 ± 2	33 ± 2
FCII	97 ± 0,8	28 ± 2	1167 ± 0,6	31 ± 0,9

In *natura*, sem sofrer tratamento térmico, CA, cozido em água 30 min, grelhado, grelhado a 75°C, 10 min, MW, aquecido sob radiação micro-ondas, FCI, forno convencional I – 180°C, 45 min e FCII, forno convencional II, aquecido a 180°C, 60 min.

TABELA 5.2- Teores totais de Ca, Fe, Cu e Zn em amostras de carne suína (n=3).

Amostras	Ca (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
<i>in natura</i>	144 ± 1	2,3 ± 0,2	21 ± 0,8	933 ± 3	45 ± 1
CA	113 ± 2	1,2 ± 0,3	16 ± 0,9	646 ± 2	41 ± 3
Grelhado	103 ± 1	2,8 ± 0,1	18 ± 1	858 ± 0,9	41 ± 0,7
MW	114 ± 0,95	2,1 ± 0,5	16 ± 0,9	962 ± 2	40 ± 0,9
FCI	97 ± 2	2,1 ± 0,2	18 ± 2	722 ± 2	45 ± 1
FCII	104 ± 2	2,1 ± 0,6	15 ± 1	896 ± 3	42 ± 2

In *natura*, sem sofrer tratamento térmico, CA, cozido em água 30 min, grelhado, grelhado a 75°C, 10 min, MW, aquecido sob radiação micro-ondas, FCI, forno convencional I – 180°C, 45 min e FCII, forno convencional II, aquecido a 180°C, 60 min.

TABELA 5.3- Teores totais de Ca, Fe, Cu e Zn em amostras de carne bovina (n=3).

Amostras	Ca (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
<i>in natura</i>	105 ± 1	1,9 ± 0,9	49 ± 2	763 ± 4	172 ± 0,9
CA	68 ± 0,7	1,2 ± 0,9	37 ± 2	556 ± 3	165 ± 2
Grelhado	115 ± 0,8	1,8 ± 0,8	42 ± 3	673 ± 2	173 ± 3
MW	116 ± 1	1,9 ± 0,6	49 ± 1	726 ± 0,9	173 ± 1
FCI	121 ± 1	1,9 ± 0,5	43 ± 3	545 ± 0,9	174 ± 4
FCII	92 ± 2	2,1 ± 0,2	42 ± 1	792 ± 2	174 ± 2

In *natura*, sem sofrer tratamento térmico, CA, cozido em água 30 min, grelhado, grelhado a 75°C, 10 min, MW, aquecido sob radiação micro-ondas, FCI, forno convencional I – 180°C, 45 min e FCII, forno convencional II, aquecido a 180°C, 60 min.

TABELA 5.4- Concentração de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) em material de referencia certificado (CRM) após decomposição total (n=3).

	Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn($\mu\text{g g}^{-1}$)
Bovine Liver (NIST 1577b)					
Valor encontrado	117 \pm 9	154 \pm 2	182 \pm 2	613 \pm 6	122 \pm 1
Valor Certificado	116 \pm 4	160 \pm 8	184 \pm 15	601 \pm 28	127 \pm 16
Bovine Muscle (NIST 8414)					
Valor encontrado	149 \pm 12	3,15 \pm 0,03	68 \pm 2,1	941 \pm 19	141 \pm 1
Valor Certificado	145 \pm 20	2,84 \pm 0,45	71 \pm 9,2	960 \pm 95	142 \pm 14

Os limites de detecção e quantificação foram calculados considerando-se as medidas da razão do sinal analítico / sinal de fundo (SBR) e a concentração do analito que produz um sinal líquido (altura de pico) equivalente à intensidade do sinal de fundo (BEC). As equações envolvidas foram deduzidas conforme sugerido por THOMSEN et al. (2000)¹²⁸. O BEC e o SBR são calculados pelas fórmulas:

$$\text{SBR} = \frac{I_{\text{sr}} - I_{\text{branco}}}{I_{\text{branco}}} \quad \text{BEC} = \frac{C_{\text{sr}}}{\text{SBR}}$$

Onde, C_{sr} é a concentração da solução de referência mais concentrada, I_{branco} é a intensidade de emissão do branco analítico e I_{sr} é a intensidade de emissão da solução de referência mais concentrada.

O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) são calculados aplicando-se as fórmulas e considerando-se o BEC:

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{BEC} \times \text{RSD}}{100} \quad \text{LOD} = \frac{3\text{BEC} \times \text{RSD}}{100}$$

Onde RSD é o desvio padrão relativo para 10 medidas da solução do branco analítico.

O limite de detecção para os elementos Ca, Cu, Fe, Mg e Zn está apresentado na Tabela 5.5 e os resultados encontrados estão de acordo com VIEIRA (2007)¹²⁹, que otimizou as condições do equipamento (ICP OES), as quais foram utilizadas neste trabalho.

TABELA 5.5 – Valores dos limites de detecção (LOD) para os elementos cálcio, cobre, ferro, magnésio e zinco.

Elementos	LOD (mg L ⁻¹)
Zn (I) ($\lambda = 213,857$ nm)	0,02
Ca (II) ($\lambda = 396,847$ nm)	0,48
Mg (II) ($\lambda = 280,270$ nm)	0,02
Cu (I) ($\lambda = 327,395$ nm)	0,05
Fe (II) ($\lambda = 238,204$ nm)	0,03

5.1.2. Determinação dos teores totais de cobre nas amostras de frango

O teor total de cobre nas amostras de frango *in natura* e processadas termicamente ficaram a abaixo do limite de determinação estabelecidos para o ICP OES. Por essa razão as determinações foram efetuadas por GFAAS.

A utilização da GFAAS como técnica analítica de determinação elementar requer que o programa de aquecimento seja otimizado para definição das temperaturas de pirólise e atomização. A pirólise é uma etapa de separação térmica para a remoção de concomitantes sem perdas do analito por volatilização e a atomização é a etapa de aquecimento rápido para gerar uma nuvem atômica mais densa e posterior leitura do sinal analítico¹¹⁹. A Figura 5.1 mostram as curvas de temperatura de pirólise e atomização usando 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu em presença do branco da amostra (1% v v^{-1} HNO_3) e 5 μL de modificador químico 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

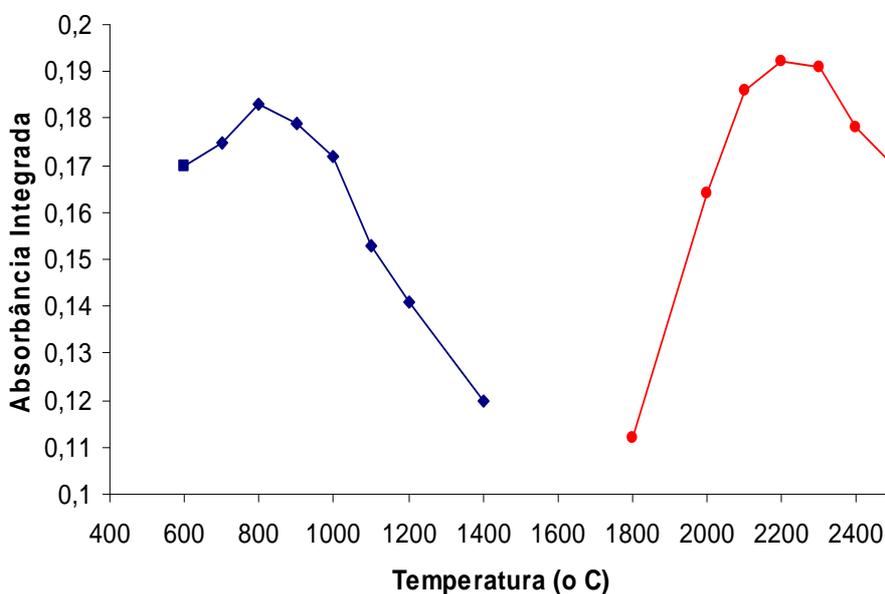


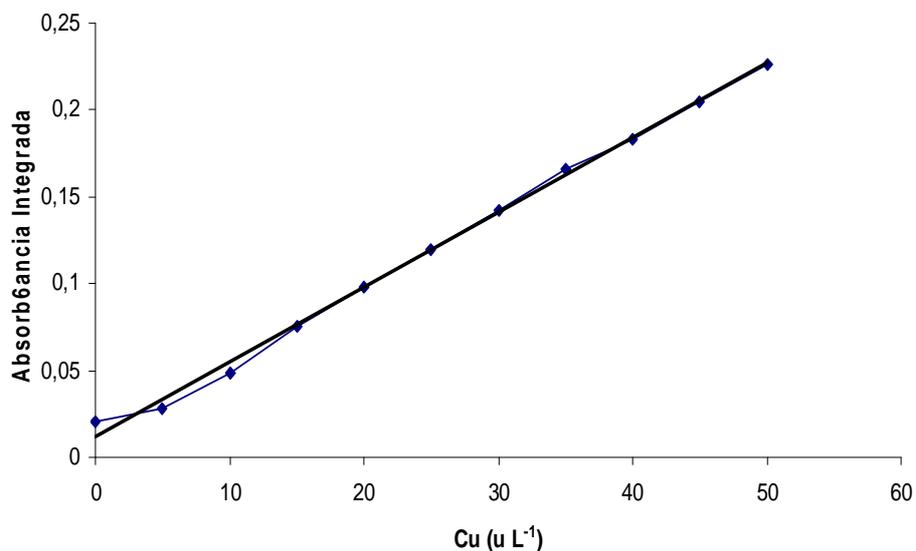
FIGURA 5.1 – Curvas de temperaturas de pirólise e atomização para $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu em presença do branco da amostra 1% v/v HNO_3 . (♦) Curva de Pirólise e (●) Curva de Atomização. Modificador utilizado: $1000 \mu\text{g L}^{-1} \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

A máxima temperatura de pirólise obtida sem perdas para Cu foi 800°C , e a melhor sensibilidade na atomização foi obtida a 2200°C . Nessas temperaturas foram observados os melhores perfis dos sinais analíticos de absorbância com os menores desvios entre as medidas. O desvio padrão relativo (RSD) obtido foi em torno de 3,0% ($n=3$).

Após a otimização do método, o programa de aquecimento utilizado para a determinação da concentração total de Cu nas amostras de frango estão apresentados na Tabela 5.6. Nas Figuras 5.2 é apresentada a curva analítica de calibração de Cu, obtida em meio do branco da amostra (amostras digeridas no mini-frascos após diálise).

TABELA 5.6 – Programa de aquecimento otimizado para a determinação de Cu por GF AAS.

Etapa	T (°C)	Tempo (s)	Fluxo (L min ⁻¹)
Secagem	95	40	3,0
Secagem	120	10	3,0
Pirólise	800	5,0	3,0
Atomização	2200	1,1	0
Limpeza	2500	2,0	3,0

FIGURA 5.2 – Curva analítica para Cu em meio do branco da amostra 1% v⁻¹ HNO₃. ($y = 0,0043 x + 0,0116$; $R = 0,997$).

O limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para o Cu foram calculados utilizando 10 medidas do branco analítico. Para o cálculo do LOD e do LOQ foram utilizadas as equações 3 e 4, respectivamente.

$$\text{LOD } (\mu\text{g L}^{-1}) = \frac{3 \times S}{a} \quad \text{(Equação 3)}$$

$$\text{LOQ } (\mu\text{g L}^{-1}) = \frac{10 \times S}{a} \quad \text{(Equação 4)}$$

S = desvio padrão de 10 medidas do branco analítico

a = coeficiente angular da curva de calibração

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para determinação de Cu por GFAAS, utilizando-se as condições otimizadas, foram $0,33 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,08 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Os resultados obtidos de cobre nas amostras de frango obtidos por GFAAS estão indicados na tabela 5.7.

TABELA 5.7 Teores totais de cobre nas amostras de frango por GFAAS (n=3).

Amostras	Cu (mg kg⁻¹)
Frango <i>in natura</i>	$1,2 \pm 0,1$
Frango CA	$0,65 \pm 0,1$
Frango Grelhado	$1,07 \pm 0,5$
Frango MW	$0,96 \pm 0,1$
Frango FCI	$0,81 \pm 0,2$
Frango FCII	$0,84 \pm 0,1$
M.R.	$2,59 \pm 0,18$

M.R. - Material de Referencia - NIST 8414 para Cu = $2,84 \pm 0,45 \text{ mg kg}^{-1}$.

In natura, sem sofrer tratamento térmico, (CA) cozido em água 30 min, grelhado a 75°C , 10 min, MW, aquecido sob radiação micro-ondas, FCI, forno convencional I – 180°C , 45 min e FCII, forno convencional II, aquecido a 180°C , 60 min.

A Tabela 5.7 mostra o teor total de cobre nas amostras de frango *in natura* e após processamento térmico. A partir desses resultados foi possível observar perdas de cobre da ordem de 50% na amostra cozida em água (CA), valor similar ao encontrado por ANDRADE et al. (2004)⁴⁰, em um estudo onde os autores avaliaram o comportamento do cobre e do zinco em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês. Essa perda

significativa de cobre talvez seja decorrente da lixiviação do mesmo para a solução aquosa, uma vez que esse elemento está ligado a proteínas que, quando aquecidas, são desnaturadas, liberando o cobre para a solução aquosa.

5.2. Determinação da digestibilidade das proteínas.

5.2.1. Carne Bovina

Na determinação da matéria seca (MS) ocorre a evaporação da água presente na amostra pela ação do calor. Essa determinação é importante porque os resultados de proteína bruta (PB) e da digestibilidade da proteína (DP) são corrigidos e fornecidos com base em cem por cento de matéria seca.

Conforme o método de cocção e o tipo de calor empregados durante o preparo das amostras, os teores de matéria seca apresentam valores distintos, como apresentado na Tabela 5.8. Os métodos MW, com 65%, seguido do FC-2 com 61%, apresentaram teores mais elevados de matéria seca, pois antes da secagem na estufa sofreram tratamentos que incluíram altas temperaturas, que ocasionaram perdas de água. Já os métodos FC-1 (45%) e GR (40%) foram equivalentes e no método CA (25 %) a quantidade de matéria seca da amostra foi menor. Nesse procedimento houve maior absorção de água durante o preparo por calor úmido. Uma das propriedades mais importantes das proteínas é a retenção de água em suas moléculas, o que talvez justifique a baixa quantidade de matéria seca no método CA.

A umidade, importante para suculência e palatabilidade da carne como alimento, é mais baixa nos pescados submetidos à cocção em forno de micro-ondas, devido à perda de peso mais elevada que ocorre nesse método. Esse comportamento foi verificado em filés de cavalinha, garoupa, caranha vermelha e pampo Flórida, sardinha, trutas arco-íris e tilápias do Nilo ¹³⁰⁻¹³³.

A maior quantidade de matéria seca no preparo FC-2 pode ser atribuída à uniformidade da temperatura no interior e na superfície da amostra, ao contrario do que ocorre nos outros métodos, em que a superfície da amostra atinge temperaturas mais elevadas antes do interior, causando a desnaturação das

proteínas superficiais, tornando-as insolúveis e resultando na formação de uma camada que contribui para a redução de perdas de água por gotejamento e evaporação¹³⁴.

Em relação à proteína bruta, não houve grandes diferenças no teor total, visto que era a mesma amostra, preparada com diferentes métodos de cocção, como apresentado na Tabela 5.8. As principais variações ficaram entre os procedimentos CA, com 98% de PB, e o procedimento por micro-ondas (MW), com 85% de PB.

De acordo com a literatura, a digestibilidade da proteína das carnes é superior 94%¹³⁵. Resultados concordante com a literatura foram encontrados nesse trabalho. Conforme pode ser observado na Tabela 5.8, observa-se que a digestibilidade da proteína (DP) em relação aos métodos FC-2 (DP=69%) e GR (DP=75%) são equivalentes, destacando-se o método CA (DP=88%), que apresenta melhor eficiência para a digestibilidade protéica da carne, ao contrário dos métodos FC-2 (DP=50%) e MW (DP=59%), que apresentaram resultados de digestibilidade inferiores.

Pesquisas que avaliaram métodos de cocção mostram que o cozimento pode alterar os valores de umidade, proteína, gorduras e cinzas dos alimentos, devido à incorporação do meio de cocção e pelas perdas de nutrientes e água^{136,137}. Observa-se na Tabela 5.8, que os métodos que obtiveram a melhor disponibilidade da proteína foram CA com 89%, seguido de GR com 86% e FC-1 com 81%. No método CA, a água presente pode ter ficado retida na proteína, facilitando a quebra das moléculas e em consequência melhorando sua disponibilidade. Os métodos MW (71%) e FC-2 (54%) apresentaram menor digestibilidade, fato mais uma vez atribuído à uniformidade da temperatura no interior e na superfície da amostra, que causa a desnaturação das proteínas superficiais, tornando-as insolúveis e resultando na formação de compostos da reação de *Maillard* que deixam os alimentos protéicos com baixa digestibilidade e, conseqüentemente, com a sua absorção diminuída.

TABELA 5.8 Teor de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da proteína (DP) da amostra de carne bovina nos diferentes métodos de cocção (n=3).

Métodos de cocção	Determinações			
	Matéria Seca MS (m/m %)	Proteína Bruta PB (% m/m)	Digestibilidade <i>in vitro</i> DP (% m/m)	Disponibilidade $\frac{(DP \times 100)}{PB}$
CA	25 ± 0,6	99 ± 4,3	88 ± 3,4	89 ± 7,4
FC -1	45 ± 2,8	86 ± 5,4	69 ± 2,5	81 ± 8,9
FC -2	62 ± 1,9	92 ± 1,8	50 ± 4,3	55 ± 5,5
GR	40 ± 0,8	86 ± 1,7	75 ± 1,3	86 ± 0,6
MW	66 ± 1,7	85 ± 6,9	59 ± 4,5	71 ± 9,1

CA (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FC-2 (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas)

5.2.2. Frango

De acordo com a Tabela 5.9, o teor de matéria seca desta amostra foi maior no método FC-2 (60%), pois este foi o método que ficou exposto à temperatura mais elevada e por um tempo maior, seguido pelo método FC-1 (MS =50%) e o método MW (MS = 35%). Os métodos CA e GR respectivamente 27% 29% são equivalentes, havendo uma grande perda de água durante a secagem.

ROSA et al. encontraram, em peitos de frangos submetidos a métodos de cocção semelhantes, menores valores de umidade em peitos assados em micro-ondas do que o encontrado nas amostras fritas em óleo¹³⁸.

Em relação aos valores obtidos de proteína bruta, no presente trabalho foram obtidos resultados relativamente próximos, entre 85 e 90%, conforme pode ser observado na Tabela 5.9. Os resultados das análises de PB geralmente são expressos com base em 100% da matéria seca. Em relação aos resultados de digestibilidade da proteína, onde ocorreu hidrólise enzimática, o método de cocção que apresentou o menor valor de digestibilidade protéica foi o FC-2 com 44%

(Tabela 5.9). Esse resultado está de acordo com os valores obtidos por VIEIRA et al., no qual peitos de frango submetidos ao método assado em micro-ondas apresentaram valor médio de proteína de 40%¹³⁹.

As amostras de frango, em geral apresentaram boa digestibilidade protéica, superior a 80 % de aproveitamento, sendo uma boa opção para consumo humano e com adequada qualidade nutricional, pois todos os aminoácidos essenciais estarão sendo ofertados sem que haja grandes perdas pela cocção. O método CA apresentou o melhor desempenho com 83%, seguida por GR e MW que se apresentaram equivalentes com 81% e FC-1 com 71%.

A disponibilidade da proteína para a carne de aves foi satisfatória nos métodos CA, MW, GR. O método FC-1 apresentou 79% de disponibilidade, o que também é um resultado considerável. No procedimento FC-2, no qual as proteínas da carne do frango sofrem maior agressão do calor aplicado durante o preparo, pode ocorrer a formação de compostos de *Maillard*, os quais são tóxicos ao organismo humano e de baixa digestibilidade protéica⁹ em função da inibição das enzimas proteolíticas, ocasionando queda na sua atividade e, conseqüentemente, baixa absorção deste nutriente pelo organismo humano. Além disso, a cocção determina perdas na umidade e também o efeito da disponibilidade das proteínas e, considerando os métodos aqui estudados, frango assado pelo procedimento FC-2 apresenta perdas mais elevadas e, em conseqüência disso, esse método determina modificações mais severas com relação à composição para esse tipo de carne. Já o cozimento em água é a forma de cocção que menos altera a composição da carne de frango.

TABELA 5.9 Determinação da proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da proteína (DP) da amostra de carne de frango nos diferentes métodos de cocção. (n=3).

Determinações				
Métodos de cocção	Matéria Seca MS (m/m %)	Proteína Bruta PB (% m/m)	Digestibilidade <i>in vitro</i> DP (% m/m)	Disponibilidade $\frac{(DP \times 100)}{PB}$
CA	27 ± 1,1	83 ± 2,2	83 ± 2,2	100 ± 4,1
FC -1	50 ± 0,54	89 ± 2,8	71 ± 1,1	79 ± 2,8
FC -2	60 ± 0,35	84 ± 3,0	44 ± 3,6	53 ± 5,9
GR	29 ± 0,01	87 ± 2,2	81 ± 2,5	93 ± 2,9
MW	35 ± 0,05	87 ± 1,4	81 ± 2,0	94 ± 3,2

CA (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FC-2 (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas)

5.2.3. Carne Suína

Em relação à carne suína, o método que apresentou menor perda de água durante a secagem em estufa foi o método FC-2 com 83 % de matéria seca. Do mesmo modo que ocorreu com as carnes bovina e de aves, este método foi o que ficou mais tempo exposto ao calor excessivo, deixando a amostra bem seca, mesmo antes de ser realizada a análise, como pode ser observado na Tabela 5.10. Para os métodos FC-1 e MW os teores de matéria seca foram, respectivamente, 57% e 73%. Os métodos GR (37%) e CA (33%) destacam-se pela menor quantidade de matéria seca, visto que esses métodos foram os que tiveram maior absorção e também menor perda de água nas suas moléculas durante o cozimento.

Como nas amostras anteriores, os teores de proteína bruta deste tipo de amostra também foram corrigidos inicialmente pela matéria seca e a variação entre os métodos de cocção foi baixa, como mostra na Tabela 5.10. O método que apresentou teores mais elevados de proteína bruta foi o GR com 81%, seguido por

MW (79%), FC-2 (79%), FC-1 (78%), e CA (77%), demonstrando praticamente não haver variação nos teores de proteína bruta em função do procedimento de preparo das amostras.

Em relação a digestibilidade da proteína (DP), o método que apresentou melhor digestibilidade foi o GR com 71%, seguido do método CA (69%). Também apresentaram uma boa digestibilidade os métodos MW com 58% e o FC-1 com 57%. O método FC-2 foi o que apresentou menor digestibilidade 37%, talvez decorrente do maior tempo de exposição ao aquecimento.

Pode se observar, a partir dos resultados referentes a disponibilidade, que a forma mais adequada de consumo da carne suína, para que haja um melhor aproveitamento da mesma pelo organismo, são os métodos CA (89%) e GR (88%), que tiveram a melhor absorção considerando os teores de proteína total da amostra. Os métodos MW (73%) e FC-1 (72%) também apresentam resultados satisfatórios de absorção para o organismo. O método FC-2 (47%) apresentou menor disponibilidade.

TABELA 5.10. Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da proteína (DP) da amostra de carne suína nos diferentes métodos de cocção (n=3).

Métodos de cocção	Determinação			
	Matéria Seca MS (% m/m)	Proteína Bruta PB (% m/m)	Digestibilidade <i>in vitro</i> DP (% m/m)	Biodisponibilidade (DP x100) PB
CA	33 ± 0,4	77 ± 3,6	69 ± 3,4	89 ± 5,4
FC -1	57 ± 0,5	78 ± 2,7	57 ± 1,2	72 ± 1,4
FC -2	83 ± 0,1	79 ± 0,5	37 ± 3,6	47 ± 4,3
GR	37 ± 0,6	81 ± 1,3	71 ± 2,1	88 ± 4,0
MW	73 ± 0,5	79 ± 1,2	58 ± 1,2	73 ± 1,8

CA (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FC-2 (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

Comparando-se os três tipos de carnes (Figura 5.3), os diferentes métodos

de cocção aplicados e a carne *in natura*, pode-se observar que as carnes bovina e suína apresentaram o mesmo comportamento nos diferentes modos de cocção, enquanto o frango apresentou disponibilidade mais elevada em relação às outras. A partir desses resultados, pode-se inferir que as proteínas da carne de frango estariam mais disponíveis do ponto de vista nutricional.

A realização das análises das amostras de carne na forma *in natura*, foi exclusivamente para comparar os resultados obtidos nos métodos de cozimento, pois, sabe-se que não é da nossa cultura o consumo de carnes cruas. Comparando-se as três amostras de carnes na forma *in natura*, é possível verificar o comportamento diferenciado de cada uma delas, destacando a amostra de frango, que foi totalmente absorvida, atingindo 100% de aproveitamento. A absorção da carne bovina seria superior a 90% e da carne suína a biodisponibilidade protéica seria de aproximadamente 70%, isso talvez se deva ao fato dessa carne ser rica em gorduras e por sua vez as enzimas digestivas não serem capazes de hidrolisá-las até o ponto das mesmas serem totalmente absorvidas¹⁴⁰.

Os métodos que apresentaram melhor biodisponibilidade nos diferentes processos de preparo foram o CA e GR, que resultaram em valores superiores a 80% de biodisponibilidade protéica, sendo um resultado satisfatório, levando em conta que o indivíduo preparando a carne cozida em água e grelhada estaria atingindo suas necessidades nutricionais em relação aos aminoácidos essenciais.

No método FC-1 os resultados obtidos para as carnes bovina e suína mostraram-se inferiores a 80% de biodisponibilidade protéica, destacando-se novamente a carne de frango, com absorção superior a 80%, como já foi discutido anteriormente.

Nas amostras cozidas no forno com radiação micro-ondas, as carnes bovina e suína mostraram-se equivalentes, já a carne de frango apresentou disponibilidade neste método de cocção similar ao método GR. Pode-se observar que no método FC-2 todas as carnes apresentaram valores de digestibilidade da proteína inferiores a 60%.

Nos diferentes métodos de cocção foi possível observar que as formas de

transferência de calor, temperatura, duração do processo e o meio de cozimento são variáveis responsáveis pelas alterações químicas e físicas, que podem modificar o valor nutricional dos alimentos^{131,141}.

Segundo POTTER & HOTCHKISS, quando utilizado formas de aquecimento convencionais (chama direta, ar quente, contato direto com chapa quente e outros similares), as fontes de calor fazem com que as moléculas do alimento sejam aquecidas da superfície da peça até o interior da massa muscular, de maneira que o aquecimento ocorre em camadas sucessivas¹⁴¹. Isso determina o cozimento do exterior da peça, ou seja, a coagulação das proteínas, formando um envoltório (uma casca), que evita a perda de componentes cárneos para o exterior antes que sua temperatura interna aumente, resultando em perdas mais baixas no cozimento. Entretanto a transferência de calor por radiação micro-ondas ocorre por meio da irradiação eletromagnética. Assim, o calor é gerado rápido e distribuído igualmente por toda a peça, sendo que as moléculas de água entram em ebulição no interior do alimento e o vapor aquece os sólidos adjacentes por condução¹⁴².

Observando a linha de tendência no gráfico, os métodos de cocção para os diferentes tipos de carne seguem o mesmo comportamento, aumentando-se a temperatura e o tempo de exposição do alimento ao calor, diminui-se a disponibilidade das proteínas. Considerando esses resultados é possível concluir que ao deixar as carnes por um tempo prolongado a altas temperaturas pode ocorrer a formação de compostos tóxicos ao organismo, formados a partir dos açúcares e das proteínas, decorrentes da reação de *Maillard*.

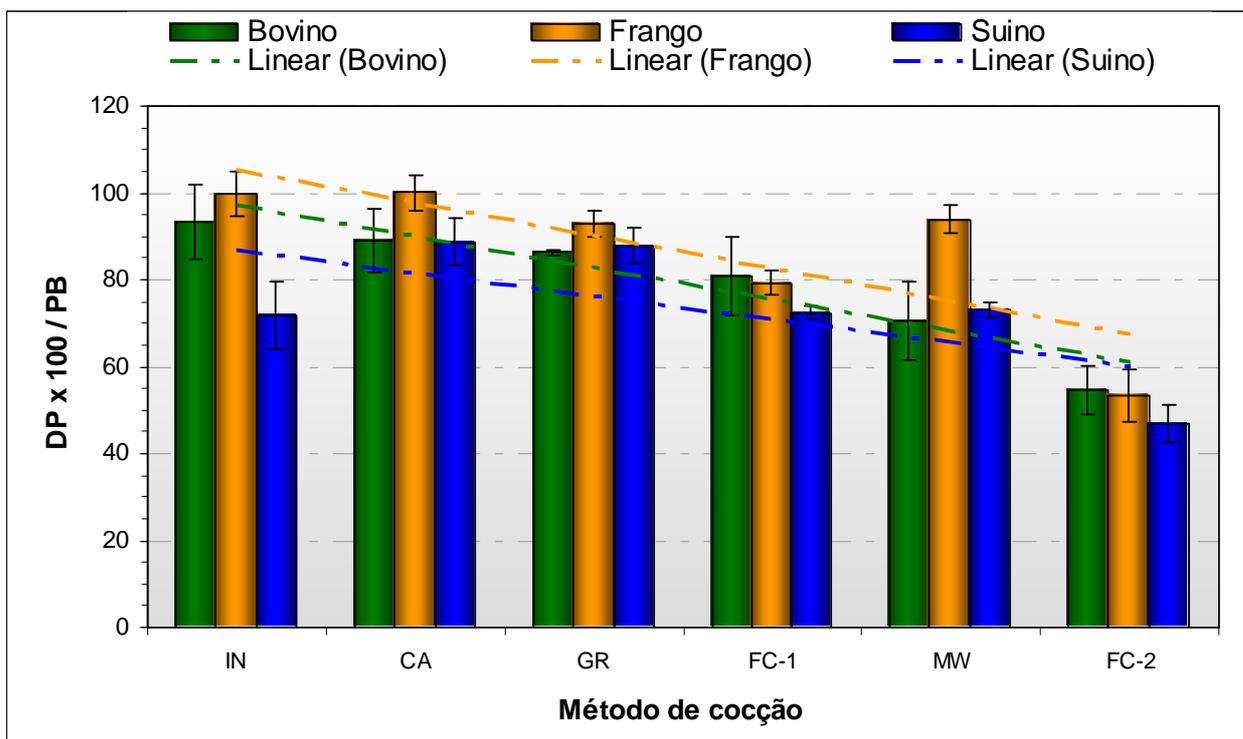


FIGURA 5.3 Disponibilidade das proteínas em amostras de carne bovina, de frango e suína após diferentes processamentos térmicos (IN) *in natura*; (CA) cozida em água; (GR) grelhado; (FC -1) forno convencional-1; (MW) forno de micro-ondas e (FC- 2) forno convencional-2.

5.3. Determinação da disponibilidade de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn

A biodisponibilidade dos nutrientes Ca, Cu, Fe, Mg e Zn foi determinada a partir de procedimento de digestão *in vitro*, que envolveu a diálise da solução digerida.

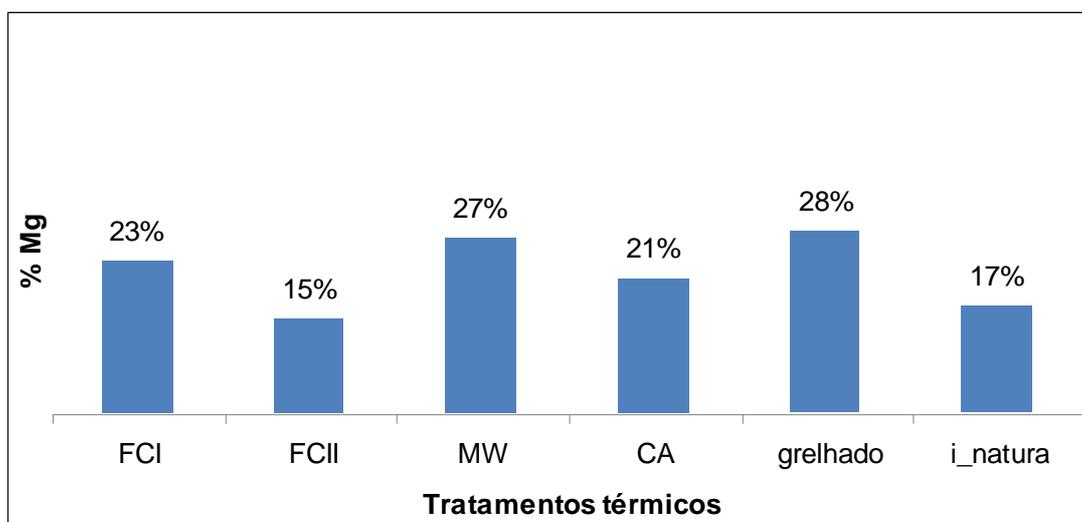


FIGURA 5.4 Média de porcentagem de Mg disponível pelo método digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos *in natura*, CA (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

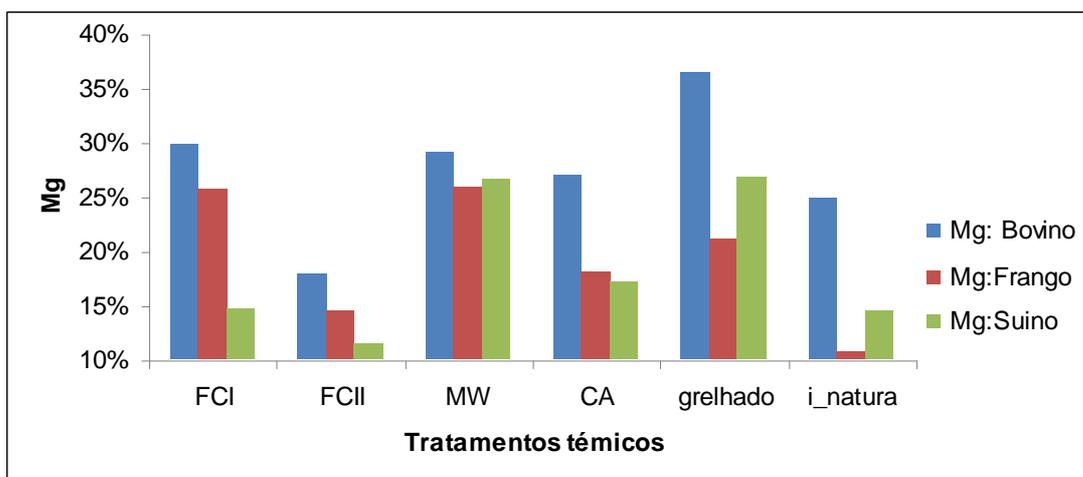


FIGURA 5.5 Porcentagem de Mg disponível no método digestibilidade *in vitro* em amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos.

Nas Figuras 5.4 e 5.5 são apresentados os teores em porcentagem de Mg absorvido, considerado em relação ao Mg dialisado após os diferentes

procedimentos de preparo avaliados. Os resultados foram obtidos com o emprego da equação 2 apresentada no procedimento experimental, sendo todos os experimentos realizados em triplicata. Pode ser observado que os tratamentos GR (28%) e MW (27%) apresentam melhor disponibilidade do Mg, sendo a seguir considerados os tratamentos FCI (23%) e CA (21%), sendo que menor disponibilidade de Mg foi observada após o tratamento FCII (15%). Em relação às amostras, para todos os tratamentos térmicos, o Mg se mostrou mais disponível na carne bovina seguida da suína e por último no frango, sendo mantida a relação entre os tratamentos.

GERBER et al., estudando a influência dos processos de cocção em cortes de carnes gordurosas sobre a ingestão real de nutrientes verificaram que processos de cocção afetam os vários minerais em diferentes maneiras como, por exemplo, cálcio, sódio, potássio, magnésio e fósforo, cujos teores decresceram em todos os cortes após esses tratamentos¹⁴³. Os autores concluíram ainda que as perdas são devido à lixiviação de minerais para água. Portanto, processo de cocção que envolva água, como vapor e destilação, pode afetar o teor de minerais. Esse estudo está de acordo com os dados obtidos nesse trabalho para as carnes suína e de frango, onde o cozimento em água resultou em menores teores de Mg disponíveis para absorção.

A ingestão diária recomendada de magnésio é 420 mg. Nesse trabalho foi possível observar que para cada 100g de carne obteve-se aproximadamente 43 mg, 23 mg e 32 mg de magnésio para as carnes bovina, suína e de frango respectivamente resultando em uma média de 10% de Mg da ingestão recomendada. O processamento térmico onde o magnésio está mais disponível é o grelhado, independente do tipo de carne estudada. Em vista disso, apesar das carnes não serem as fontes primárias de magnésio em uma dieta as mesmas mostraram uma boa contribuição desse nutriente para o organismo.

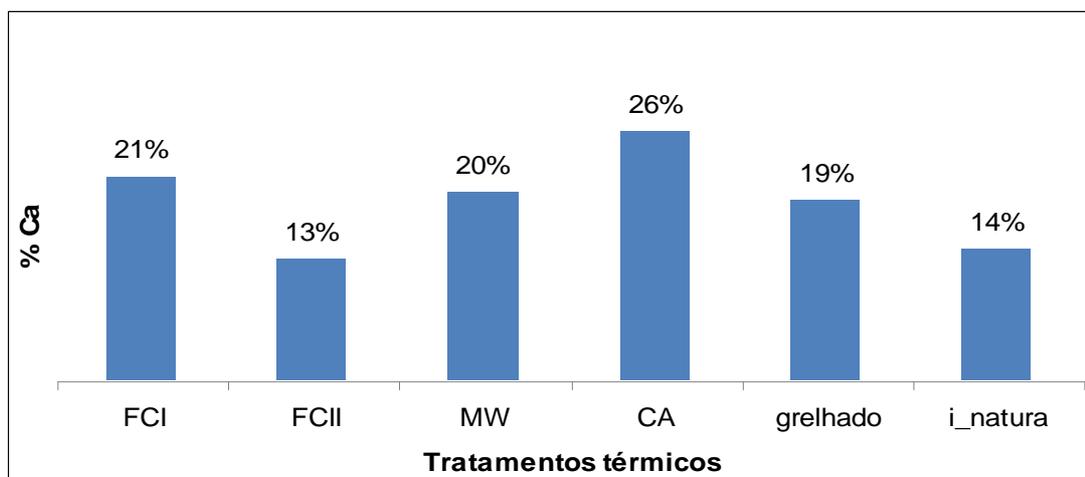


FIGURA 5.6 Teores médios de Ca disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

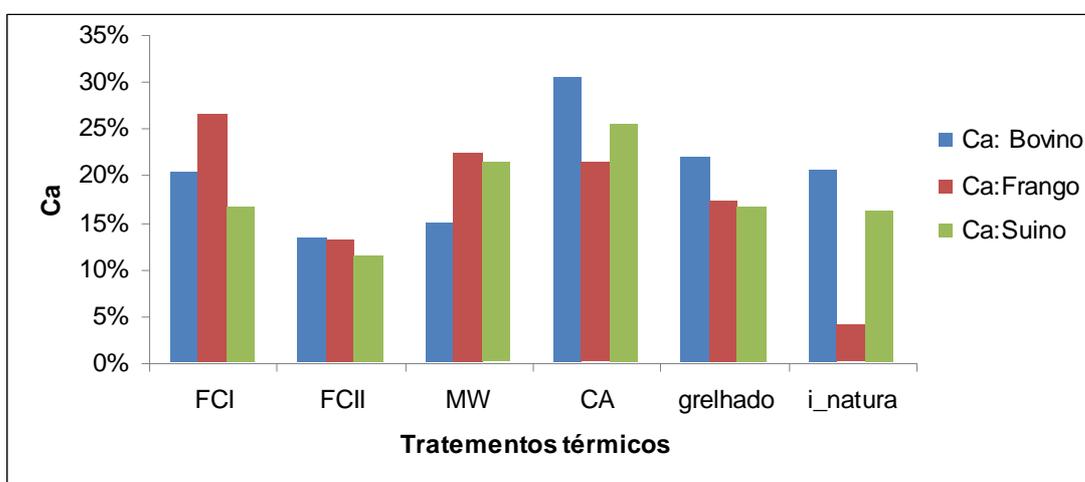


FIGURA 5.7 Teores médios de Ca disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos.

Nas Figuras 5.6 e 5.7 são apresentados os teores referentes de cálcio nas amostras analisadas, após o processamento térmico, em comparação aos teores

originais. Pode-se observar maior disponibilidade de Ca após o tratamento água (26%), sendo os demais equivalentes. Assim como para o Mg, menor disponibilidade de Ca foi observada após o tratamento FCII (12,5%). Quando comparadas às amostras avaliadas, a carne bovina apresentou maior disponibilidade de Ca, sendo que a carne suína e de frango apresentaram resultados inferiores e similares.

Dietas têm sido estudadas quanto à quantidade de cálcio, indicando consumo insuficiente em relação aos requerimentos nutricionais. Tal quadro é agravado em uma situação de hábitos alimentares cuja disponibilidade do cálcio é reduzida.

A recomendação diária de cálcio é 1000 mg. Nesse trabalho foi observado que para 100g de carne obteve-se 2,3 mg, 5,7 mg, 5,8 mg de cálcio para as carnes bovina, suína e de frango respectivamente. Existem poucos relatos na literatura sobre o estudo da disponibilidade de cálcio em amostras de carne, uma vez que as fontes primárias desse nutriente são o leite e seus derivados. Nesse trabalho podemos observar que as carnes não se mostraram uma boa fonte de cálcio mesmo, quando a disponibilidade se mostrou por volta de 35%.

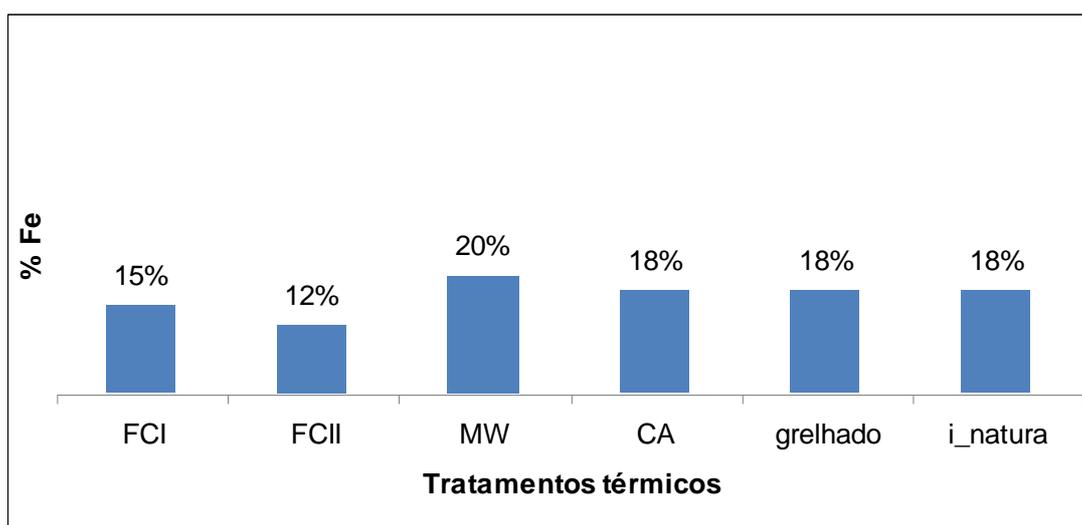


FIGURA 5.8. Teores disponíveis de ferro após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas aos diferentes processamentos térmicos *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII

(Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

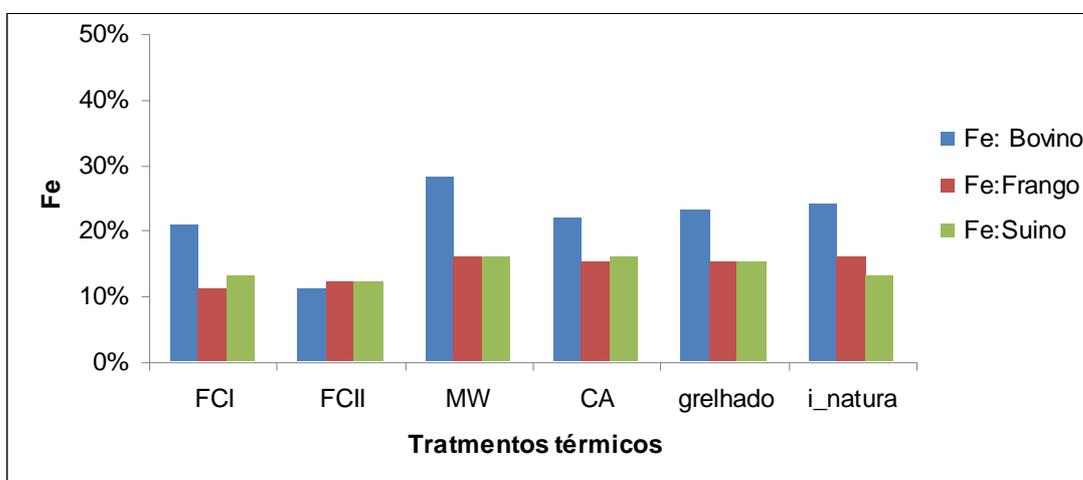


FIGURA 5.9. Teores de Fe disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos.

Nas Figuras 5.8 e 5.9 são apresentados os teores de Fe após a digestibilidade *in vitro* nas diferentes amostras de carne *in natura* e após os diferentes processamentos térmicos. Pode-se observar que para os tratamentos térmicos avaliados, o procedimento cozido em água apresentou maior disponibilidade de Fe (20%), sendo que os demais tratamentos apresentaram-se equivalentes, e os tratamentos FCII e FCI apresentaram as menores disponibilidades de Fe (respectivamente 12 e 15%). Em relação ao tipo de carne, houve maior disponibilidade na carne bovina, sendo que a carne suína e de frango resultaram em valores similares.

MOURA & CANNIATTI-BRAZACA, avaliando a disponibilidade de ferro de feijão comum (*phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina verificaram um teor de absorção de ferro na carne bovina e no feijão após a digestibilidade *in vitro* por volta de 24% e 17% respectivamente⁸⁷. Os autores atribuíram essa menor digestibilidade no feijão a presença de taninos que impedem a absorção do ferro em consequência da formação do complexo tânico-Fe.

Dentre as formas de ferro heme e não-heme sabe-se que o ferro presente nas carnes (heme) é mais disponível biologicamente, podendo ser assimilado na proporção de aproximadamente 25% do total do alimento¹⁴⁴.

DUHAIM avaliou espectrofotometricamente o conteúdo total de ferro de fígado e carne de diferentes animais e observou que o fígado (11,52 mg/100 g) e a carne bovina (6,72 mg/100 g) apresentaram teores de ferro significativamente superiores aos encontrados em fígado (8,32 mg/100 g) e na carne de frango (3,84 mg/100 g)¹⁴⁵.

FRANCO apresentou valores de ferro para a carne bovina como sendo 2,39 mg/100 g; de frango 1,90 mg/100 g; e de fígado bovino e de frango como sendo 12,10 e 7,40 mg/100 g, respectivamente¹⁴⁶.

GERBER et al., verificaram que as concentrações de ferro tendem a aumentar após o cozimento em carne bovina e que o ferro foi significativamente maior em dois pedaços de carne de porco após cocção¹⁴³. KUMAR et al. e MISTRY et. al. (1988) relataram que o cozimento de carnes aumenta do teor de ferro^{147,148}.

KRISCHNER et al., monitorando os processos de desnaturação das proteínas em carne após 4 diferentes temperaturas de aquecimento usando microscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), verificaram que houve desnaturação das proteínas como a actina, a miosina e o colágeno a partir dos 45 °C¹⁴⁹.

A ingestão diária recomendada de ferro é de 15 mg dia. Cada 100g de carne bovina possui 49 mg kg⁻¹ de ferro. Nesse trabalho obteve-se uma disponibilidade de Fe de aproximadamente 20% para todas as carnes.

Foi possível observar que houve aumento na disponibilidade de ferro em todas as amostras de carne após os processos de cocção, com exceção dos processos FCI e FCII. Isso talvez se deva ao fato de nesses processos ter ocorrido à desnaturação da proteína (precipitação), comprometendo o ferro disponível, uma vez que as enzimas utilizadas no processo de digestibilidade *in vitro* não serem capazes de quebrar as ligações ferro-proteína.

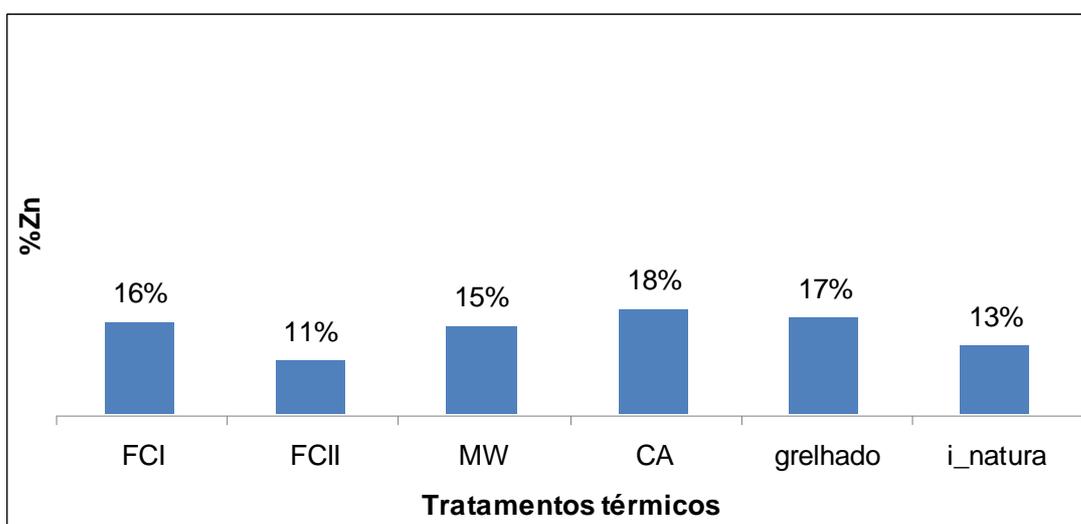


FIGURA 5.10 Teores de Zn disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos; *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

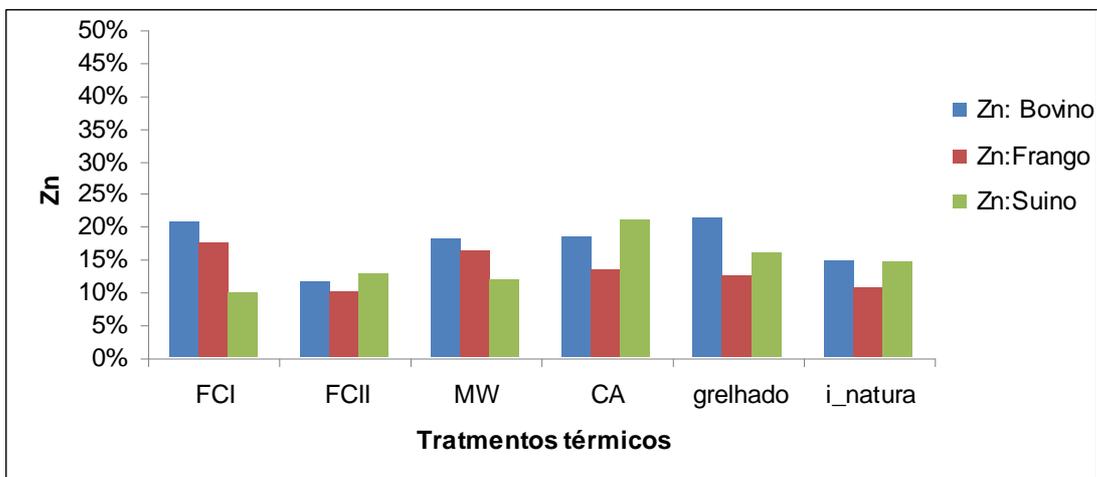


FIGURA 5.11 Teores de Zn disponível obtidos após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suínas e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos.

Nas Figuras 5.10 e 5.11 são apresentados os teores de Zn nas diferentes amostras de carnes avaliadas, *in natura* e após os processamentos térmicos. O

Zn se mostrou mais disponível no tratamento cozido em água (18%), com resultados equivalentes obtidos entre os outros tratamentos. Menor disponibilidade de Zn foi obtida após o tratamento FCII (11%). Em relação às amostras, o Zn se mostrou mais disponível na carne bovina e suína e menos disponível para a carne de frango, independente do tratamento térmico.

ANDRADE et al., em um estudo sobre extração seqüencial de zinco em carnes cruas e processadas, verificaram que zinco é encontrado em até cinco espécies químicas em dois tipos de carnes bovinas (alcatra e patinho)⁴⁰. Um número menor de espécies químicas ocorre em outros tipos de carne estudados (chã, lagarto e peito de frango). Os autores observaram que o processo de cozimento diminuiu os teores totais de zinco e altera ligeiramente o perfil das espécies químicas presentes. O congelamento reduz a concentração total de zinco, além de também alterar ligeiramente o perfil das espécies químicas.

Segundo ORNELLAS, o processamento térmico promove a perda do zinco em até 65%¹⁵⁰. Em trabalho anterior desenvolvido por ANDRADE et al., com as mesmas amostras, puderam ser observadas perdas de 10 até 65% após o processamento térmico⁴⁰. Em relação à extração, o processamento térmico influenciou no processo de extração, aumentando o teor de zinco extraído para a maioria das amostras, em média 20% em relação às amostras *in natura*.

ANDRADE et al., observaram que os teores de zinco na maioria das amostras resfriadas e processadas termicamente de carnes bovinas, sem passar por processo de congelamento, é superior a 3 mg, o que corresponde a 20% em média da recomendação diária deste nutriente, caracterizando uma boa fonte deste elemento⁴⁰.

A disponibilidade de Zn para as amostras de carne bovina, suína e de frango foram, 1,73 mg, 0,89 mg e 0,79 mg respectivamente, todavia a recomendação diária é 8,0 mg/dia. A carne bovina contribui com aproximadamente 20% da recomendação diária, permitindo a conclusão de que a mesma contribui de maneira razoável na dieta como fonte de zinco apesar da carne bovina não ser uma fonte primária desse nutriente.

Foi possível verificar que não houve influência do aquecimento no tipo do tecido das amostras de carnes estudadas sobre a disponibilidade de zinco, pois não houve diferenças significativas na absorção desse nutriente mesmo após submetidas aos diferentes processos de cocção.

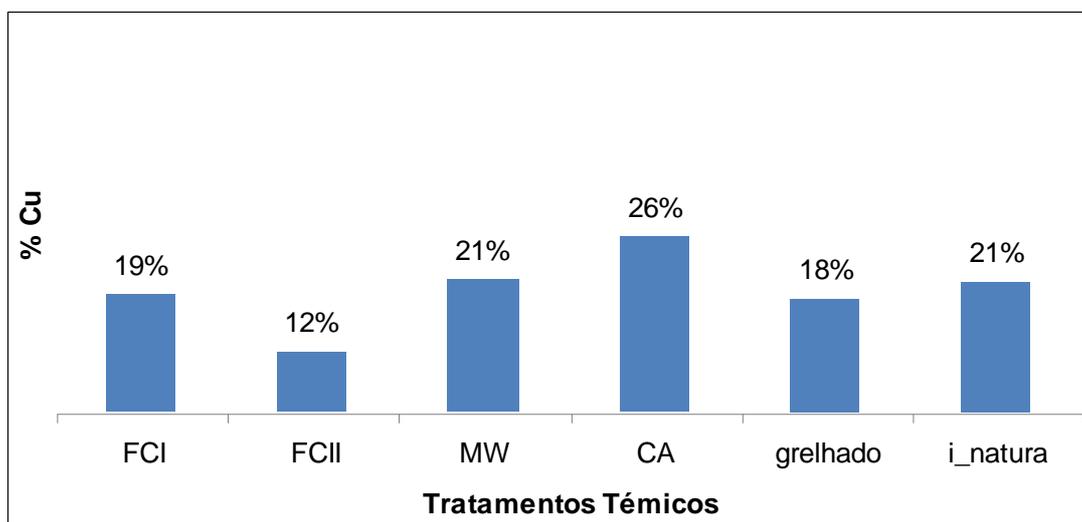


FIGURA 5.12. Teores de Cu disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos; *in natura*, água (cozido em água), FC1 (Forno convencional 1), FCII (Forno convencional 2), GR (grelhado) e MW (micro-ondas).

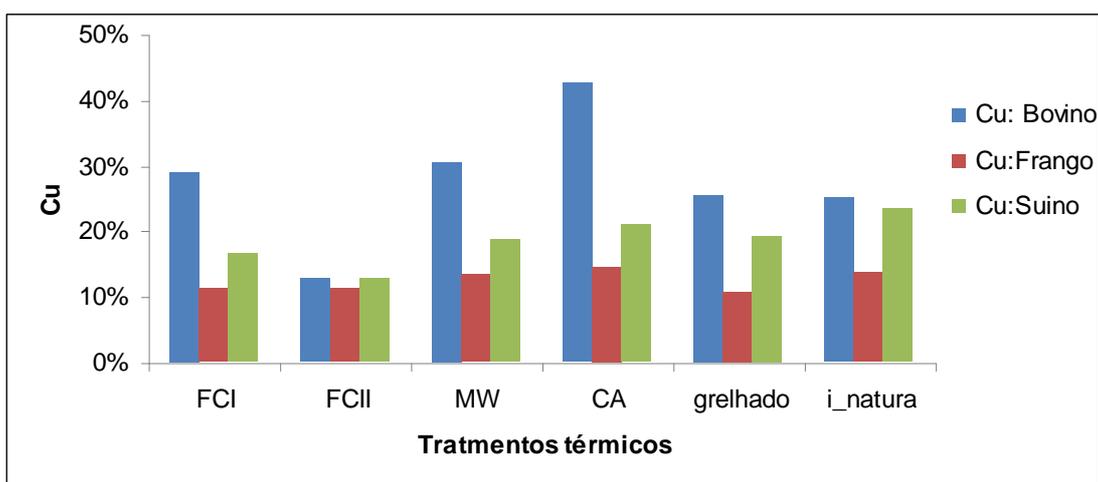


FIGURA 5.13. Teores de Cu disponível após digestibilidade *in vitro* nas amostras de carnes bovina, suína e de frango submetidas a diferentes processamentos térmicos

Nas Figuras 5.12 e 5.13 são apresentados os teores de Cu nas diferentes amostras de carne *in natura* e após processamentos térmicos. Foi possível observar que, após os diferentes tratamentos térmicos, os tratamentos cozido em água e radiação micro-ondas apresentaram maiores disponibilidades de cobre. CA (26%) e MW (21%), sendo que os outros tratamentos se apresentaram equivalentes. A menor disponibilidade de Cu foi observada após o FCII (12%). Em relação às amostras, para todos os tratamentos térmicos o Cu se mostrou mais disponível na carne bovina e suína e menos disponível para a carne de frango.

ANDRADE et. al. em um estudo sobre Zn e Cu em amostras de carnes, observaram que ocorrem perdas percentuais de cobre durante o processo térmico, quando comparadas as carnes *in natura* com as carnes cozidas em fogão convencional. Os autores observaram ainda que as perdas para as carnes de aves diminuem com o decorrer do tempo de congelamento, sendo que para algumas amostras não houve perda significativa do cobre durante o processo de cocção após 2 semanas de congelamento⁴⁰.

CÂMARA et al., estudando a biodisponibilidade de minerais em refeições escolares e comparando métodos de diálise e solubilidade, observaram que a carne e o peixe à base de vegetais eram as mais pobres fontes de Cu dietéticos¹⁵.

A partir dos resultados obtidos na figura 5.13 é possível observar que a carne bovina e o tratamento “cozida em água” apresentam maiores percentagens de cobre biodisponível contribuindo com aproximadamente 25% da recomendação diária (1,7 mg/dia) quando comparada aos outros processamentos térmicos e à carne *in natura*. Isso talvez se deva ao fato de haver compostos facilmente solúveis nessa fração, que podem apresentar boa disponibilidade para o organismo. Sabe-se que compostos de cobre solúveis apresentam cerca de 40% de aproveitamento⁴⁰, decorrente do enfraquecimento das ligações entre proteínas e minerais, o que facilita a absorção dos mesmos pelo organismo.

As informações disponíveis sobre a solubilidade e diálise de Cu em alimentos é escassa, especialmente referentes ao teor de Cu em carnes.

5.4. Análise de FTIR

O aquecimento é um dos passos mais importantes no processamento de alimentos como as carnes. Por isso, estudar o comportamento térmico de proteínas miofibrilares e do tecido conjuntivo da carne é uma tarefa importante na determinação da qualidade final dos produtos da carne. Nesse contexto, o objetivo da utilização da técnica de FTIR nesse trabalho foi de monitorar os processos de desnaturação do tecido conjuntivo e das fibras musculares das amostras de carnes bovina, suína e de frango.

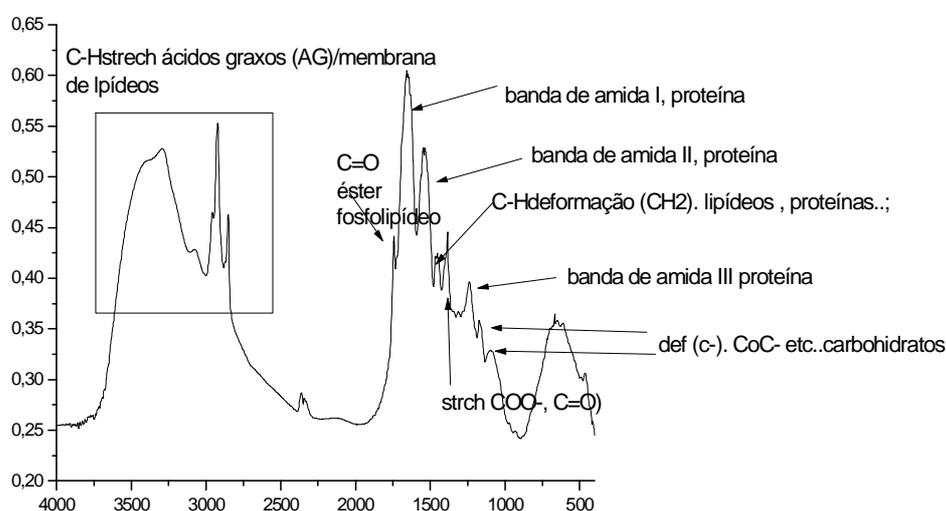


FIGURA 5.14 Espectro de FTIR característico de amostra de carne bovina *in natura*.

Na Figura 5.14 é apresentado um espectro típico para amostras de carnes. Esse espectro é caracterizado principalmente pelas bandas de amida I e amida II, que podem ser correlacionados com as proteínas mais importantes da carne, tais como actina, miosina e colágeno.

KIRSCHNER et. al. realizaram aquecimento térmico em amostra de carne a temperaturas de 45, 60 e 75 °C e verificaram que ocorreram significativas alterações nos espectros na região amida I durante o processo de aquecimento, decorrente da desnaturação das proteínas¹⁴⁹. Essas mudanças foram mais marcantes a temperaturas mais elevadas. Nesse caso, ocorreram mudanças

conformacionais mais pronunciadas para as miofibras do que para o tecido conjuntivo da carne, o que pode estar relacionado com a desnaturação das proteínas.

Foi observado o mesmo comportamento para amostras de carne estudadas nesse trabalho como é possível observar nas Figuras 5.15, 5.16 e 5.17.

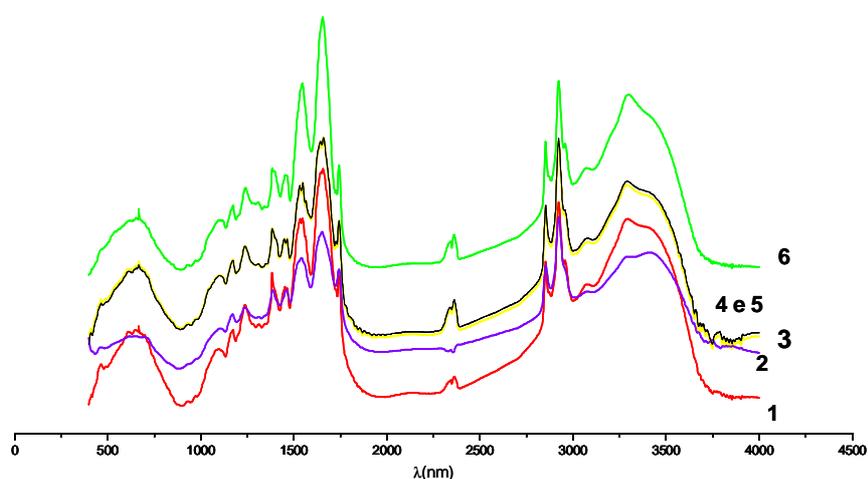


FIGURA 5.15 – Espectro FTIR para amostra de carne bovina in natura e processadas termicamente. 1- carne in natura, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2.

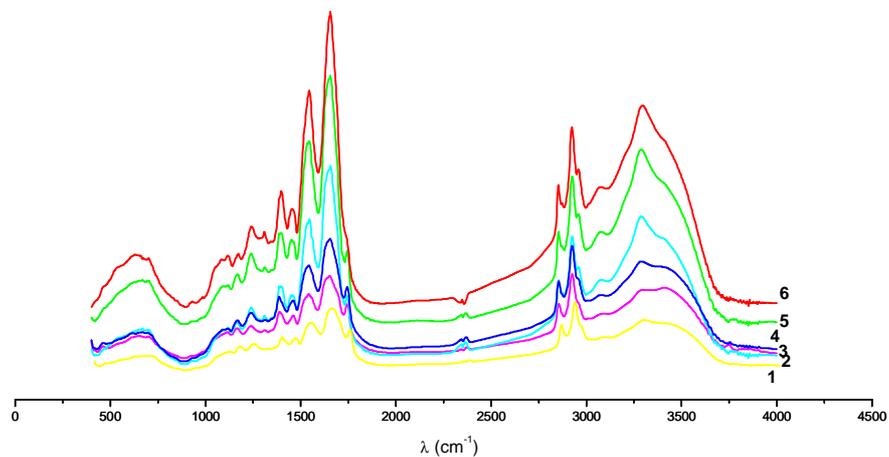


FIGURA 5.16 – Espectro FTIR para amostra de carne suína in natura e processadas termicamente 1- carne in natura, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2.

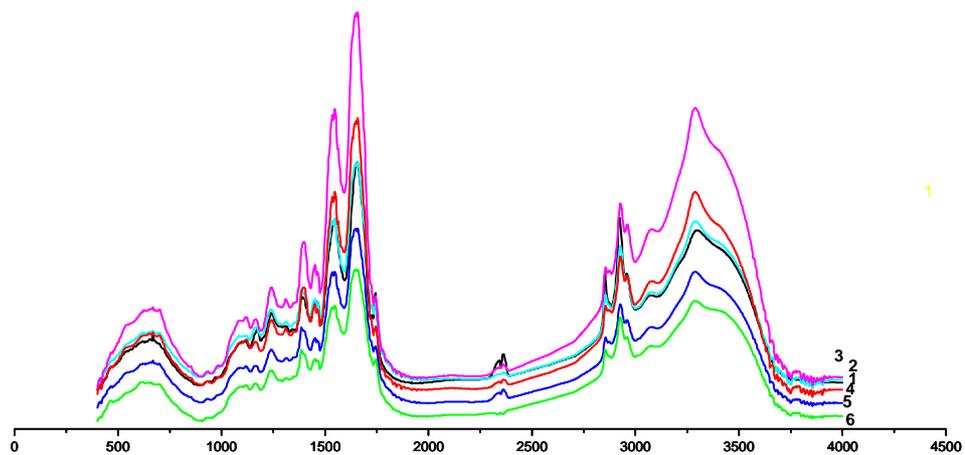


FIGURA 5.17 – Espectro FTIR para amostra de frango in natura e processadas termicamente. 1- carne in natura, 2- cozida em água, 3- micro-ondas, 4- grelhada, 5- Forno convencional 1 e 6- forno convencional 2.

A partir dos resultados apresentados nas Figuras 5.16 e 5.17, é possível verificar comportamento semelhante entre as amostras de carnes bovina e suína e as amostras de carne dos estudos feito por KIRSCHNER et. al., ou seja, ocorreu desnaturação das proteínas nos aquecimentos mais elevados, pois houve alargamento das bandas de amida I e II, que caracterizam principalmente proteínas como miosina, actina e colágeno¹⁵⁰. As amostras de frango não apresentaram comportamento semelhante às demais, isso talvez se deva ao fato das proteínas desse tipo de carne serem distintas das presentes nas carnes suína e bovina.

KIRSCHNER e colaboradores também fizeram imagens FTIR microespectrocópicas, com o intuito de observar o efeito do aquecimento sobre as proteínas da carne¹⁴⁹. Os autores verificaram a partir dessas imagens a desnaturação das proteínas e observaram também que esse efeito foi mais pronunciado a 70°C, sendo que nesse caso as proteínas apresentam tamanho reduzido e maior escurecimento quando comparadas às proteínas a carne *in natura*.

Pelo exposto, é possível concluir que processamentos térmicos em amostras de carne provocam desnaturação de proteínas importantes como a miosina, actina e colágeno. Essa desnaturação pode ser responsável pela baixa disponibilidade de minerais e proteínas nas amostras de carne aqui estudadas nos processamentos a temperaturas mais elevadas, como FCII.

5.5. Análise de Componentes Principal (PCA)

A quimiometria é uma ferramenta matemática e estatística freqüentemente utilizada para maximizar as informações que podem ser extraídas de um conjunto de dados. Usando seus recursos, os métodos de desenvolvimento de produtos alimentícios e análise de alimentos em geral são simplificados. Nesses casos o

uso da quimiometria auxilia na decisão de quais determinações são importantes e, assim, algumas delas podem ser suprimidas. Isso pode ser facilmente utilizado em gráficos bidimensionais, contendo grande parte das informações estatísticas pelo uso da técnica de análise por componentes principais (PCA, *Principal Component Analysis*)¹⁵¹.

Devido à diferença significativa entre as carnes bovina, suína e de frango, a avaliação estatística dos dados foi realizada separadamente para cada amostra de carne. Nas FIGURAS 5.18 e 5.219 são apresentados os gráficos de scores e loadings para a carne bovina, respectivamente, e nas FIGURAS 5.20 e 5.21 são apresentados os gráficos de scores e loadings para frango, respectivamente, e nas FIGURAS 5.22 e 5.23 são apresentados os gráficos de scores e loadings para a carne suína, respectivamente.

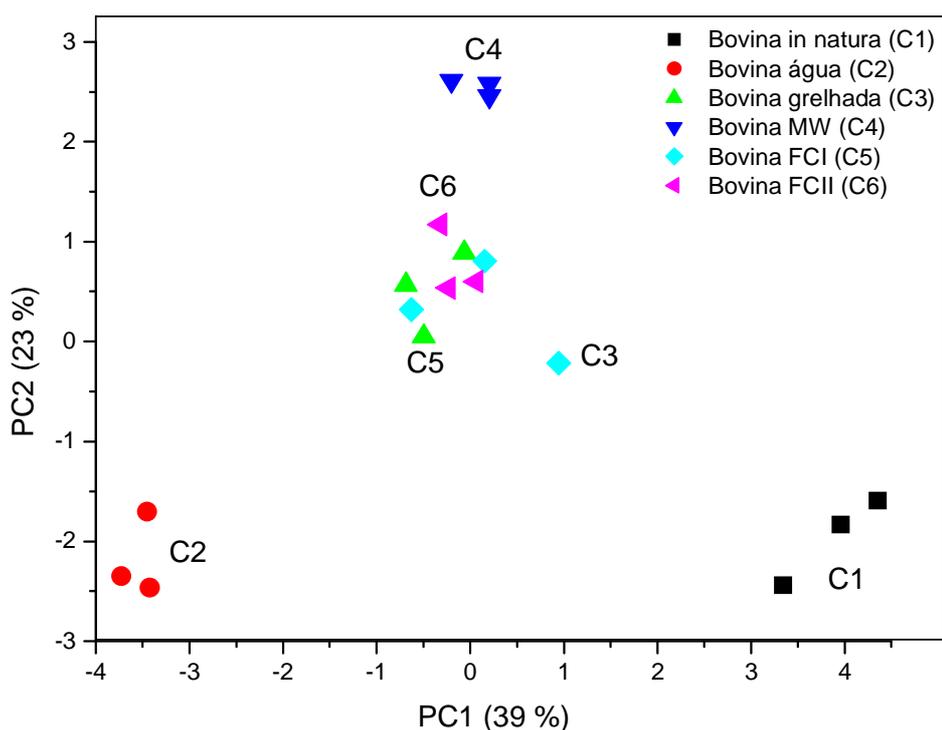


FIGURA 5.18 – Gráfico de *scores* PC1 *versus* PC2 para a amostra de carne bovina in natura e processadas termicamente. C1- in natura, C2- cozida em água,

C3-grelhada, C4- micro-ondas, C5- Forno convencional1 e C6- Forno convencional 2.

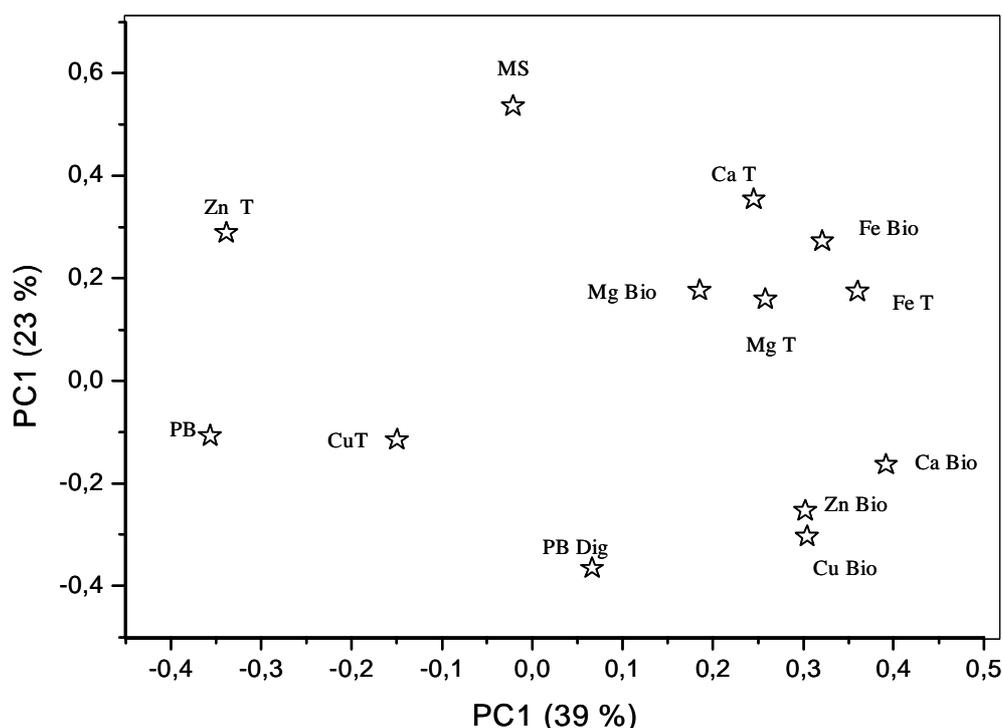


FIGURA 5.19– Gráfico de loadings PC1 *versus* PC2. (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS)

A PCA obtida a partir dos valores médios de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS) para as amostra de carne bovina mostrou que, com apenas duas componentes principais, é possível reter 62% da variância dos dados, sendo 39% da variância total descrita pela primeira componente principal (PC1) e 23% pela PC2 (FIGURA 5.18). Nesta análise quimiométrica e nas demais que se seguem, os dados foram

autoescalados a fim de dar o mesmo peso para todas as variáveis e foi utilizado o programa computacional Pirouette 4.0 rev. 2 da empresa Infometrix. Com o auxílio da figura 5.19 foi possível observar a partir da PC2 a separação de dois grupos segundo os tratamentos térmicos, ou seja, a carne *in natura* e o tratamento mais brando (cozido em água) ficaram separados dos outros tratamentos. A partir do gráfico de loadings (Figura 5.19) podemos observar que o (Ca bio, Zn bio e Cu bio, CuT, PB e PB dig) são os responsáveis pela caracterização das amostras de carne *in natura* e cozida em água enquanto que (CaT, FeT, ZnT, MgT, Fe bio e Ms) pelos demais tratamentos térmicos.

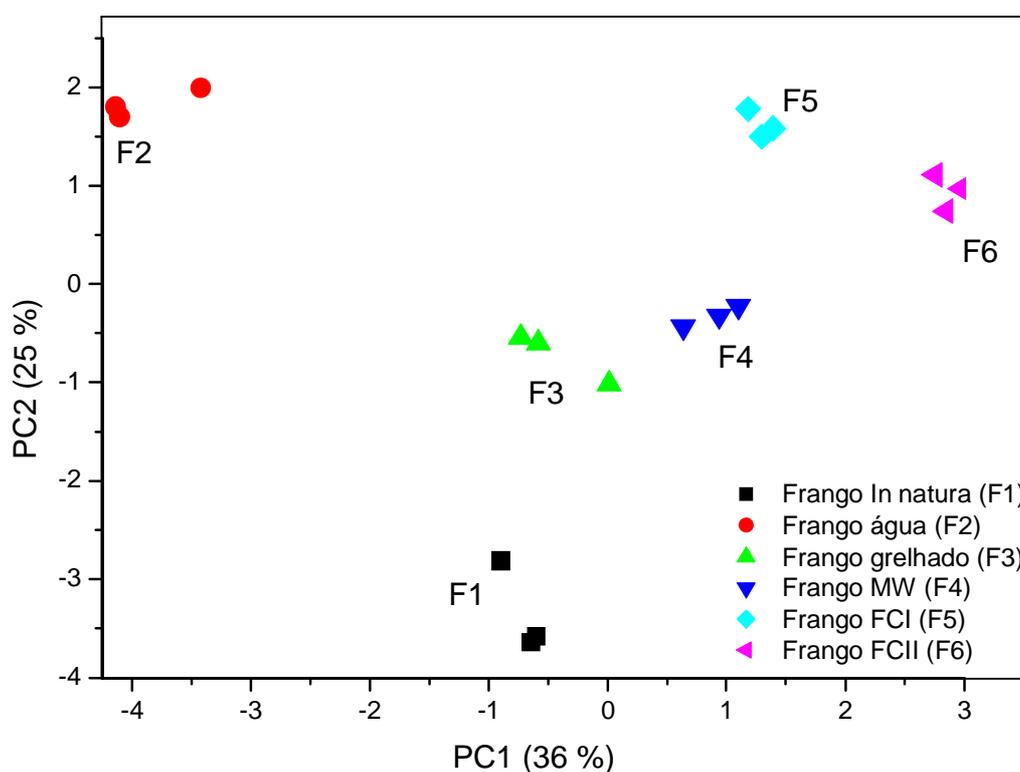


FIGURA 5.20 – Gráfico de scores PC1 versus PC2 para a amostra de carne de frango *in natura* e processadas termicamente. F1- *in natura*, F2- cozida em água, F3-grelhada, F4- micro-ondas, F5- Forno convencional1 e F6- Forno convencional 2.

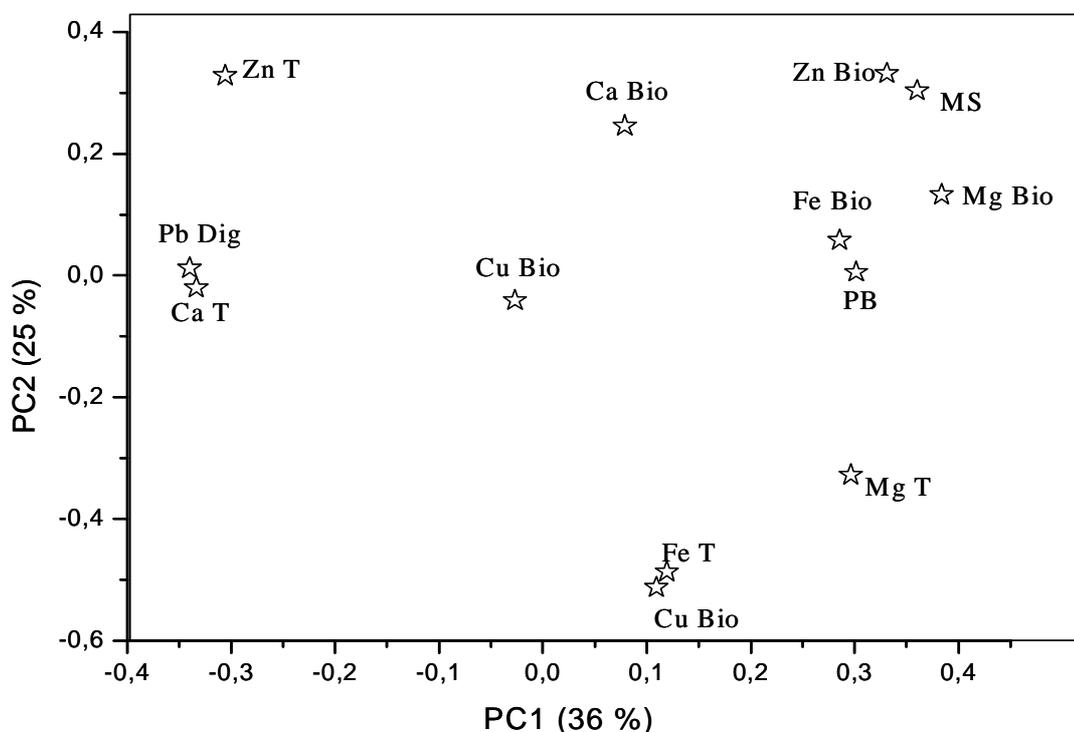


FIGURA 5.21 – Gráfico de loadings PC1 *versus* PC2 (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS)

A PCA obtida a partir dos valores médios de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS) para as amostra de frango mostrou que, com apenas duas componentes principais, é possível descrever 61% dos resultados obtidos, sendo 36% da variância total descrita pela PC1 e 25% PC2 (FIGURA 5.20). Na figura 5.21 foi possível observar a partir da PC1 a separação de três grupos segundo os tratamentos térmicos, ou seja, a carne in natura e os tratamentos cozido em água e grelhado ficaram separados dos outros tratamentos. A partir do gráfico de loadings (FIGURA 5.21) podemos observar que o (Cu bio, CaT, ZnT e PB dig) são

os responsáveis pela caracterização das amostras de frango *in natura*, cozido em água e grelhado enquanto que (Ca bio, Zn bio, Mg bio, Fe bio, FeT, MgT, MS e PB) pelos demais tratamentos térmicos.

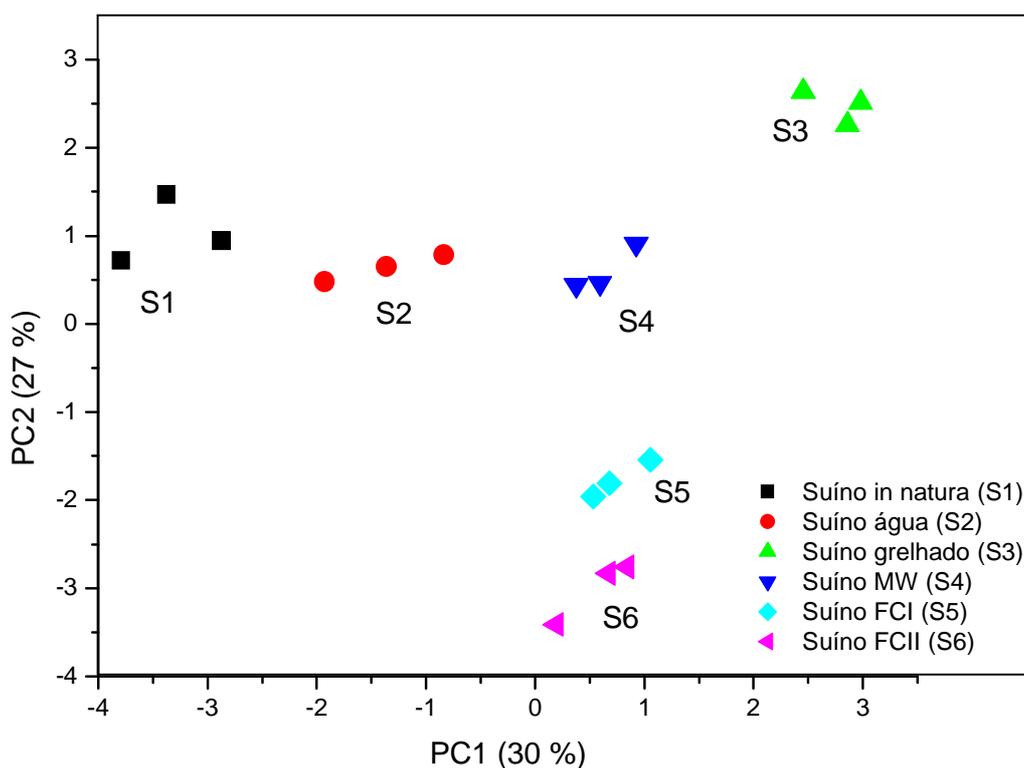


FIGURA 5.22 – Gráfico de scores PC1 versus PC2 para a amostra de carne suína *in natura* e processada termicamente. S1- *in natura*, S2- cozida em água, S3- grelhada, S4- micro-ondas, S5- Forno convencional1 e S6- Forno convencional 2.

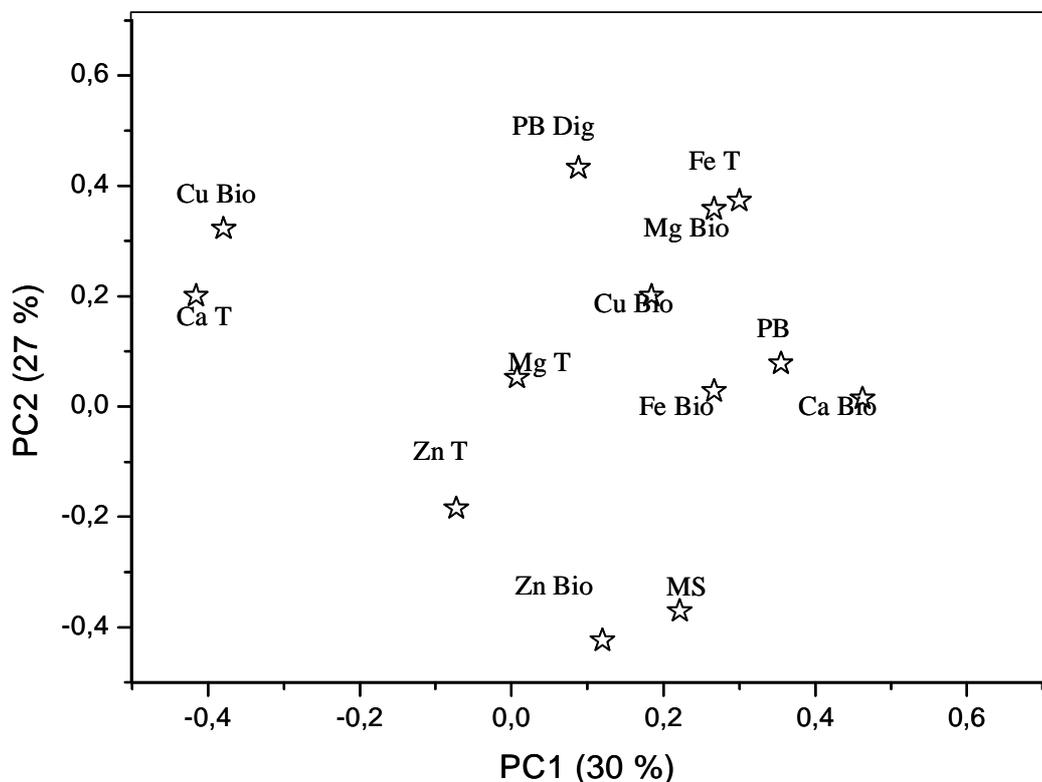


FIGURA 5.23 – Gráfico de loadings PC1 versus PC2 (Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS)

A PCA obtida a partir dos valores médios de Ca, Cu, Fe, Mg e Zn total (CaT, CuT, FeT, MgT e ZnT) e biodisponível (Ca bio, Cu bio, Fe bio, Mg bio e Zn bio) proteína bruta (PB), proteína biodisponível (PB dig) e da matéria seca (MS) para as amostra de carne suína mostrou que, com apenas duas componentes principais, é possível descrever 57% dos resultados obtidos, sendo 27% da variância total descrita pela PC1 e 30% pela PC2 (Figura 5.22). A partir da figura 5.23 foi possível observar a partir da PC2 a separação de quatro grupos segundo os tratamentos térmicos, ou seja, a carne *in natura* e os tratamentos cozido em água, grelhado e microondas ficaram separados dos outros tratamentos. A partir do gráfico de loadings (Figura 5.23) podemos observar que o (Ca bio, Mg bio, Fe

bio, Cu bio, FeT, MgT, CuT, MgT, CaT, PB e PB dig) são os responsáveis pela caracterização das amostras de suíno *in natura*, cozido em água, grelhado e microondas enquanto que (Zn bio, ZnT e MS) pelos tratamentos térmicos FCI e FCII.

A partir da discussão anterior, é possível observar a influência das características particulares de cada carne sobre a biodisponibilidade dos nutrientes e proteínas.

Capítulo 6

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Foi possível observar que os métodos de cocção influenciam na disponibilidade de proteínas e nutriente dos alimentos. Em relação à disponibilidade de proteína, a carne de frango foi a menos afetada pelos processamentos térmicos.

Com relação à disponibilidade de nutrientes, a carne bovina se mostrou uma boa fonte de Cu, Fe e Zn, todos com aproximadamente 20% de disponibilidade, sendo que o tratamento cozido em água apresentou maior eficiência nesse estudo.

Para todas as amostras, o processamento que empregou forno convencional por 60 min e 180 °C (FCII) mostrou uma baixa disponibilidade de nutrientes e proteínas, o que indica que esse processo de aquecimento térmico pode ter alterado a digestibilidade e a absorção dos minerais nas amostras aqui estudadas, decorrentes da reação de Maillard, a qual pode ter sido acelerada pelo maior tempo e maior temperatura de aquecimento nesse processo.

A partir dos resultados obtidos com o emprego da técnica FTIR foi possível comprovar as alterações provocadas pelos processos térmicos quanto à desnaturação de proteínas importantes como a miosina, a actina e o colágeno. Essa desnaturação pode ser responsável pela baixa disponibilidade de minerais e proteínas nas amostras de carne aqui estudadas nos processamentos mais severos como FCII.

A PCA realizada com as amostras de carnes mostrou separação entre os tratamentos térmicos, formando dois grupos para todas as carnes, um deles composto pelos tratamentos mais brandos e o outro composto pelos tratamentos mais severos.

A avaliação da disponibilidade de minerais nos alimentos *in natura* e processados foi um trabalho desafiante, principalmente devido ao método de diálise *in vitro* ser utilizado como estimativa da absorção dos nutrientes nas amostras. Todavia, para uma melhor compreensão desses processos pelo organismo humano se faz necessário um estudo mais elaborado envolvendo indivíduos, em um estudo multidisciplinar.

Referências

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- FELÍCIO, P. D. Serviço de informação da Carne- SIC. FEA/UNICAMP. Disponível na Internet. Acessada em 29/05/2007.
- 2- BELITZ, H. D & GROSCH, W. *Química de los Alimentos*. 2a ed. Zaragoza: Acribia SA, Espanha, 1988. 1087p.
- 3 - MAHAN, L. K.; KRAUSE, S. *Alimentos, Nutrição & Dietoterapia*. 9a ed. São Paulo, Rocca,1998. 1180 p.
- 4- IBGE, *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*, 2006.
- 5- FILHO, A.L. *Produção de Carne Bovina no Brasil: Qualidade, Quantidade ou Ambas?* II Simpósio sobre Desafios e Novas Tecnologias na Bovinocultura de Corte. Brasília, 2006.
- 6- SGARBIERI, V.C. *Proteínas em alimentos protéicos*. São Paulo, Varela, 1996. 517p.
- 7- IYENGAR, G. V.; SUBRAMANIAN, K. S. & WOITTIEZ, J. R. W. *Element Analysis of Biological Samples - Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, New York, 1998.
- 8- GOYER, R. A.; KLAASSEN, C.D. & WAALKERS, M. P. *Metal Toxicology*. Academic Press, Inc. San Diego, 1995.
- 9- COZZOLINO, S. M. F. *Biodisponibilidade de nutrientes*, Barueri, SP; Manole Ltda.; Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, Brasil, 2005.
- 10-YIP, R. *Present knowledge in nutrition*. Washington, In B.A. Bowman & R. M. Russel, DC: ILSI Press., 2001. 311-328 p.
- 11- LINDER, M. C. *Biochemistry of copper*. New York: Plenum Press. 1991.
- 12-TAPIEIRO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. "Trace elements in human physiology and pathology Copper". *Biomed. pharmacother.*, **57**: 386, 2003.
- 13- FENNEMA, O. R. *Química de los Alimentos*, 2ª Ed., Zaragoza: Acribia, 2000. 1200 p.
- 14- COELHO R. G. "Biodisponibilidade de microelementos". Seminário de Micronutrientes em Alimentos: Necessidades e Interações. ITAL (Campinas) 24/05/ 2007.

- 15- CÁMARA, F.; AMARO, M. A.; BARBERÁ, R. & CLEMENT, G. "Bioaccessibility of minerals in school meals: Comparison between dialysis and solubility methods". *Food Chem.* **92**: 481, 2005.
- 16- PROMCHAN, J. & SHIOWATANA, J. "A dynamic continuous-flow dialysis system with on-line electrothermal atomic-absorption spectrometric and pH measurements for in vitro determination of iron bioavailability by simulated gastrointestinal digestion". *Anal Bioanal Chem*, **382**:1360, 2005.
- 17- ZEN, S. in: *Agroanalysis., Revista de Agronegócios da FGV*, **25**: 35, 2005.
- 18- ROÇA, R. O. *Tecnologia da carne e produtos derivados*. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, 2000. 202p
- 19- SEUß, I. "Valor nutricional de la carne y de los productos cárnicos. consideraciones críticas sobre sus componentes en comparación con otros alimentos". *Fleischwirtsch*, **1**, 47, 1991.
- 20- SEUß, I. "The nutritional importance of animal fatty tissue". *Fleischwirtsch*, **73**, 751, 1993.
- 21- VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F. & SILVA, L. C. "Características da Carne de Frango". Boletim Técnico - PIE-UFES:01307 - Editado: 18.08.2007. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES.
- 22-LAWRIE R. A. *Ciência da Carne*, 6ª. Ed., Artmed, Porto Alegre, RS, 2005, 384p.
- 23- SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S. & SILVA, L. C. "Características da Carne Suína". Espírito Santo, Pró-Reitoria de Extensão – Programa Institucional de Extensão – UFES, 2007. Boletim Técnico. 7p.
- 24- ANDERSON, B. A. *Composition and nutritional value of edible meat by products*. In: A. M. PEARSON AND T.R. DUTSON. (Eds). *Edible meat by-products*. Advances in Meat Research. Essex: Elsevier, 1988, 15 p.
- 25- SEUS, I. "The nutritional value of meat and meat products. A critical look at their constituents as compared with other foods". *Fleischwirtsch*, **70**,1444 1990.
- 26- BRAGAGNOLO, N. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. "Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína". *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **22**: 98, 2002.

- 27-BARROS, O. Diretor de Pesquisas e Estudos Econômicos. (BRADESCO) Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos, Agronegócio em Análise, 2009. 3p.
- 28- SAAB, M. S. M. & CLÁUDIO, L. D. G. *A cadeia produtiva da carne suína no Brasil*. *Pork World*, 8, 49, 2009.
- 29- NEVES, M. F. “Q-Pork Chains: Improving the quality of pork and pork products for the consumer. Development of innovative, integrated, and sustainable food production chains of high quality pork products matching consumer demands”. Deliverable D.1.1.2 Pork Consumption in Europe and Beyond: Comprehensive Report. Part B: Pork Consumption in Brazil. Internal Document, 2008.
- 30-SAAB, M. S.B. L. M.; NEVES, M. F. & DEL GRANDE CLÁUDIO, L. “O desafio da coordenação e seus impactos sobre a competitividade de cadeias e sistemas agroindustriais”. *R. Bras. Zootec.* **38**: 412, 2009.
- 31- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS – ABEF. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/estatísticas.htm>>. Acesso em: 10 maio 2008.
- 32- MARTINS, F. M.; TALAMINI, D. J. D. & NOVAES, M. *Avicultura: situação e perspectivas brasileira e mundial*. Concórdia/SC: Embrapa Suínos e Aves. Disponível em: <<http://www.aveworld.com.br/index.php?documento=1415>>. Acesso em: 10 maio de 2007.
- 33- MISTURA, L. P. F. *Cinética de ruptura do ferro heme em carne bovina (coxão-mole-semi membranosus) submetida a diferentes tratamentos térmicos*. São Paulo; Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Alimentos, Área nutrição experimental) USP, 2006. Tese de doutorado. 82p.
- 34- BOBBIO, P. A. & BOBBIO, F. O. *Química do Processamento de Alimentos* São Paulo, SP: Varela, 2001. 92 P.
- 35- EVANGELISTA, J. *Alimentos – Um Estudo Abrangente*. São Paulo: Atheneu: SP, 1994. 450 p.
- 36-PHILIPPI, S. T. *Nutrição e Técnica e Dietética*. Barueri, SP: Manole, 2003. 390p.

- 37- FEIJÓ, G. L. D. "Conhecendo a carne que você consome". Campo Grande. Qualidade da carne bovina. Campo Grande: (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 77), 1999. 25p.
- 38- BARBOSA, A. C. R. N.; CRUZ, C. V. M. S.; GRAZIANI, M. B.; LORENZETTI, M. C. F. & SABADINI, E. "Aquecimento em forno de microondas desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais". *Quím. Nova*, **24**: 904, 2001.
- 39- ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H. & CORTECERO, M. D. S. *Tecnología de Alimentos – Alimento de Origen Animal*. Porto Alegre: Artmed, 2005. 279 p.
- 40- ANDRADE, É. C. B.; BARROS, A. M.; MELLO, V. S & TAKASE, I. "Avaliação do teor de cobre e zinco em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês". *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **24**: 393, 2004.
- 41- BEN, A. M. "Effect of Freezing and Microbial Growth on Myoglobin Derivates of Beef". *Food Chem.*, **147**: 4093, 1999.
- 42- EVANGELISTA, J. *Tecnología de Alimentos*, 2a ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2000. 652p.
- 43- SOLOMONS, N. W. "Competitive Interation of Iron and Zinc in the Diet: Consequences for Human Nutrition". *J. Nutr.*, **116**: 927, 1986.
- 44- OSTROUMOV, V.; HOOVER, R.; OSTROUMOVA, N.; VLIETE-LANOE, B.; SIEGERT, C. & SOROVIKOV, V. "Redistribution of soluble components during ice segregation in freezing ground. *Cold Regions Sci. Tech.*, **32**: 175, 2001.
- 45- SANZ, P.D.; OTERO, L.; DE ELVIRA, C. & CARRASCO, J.A. "Freezing rate simulation as an aid to reducing crystalization damage in foods". *Meat Sci.*, **52**: 275, 1999.
- 46- FIBIANE, M.A. *The Principles of Bio-inorganic Chemistry – The Chemical Society Monographs For Teachers n 31- The Chemical Society, London 1977*. 144p.

- 47- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Elementos Traço na Nutrição e Saúde*. Roca, São Paulo, 1998.
- 48- WAPNIR, R.A. & STIEL, L. "Intestinal absorption of copper: effect of sodium". *Proceeding of the society for experimental biology and medicine*, **185**: 277, 1987.
- 49- WAITZBERG, D. L. *Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica*. 3ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 479p.
- 50- COZZOLINO, S. M. F. "Biodisponibilidade de Minerais". *ver. Nutr.*, 87, 1997.
- 51-FRANCO,G. TACO-*Tabela de Composição Química de Alimentos*. 2ª. Ed. Atheneu, Rio de Janeiro, 1999. 144p.
- 52- BARBERÁ, R. & FARRÉ, R. "Biodisponibilidad de los elementos traça". *Ciênc. Tecnol. Aliment.* , **32**: 381,1992.
- 53-VAN DYCK, K., TAS, S., ROBBERECHT, H. & DEELSTRA, H. "The influence of different food components on the in vitro availability of iron, zinc and calcium from a composed meal". *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 47: 499,1996.
- 54- HANSEN, M., SANDSTROM, B. & LONNERDAL, B. "The effect of caseinphosphopeptides on zinc and calcium absorption from high phytate infant diets assessed in rat pups and Caco-2 cells". *Pediatr. Res.*, **40**: 547, 1996.
- 55- ROIG, M. J.; ALEGRIA, A.; BARBERÁ, R.; FARRÉ, R. & LAGARDA, M. J. "Calcium bioavailability in human milk, cow milk and infant formulas-comparison between dialysis and solubility methods". *Food Chem.*, **65**: 353, 1999.
- 56- WIENK, K. J. H.; MARX, J. J. M. & BEYNEN, A. C. "The concept of iron bioavailability and its assessment". *European Journal of Nutrition*, **38**: 51, 1999.
- 57- AZENHA, M. & VASCONDECELOS, M. "Assessment of the Pb and Cu in vitro availability in wines by jeans of speciation procedures". *Food Chem. Toxicol.*, **38**: 899, 2000.
- 58- DUMONT, E.; DE PAUW, L.; VANHAECKE, F. & CORNELIS, R. "Speciation of Se in ertholletia excelsa (Brazil nut): A hard nut to Crack?". *Food Chem.*, **95**:684, 2006.

- 59- MILLHER, D. D.; SCHRICKER, B. R.; RASMUSSEN, R. R. & VAN CAMPEN, D. "An in vitro method for estimation of iron availability from meals". *Am. J. Clin. Nutt.*, **34**: 2248, 1981.
- 60- LAPARRA, J. M.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R.; BARBERÁ, R. & FARRÉ, R. "Bioaccessibility of inorganic arsenic species in raw and cooked *Hizikia fusiform* seaweed". *Appl. Organometal. Chem.*, **18**: 662, 2004.
- 61- CABANERO, A. I.; MADRID, Y. & CAMARA, C. "Mercury-selenium species ratio in representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method". *Biol. Trace Elem. Res.*, **119**: 195, 2007.
- 62- RABINOVICH, M.; FIGLAS, D.; DELMASTRO, S. & CURVETTO, N. "Copper- and zinc-enriched mycelium of *agaricus blazei murrill*: Bioaccumulation and bioavailability". *J. Medic. Food*, **10**: 175, 2007.
- 63- KULKARNI, S. D.; ACHARYA, R.; RAJURKAR, N. S. & REDDY, A. V. R. "Evaluation of bioaccessibility of some essential elements from wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) by in vitro digestion method". *Food Chem.*, **103**: 681, 2007.
- 64- PEDRERO, Z.; MADRID, Y. & CÁMARA, C. "Selenium species bioaccessibility in enriched radish (*Raphanus sativus*): A potential dietary source of selenium". *J. Agric. Food Chem.*, **54**: 2412, 2006.
- 65- HEMALATHA, S.; PLATEL, K. & SRINIVASAN, K. "Influence of heat processing on the bioaccessibility of zinc and iron from cereals and pulses consumed in India" *J. Trac. Element. Medic. Biolog.*, **21**: 1, 2007.
- 66- COMBS, G. F.; WELCH, R. M.; DUXBURY, J. M.; UPHOFF, N.T. & NESHEIM, M. C. *Food-based approaches to preventing micronutrient malnutrition: An international research agenda. Summary report of an international workshop. Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development*, Cornell University, Ithaca, New York. 1996.
- 67- WELCH, R. M. & GRAHAM, R. D. "Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective". *J. Exp. Bot.* **55**: 353, 2004.

- 68- WEAVER, C. M. & HEANEY, R. P. "Isotopic exchange of ingested calcium between labeled source. Evidence that ingested calcium does not form a common absorptive pool". *Calcif. Tissue Int.*, **49**: 244, 1991.
- 69- JOVANÍ, M.; BARBERÁ, R. & FARRÉ, R. "Review: effect of some components of milk- and soy-based infant formulas on mineral bioavailability". *Food Sci. Tech. Int.*, **7**: 191, 2001.
- 70- NICKEL, K. P.; MARTIN, B. R.; SMITH, D. L.; SMITH, J. B.; MILLER, G. D. & WEAVER, C. M. "Calcium bioavailability from bovine milk and dairy products in premenopausal women using intrinsic and extrinsic labeling techniques" *J. Nutr.*, **126**: 1406, 1996.
- 71- FAIRWEATHER-TAIT, S. & HURRELL, R. F. "Bioavailability of minerals and trace elements". *Nutr. Res. Rev.*, **9**: 295, 1996.
- 72- CORDANO, A. "Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children". *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**: 1012, 1998.
- 73- WAPNIR, R. A. & STIEL, L. "Zinc intestinal absorption in rats: specificity of amino acids as ligands". *J. Nutr.*, **116**: 2171, 1986.
- 74- WINDISCH W. M.; GOTTERBARM, G. G.; & ROTH, F. X. "Effect of potassium diformate in combination with different amounts and sources of excessive dietary copper on production performance in weaning piglets". *Arch Anim Nutr*, **54**: 87, 2001.
- 75- BAKER, D. & CZARNECKI-MAULDEN, G. "Pharmacologic role of cysteine in ameliorating or exacerbating mineral toxicities". *J Nutr*, **117**: 1003, 1987.
- 76- AOYAGI, S. & BAKER, D. H. "Copper–amino acid complexes are partially protected against inhibitory effects of L-cysteine and L-ascorbic acid on copper absorption in chicks". *J. Nutr.*, **124**: 388, 1994.
- 77- WHO/UNICEF, *International Nutritional Anemia Consultative Group. Guidelines for use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency Anemia*, Washington, DC: International Life Sciences Institute, 1998.
- 78- BATISTA-FILHO, M. & FERREIRA, L. O. C. "Prevenção e tratamento da anemia nutricional ferropriva: novos enfoques e perspectivas". *Cad. Saúde Pública*, **12**: 411, 1996.

- 79- FAIRBANKS, V. F. *Iron in medicine and nutrition*. Philadelphia, In: SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. *Modern nutrition in health and disease*. 8a ed. Lea & Febiger, 1994. 185-213 p.
- 80- HALLBERG, L.; BRUNE, M. & ERLANDSSON, M. "Calcium: effect of different amounts on nonheme-and heme-iron absorption in humans". *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**: 112, 1991.
- 81- BIANCHI, M. L. P.; SILVA, H. C. & DUTRA DE OLIVEIRA, J. E. "Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos". *Arch. Latinoam. Nutr.*, **42**: 94, 1992.
- 82- ANTUNES, P. L. & SGARBIERI, V. C. "Fatores antinutricionais, toxicidade e valor nutricional do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.)". *Agros*, **15**: 39, 1980.
- 83- SAMMÁN, N.; MALDONADO, S.; ALFARO, M. E.; FARFÁN, N. & GUTIERREZ, J. "Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (region NOA): cultivation zone influence". *J. Agric. Food Chem.*, **47**: 2.685, 1999.
- 84-BIANCHI, M.L.P. Biodisponibilidade de ferro em produtos industrializados de soja. São Paulo, programa de pós graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos- USP. 1988. Tese de doutorado. 187 p.
- 85- BEARD, J.L; DAWSON, H. & PIÑERO, D.J. "Iron metabolism: a comprehensive review". *Nutr. Rev.*, **54**: 295, 1996.
- 86-MOURA, N. C. & CANNIATTI-BRAZACA, S. G. "Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*phaseolus vulgaris* l.) em comparação com carne bovina". *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **26**: 270, 2006.
- 87- BELILES, R. P. *The metals*. In: Clayton GD & Clayton FE eds. *Patty's industrial hygiene and toxicology*. 4a ed. Vol. II, Part C. New York, John Wiley & Sons. 1994. 1879– 2352 p.
- 88- WHITTAKER, P.; ALI, S. F.; IMAM, S. Z & DUNKEL, V. C. "Acute toxicity of carbonyl iron and sodium iron EDTA compared with ferrous sulfate in young rats". *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **36**: 280, 2002.

- 89- WINDISCH, W. "Interaction of chemical species with biological regulation of the metabolism of essential trace elements". *Anal. Bioanal. Chem.*, **372**: 421, 2002.
- 90- HURRELL, R. F.; REDDY, M. B.; JUILLERAT, M. A. & COOK, J. D. "Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects". *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**: 1213, 2003.
- 91- *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy Press: Washington, 2001.
- 92- SANCHEZ-MORITO, N.; PLANELLS, E.; ARANDA, P. & LLOPIS, J.; "Magnesium-manganese interactions caused by magnesium deficiency in rats *Am. J. Clin. Nutr.* **18**: 475,1999.
- 93- SALGUEIRO, M. J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; SARABIA, M. I.; CARO, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R. & BOCCIO, J. "Zinc as an essential micronutrient: a review". *Nutr. Res.*, **20**:737, 2000.
- 94- ZHOU, J.R. & ERDMAN, J. W. "Phytic acid in health and disease. Critical Reviews". *Food Sci. and Nutr.*, **35**: 495, 1995.
- 95- DYCK, K. V.; TAS, S.; ROBBERECHT, H. & DEELTRA H. "The influence of different food components on the in vitro availability on iron, zinc and calcium from a composed meal". *International J. Food Sci. Nutr.*, **47**: 499, 1996.
- 96- LÖNNERDAL, B. "Dietary factors influencing zinc absorption". *J.Nutr.*, **130**: 1378, 2000.
- 97- SENA, K. C. M. & PEDROSA, L. F. C. "Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes". *Rev. Nutr.*, **18**: 251, 2005.
- 98- LAJOLO, F. M. & TIRAPGUI, J. *Proteínas e Aminoácidos*. In Dutra-de-Oliveira, J. E., Marchini, J. S. Ciências Nutricionais. São Paulo: Savier, 1998. 402p.
- 99-MARZZOCO, A. & TORRES. B. B. *Bioquímica Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara, Koogan, 2ª. ed., 1999. 360p.

- 100-ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L.H. & CORTECERO, M. D. S. *Tecnologia de Alimentos – Alimento de Origem Animal*. Porto Alegre: Artmed, , 2005. 279 p.
- 101- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. & COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier. 2ª. ed., 2000. 839p.
- 102- NEIVA, C. M.; GUERRINO, M. R. & MELLO, M. A. R., *Análise dos efeitos da desnutrição protéico-calórica sobre as respostas ao exercício agudo (single section) parâmetros metabólicos Motriz*. junho/1999. Disponível em: http://www.rc.unesp.br/ib/efisica/motriz/01n1/5_Cassiano_form.pdf. Acessado em 08/08/09.
- 103- ARAÚJO, E. M. & MENEZES, H. C. “Composição centesimal, lisina disponível e digestibilidade in vitro de proteínas de fórmulas para nutrição oral e enteral”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **25**: 768, 2005.
- 104- DUNKER, K. L.L.; ALVARENGA, M. & MORIEL, P. *Grupo do Leite, Queijo e Iogurte*. In: Philippi, S. T. Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição. Barueri, SP: Manole, 2008. 101-165 p.
- 105- OETTERER, M. & SARMENTO, S. B. S. *Propriedades dos Açúcares*. In: OETTERER, M. REGITANO D’ARCE, M. A. B., SPOTO, M. H. F. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri, SP: Manole, 2006.135-192 p.
- 106- NUNES, S. C. & BAPTISTA, A.O. “Implicações da reacção de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos”. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 96: 53, 2001.
- 107- MARTINS, S. I. F. S.; JONGEN, W. M. F. & VAN BEKEL, M. A. J. S. A. “Review of Millard reaction in food and implication to Kinetic modeling”. *Trends Food Sci. Tech.* **11**: 364, 2001.
- 108- VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2a. ed. Ithaca, New York, Cornell University Press, 1994. 476p.
- 109- STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: genesis, composition, reaction*. 2 ed. New York: John Wiley, 1994, 496p.

- 110- STUART, B. *Modern Infrared Spectroscopy: Analytical Chemistry by Open Learning*. New York: John Wiley, 1996, 179p
- 111- STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: genesis, composition, reaction*. 1 ed. New York: John Wiley, 1982, 443p
- 112- VINKLER, P.; LAKATOS, B. & MEISEL, J. "Infrared spectroscopic investigations of humic substances and their metal complexes". *Geoderma*, **15**: 231, 1976.
- 113- HERNANDEZ, T; MORENO, J. I. & COSTA, F. "Infrared characterization of sewage slud humic acids. Evidence of sludge organic matter- metal interactions". *Agrochim.*, 37: 12, 1993.
- 114- SCHNITZER, M. & KHAN, S. V. *Humic Substances in the Environment*. New York: Marcel Dekker, 1972. 192-197 p.
- 115- BUTCHER, D. J. & SNEDDON, J. *A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry*. New York: John Wiley & Sons, 1998. 250 p.
- 116- WELZ, B.; SPERLING, M. *Atomic absorption spectrometry*. 3 ed. Weinheim: VCH, 1999. 941 p.
- 117- JACKSON, K. W. *Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry*. Chichester: John Wiley, 1999. 470 p.
- 118- GINÉ-ROSIAS, M. F. *Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP AES)*. Piracicaba, Cena, 1998, 148P.
- 119- VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C. B. *Modern methods for trace element determination*. New York: John Willey & Sons, 1997. 344 p.
- 120- TREVIZAN, L. C. *Avaliação das condições operacionais de espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com configuração axial*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2007. Tese de doutorado. 153p.
- 121- MONTASER, A. & GOLIGHTLY, D. W. *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectroscopy*. New York: VCH publisher, 1992.
- 122- ARAÚJO, G. C. L. *Preparo de Amostras e Determinação dos Constituintes Inorgânicos por ICP OES para Caracterização Química do*

- Gênero Paspalum (Poaceae)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004. Tese de doutorado, 172 p.
- 123- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. 4a ed. São Paulo: INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2004. 1004p.
- 124- AKESON, W.R. & STAHMANN, M. A. “A pepsin pancreatin digested index of protein quality evaluation”. *J. Nutr.*, **83**: 257, 1964.
- 125- WEBER, F. H.; GUTKOSKI, L. C. & ELIAS, M. C. “Caracterização química de cariopses da aveia (*Avena sativa* L) da cultivar UPF 18”. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*. **22**: 39, 2002.
- 126- KRUG, F. J. *Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar*. 1 ed., editado por Francisco José Krug, Piracicaba, 2008.
- 127-TREVIZAN, L.C.; DONATI, G. L.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. in: M.A.Z. Arruda (Ed.), *Trends in Sample Preparation*, Nova Science Publishers, New York, 2007.
- 128- THOMSEN, V., ROBERTS, G. & BURGESS, K. “The concept of background equivalent concentration in spectrochemistry”. *Spectrosc.*, **15**: 33, 2000.
- 129- VIEIRA, E. C., *Avaliação de Potencialidades e Aplicações de Espectrômetros com Plasma Acoplado Indutivamente em Análises Químicas*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2007. Tese de doutorado. 112p.
- 130- GALL, K. L.; OTWELL, W. S.; KOBURGUER, J. A. & APPLIEDORF, H. “Effects of four cooking methods on the proximate, mineral and fatty acid composition of fish fillets”. *J. Food Sci.*, **48**: 1068, 1983.
- 131- GARCIA-ARIAS, M. T.; PONTES, E. A.; GARCIALINHARES, M. C.; FERNANDEZ, M. C. G. & SANCHEZMUNIZ, F. J. “Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets: effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions”. *Food Chem.*, **83**: 349, 2003.

- 132- GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P. & CENGIZ, E. "Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Food Chem.*, **84**:19, 2004.
- 133- FERREIRA, M. W. *Composição química e perfil lipídico do filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) cru e submetido a diferentes métodos de cocção*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2005. Ciência dos Alimentos, Dissertação Mestrado, 80 p.
- 134- ROSA, F. C. *Composição química e métodos de cocção de carcaça de frangos de corte alimentados com rações suplementadas com ômega-3*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2003. Ciência dos Alimentos, Tese Doutorado, 131 p.
- 135- COZZOLINO, S. M.F.; COMINETTI, C. & BORTOLI, M.C. *Grupo das Carnes e Ovos*. In: PHILIPPI, S. T. Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição. Barueri, SP: Manole, 2008. 169-174p.
- 136- BOHAC, C. E.; RHEE, K. S.; CROSS, H. R. & ONO, K. "Assesment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats". *J. Food Sci.*, **53**:1642, 1988.
- 137- BRAGAGNOLO, N & RODRIGUES-AMAYA, D. B. "Teores de colesterol em carnes de frango". *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, 28:122,1992.
- 138- ROSA, F. C.; BRESSAN, M. C.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, É. J.; VIEIRA, J. O.; FARIA, P. B. & SAVIAN, T. V. "Efeito de métodos de coação sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte". *Ciênc. Agrotec.*, **30**: 707, 2006.
- 139- VIEIRA, J. O.; BRESSAN, M. C.; FARIA, P. B.; FERREIRA, M. W.; FERRÃO, S. P. B. & SOUZA, X. R. "Efeito dos métodos de cocção na composição centesimal e colesterol do peito de frangos de diferentes linhagens". *Ciênc. Agrotec.*, **31**: 164, 2007.
- 140- TACO - *Tabela brasileira de composição de alimentos*. NEPA-UNICAMP. -Versão II. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006.113p.

- 141- POTTER, N. N. & HOTCHKISS, J. H. *Ciência de los Alimentos*. 5.ed. Zaragoza: Acribia, 1995. 667 p.
- 142- GIRARD, J. P. *Tecnología de la carne y los productos cárnicos*. Zaragoza: Acribia, 1991. 300 p.
- 143- GERBER, N.; SCHEEDER, M.R.L. & WENK, C. "The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat". *Meat Sci.*, **81**: 148, 2009.
- 144- COTRAN, R. S.; KUMAR, V. & ROBBINS, S. L. *Patologia Estrutural e Funcional*, 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996, 1277p.
- 145- DUHAIMAN, A. S. "Total iron content and bioavailability from liver, meat and vegetables". *Nutr. Rep. Int.* **37**: 645, 1998.
- 146- FRANCO, G. *Tabela de composição química dos alimentos*, 9ª ed. São Paulo: Atheneu, 1992, 307p.
- 147- KUMAR, R.; SRIVASTAVA, P. K. & SRIVASTAVA, S. P. "Leaching of heavy metals (Cr, Fe, and Ni) from stainless steel utensils in food simulants and food materials". *Bull. Environ. Cont. Toxicol.*, **53**: 259, 1994.
- 148- MISTRY, A. N.; BRITTIN, H. C. & STOECKER, B. J. "Availability of iron from food cooked in an iron utensil determined by an in vitro method". *J. Food Sci.*, **53**: 1546, 1988.
- 149- KIRSCHNER, C.; OFSTAD, R.; SKARPEID, H.-J.; HØST, V. & KOHLER, A. "Monitoring of denaturation processes in aged beef loin by Fourier Transform Infrared Microspectroscopy". *J. Agric. Food Chem.* **52**: 3920, 2004
- 150- ORNELLAS, H. O. *Técnica Dietética-Seleção e Preparo de Alimentos*. 7ª ed. Atheneu, São Paulo, 2001. 271p.
- 151- MORGANO, M. A; QUEIROZ, S. C. N. & FERREIRA, M. M. C. "Aplicação da Análise exploratória na diferenciação de vegetais". *Braz. J. Food. Technol.* **21**: 73, 1999.