

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA PATRICIA DE OLIVEIRA SANTOS

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM FASE
REVERSA PARA DETERMINAÇÃO DE COBRE, FERRO, MAGNÉSIO,
MANGANÊS E NÍQUEL EM GORDURA SUÍNA**

MEDIANEIRA

2022

MAYARA PATRICIA DE OLIVEIRA SANTOS

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM FASE REVERSA PARA
DETERMINAÇÃO DE COBRE, FERRO, MAGNÉSIO, MANGANÊS E NÍQUEL EM
GORDURA SUÍNA**

**Reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of
copper, iron, magnesium, manganese and nickel in pork fat**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de
Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Deisy A. Drunker

Coorientador: Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite.

MEDIANEIRA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



MAYARA PATRICIA DE OLIVEIRA SANTOS

MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA EM FASE REVERSA PARA DETERMINAÇÃO DE COBRE, FERRO, MAGNÉSIO, MANGANÊS E NÍQUEL EM GORDURA SUÍNA

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 08 de Abril de 2022

Profa. Dra. Deisy Alessandra Drunkler, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Dra. Angela Claudia Rodrigues, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Eder Lisandro De Moraes Flores, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Fabio Alan Carqueija Amorim, Doutorado - Universidade Estadual de Santa Cruz (Uesc)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 08/04/2022.

Dedico esse trabalho à Mayara do futuro, que me faz a cada dia querer ser uma pessoa melhor e que ela possa ser plenamente feliz. E, sobretudo, a Deus, que me concedeu e me permitiu ter as crenças e valores necessários para trilhar essa jornada, para alcançar voos ainda maiores, crescer e contribuir imensamente mais.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira, por participar do programa e desenvolvimento desse trabalho.

A minha orientadora Prof. Dra. **Deisy Alessandra Drunkler**, pela dedicação, contribuições e paciência em orientar durante todo o percurso do trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr. **Oldair Donizeti Leite**, por estar presente em cada etapa do trabalho, contribuindo e agregando conhecimento na execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. **Éder Lisandro de Moraes Flores**, pela colaboração durante as análises desenvolvidas, contribuindo imensamente na execução do trabalho.

À Prof. Dra. **Angela Claudia Rodrigues**, por participar do exame de qualificação e aporte com sugestões e esclarecimentos de dúvidas.

À Central Analítica Multiusuário da UTFPR – Campus Medianeira (CEANMED), pelos ensaios realizados.

Aos meus amigos **Mauro Acordi Junior** pela moradia nos fins de semana para conclusão das análises e ao **Francisco Rafael Cáceres** que me motivava a nunca desistir e me lembrava sempre que eu era capaz.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Conhecer não é o suficiente; o conhecimento também deve ser aplicado. Querer algo não é o suficiente; é preciso também agir.”
(Goethe, 2006)

RESUMO

A banha suína, assim como outros alimentos, está susceptível na sua composição, seja por meio natural ou por contaminação, a conter metais (essenciais ou não) que podem interferir na estabilidade do produto ou alterar a qualidade por não atender a um padrão de identidade e qualidade, bem como, em excesso, pode causar danos à saúde do consumidor. O trabalho teve como precursor o desenvolvimento de um método empregando a técnica de microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) visando a extração e pré-concentração concomitantemente de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em banha suína para posterior determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Para se obter melhores percentuais de extração avaliaram-se os solventes dispersores (isopropanol e n-propanol), solventes extratores (HNO_3 e $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ 1:1(v/v)), proporção entre solvente dispersor: extrator (50/50, 60/40, 70/30 e 80/20), concentração do solvente extrator (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2 mol L^{-1}), volume total da mistura de solvente dispersor: extrator (0,5; 1,0; 1,5 e 2 mL), tempo de ultrassom (0, 5 e 10 minutos) e tempo de centrifugação (5, 10, 15 minutos). Todos os resultados otimizados foram expressos como percentual de recuperação. As melhores condições da RP-DLLME obtidas na otimização foram: uso do Isopropanol como solvente dispersor, $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ (1:1 v/v) como extrator; razão solução dispersor: extrator de 60/40 % (v/v), volume de 1 mL dispersor: extrator para 5 g de matriz, 10 minutos de homogeneização (solventes/matriz) em banho ultrassom 37 kHz e, 5 minutos de centrifugação a 6000 rpm. Para a determinação dos analitos por F AAS foi realizada a calibração externa para Cu, Fe, Mg, Mn e Ni no intervalo entre 0,25 a 1,5 mg L^{-1} . Os limites de quantificação para Cu, Fe, Mg, Mn e Ni foram 0,0106; 0,0136; 0,0042; 0,0169 e 0,0124 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente. A exatidão foi estimada entre 95,64 a 104,42% e com precisão (RSD) inferior a 1% para todos os analitos. O método foi aplicado em seis diferentes marcas de banha suína comercial (n = 5), onde a recuperação ficou entre 90,2 e 103,2% e os RSD entre 0,024 e 0,094. Após, realizou-se a caracterização de risco, no qual obteve-se para Fe 0,43 a 2,79% e para Mg 0,21 a 4,22% em relação a dose diária recomendada e para Ni 5,13 a 25,83% em relação ao nível de ingestão superior tolerável. O Quociente de risco foi inferior a 1×10^5 sendo improvável que mesmo populações sensíveis sofram efeitos adversos. O método analítico possui pode ser empregado para a determinação dos elementos em amostras de banha suína.

Palavras-chave: avaliação de risco; metais; suínos; espectrometria de absorção atômica.

ABSTRACT

The pork lard, as well as other foods, is susceptible in its composition, either by natural means or by contamination, to contain metals (essential or not) that can interfere in the stability of the product or alter the quality by not meeting an identity and quality standard, as well as, in excess, can cause damage to the health of the consumer. This work had as a precursor the development of a method using the reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction technique (RP-DLLME) aiming the extraction and preconcentration of Cu, Fe, Mg, Mn and Ni in pork lard for subsequent determination by flame atomic absorption spectrometry (F AAS). In order to obtain better extraction percentages the following were evaluated: dispersing solvents (isopropanol and n-propanol), extracting solvents (HNO₃ and HNO₃ + HCl 1:1(v/v)), proportion between dispersing solvent: extractant (50/50, 60/40, 70/30 and 80/20), extractant solvent concentration (0; 0.5; 1.0; 1.5 and 2 mol L⁻¹), total volume of the dispersant: extractant solvent mixture (0.5; 1.0; 1.5 and 2 mL), ultrasound time (0, 5 and 10 minutes) and centrifugation time (5, 10, 15 minutes). All optimized results were expressed as percent recovery. The best RP-DLLME conditions obtained in the optimization were: use of Isopropanol as dispersing solvent, HNO₃ + HCl (1:1 v/v) as extracting solvent; disperser: extractor solution ratio of 60/40 % (v/v), volume of 1 mL disperser: extractor for 5 g of matrix, 10 minutes of homogenization (solvents/matrix) in a 37 kHz ultrasound bath and 5 minutes of centrifugation at 6000 rpm. For the determination of analytes by F AAS, external calibration was performed for Cu, Fe, Mg, Mn, and Ni in the range of 0.25 to 1.5 mg L⁻¹. The limits of quantification for Cu, Fe, Mg, Mn and Ni were 0.0106; 0.0136; 0.0042; 0.0169 and 0.0124 µg Kg⁻¹, respectively. Accuracy was estimated to be between 95.64 to 104.42% and with precision (RSD) less than 1% for all analytes. The method was applied to six different brands of commercial lard (n = 5), where the recovery was between 90.2 and 103.2% and the RSD between 0.024 and 0.094. Then, risk characterization was performed, in which 0.43 to 2.79% and 0.21 to 4.22% were obtained for Fe compared to the recommended daily intake and 5.13 to 25.83% for Ni compared to the upper tolerable intake level. The risk quotient was less than 1 x 10⁵, making it unlikely that even sensitive populations would suffer adverse effects. The analytical method possesses can be used for the determination of the elements in pork lard samples.

Keywords: risk assessment; metals; swine; atomic absorption spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Estabilidade de alguns óleos e gorduras a oxidarem..... | 25 |
| Figura 2 - Reações que ocorrem na auto-oxidação de lipídios..... | 25 |
| Figura 3 - Primeira etapa do procedimento RP-DLLME empregado a banha suína | 39 |
| Figura 4 - Segunda etapa do procedimento RP-DLLME empregado a banha suína | 39 |
| Figura 5 - Efeito do n-propanol e isopropanol como solventes dispersores na recuperação (%) de Ni, Mg, Cu e Fe em banha suína para quantificação em F AAS | 46 |
| Figura 6 - Efeito do volume de isopropanol e da proporção entre solvente dispersor: solvente extrator no percentual de recuperação de Ni (a), Mg (b) e Cu (c) em banha suína empregando F AAS para quantificação | 48 |
| (b)..... | 48 |
| (c)..... | 48 |
| Figura 7 - Efeito da concentração do solvente extrator HNO ₃ + HCl no percentual de recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína determinada por F AAS | 50 |
| Figura 8 - Efeito da quantidade da solução dispersora/ extratora na recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína | 52 |
| Figura 9 - Efeito do ultrassom no percentual de recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína determinada por F AAS | 54 |
| Figura 10 - Teste da centrifugação na recuperação (%) de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína. | 55 |
| Figura 11 – Amostra contaminada com proteína | 63 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Composição de vitaminas, minerais e lipídios em 100g de banha.. | 21 |
| Tabela 2 - Análises químicas e físico-química de banha suína..... | 23 |
| Tabela 3 – Utilização de RP-DLLME em diferentes matrizes | 32 |
| Tabela 4 - Parâmetros para determinação de Ni, Mg, Cu, Fe e Mn | 33 |
| Tabela 5 – Concentrações para a calibração do equipamento F AAS de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni | 34 |
| Tabela 6 - Análise de variância para a recuperação (%) dos metais Ni, Cu, Fe e Mg em banha suína para determinação em F AAS empregando os solventes dispersores n-propanol e isopropanol..... | 46 |
| Tabela 7 – Análise de variância para a recuperação (%) dos metais Cu, Mg e Ni em banha suína para a determinação em F AAS em relação a proporção do solvente dispersor (50, 60, 70 e 80% v/v) e o solvente extrator (HNO ₃ e o HNO ₃ + HCl) | 49 |
| Tabela 8 – Análise de variância dos resultados do efeito da concentração do solvente extrator HNO ₃ + HCl no percentual de recuperação dos metais Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína..... | 50 |
| Tabela 9 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais, variando a quantidade de solução 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mL | 52 |
| Tabela 10 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, variando o tempo (min) de ultrassom em 0, 5 e 10 min..... | 54 |
| Tabela 11 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, variando o tempo (min) de centrifugação em 5, 10 e 15 min / 6000 rpm..... | 55 |
| Tabela 12 – Condições ideais para aplicação da RP-DLLME para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha suína utilizando F AAS | 56 |
| Tabela 13 – Coeficiente de correlação linear, equação da reta e faixa linear da curva de calibração para Cu, Fe, Mg, Mn e Ni..... | 57 |
| Tabela 14 – Parâmetros - LQ e LD - para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha por F AAS com o emprego de RP-DLLME..... | 58 |
| Tabela 15 – Testes de recuperação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni com determinação por F AAS em concentrações de 0,3 e 0,5 mg kg ⁻¹ (n=5) | 58 |
| Tabela 16 – Resultados de recuperação e quantificação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha suína, aplicando a metodologia RP-DLLME por F AAS (n=5) | 62 |
| Tabela 17 – Consumo dietético estimado para Fe, Mg e Ni (mg dia ⁻¹) através do consumo de banha suína para população de crianças, adolescentes e adultos | 65 |
| Tabela 18 – Quociente de perigo (QH) e índice de perigo (IP) dos metais Fe, Mg e Ni pelo consumo de banha suína para as crianças adolescentes e adultos | 67 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|--|
| AAS | Espectrometria de absorção atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i> |
| ABPA | Associação Brasileira de Proteína Animal |
| AOAC | Associação de Químicos Oficiais de Agricultura, do inglês <i>Association of Official Agricultural Chemists</i> |
| CLA | Ácido linoleico conjugado |
| DLLME | Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês <i>Dispersive liquid-Liquid microextraction</i> |
| EUA | Estados Unidos da América |
| F AAS | Espectrometria de absorção atômica em chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> |
| GF AAS | Absorção atômica com forno de grafite, do inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> |
| IAL | Instituto Adolf Lutz |
| IDR | Ingestão diária recomendada |
| IDE | Ingestão diária estimada |
| ICP-MS | Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> |
| INMETRO | Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia |
| IP | Índice de Perigo |
| ISO | Organização Internacional de Normalização |
| IUPAC | União Internacional de Química Pura e Aplicada |
| LD | Limite de detecção |
| LLE | Extração líquido-líquido, do inglês <i>Liquid-liquid extraction</i> |
| LQ | Limite de quantificação |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| POA | Produtos de origem animal |
| QR | Quociente de risco |
| R | Recuperação |
| R ² | Coefficiente de correlação linear |
| RDA | Dose diária recomendada |
| RfD | Dose de referência |
| RIISPOA | Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos |

de Origem Animal

| | |
|----------|--|
| RP-DLLME | Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa, do inglês <i>Reverse phase dispersive liquid-liquid microextraction</i> |
| RSD | Desvio padrão relativo |
| RTQI | Regulamento técnico de identidade e qualidade |
| SD | Desvio padrão |
| SFE | Extração de fluido supercrítico |
| SIF | Serviço de Inspeção Federal |
| SIP | Serviço de Inspeção do Paraná |
| SPE | Extração em fase sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i> |
| SPME | Microextração em fase sólida, do inglês <i>Solid Phase microextraction</i> |
| UL | Limite máximo tolerável |
| USDA | Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, do inglês <i>United States Department of Agriculture</i> |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|------------------|--------------------|
| As | Arsênio |
| Fe | Ferro |
| Ca | Cálcio |
| Cd | Cádmio |
| Cu | Cobre |
| HCl | Ácido clorídrico |
| HNO ₃ | Ácido nítrico |
| K | Potássio |
| Mg | Magnésio |
| Mg | Magnésio |
| Mn | Manganês |
| Na | Sódio |
| NaOH | Hidróxido de sódio |
| Ni | Níquel |
| Pb | Chumbo |
| T | Temperatura |
| Zn | Zinco |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 OBJETIVOS | 18 |
| 2.1 Objetivo Geral | 18 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 18 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 3.1 Mercado Brasileiro da Carne Suína e Derivados | 19 |
| 3.2 Banha Suína | 19 |
| 3.2.1 Composição da Banha | 21 |
| 3.2.2 Características Físico-Químicas da Banha | 23 |
| 3.3 Oxidação Lipídica | 24 |
| 3.4 Metais em Gorduras Alimentícias | 28 |
| 3.4.1 Métodos para Preparo da Amostra | 28 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 33 |
| 4.1 Instrumentação | 33 |
| 4.2 Reagentes e Materiais | 34 |
| 4.3 Amostras de banha suína | 35 |
| 4.4 Determinação dos Parâmetros para a Metodologia RP-DLLME | 36 |
| 4.4.1 Adição de Analitos na Amostra | 36 |
| 4.4.2 Determinação do Melhor Solvente Dispensor e a Proporção Adequada | 37 |
| 4.4.3 Determinação do Melhor Solvente Extrator e a Concentração Adequada | 37 |
| 4.4.4 Determinação do Volume da Solução dos Solventes Dispensor e Extrator | 37 |
| 4.4.5 Tempo de Ultrassom | 38 |
| 4.4.6 Variação do Tempo da Centrifugação | 38 |
| 4.5 Procedimento de RP-DLLME para Determinação de Cu, Fe, Mg, Mn E Ni em Banha Suína | 38 |
| 4.6 Figuras de Mérito | 40 |
| 4.6.1 Exatidão | 40 |
| 4.6.2 Precisão | 41 |
| 4.6.3 Limite de Detecção (LD)..... | 42 |
| 4.6.4 Limite de Quantificação (LQ)..... | 42 |
| 4.7 Caracterização do risco | 42 |
| 4.7.1 Ingestão Diária Estimada (IDE) de Metais a Partir do Consumo da Banha..... | 42 |
| 4.7.2 Quociente de Risco | 43 |
| 4.8 Análise Estatística | 44 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 45 |
| 5.1 Determinação do Melhor Solvente Dispensor | 45 |

| | |
|---|-----------|
| 5.2 Determinação do Melhor Solvente Extrator (HNO₃ e HNO₃ + HCl) e a Melhor Proporção do Solvente Dispensor/Extrator | 47 |
| 5.3 Concentração Adequada do Solvente Extrator (HNO₃ + HCl) | 50 |
| 5.4 Determinação do Volume da Solução dos Solventes Dispensor e Extrator | 51 |
| 5.5 Tempo de Ultrassom | 53 |
| 5.6 Variação do Tempo de Centrifugação | 55 |
| 5.7 Condições Experimentais Otimizados dos Parâmetros da RP-DLLME para Extração de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em Banha Suína | 56 |
| 5.7.1 Curva de Calibração e Faixa Linear para Determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em Banhas Comerciais por F AAS..... | 57 |
| 5.7.2 Figuras de Mérito do Procedimento de Extração Otimizado | 57 |
| 5.7.2.1 Limites de detecção e quantificação | 57 |
| 5.7.2.2 Exatidão e precisão | 58 |
| 5.8 Aplicação do Método Desenvolvido em Amostras de Banha Suína Comerciais | 59 |
| 5.9 Caracterização do Risco | 63 |
| 5.9.1 Ingestão diária estimada (IDE) de metais a partir do consumo da banha | 63 |
| 5.9.2 Quociente de risco | 66 |
| 6 CONCLUSÕES | 68 |
| REFERÊNCIAS | 69 |

1 INTRODUÇÃO

A banha suína é uma substância obtida pela fusão de tecidos adiposos frescos de suínos (MARIKKAR; YANTY, 2014), sendo utilizada mundialmente para frituras, produtos de panificação e produtos cárneos, principalmente devido às suas propriedades funcionais (ENGELMANN *et al.*, 2020; MARIKKAR; YANTY, 2014).

No Brasil, a banha suína é regulamentada pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) em seu artigo nº 314 que a define como “o produto obtido pela fusão de tecidos adiposos frescos de suínos, com adição ou não de coadjuvantes de tecnologia” (BRASIL, 2017). Os coadjuvantes de tecnologia, autorizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 466, de 10 de fevereiro de 2021 para óleos e gorduras, como agentes de clarificação, filtração e catalização são o silicato de magnésio, níquel, mistura à base de cromo, manganês e óxido de cobre, entre outros. Os coadjuvantes são utilizados nessas etapas sem a necessidade de um limite residual mínimo ou máximo, contudo no final do processo deve ser inativado e/ou eliminado, podendo conter no produto final a presença de traços dessas substâncias (BRASIL, 2021).

A qualidade da banha está diretamente associada à alimentação a que o suíno é submetido. No geral, a fração lipídica é composta por triacilgliceróis contendo ácidos graxos saturados, com maior proporção de palmítico (22,45%), seguido por esteárico (12,19%) e mirístico (1,2%), e de ácidos graxos insaturados, como o oleico (38,77%), linoleico (18,94) e palmitoleico (1,88%) (SILVA; GIOIELLI, 2006).

A presença de ácidos graxos insaturados torna a gordura suína susceptível à rancificação oxidativa e dentre os pró-oxidantes destacam-se os metais de transição, como o cobre, ferro, níquel e manganês (CAMPBELL-PLATT, 2015; SRINIVASAN; KIRK, 2019). Estes componentes podem se encontrar nos alimentos por serem constituintes comuns de ingredientes, água, materiais de embalagem, coadjuvantes tecnológicos, dentre outros, e atuam por uma das vias decompondo os hidroperóxidos em radicais livres e, por conseguinte, catalisam a rancificação oxidativa (SRINIVASAN; KIRK, 2019).

Assim, o monitoramento e determinação desses metais é de grande relevância, pois eles podem acelerar reações de oxidação que resultarão em

alterações sensoriais e nutricionais. Dentre as etapas para determinação de metais, a mais importante no processo analítico é a preparação da amostra, pois a precisão e exatidão do método são amplamente baseados nesta etapa (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

Em geral, assim como para gorduras vegetais, as amostras de gordura animal são consideradas matrizes complexas para serem decompostas visando a determinação de metais (MULLER *et al.*, 2014). Os procedimentos convencionais, quer digestão da amostra por via seca ou por via úmida, requerem o uso de altas temperaturas, pressões e utilização de ácidos concentrados (IAL, 2008).

As desvantagens em empregar metodologias que possuem aquecimento excessivo são as perdas do analito que podem vir ocorrer por volatilização e/ou tornar certos compostos metálicos insolúveis, uma vez que para a utilização de ácidos concentrados há limitação em relação à quantidade de amostra, alto custo de reagentes e maior habilidade do analista (IAL, 2008).

As novas metodologias analíticas estão sendo desenvolvidas focadas na melhoria da qualidade dos resultados e na simplificação dos procedimentos de preparação de amostras, visando minimizar o consumo de amostras e reagentes, manter alta seletividade e recuperação, bem como agilizar o processo de tratamento das amostras (AL-SAIDI; EMARA, 2014).

Em 2006, foi desenvolvida uma técnica denominada de microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para a pré-concentração de analitos orgânicos e inorgânicos de matrizes aquosas, sendo considerado um método simples e rápido (REZAEI *et al.*, 2006).

Com base na metodologia de Rezaei *et al.* (2006) e no grande número de trabalhos desenvolvidos utilizando a metodologia DLLME para matrizes com maior grau de complexidade, como alimentos (DANESHFAR; KHEZELI; LOTFI, 2009; GHASEMZADEH-MOHAMMADI *et al.*, 2012; MOEMA; NINDI; DUBE, 2012; TSAI *et al.*, 2009; WEN *et al.*, 2011), foi então proposto, em 2014, o uso da microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) para a preparação de metais em amostras de óleo (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

RP-DLLME consiste em um procedimento que envolve a injeção de uma mistura apropriada de solvente de extração e solvente dispersor rapidamente na amostra, invertendo as amostras e a polaridade do extrator em relação ao DLLME convencional. O método é caracterizado pelo consumo baixo de reagentes de menor toxicidade em comparação ao método tradicional (KALSCHNE *et al.*, 2020; LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; LOURENÇO *et al.*, 2019; REZAEI *et al.*, 2006).

Para a matriz banha suína que consiste em uma estrutura complexa e gordurosa não foi encontrado na literatura consultada metodologia de determinação de metais desenvolvida com base em RP-DLLME. Na literatura, para matrizes gordurosas, há relatos para óleos comestíveis (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014), gordura vegetal (KALSCHNE *et al.*, 2020) e biodiesel (LOURENÇO *et al.*, 2019).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para a pré-concentração e extração de cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn) e níquel (Ni) em banha suína utilizando a metodologia RP-DLLME e em seguida, determinar os elementos por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e otimizar um método analítico empregando a microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) para determinação de cobre, ferro, magnésio, manganês e níquel em amostra de banha suína por espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS).

2.2 Objetivos Específicos

- Ajustar os parâmetros de influência (tipo, volume, concentração e proporção dos solventes dispersor: extrator, uso do ultrassom e da centrifugação) na extração por RP-DLLME para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni por F AAS;
- Avaliar as figuras de mérito do método proposto para determinação Cu, Fe, Mg, Mn e Ni: exatidão, precisão, limite de detecção e limite de quantificação;
- Avaliar o percentual de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha suína comercializadas na região Oeste do Paraná;
- Estimar a exposição ao risco e o risco à saúde para três faixas de idade entre masculino e feminino.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Mercado Brasileiro da Carne Suína e Derivados

A suinocultura representa uma atividade de grande relevância para o Brasil, gera empregos, renda e desenvolvimento para diversos municípios (LANTMANN, *et al.*, 2022).

A carne suína consumida no Brasil é o resultado da evolução tecnológica da indústria alimentícia nos últimos anos, sendo possível atender grupos de consumidores que optam por cortes magros, como também aqueles que buscam uma carne e derivados com maior teor de gordura, como toucinho, banha, dentre outros (SANTOS, 2019).

Conforme os dados obtidos da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), no ano de 2021 a cadeia brasileira de carne suína produziu 4,701 toneladas, o que manteve o Brasil na quarta posição exportação mundial. Para a exportação, o Brasil ficou atrás da União Europeia (5,050 toneladas), EUA (3,215 toneladas) e do Canadá (1,480 toneladas), exportando cerca de 1,137 toneladas. No Brasil, o consumo per capita foi em torno de 16,7 Kg hab⁻¹ (ABPA, 2022).

Segundo o mesmo relatório, dentre as exportações por produto de carne suína em 2020, os principais foram os cortes com 89,99%, seguido por miúdos (7,87%) e industrializados (0,77%). As gorduras, conhecidas popularmente como banha suína, possuem a taxa de exportação de 0,41% ficando à frente dos produtos salgados, mas a tendência é a cada ano ganhar mais mercado. De 2020 para 2021 a exportação da gordura suína subiu 18,75% (ABPA, 2022).

3.2 Banha Suína

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em seu artigo nº 314, “a banha suína é o produto obtido pela fusão de tecidos adiposos frescos de suínos, com adição ou não de coadjuvantes de tecnologia” (BRASIL, 2017).

O *Códex Alimentarius* (1999) classifica a banha suína em banha suína

processada e banha sujeita a processamento. A banha suína processada é a gordura proveniente de tecidos adiposos frescos, limpos e de suínos saudáveis no momento do abate. Por sua vez, a banha sujeita a processamento poderá conter banha refinada, estearina de banha e banha hidrogenada, ou ser submetida aos processos de modificação desde que as informações de sua natureza estejam descritas de forma clara no rótulo

A obtenção da gordura animal se dá através dos chamados sebos, que são os tecidos adiposos que ficam associados a carnes, peles e ossos, no processo industrial chamado de graxaria (BELLAVÉR; ZANOTTO, 2004). Esse processo ocorre por fusão da gordura seguida de clarificação (branqueamento) e filtração, que eliminam possíveis partículas sólidas, água e proteínas, e a desodorização, processos esses que utilizam agentes coadjuvantes tecnológicos (SANTOS, 2019). Conforme a Resolução nº 466, de 10 de fevereiro de 2021, alguns dos agentes autorizados na clarificação e filtração é o silicato de magnésio e como catalizador, podem ser utilizados o níquel como também uma mistura à base de cromo, magnésio e óxido de cobre. Diferente dos aditivos, os coadjuvantes não possuem um limite de uso; mas, no final do processo, devem ser reduzidos e/ou inativados (BRASIL, 2021).

Em meados dos anos 40, a banha foi uma das principais atividades frigoríficas, juntamente com o salame e a linguiça. A banha possuía grande importância inclusive para a conservação da carne, por fornecer energia, auxiliar no funcionamento metabólico e proporcionar sabor aos alimentos, alguns frigoríficos acabavam sendo dedicados primeiramente ao processamento da banha, e somente com a chegada da energia elétrica e as câmaras frigoríficas que passaram a processar a carne suína (FROEHLICH, 2012; RADIN; CORAZZA, 2018).

A banha tem sido utilizada em diversas preparações alimentares devido seu sabor único e propriedades funcionais, principalmente em produtos de panificação de estilo Chinês, como também na fabricação de pães, biscoitos, bolos, dentre outros. É preferida na produção de produtos cárneos processados devido ao seu efeito sobre o sabor e a textura do produto final (ENGELMANN *et al.*, 2020; MARIKKAR; YANTY, 2014).

A quantidade e a composição nutricional da banha alteraram-se no decorrer dos anos devido à alteração da forma de produção dos animais, impactando

consideravelmente nas características citadas. Na década de 60 a composição da carcaça continha de 4 a 6 cm de gordura e 1 a 2 cm de carne magra, hoje, a composição é inversa (ABCS, 2014).

3.2.1 Composição da Banha

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (em inglês *United States Department of Agriculture - USDA*) (2018), a banha suína é composta de minerais, vitaminas e lipídios, cuja composição, em percentual, está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição de vitaminas, minerais e lipídios em 100g de banha

| Composição | Quantidade |
|--------------------------------|--------------|
| Vitaminas | |
| Vitamina D | 2,5 µg |
| Vitamina E | 0,6 mg |
| Colina | 49,7 mg |
| Minerais | |
| Zinco | 0,11 mg |
| Selênio | 0,2 µg |
| Gordura Saturada | |
| Ácido cáprico (10:0) | 0,1 g |
| Ácido láurico (12:0) | 0,2 g |
| Ácido mirístico (14:0) | 1,3 g |
| Ácido palmítico (16:0) | 23,8 g |
| Ácido esteárico (18:0) | 13,5 g |
| Gordura Monoinsaturada | |
| Ácido oleico (18:1 ω-9) | 41,2 g |
| Gordura Poliinsaturadas | |
| Ácido linoleico (18:2 ω-6) | 10,2 g |
| Colesterol | 95 mg |

Fonte: USDA (2018)

Em relação às vitaminas lipossolúveis presentes na banha (vitaminas D e E), elas são micronutrientes essenciais para vários aspectos da saúde humana (LIU *et al.*, 2021). A vitamina D é responsável pela regulação e distribuição de cálcio e fósforo

no corpo, está associada ao crescimento dos ossos e do sistema esquelético, sua deficiência pode resultar em interferência na mineralização dos ossos, resultando em raquitismo, osteoporose e osteomalácia. Já a vitamina E possui função antioxidante com propriedades anti-inflamatórias que podem auxiliar na prevenção da aterosclerose, além de estar envolvida na inibição do processo de oxidação (STEVENS, 2021).

Dentre os ácidos graxos presentes na banha, os ácidos palmítico e oleico representam 75%, na proporção 1:2 (SILVA; GIOIELLI, 2006).

Altos teores de gordura saturada eram vistos como um risco para a saúde humana; contudo, no *Workshop* “Gorduras Saturadas: Uma abordagem de Alimentos ou Nutrientes” ocorrido em fevereiro de 2020, em Washington, EUA, os pesquisadores não encontraram evidências significativas que comprovassem a associação entre ingestão de gordura saturada na dieta e problemas cardiovasculares. Além disso, evidências recentes indicam que a ingestão de gordura saturada pode estar inversamente relacionada ao risco de acidente vascular cerebral (LARDINOIS, 2020).

Quanto aos monoinsaturados, o de maior proporção na banha é o ácido oleico (18:1n-9) (Tabela 1), que apresenta múltiplos efeitos farmacológicos, como na manutenção e desenvolvimento de células do sistema nervoso, inibição da proliferação do câncer, redução da inflamação e dos riscos de obesidade e diabetes *Mellitus* tipo 2 (ZHAO *et al.*, 2021).

Por sua vez, alguns dos ácidos graxos poliinsaturados são essenciais à saúde humana e devem estar presentes na dieta, pois sua ausência pode acarretar alguns problemas no desenvolvimento do organismo, como a dificuldade de transferência de oxigênio entre as células (CLEMENTE *et al.*, 2007). Na composição da banha tem-se o ácido linoleico (18:2n-6), que no organismo humano, sob condições normais, contribui para a manutenção das membranas celulares, das funções cerebrais e da transmissão de potencial elétrico da membrana de uma célula nervosa, além de contribuir para a transferência do oxigênio, divisão celular e a síntese da hemoglobina (MARTIN *et al.*, 2006).

O colesterol é um componente fundamental da membrana celular e da biossíntese de esteroides. Na membrana, fornece propriedades como fluidez e permeabilidade que são necessárias para comunicação da atividade celular externa e

interna, além de atuar na célula como precursor para a biossíntese de várias classes de hormônios esteroides, como estrógenos e progesterona e na síntese da vitamina D (BHATTARAI *et al.*, 2021).

3.2.2 Características Físico-Químicas da Banha

No Brasil, não foi encontrado um regulamento técnico de identidade qualidade para este derivado (Brasil, 2021). Por sua vez, o *Códex Alimentarius* (1999) descreve as características que são essenciais para que a banha suína apresente qualidade para uso alimentício (Tabela 2).

Tabela 2 - Análises químicas e físico-química de banha suína

| Característica | Nível máximo |
|--|---|
| Matéria volátil a 105 ° C | 0,30% |
| Impurezas insolúveis | 0,05% |
| Ferro (Fe) | 1,5 mg kg ⁻¹ |
| Cobre (Cu) | 0,4 mg kg ⁻¹ |
| Acidez | 1,3 mg KOH g ⁻¹ gordura máx 0,65% |
| Índice de peróxido | até 10 miliequivalentes de oxigênio ativo / kg de gordura |
| Densidade relativa (40°C água ⁻¹ a 20°C) | 0,896-0,904 |
| Índice de Refração (ND 40°C) | 1.448-1.460 |
| Índice de saponificação (mg KOH g ⁻¹ gordura) | 192-203 |
| Índice de Iodo (Wijs) | 55-65 |
| Matéria insaponificável (g kg ⁻¹) | 10 |

Fonte: *Códex Alimentarius* (1999)

A presença de metais de transição, como Fe e Cu, acima dos valores esperados (Tabela 2) e peróxidos podem favorecer os processos oxidativos afetando a qualidade e estabilidade do produto final, acarretando sabores e odores desagradáveis, tornando o alimento impróprio para o consumo (SOUZA, 2018).

3.3 Oxidação Lipídica

A rancidez é a principal alteração que acomete a fração lipídica em alimentos e pode ocorrer de duas formas distintas: rancidez hidrolítica e rancidez oxidativa (oxidação lipídica) (CAMPBELL-PLATT, 2015; DE SOUSA, 2013; RIBEIRO, 2007; SILVA, 2018; SRINIVASAN; KIRK, 2019).

A rancidez hidrolítica é caracterizada pela hidrólise da ligação éster entre ácidos graxos e glicerol por lipase ou por algum agente químico, resultando em problemas como odores indesejáveis, redução do ponto de fumaça, formação de espuma e redução da estabilidade oxidativa (SILVA, 2018; SRINIVASAN; KIRK, 2019).

O termo oxidação lipídica é utilizado para descrever diversas reações sequenciais complexas de alterações químicas entre o oxigênio e os lipídios insaturados que resultará na deterioração dos alimentos e, como consequência, geração de odores e sabores característicos conhecidos como rancidez oxidativa (CAMPBELL-PLATT, 2015; SRINIVASAN; KIRK, 2019).

Em relação a óleos e gorduras que nunca foram utilizados é possível organizá-los dos mais resistentes à oxidação, neste caso a manteiga de cacau, até os menos resistentes, com destaque a banha suína (Figura 1) (DE SOUSA, 2013).

O mecanismo da rancificação oxidativa está ilustrado na Figura 2 e inclui três etapas: iniciação, propagação e terminação (RIBEIRO, 2007; NESPOLO; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2015; SILVA, 2018).

Na etapa de iniciação há geração de radicais livres altamente reativos, onde um átomo de hidrogênio é retirado do grupo metileno de ácido graxo insaturado, formando um radical livre que reage com o oxigênio atmosférico desencadeando uma reação em cadeia (CAMPBELL-PLATT, 2015; RIBEIRO; SERAVALLI, 2007; SRINIVASAN; KIRK, 2019).

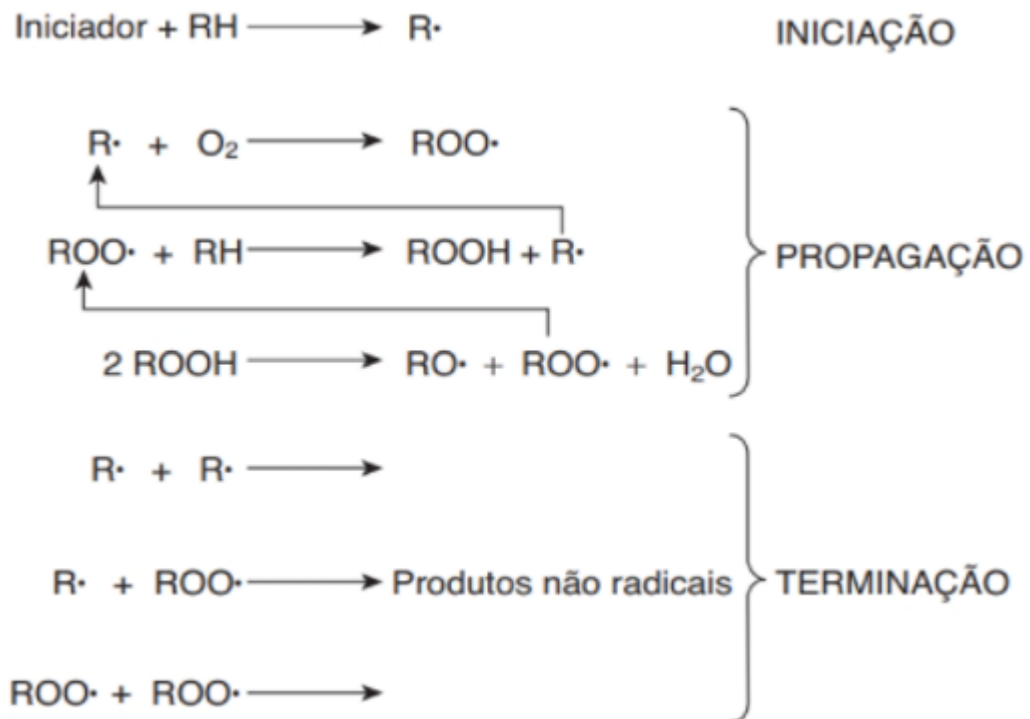
Figura 1 - Estabilidade de alguns óleos e gorduras a oxidarem



- Manteiga de cacau
- Óleo de coco
- Óleo de palma
- Maioria dos óleos hidrogenados
- Óleo de amendoim
- Azeite
- Óleo de milho
- Óleo de girassol
- Óleo de soja
- Gordura do leite
- Gordura da carne
- Banha de porco

Fonte: Adaptado de De Sousa (2013)

Figura 2 - Reações que ocorrem na auto-oxidação de lipídios



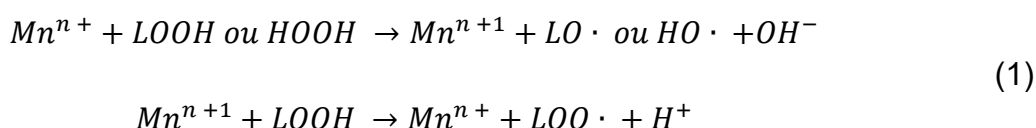
Fonte: CAMPBELL-PLATT (2015)

No período denominado de iniciação ocorrem poucas alterações nos lipídios (Figura 2). Esse período pode se prolongar, devido aos antioxidantes, como também pode encurtar, devido aos pró-oxidantes (FIB, 2014).

Vários são os agentes denominados de pró-oxidantes, ou seja, compostos que aceleram a oxidação lipídica quer pela interação direta com ácidos graxos insaturados resultando na formação de hidroperóxidos lipídicos (como por exemplo o oxigênio singlete) ou através da formação de radicais livres (como por exemplo os metais de transição) (SRINIVASAN; KIRK, 2019). Dentre os pró-oxidantes os mais importantes estão os íons metálicos, mas é possível destacar as altas temperaturas, o efeito da luz solar, a concentração de oxigênio e por outros tipos de irradiações, como microondas, raio X, dentre outros (FIB, 2014).

Os metais de transição, tais como ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e níquel (Ni) podem ser encontrados em pequenas quantidades em diversos materiais de origem biológica (FIB, 2014).

A presença destes pode afetar negativamente a velocidade da auto-oxidação uma vez que são reconhecidos por promoverem a decomposição dos hidroperóxidos em radicais livres, por meio de vias como as reações do tipo Fenton (RIBEIRO, 2007; FIB, 2014; SRINIVASAN; KIRK, 2019; THANONKAEW *et al.*, 2006), conforme Equação 1.



Fonte: Srinivasan e Kirk (2019)

Onde:

Mn^{n+} e Mn^{n+1} são metais de transição em seu estado reduzido e oxidado.

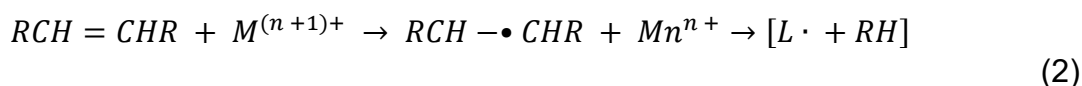
LOOH e HOOH são peróxidos de lipídio e hidrogênio.

LO·, HO· e LOO· são os radicais alcooxil, hidroxil e peroxil, respectivamente

Dentre os metais de transição, o Fe e o Cu são os que mais costumam participar dessas reações (CAMPBELL-PLATT, 2015; FIB, 2014; SRINIVASAN; KIRK, 2019).

Os metais oxidados são potentes precursores diretos, ao formar radicais livres retirando um elétron das duplas ligações (Equação 2), contudo, os metais reduzidos

são iniciadores indiretos, pois reagem com o oxigênio, formando complexos ou espécies reduzidas do oxigênio que, por sua vez, reagem com os lipídeos, além de decompor os hidroperóxidos não reativos, originando radicais alcoxila reativos que iniciam as cadeias de radicais livres (ESKIN, 2015).



Fonte: ESKIN (2015)

Onde:

M^{n+1} e M^{n+} metais de transição oxidado e reduzido;

$RCH = CHR$ ácidos graxos insaturados

$RCH - \bullet CHR$ ácidos graxos com um radical livre

$L \cdot$ radical livre

Contudo, a atividade catalítica depende não somente das espécies de íons e o seu potencial redox, mas também de outras estruturas ligantes, do solvente, doadores de elétrons e do pH (FIB, 2014; ARANDA *et al.*, 2017).

A etapa de propagação caracteriza-se pela reação em cadeia de radicais livres, pelo alto consumo de oxigênio e formação de peróxidos, na decomposição dos hidroperóxidos em radicais livres, levando a formação de inúmeros compostos e o início das alterações de aroma e sabor do alimento (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Por fim, na etapa de terminação os radicais livres interagem entre si para formar diversas substâncias, finalizando a ação dos propagadores da reação. Nessa etapa ocorre a redução do consumo de oxigênio e a redução da concentração de peróxidos. O alimento, nessa fase, apresenta alterações no sabor, aroma, cor e consistência (CAMPBELL-PLATT, 2015; RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

3.4 Metais em Gorduras Alimentícias

3.4.1 Métodos para Preparo da Amostra

A preparação da amostra consiste em converter a amostra em uma técnica compatível a extração, que é o isolamento, e concentrar o componente de interesse na matriz da amostra, sendo que a extração pode variar em grau de seletividade, velocidade, conveniência e das configurações geométricas da fase de extração (REZAEI *et al.*, 2006).

Como dito anteriormente, os analitos devem estar em solução para serem quantificados. O preparo da amostra é de suma importância para extrair a quantidade máxima do analito de interesse da matriz da amostra e concentrá-lo antes da medição instrumental. Inúmeros métodos envolvem o preparo da amostra, tais como extração líquido-líquido (LLE, do inglês, *Liquid-Liquid Extraction*), extração em fase sólida (SPE do inglês, *Solid phase Extraction*) (FARAHANI; SHEMIRANI, 2014), digestão por via úmida utilizando o ultrassom (ANWAR *et al.*, 2004) ou por microondas (BAKKALI *et al.*, 2012; COCCHI *et al.*, 2005; ŁODYGA-CHRUŚCIŃSKA; SYKUŁA-ZAJĄC; OLEJNIK, 2012) entre outras.

As metodologias com aquecimento convencional que devem passar por sistema de digestão em frascos fechados e decomposição assistida por forno de microondas possuem a desvantagem da utilização de ácidos concentrados, como HNO₃, e baixa quantidade da amostra (< 0,5 g), para posteriormente serem analisadas por absorção atômica com chama (F AAS) (BAKKALI *et al.*, 2012).

Algumas das metodologias acima citadas (LLE e SPE) requerem longos tempos para a aplicação, possuem custo elevado e são passíveis de maiores erros na determinação de metais (KRUG, 2008). Estima-se que 30% dos erros estão associados ao pré-preparo da análise, muitas vezes relacionados com contaminação e/ou perdas do analito e está associada a 61% do tempo total para realizar a análise completa. Na atualidade, a meta é realizar um pré-tratamento que resulte em resultados excelentes, no menor tempo, com mínima de contaminação, menor consumo de reagentes e geração mínima de resíduos (SOUZA *et al.*, 2020).

No *Códex Alimentarius* (1999), para a determinação de metais em gorduras, consideradas as metodologias oficiais, citam os métodos: ISO 8294:1994, IUPAC

2.631 ou AOAC 990.05, sendo que todas as metodologias utilizam ácidos concentrados e altas temperaturas.

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) foi introduzida por Rezaee *et al.* (2006) para determinar compostos orgânicos em água e ganhou popularidade por tratar de um método simples e com velocidade para extração e pré-concentração de compostos orgânicos com alto desempenho (KALSCHENE *et al.*, 2019).

A metodologia DLLME está entre os métodos sustentáveis, por utilizar de quantidades reduzidas de reagentes orgânicos, é rápida, barata, fácil de operar com um alta concentração dos analitos (REZAEI; YAMINI; FARAJI, 2010; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2015). Um grande número de procedimentos analíticos utilizando a metodologia DLLME foram relatados e utilizaram matrizes simples (NASERI, 2008) e complexas, como alimentos (ALMEIDA; FERNANDES; CUNHA, 2012; BIPARVA; EHSANI; HADJMOHAMMADI, 2012; FARIÑA *et al.*, 2007; GHASEMZADEH-MOHAMMADI *et al.*, 2012; MOEMA; NINDI; DUBE, 2012).

O DLLME envolve a extração de analitos de uma fase aquosa em um pequeno volume de fase orgânica na companhia de um terceiro solvente que auxilia na dispersão rápida e eficiente (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

As vantagens atribuídas para a técnica são: baixa quantidade de solvente para o preparo da amostra, relacionado a menor tempo e custo, simplicidade operacional (evitando erros analíticos e alta recuperação) (FARAJZADEH; AFSHAR MOGADDAM, 2016).

Contudo, a metodologia DLLME possui grande popularidade na extração de poluentes orgânicos em amostras aquosas, mas é pouco explorada na extração de contaminantes em óleos comestíveis. Há duas maneiras de aplicar a metodologia a amostras gordurosas: a) extrair analitos alvo da matriz de óleo para metanol ou acetonitrila usando LLE seguido por DLLME, ou b) executar o DLLME de fase reversa (RP-DLLME), em que um extrator aquoso é utilizado e os analitos alvo são extraídos de amostras de óleo diretamente no extrator aquoso (LIU *et al.*, 2013)

A Microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa (RP-DLLME) foi proposta por López-García *et al.* (2014) para determinação de Cd e Pb em óleos comestíveis. Esse procedimento é oposto a metodologia DLLME, sendo que um

pequeno volume de uma mistura de solventes aquosa ácida, permite que os metais sejam separados da fase orgânica (KALSCHENE *et al.*, 2019; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2015).

O método RP-DLLME trouxe a vantagem de uma maior aplicação em comparação ao DLLME, já que a extração é realizada com seletividade baseada na polaridade do meio (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

Esse procedimento envolve a utilização de pequenas quantidades de parte aquosa para extrair uma quantidade relativamente grande de fase orgânica, na companhia de um álcool de cadeia baixa para formar uma dispersão. Além disso, é caracterizado pelo consumo de pequenas quantidades de reagentes, com baixa toxicidade em comparação ao método via microondas (KALSCHNE *et al.*, 2020).

A metodologia é ainda considerada um método recente e está sendo aprimorada para diferentes matrizes com o propósito de obter a concentração de metais (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

Para RP-DLLME é necessário avaliar possíveis parâmetros que podem influenciar no processo de extração e pré-concentração da amostra, entre eles estão: solvente extrator, solvente dispersor, temperatura, volume do extrator e dispersor, entre outros (FARAJZADEH; AFSHAR MOGADDAM, 2016; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2015; LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; REZAEI *et al.*, 2006; REZAEI; YAMINI; FARAJI, 2010).

O solvente extrator para análise deve possuir a capacidade de extrair o analito e que tenha densidade diferente da amostra para que centrifugação seja eficiente (KALSCHENE *et al.*, 2019; LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; SOROURADDIN; FARAJZADEH; OKHRAVI, 2020). Já o solvente dispersor, o mesmo deve ser solúvel na fase polar e na apolar, além de estar na quantidade ideal para a extração completa; o excesso de solvente dispersor propicia a solubilidade do solvente extrator acarretando em uma extração ineficaz e volumes reduzidos podem gerar uma extração incompleta (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014). Para matrizes complexas, similares a estudada neste trabalho, Kalschne *et al.* (2020) empregou o n-Propanol na extração de Ni em gordura vegetal a recuperação variou de 93,3% a 101,5%. Para óleos

comestíveis (azeitona, bagaço de azeitona, girassol, milho, soja, abacate, noz e macadâmia, peixe, fígado de peixe, gergelim, amendoim), López- Garcia (2014) e seus colaboradores utilizaram o isopropanol para a extração e pré-concentração de Cd e Pb e obtiveram recuperações superiores a 98% para ambos, Lourenço *et al.* (2019) avaliaram isopropanol e etanol para extração de Ca, Mg, Na e K em biodiesel, sendo que o isopropanol foi o mais eficiente.

A utilização do ultrassom é comumente utilizada para extrações que envolvem solventes de diferentes polaridades, na qual o fenômeno de cavitação gera bolhas, migração de analitos e conseqüentemente a mistura de solventes imiscíveis, mesmo para amostras viscosas (DAIRI *et al.*, 2015; LOURENÇO *et al.*, 2019).

A velocidade e o tempo de centrifugação podem variar conforme a matriz, o solvente e os analitos analisados, visto que a centrifugação auxiliará na recuperação adequada de analitos. Para a matriz de biodiesel, por exemplo, a centrifugação com maior recuperação foi de 15 minutos a 5600 rpm (LOURENÇO *et al.*, 2019) e com o mesmo tempo a 3600 rpm (SILVA, 2017), já para gordura vegetal o melhor tempo foi de 10 minutos a 5600 rpm (KALSCHNE *et al.*, 2020).

As amostras com alta viscosidade é necessário a utilização do pré-aquecimento no método para reduzir a viscosidade da matriz e assim garantir a geração de microgotículas e a eficiente microextração (KALSCHNE *et al.*, 2020). Em amostras de óleos de vegetais (soja e crambe), avaliou-se as temperaturas de 95°C (REIS, 2018) e para gordura vegetal a melhor temperatura para a recuperação de Ni foi de 75°C (KALSCHNE *et al.*, 2020) ao fazer o uso da metodologia RP-DLLME.

Há estudos do emprego da RP-DLLME para separação e enriquecimento de analitos em diversas matrizes, aquosas e oleosas, para determinar diferentes analitos, como pode ser observado na Tabela 3. Apesar dos avanços em diferentes matrizes, não foi encontrado, na literatura consultada, metodologia empregada em a banha suína.

Tabela 3 – Utilização de RP-DLLME em diferentes matrizes

| Matriz | Analito | R (%)* | LOD | LOQ | RSD (%) | Eq** | Ref*** |
|--------------------|---------------------|---------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------|-------------|---------------|
| Biodiesel | Na, K, Ca e Mg | 93,9 - 108,1 | 0,01 -0,04 mg kg ⁻¹ | 0,04 -0,08 μ Kg ⁻¹ | < 3 | F AAS | 1 |
| Gordura vegetal | Ni | 93,2 - 101,5 | 40 n g ⁻¹ | 90 n g ⁻¹ | 0,9 - 2,2 | F AAS | 2 |
| Gordura vegetal | Ni | 93,2 - 101,5 | 0,41 μ g ⁻¹ | 1,36 n g ⁻¹ | 2,7 - 8,4 | GF AAS | 2 |
| Folhas de oliveira | Oleuropeína | 102 - 109,2 | 0,002 mg kg ⁻¹ | - | 4,5 | HPLC | 3 |
| Azeite de oliva | Fenóis hidrofilicos | 83 - 108 | 22 μ L ⁻¹ | 75 μ L ⁻¹ | - | SPCEs | 4 |
| Óleos comestíveis | Cd, Pb | 98 - 101 | 0,6 - 10 ng kg ⁻¹ | - | 4 - 3,5 | ET AAS | 5 |
| Cosméticos | NDELA**** | 87 - 117 | 1,1 ng mL | 3,6 ng mL | < 8 | LC-UV/Vis | 6 |

Legenda:* Recuperação; ** Equipamento; *** Referência; **** N-nitrosodietanolamina; 1 - LOURENÇO et al. (2019); 2 - KALSCHNE et al. (2020); 3 - HASHEMI et al. (2010); 4 - FERNÁNDES et al. (2018); 5 - LOPÉZ-GARCIAL et al. (2014); 6 - CHISVERT et al. (2017).
Fonte: A autora (2022)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Para a pesagem das amostras foi utilizada balança de precisão (Marte, modelo AW 220, Brasil), com capacidade máxima de 220g e resolução de 0,0001 g.

Na etapa de microextração foram utilizados, para todas as amostras, os equipamentos: banho-maria (NI 1236, Nova Instruments, Piracicaba, Brasil); vórtex (LSM56/4-220, Logen Scientific, Brasil); banho de ultrassom (Elmasonic P 60 H, Elma, China) com frequência que varia de 37 – 80 kHz, dimensões 300/ 151/ 150 mm e volume de 5,75 L; centrífuga (CT-5000R, Cientec, Brasil) com capacidade para 12 tubos de 15 mL e velocidade máxima de 6000 rpm; e, para a filtração, filtro de seringa (Filtrilo, modelo SFPVDF-2522) com membrana hidrofóbica, poro 0,22 μm e diâmetro de 25 mm.

Para a quantificação e determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni na amostra de banha suína utilizou-se o equipamento de espectrometria de absorção atômica em chama (F ASS) equipado com sistema de correção de fundo de Deutério (AA 240-FS, Varian, Austrália) e lâmpadas catódicas ocas de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, utilizando como combustível o ar acetileno (White Martins, pureza 99,8%) e com o oxidante ar comprimido. Para todos os metais estudados foi realizada a leitura em modo de absorção atômica com taxa de aspiração contínua ($0,5 \text{ mL min}^{-1}$). Antes da análise o instrumento foi otimizado para a máxima força no sinal, ajustando os parâmetros como comprimento de onda, largura de fenda, corrente da lâmpada e energia da amostra para cada elemento, conforme determinação do fabricante e descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros para determinação de Ni, Mg, Cu, Fe e Mn

| Parâmetros | Cu | Fe | Mg | Mn | Ni |
|--|-------|-------|-------|-------|------|
| Comprimento de onda (nm) | 324,8 | 248,3 | 285,2 | 403,1 | 232 |
| Fenda espectral (nm) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,2 |
| Corrente da lâmpada (mA) | 4 | 5 | 5 | 5 | 7 |
| Vazão de ar (L min^{-1}) | 13,5 | 13,5 | 13,5 | 13,5 | 13,5 |
| Vazão de acetileno (L min^{-1}) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

Fonte: Determinação do fabricante do equipamento (AA 240-FS, Varian, Austrália), 2021

A calibração do equipamento F AAS, foi realizada a partir da calibração externa realizada por soluções de referência aquosas de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni preparadas com 0,5% (v/v) de HNO₃. As soluções mistas foram divididas de 1 à 5 e para cada solução foi acrescentado o metal na concentração correspondente, conforme descrito na Tabela 5.

Tabela 5 – Concentrações para a calibração do equipamento F AAS de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni

| Metais | Concentrações mg L ⁻¹ | | | | |
|--------|----------------------------------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Cu | 0,30 | 0,60 | 0,80 | 1,00 | 1,50 |
| Fe | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | 1,50 |
| Mg | 0,30 | 0,40 | 0,60 | 0,80 | 1,00 |
| Mn | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | 1,50 |
| Ni | 0,30 | 0,60 | 0,80 | 1,00 | 1,50 |

Fonte: A autora (2022)

O branco e os padrões foram executados em F ASS para que as curvas analíticas fossem estabelecidas. As curvas de calibração foram traçadas utilizando análise de regressão linear das concentrações padrões versus valores de absorbância. Os coeficientes de correlação das curvas de calibração foram gerados para avaliar a correlação linear entre as concentrações e a absorbância.

4.2 Reagentes e Materiais

O preparo das soluções e lavagem das vidrarias utilizou-se água ultrapura (Gehaka, Brasil) com resistividade inferior a 12,5 M Ω .cm⁻¹, equipado com sistema de osmose reversa (OS 10 LX, Gehaka, Brasil).

As vidrarias e materiais utilizados foram devidamente lavados com detergente neutro a 5% (v/v) (Dinâmica, Brasil) mergulhando-os por 12 horas; a seguir, foram esfregados e enxaguados com água ultrapura; posteriormente, mergulhados os utensílios em solução de HNO₃ (pureza \geq 65%, Vetec, Brasil) a 10% (v/v) por 12 horas, seguida do enxágue com água ultrapura e secagem à temperatura ambiente (25°C).

Nas etapas de preparo da amostra, foram utilizados tubos de polipropileno com fundo cônico e tampa rosqueável com capacidade de 15 mL (Sarstedt, Alemanha, ref 62.554.205).

Os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. O isopropanol grau HPLC (2-propanol, 100%, Chromasolv®, Honeywell, Riedel-deHaen®, Alemanha, ref. 34863) e o n-propanol ACS ($\geq 99\%$, Sigma Aldrich, Estados Unidos da América, ref. 402893) foram utilizados como agente dispersante. O ácido clorídrico (HCl) PA/ACS (37%, $d = 1,2 \text{ g mL}^{-1}$, Sigma Aldrich, Estados Unidos da América, ref. 84378) e o ácido nítrico (HNO_3) P.A/ ACS (65,0 – 67%, $d = 1,37 - 141 \text{ g mL}^{-1}$, Sigma-Aldrich, Estados Unidos, ref. 84378) foram utilizados no preparo das soluções empregadas como solvente extrator. O ácido nítrico (0,5% v/v) também foi utilizado para aferir o volume da solução e o xileno ($\geq 98,5\%$, Sigma Aldrich, Estados Unidos da América) utilizado como solvente para evitar a solidificação da banha.

As curvas de calibração foram preparadas a partir das soluções de referência individuais contendo 1000 mg L^{-1} de Ni, Mg, Fe, Mn e Cu (SpecSol®, Brasil, ref. AANI 1000V, AAMG 1000V, AAFE 1000V, AAMN 1000V, AACU 1000V, respectivamente). Foram preparadas as soluções estoques de 10 mg L^{-1} de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni e as soluções de trabalho foram preparadas a partir de sucessivas diluições em série a partir da solução estoque para os diferentes pontos da curva de calibração.

Para o teste de recuperação em amostras de banha utilizou-se a solução padrão individual contendo $100 \mu\text{g g}^{-1}$ Cu, Fe, Mg, Mn e Ni a base de óleo mineral de referência certificada (SpecSol®, Brasil).

4.3 Amostras de banha suína

As amostras foram adquiridas no comércio local da cidade de Medianeira (Paraná, Brasil), acondicionadas em caixa térmica e transportadas ao laboratório do Campus Medianeira da UTFPR. As amostras foram acondicionadas ao abrigo da luz e sob refrigeração a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ até o momento das análises. Para todos os ensaios preliminares visando os ajustes de metodologia utilizou-se a mesma marca de banha suína (denominada Banha A) e na etapa de quantificação dos metais foram adquiridas banhas de diferentes marcas denominadas de A à F. As banhas B, C e D possuíam o

selo de inspeção SIP/POA, sendo permitido a comercialização intermunicipal, já as marcas A, E e F eram inspecionadas pelo SIF podendo ser comercializadas internacionalmente.

Para a realização das análises, as banhas foram previamente aquecidas em banho maria a 30 °C até total derretimento, uma vez que trabalhar com a banha líquida tornou a atividade prática e auxiliou na homogeneização da amostra com o solvente xileno.

4.4 Determinação dos Parâmetros para a Metodologia RP-DLLME

Os parâmetros avaliados visando otimizar o método RP-DLLME utilizando banha suína como matriz foram: tipo e volume de solvente dispersor (isopropanol e propanol), tipo e volume de solvente extrator (HNO_3 1 mol L⁻¹ e HCl 1 mol L⁻¹), volume total dos solventes extrator: dispersor, tempo de ultrassom (0, 5 e 10 min) e de centrifugação (5, 10 e 15 min). Os demais parâmetros de ambos os equipamentos foram fixados. A massa de banha e temperatura/tempo do banho maria foram fixadas em 5 g e 70 °C por 20 min, respectivamente.

4.4.1 Adição de Analitos na Amostra

Todos os testes foram realizados utilizando amostras que foram adicionadas dos analitos (denominado *Spike*) avaliados, a saber os padrões dos elementos Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, e amostra sem analito, denominada de controle.

O *Spike* foi elaborado para conter 0,5 µg g⁻¹ dos analitos para a recuperação. Para produção de 100 g de *Spike* utilizando os padrões, pesou-se 10 g de banha, adicionou-se 0,5 g do padrão de 100 µg g⁻¹ para cada metal Cu, Fe, Mg, Mn e Ni e aferiu o peso para 100 g com a banha suína. O frasco foi agitado em vórtex por 1 minuto, para total homogeneização da banha com o analito. Após o *Spike* finalizado, pesou-se 5 g em cada frasco para a análise, assim como para a amostra controle. Para evitar possíveis erros, o procedimento de preparo do *Spike* foi realizado diariamente.

4.4.2 Determinação do Melhor Solvente Dispensor e a Proporção Adequada

Para determinar o melhor solvente dispensor avaliou-se o Isopropanol ($\geq 99\%$) e o n-Propanol ($\geq 99\%$). As análises foram conduzidas fixando-se 1 mL do solvente extrator (nesse caso HNO_3 1 mol L^{-1}) para a extração dos metais Cu, Fe, Mg e Ni na proporção de 70% dispensor (v/v) e 30% (v/v) de HNO_3 1 mol L^{-1} de extrator, conforme descrito por Kalschne *et al.* (2020) e Lourenço *et al.* (2019) em gordura vegetal e biodiesel, respectivamente. Nesta primeira etapa não foi avaliado o metal Mn, o mesmo foi acrescentando após levantamento de estudos relacionados a possíveis metais utilizados como coadjuvantes de tecnologia na indústria.

A seguir, avaliou-se a mistura do solvente dispensor e extrator nas seguintes proporções: 50, 60, 70 e 80% de dispensor em relação ao volume total da mistura.

4.4.3 Determinação do Melhor Solvente Extrator e a Concentração Adequada

Os solventes extratores avaliados foram o HNO_3 (1 mol L^{-1}) e $\text{HCl} + \text{HNO}_3$ (na proporção 1:1 v/v com concentração 1 mol L^{-1}). Para avaliar o melhor solvente extrator no método, fixou-se o tipo do solvente dispensor e a melhor proporção entre solvente extrator: dispensor.

A seguir, para o melhor solvente extrator, foram avaliadas diferentes concentrações: 0,5; 0,75, 1 mol L^{-1} e comparadas ao ensaio com uso, apenas, de água ultra pura como solvente extrator.

4.4.4 Determinação do Volume da Solução dos Solventes Dispensor e Extrator

Para avaliar o volume da mistura de extrator: dispensor para o procedimento de RP-DLLME foram empregados os volumes 0,5; 1,0; 1,5 e 2 mL.

4.4.5 Tempo de Ultrassom

Para avaliar se o ultrassom poderia interferir na recuperação dos analitos em estudo as amostras foram submetidas ao banho por ultrassom, cujos parâmetros temperatura (75 °C) e frequência (37 KHz) foram mantidos constantes, variando o tempo de permanência no equipamento: 0, 5 e 10 min, conforme metodologia desenvolvida por Lourenço *et al.* (2019).

4.4.6 Variação do Tempo da Centrifugação

Para a centrifugação foi avaliado, apenas, o tempo que a amostra foi centrifugada: 5, 10 e 15 minutos; os demais parâmetros do equipamento foram fixados (rotação 6000 rpm, aceleração 30 s, frenagem 30 s e temperatura 25°C).

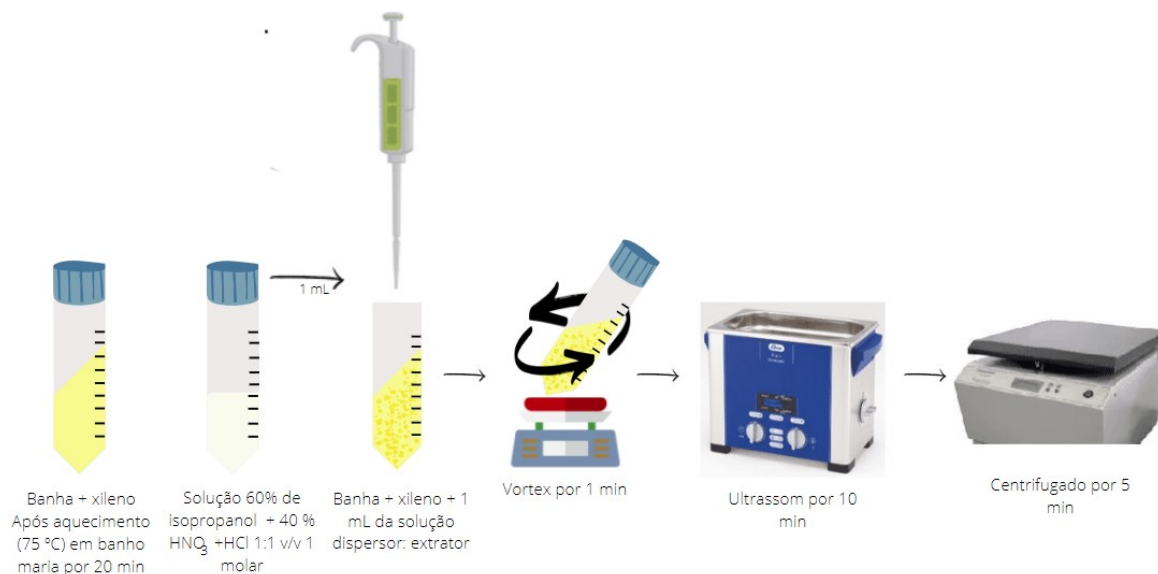
4.5 Procedimento de RP-DLLME para Determinação de Cu, Fe, Mg, Mn E Ni em Banha Suína

Com os resultados obtidos, padronizou-se o método que foi aplicado em banha suína comercial.

Aqueceu-se a banha até o total derretimento a temperatura de 30 °C. Após, foram pesados 5 g de amostra de banha em tubos de polipropileno com capacidade para 15 mL, previamente descontaminados, e acrescentado 5 mL do solvente xileno. A mistura foi submetida ao aquecimento em banho-maria por cerca de 20 minutos a temperatura de 75 °C.

Em seguida, foram adicionados à amostra 1,0 mL da mistura de solventes dispersor: extrator (isopropanol: HNO₃ + HCl 1:1 v/v 1 mol L⁻¹), na proporção 60:40, respectivamente. As amostras foram agitadas por 1 minuto em vórtex e, posteriormente, submetidas ao ultrassom por 10 minutos sem agitação (75 °C e 37 KHz). Após, encaminhadas a centrifugação pelo período de 5 minutos (rotação 6000 rpm, aceleração 30 s, frenagem 30 s e temperatura 25°C). A Figura 3 representa as etapas da primeira parte do procedimento.

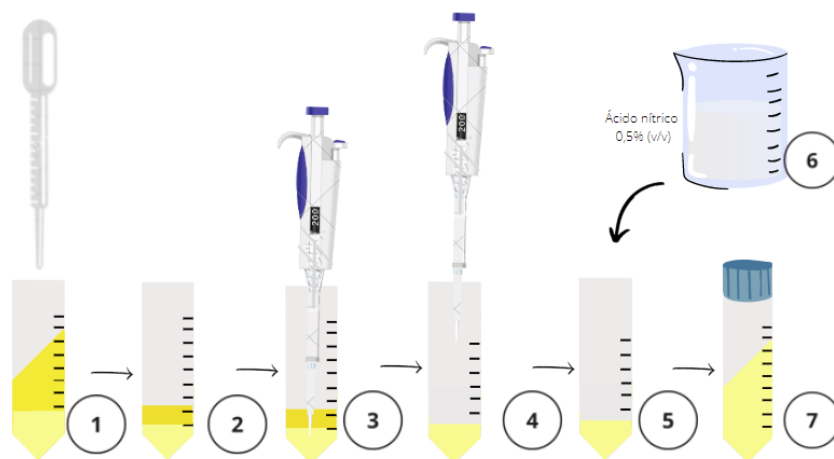
Figura 3 - Primeira etapa do procedimento RP-DLLME empregado a banha suína



Fonte: Adaptado de Kalschne et al. (2020)

Ao término da centrifugação (conforme representado na Figura 4), verificou-se a formação de duas fases (1). Retirou-se então com o auxílio de uma micropipeta à parte da amostra superior (2) para facilitar a retirada da fase sedimentada e transferiu a parte que estava sedimentada para outro tubo de polipropileno (3, 4) com capacidade de 15 mL, previamente descontaminado. Com a amostra no novo tubo, aferiu-se o volume com HNO₃ 0,5% (v/v) (5,6) para 5 mL para posterior determinação por espectrometria atômica (7).

Figura 4 - Segunda etapa do procedimento RP-DLLME empregado a banha suína



Fonte: Adaptado de Kalschne et al. (2020)

Para o branco, adicionou-se no tubo de polipropileno com capacidade de 15 mL, 1 mL da mistura da solução extratora: dispersora e aferiu-se o volume com HNO₃ 0,5% (v/v).

Para realizar o cálculo de recuperação com o intuito de obter o percentual de recuperação dos analitos para todos os ensaios, em triplicata, utilizou-se a Equação 3.

$$\text{Recuperação em \%} = \left(\frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

C1 é a concentração final da amostra com adição do analito,

C2 é a concentração final da amostra antes da adição do analito e

C3 é o analito acrescentado na amostra.

4.6 Figuras de Mérito

Após cumprir todas as etapas de otimização das condições experimentais, realizou-se a validação do método, visando garantir a confiabilidade dos resultados adquiridos. Para essa validação, utilizou-se os parâmetros de mérito: precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) conforme metodologia do INMETRO – DOQ-CGCRE-008 (2020).

4.6.1 Exatidão

A exatidão do método foi determinada mediante ensaios de recuperação (INMETRO, 2020). O fator de recuperação foi calculado conforme Equação 4.

$$R = \frac{(C_2 - C_0) * 100\%}{C_1} \quad (4)$$

Onde:

C₀: concentração do metal na gordura

C₁: concentração do metal adicionado na gordura

C2: concentração do metal recuperado nas amostras de gordura

4.6.2 Precisão

A precisão pode ser definida como o grau de concordância entre os resultados de repetições sucessivas de um mesmo mensurado, avaliada nas condições de repetitividade (INMETRO, 2020).

O cálculo da precisão de um método analítico pode ser avaliado por meio do desvio padrão (s) e do desvio padrão relativo (RSD). O desvio padrão deverá ser calculado, conforme Equação 5. Para obter-se o desvio padrão deve-se realizar a raiz quadrada da somatória ao quadrado da diferença entre cada valor obtido (x) e a média aritmética entre todos os valores (\bar{x}) dividido pelo número de replicadas (n) menos 1, conforme descrito na Equação 6 (INMETRO, 2020).

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (5)$$

Onde:

x: valor obtido

\bar{x} : média aritmética entre todos os valores observados

n: número de replicadas equivalente a 10.

O desvio padrão relativo será calculado conforme equação 6.

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (6)$$

Onde:

s: desvio padrão

\bar{x} : média aritmética entre todos os valores observados

4.6.3 Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção (LD) de um procedimento analítico determina a menor concentração de analito na amostra que pode ser percebida no método analítico com um excelente nível de confiança (INMETRO, 2020). O LD foi calculado conforme a Equação 7.

$$LD = \frac{3 \cdot s}{S} \quad (7)$$

Onde:

s: desvio padrão de dez medidas do branco

S: sensibilidade da calibração (inclinação da curva analítica)

4.6.4 Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) está relacionado a menor quantidade de analito que pode ser identificada na amostra (INMETRO, 2020). O LQ foi calculado conforme Equação 8.

$$LQ = \frac{10 \cdot s}{S} \quad (8)$$

Onde:

s: desvio padrão de dez medidas do branco

S: sensibilidade da calibração

4.7 Caracterização do risco

4.7.1 Ingestão Diária Estimada (IDE) de Metais a Partir do Consumo da Banha

A ingestão diária estimada (IDE) de traços de metais na banha suína depende das concentrações de metais com base no peso seco e da taxa de consumo diário de banha suína, bem como o peso corporal médio. Foi calculado conforme metodologia

descrita por Barone *et al.* (2020), para cada um dos metais analisados de acordo a Equação 9. O consumo diário e o peso corpóreo médio foram estimados a partir dos dados disponíveis pelo IBGE (2010).

$$IDE = \frac{C \times ID}{PMC} \quad (9)$$

Onde:

C: é a concentração do elemento nas amostras estudadas;

ID: é a taxa de ingestão diária (370 mg dia⁻¹);

PMC: é o peso médio corporal da criança faixa 5 a 12 anos (Masculino 29,84 kg e Feminino 30,51 kg);

PMC: é o peso médio corporal do adulto faixa 13 a 17 anos (Masculino 55,98 kg e Feminino 51,58 kg);

PMC: é o peso médio corporal do adulto faixa 18 a 75 anos ou mais (Masculino 70,69 kg e Feminino 60,87 kg).

4.7.2 Quociente de Risco

O quociente de risco (QR) não cancerígeno assume que existe um nível de exposição (RfD ou dose de referência) abaixo do qual é improvável que mesmo populações sensíveis sofram efeitos adversos à saúde. Se o nível de exposição exceder esse limite (QR/RfD > 1), pode haver preocupação com possíveis efeitos cancerígenos (RODRIGUES; FORMOSO, 2005). O quociente de risco determina o risco potencial causado pelos metais individualmente e foi calculada pela Equação 10, conforme adaptada de Barone *et al.* (2020).

$$QR = \frac{EFr \times ED \times ID \times C}{PMC \times AT} \quad (10)$$

Onde:

EFr: é a frequência de exposição (365 dias ano⁻¹);

ED: é a duração da exposição (70 anos), equivalente à vida média;

ID: é a taxa de ingestão alimentar de banha (0,0037 kg dia⁻¹);

C: é a concentração do metal;

PMC: é o peso médio corporal da criança faixa 5 a 12 anos (Masculino 29,84 kg e Feminino 30,51 kg);

PMC: é o peso médio corporal do adulto faixa 13 a 17 anos (Masculino 55,98 kg e Feminino 51,58 kg);

PMC: é o peso médio corporal do adulto faixa 18 a 75 anos ou mais (Masculino 70,69 kg e Feminino 60,87 kg);

AT: é o tempo médio de exposição para não cancerígenos (25.550 dias (365 dias ano⁻¹ x ED));

RfD: é a dose oral de referência (Cu $4,0 \times 10^{-2}$ mg kg⁻¹, Fe $7,0 \times 10^{-1}$ mg kg⁻¹, Mn $1,4 \times 10^{-1}$ mg kg⁻¹, Ni $2,0 \times 10^{-2}$ mg kg⁻¹ (EPA, 2021) e Mg $1,1 \times 10^1$ mg kg⁻¹ (DEQ, 2015),

PMC: é o peso médio corporal da criança faixa 5 a 12 anos (Masculino 29,84 kg e Feminino 30,51 kg).

O índice de perigo (IP) determina o risco potencial desencadeado pelos metais coletivamente e é calculado como a soma do QR, conforme Equação 11 descrito por Barone *et al.* (2020).

$$IP = \sum QR \text{ (de cada metal)} \quad (11)$$

Se o valor obtido de IP for inferior a “1”, um efeito adverso está fora de questão em termos de saúde humana (BARONE *et al.*, 2020).

4.8 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a Análise de Variância e quando detectado diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ao teste de Tukey, empregando o programa *Statistica* versão 7.0 (StatSoft).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O procedimento RP-DLLME tem sido aplicado tanto para óleos (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; LOURENÇO *et al.*, 2019) quanto para gorduras (KALSCHNE *et al.*, 2020) e, em ambas as matrizes, foi necessário a inclusão de uma etapa de pré-aquecimento (30 °C) com o propósito de diminuir a viscosidade proporcionando fluidez à matriz e, conseqüentemente, favorecendo a homogeneização e o efetivo contato da solução dispersora: extratora com a matriz, garantindo assim a formação de microgotículas na amostra.

Além da etapa do pré-aquecimento, foi adicionado 5 mL de xileno, que, assim como no trabalho realizado por Kalschne *et al.* (2020), também resultou na redução da viscosidade da amostra e na estabilidade na forma líquida, fatores que auxiliaram na eficiência da microextração.

A massa de amostra não foi variada e optou-se por utilizar 5 g de banha, assim como a temperatura da amostra em banho maria a 70 °C por 20 min, conforme metodologia desenvolvida por Kalschne *et al.* (2020). A temperatura de 70 °C foi definida por ser inferior a temperatura de ebulição dos solventes Isopropanol e n-Propanol (82,6 °C (GOMES, 2016) e 97,2 °C (PENTEADO; MAGALHÃES; MASINI, 2008) respectivamente).

5.1 Determinação do Melhor Solvente Dispersor

Os solventes dispersores utilizados nesse trabalho (Isopropanol e n-Propanol) foram previamente selecionados a partir da literatura científica (FARAJZADEH; AFSHAR MOGADDAM, 2016; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2015; LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014; REZAAE *et al.*, 2006; REZAAE; YAMINI; FARAJI, 2010).

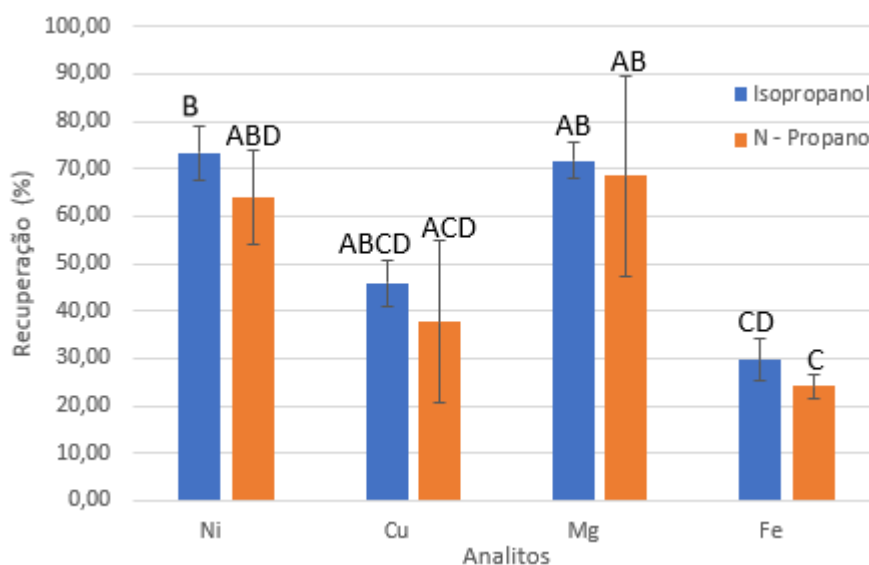
Ao adicionar a mistura de solventes dispersor: extrator de forma rápida na amostra observou-se uma fase turva e, em seguida, o surgimento de gotículas, aumentando a superfície de contato e facilitando a extração.

Os resultados referentes a recuperação dos metais estudados encontram-se apresentados na Figura 6. Apesar dos solventes não terem diferido significativamente

entre si ao nível de 5 % de probabilidade, o isopropanol foi escolhido por apresentar menor desvio padrão. Conforme Tabela 6, há diferença significativa ao nível de 5 % de probabilidade ao avaliar a interação metal: solvente, assim a diferença se encontra nos metais Ni e Mg em relação ao Fe.

Dentre os metais avaliados os que apresentaram os maiores percentuais de recuperação foram Ni e Mg e não diferiram entre si ao nível de 5 % de probabilidade (Figura 5). Sendo assim, para Ni e Mg, seguiu-se o mesmo padrão que os demais, escolhendo o solvente que gerou menor desvio padrão.

Figura 5 - Efeito do n-propanol e isopropanol como solventes dispersores na recuperação (%) de Ni, Mg, Cu e Fe em banha suína para quantificação em F AAS



Fonte: A autora (2022)

Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%. As barras de erros representam o desvio padrão.

Tabela 6 - Análise de variância para a recuperação (%) dos metais Ni, Cu, Fe e Mg em banha suína para determinação em F AAS empregando os solventes dispersores n-propanol e isopropanol

| Fonte da Variação | SQ | GI | MQ | F | P |
|--------------------------|----------|----|---------|------|----------|
| Metal*Solvente dispersor | 11095,39 | 7 | 1585,06 | 7,22 | 0,000108 |
| Erro | 5268,81 | 24 | 219,53 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GI: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F-crítico
Fonte: A autora (2022)

Lourenço *et al.* (2019), ao avaliar os solventes dispersores isopropanol e etanol, separadamente, no biodiesel visando recuperar Mg através da mesma técnica também verificaram que o isopropanol mostrou maior percentual de recuperação do metal estudado.

Como na literatura consultada não foram encontrados estudos com os elementos e a matriz em estudo e, sendo assim, para as análises seguintes utilizou-se como solvente dispersor o isopropanol.

5.2 Determinação do Melhor Solvente Extrator (HNO_3 e $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) e a Melhor Proporção do Solvente Dispersor/Extrator

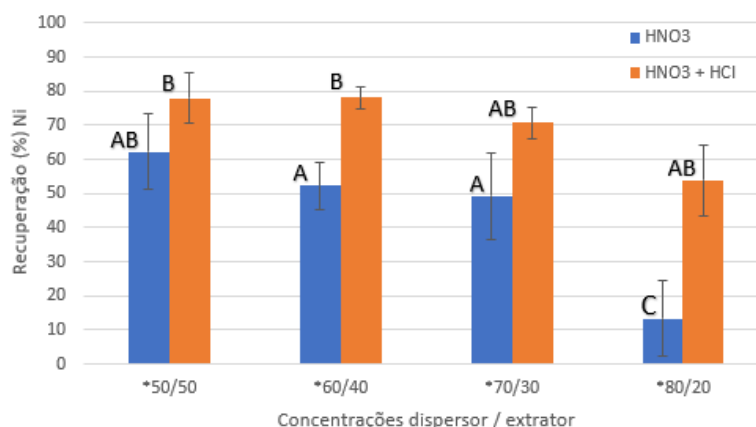
A partir do descrito no método RP-DLLME e as características necessárias para o procedimento de microextração, em que os metais devem ser extraídos de matrizes orgânicas, é obrigatório a utilização de solventes extratores. Esses solventes devem ser imiscíveis na amostra, ter maior densidade e elevada interação com íons metálicos que deseja realizar a extração e pré-concentração (LÓPEZ-GARCÍA; VICENTE-MARTÍNEZ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2014).

A proporção dos solventes dispersor: extrator deve ser otimizada, pois este é um dos parâmetros que determina a eficácia da extração. Em volumes pequenos de solvente dispersor a formação de gotículas pode não ser efetiva, assim pode reduzir a eficiência do solvente extrator. Com o volume de solvente dispersor em excesso, dois processos competitivos podem ocorrer: a) aumento da solubilidade dos analitos na fase aquosa, o que conduz para a redução da partição dos compostos polares nas microgotas do extrator e b) aumento na eficiência de extração gerada pelo aumento na quantidade da fase de isopropanol (MARCIEL, 2013)

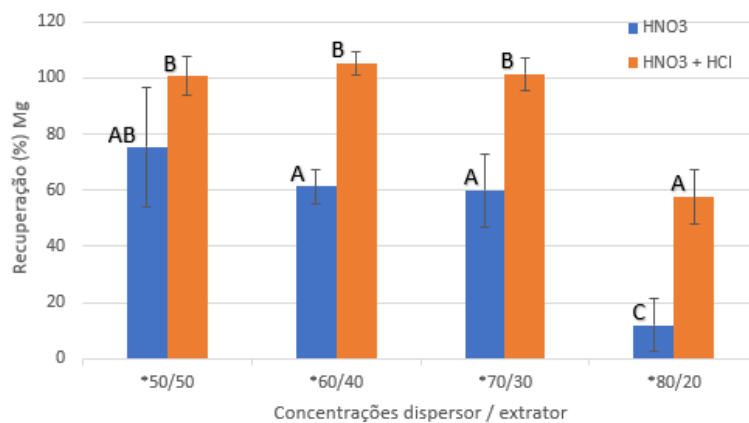
Os resultados para o percentual de recuperação dos metais Ni, Mg e Cu empregando diferentes solventes extratores e diferentes percentuais entre solventes dispersores e extratores estão representados na Figura 6. Para essa etapa o Fe foi retirado, já que as percentagens de recuperação ficaram abaixo de 30%.

Figura 6 - Efeito do volume de isopropanol e da proporção entre solvente dispersor: solvente extrator no percentual de recuperação de Ni (a), Mg (b) e Cu (c) em banha suína empregando F AAS para quantificação

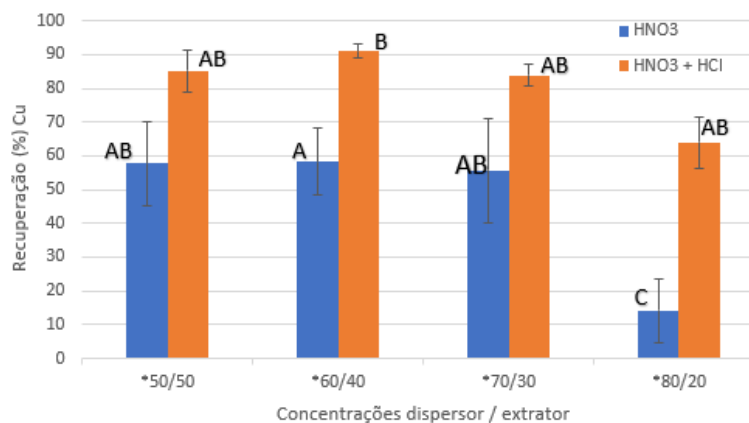
(a)



(b)



(c)



Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%. As barras de erros representam o desvio padrão.

Fonte: A autora (2022)

Ao realizar a análise de variância foi verificado que há diferença significativa entre os solventes extratores, os grupos de metais e em relação a proporção do solvente dispersor/ extrator ($p \leq 0,05$), com exceção para a interações ($p \geq 0,05$) (Tabela 7).

Para o Ni, Mg e Cu, Figura 6 (a, b e c, respectivamente), o solvente extrator $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ foi responsável pelas maiores percentagens de recuperação e os menores desvios padrões, o que justificou a escolha do solvente.

Ao avaliar as proporções (50/50, 60/40, 70/30 e 80/20) e fixando os solventes extratores, veja que para o Ni e Cu (Figura 6 a e c, respectivamente), as proporções diferiram significativamente a nível de 5 % para os conjuntos 60/40 e 80/20. Já para Mg, Figura 6 b, o mesmo pode ser observado para as proporções 60/40, 70/30 e 80/20.

Dentre as proporções de maiores recuperações para Ni (50/50 e 60/40), Mg e Cu (50/50, 60/40 e 70/30) todos com o solvente $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$, não diferiram entre si a nível de 5% de probabilidade, contudo a proporção 60/40, possuía menor desvio padrão o que facilitou a escolha do mesmo e padronizou a mesma proporção para todos os metais.

Tabela 7 – Análise de variância para a recuperação (%) dos metais Cu, Mg e Ni em banha suína para a determinação em F AAS em relação a proporção do solvente dispersor (50, 60, 70 e 80% v/v) e o solvente extrator (HNO_3 e o $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$)

| Fonte da Variação | SQ | GI | MQ | F | Valor - P |
|--|--------|----|--------|--------|-----------|
| | | | | 61,731 | |
| Solvente extrator | 8793,7 | 1 | 8793,7 | 9 | 0,0000 |
| metais (Cu, Mg e Ni) | 1119 | 2 | 559,5 | 3,9277 | 0,0356 |
| Concentrações | 7185 | 3 | 2395 | 16,813 | 0,0000 |
| Solvente extrator*metais | 239,1 | 2 | 119,5 | 0,8392 | 0,4461 |
| Solvente extrator*Concentrações | 453,9 | 3 | 151,3 | 1,062 | 0,3863 |
| metais*Concentrações | 395,1 | 6 | 65,9 | 0,4623 | 0,8282 |
| Solvente extrator*metais*Concentrações | 87,6 | 6 | 14,6 | 0,1025 | 0,9953 |
| Erro | 2991,4 | 21 | 142,4 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GI: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F-crítico
Fonte: A autora (2022)

Kalschne *et al.* (2020), ao avaliarem o percentual de recuperação de Ni em gordura vegetal utilizando RP-DLLME, verificaram que a proporção 70/30 resultou em

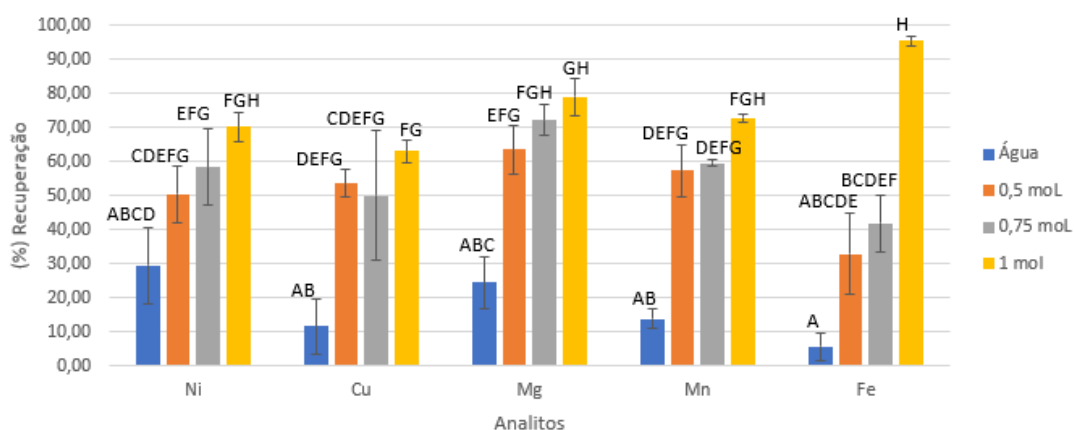
maiores valores, reforçando a importância em se ajustar os parâmetros para cada matriz a ser estudada.

5.3 Concentração Adequada do Solvente Extrator (HNO₃ + HCl)

Os resultados referentes aos ensaios estão representados na Figura 7 e Tabela 8, onde é possível verificar que a interação entre concentração e metal possuem diferença significativa ($p \leq 0,05$) o que possibilitou realizar o teste de comparação de médias (Teste de Tukey com nível de confiança de 95%).

Nessa etapa foi incluído o Mn devido o mesmo ser utilizado como coadjuvante de tecnologia, silicato de manganês, na etapa de clarificação da banha, e após estudos dos possíveis efeitos do ferro na oxidação lipídica, retornamos com o Fe.

Figura 7 - Efeito da concentração do solvente extrator HNO₃ + HCl no percentual de recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína determinada por F AAS



Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%. As barras de erros representam o desvio padrão. O volume do solvente extrator e dispersor foi mantido constante (60:40).

Fonte: A autora (2022)

Tabela 8 – Análise de variância dos resultados do efeito da concentração do solvente extrator HNO₃ + HCl no percentual de recuperação dos metais Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína

| Fonte da Variação | SQ | GL | MQ | F | P |
|--------------------|---------|----|--------|-------|----------|
| Metal*Concentração | 38292,9 | 19 | 2015,4 | 16,63 | 0,000000 |
| Erro | 6666,4 | 55 | 121,2 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F-crítico
Fonte: A autora (2022)

Ao realizar o teste de Tukey (Figura 7) foi verificado que o melhor percentual de recuperação para Cu, Fe, Mg, Mn e Ni foi obtido utilizando o solvente extrator HNO_3 + HCl na concentração de 1 mol L^{-1} .

O efeito da concentração do solvente extrator é importante pois favorece o deslocamento dos cátions metálicos que se apresentam de diferentes formas na amostra oleosa, quer como íons livres ou ligados a moléculas orgânicas, aumentando a transferência para a fase aquosa (PEREIRA *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2014).

Neste trabalho, quando foi empregado água ultra pura como solvente extrator, foram obtidos percentuais de recuperações inferiores a 40% para todos os metais em estudo, e diferentes significativamente ($p < 0,05$) do solvente HNO_3 + HCl (Tabela 8). Lourenço (2016), por sua vez, obteve um percentual de recuperação de 105% com RSD de 0,8%, quando empregou água ultra pura como solvente extrator em biodiesel. Esses resultados indicam que o metal avaliado poderia estar livre ou ligado através de interações fracas com as moléculas orgânicas presente no biodiesel (PEREIRA *et al.* 2014). Já Pereira *et al.* (2013), ao alterar a concentração de HNO_3 para Cu e Mn, não obteve variação significativa dos sinais com a variação da concentração; contudo, houve a necessidade acidificar o solvente. Para a banha suína, divergente do ocorrido para o biodiesel, os cátions possivelmente se encontravam ligados fortemente com as moléculas orgânicas, existindo assim, a necessidade de utilizar o solvente extrator na concentração de 1 mol L^{-1} .

Para os ensaios subsequentes a concentração da solução extratora foi fixada em 1 mol L^{-1} para todos os metais avaliados.

5.4 Determinação do Volume da Solução dos Solventes Dispensor e Extrator

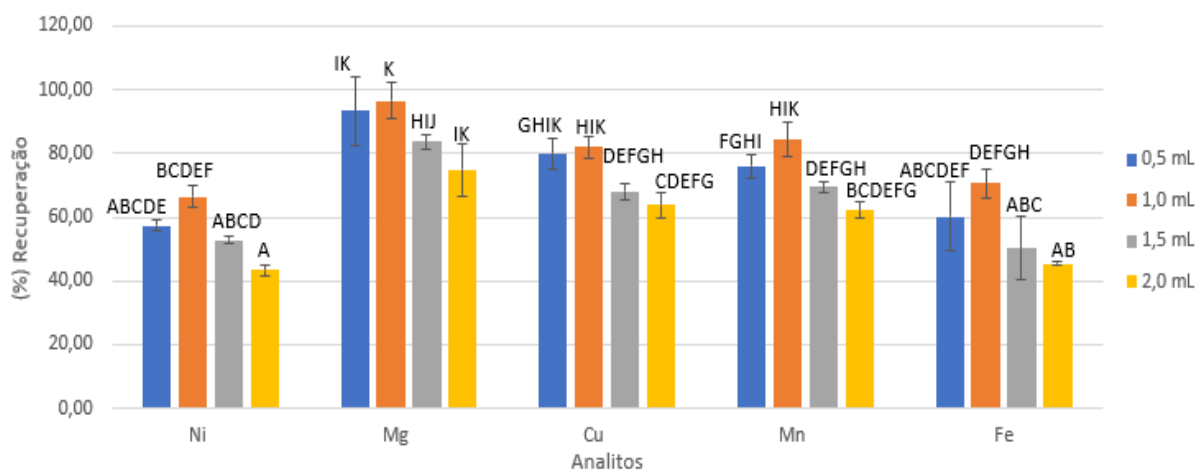
Neste estudo, os ensaios foram desenvolvidos mantendo a proporção solvente dispensor: extrator de 60/40 % (v/v); porém, variando o volume total de solvente dispensor: extrator. Pelos resultados obtidos (Figura 8), os volumes 0,5 e 1,0 mL apresentaram os melhores resultados quanto ao percentual de recuperação e diferiram significativamente a nível de 5 % de probabilidade dos volumes 1,5 e 2,0 mL (Tabela 9).

Tabela 9 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais, variando a quantidade de solução 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mL

| Fonte da Variação | SQ | GL | MQ | F | P |
|-----------------------------|---------|----|-------|-------|----------|
| Metal*Quantidade de solução | 13025,0 | 19 | 685,5 | 20,44 | 0,000000 |
| Erro | 1341,3 | 40 | 33,5 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F-crítico
Fonte: A autora (2022)

Figura 8 - Efeito da quantidade da solução dispersora/ extratora na recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína



Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%. As barras de erros representam o desvio padrão.

Fonte: A autora (2022)

É importante definir a quantidade do volume na extração, pois o solvente dispersor permite a interação entre as fases oleosas e aquosa, já o solvente extrator tem como objetivo transferir os metais da fase oleosa para a aquosa. Se a quantidade da solução for menor que a necessária, pode ocorrer o deslocamento incompleto dos cátions metálicos das estruturas orgânicas, por outro lado, em excesso, deverá ser realizada uma maior diluição antes de ir para a determinação, contudo, nesse processo, pode gerar a perda dos metais presentes em pequenas concentrações (AL-DALAHMEH; AL-SWAIDAN; AL-GHAMDI, 2019).

Para os metais estudados, a medida em que se aumentava o volume da solução a partir de 1,5 mL reduzia-se a porcentagem de recuperação (Figura 9), o que pode indicar que a solução em excesso gerou perda dos metais na matriz estudada. Já para os volumes 0,5 e 1,0 mL, os mesmos não diferiram entre si ($p < 0,05$); contudo,

o volume de 1,0 mL foi fixado como volume adequado para os ensaios posteriores, pois apresentou os menores desvio padrão entre as médias.

Assim como para a banha suína, Lourenço *et al.* (2019) ao avaliar o biodiesel para o Mg, utilizando a metodologia RP-DLLME, o volume adequado, foi de 1 mL da solução dispersora: extratora.

5.5 Tempo de Ultrassom

Priego-Capote e Castro (2004) ressaltam que com o uso do ultrassom é possível realizar extrações com transferências da fase orgânica para a aquosa sem utilizar agentes emulsificantes adicionais. Em estudos utilizando a metodologia RP-DLLME, alguns autores relataram o uso do ultrassom e observaram uma influência positiva do seu uso, aumentando a eficiência de extração (HASHEMI *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2013).

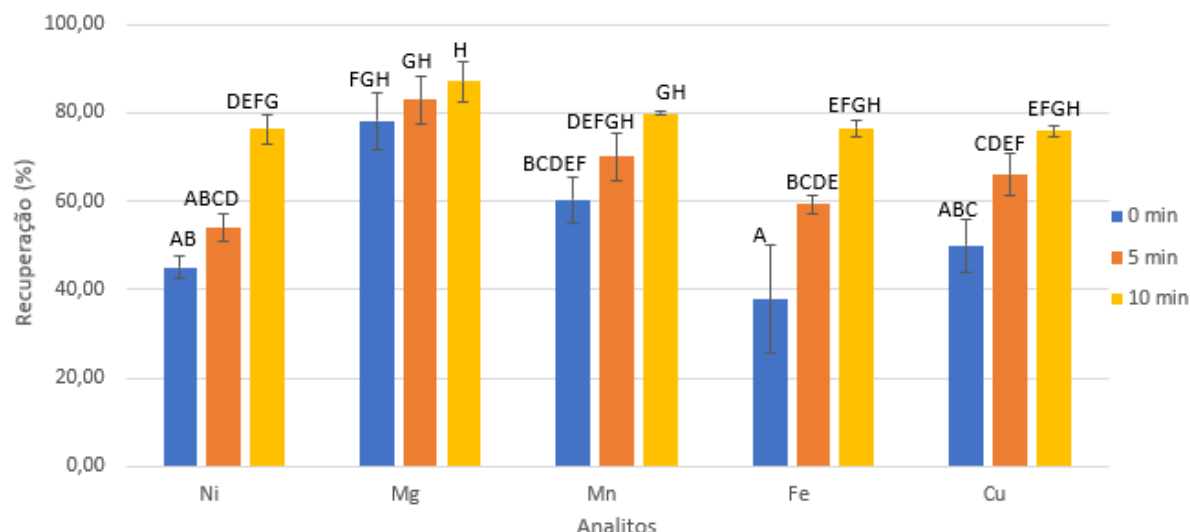
O provável mecanismo de ação está correlacionado com o fato de que o ultrassom empregado resulta na formação de microgotas menores, aumentando a superfície de contato e de interação dos solventes (LOPEZ-GARCIA *et al.*, 2014; LOPEZ-GARCIA *et al.*, 2015).

Ainda, alguns tipos de matrizes oleosas precisam de um tempo maior para a interação com a solução extratora. O ultrassom poderia facilitar o acesso da solução ácida a todas as partes do interior da amostra oleosa e também para facilitar a separação da solução aquosa da fase oleosa (AL-DALAHMEH; AL-SWAIDAN; AL-GHAMDI, 2019).

Contudo, em relação a matriz biodiesel, o emprego ou do ultrassom (75 °C, 37 kHz, por 5 min ou 10 min) ou apenas do vórtex (3000 rpm) por 1 min para a microextração do Mg não resultou em diferença significativa quanto ao percentual de recuperação deste metal (LOURENÇO *et al.*, 2019).

Com base no exposto, foi avaliado o efeito do tempo de ultrassom sobre a extração dos metais em banha suína e os resultados estão apresentados na Figura 9 e a análise estatística dos resultados na Tabela 10.

Figura 9 - Efeito do ultrassom no percentual de recuperação de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína determinada por F AAS



Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%, em relação ao uso do ultrassom. As barras de erros representam o desvio padrão.

Fonte: A autora (2022)

Tabela 10 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, variando o tempo (min) de ultrassom em 0, 5 e 10 min

| Fonte da Variação | SQ | GL | MQ | F | P |
|-------------------|--------|----|-------|--------|----------|
| Metal*Ultrassom | 8710,5 | 14 | 622,2 | 17,659 | 0,000000 |
| Erro | 1057,0 | 30 | 35,2 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F-crítico
Fonte: A autora (2022)

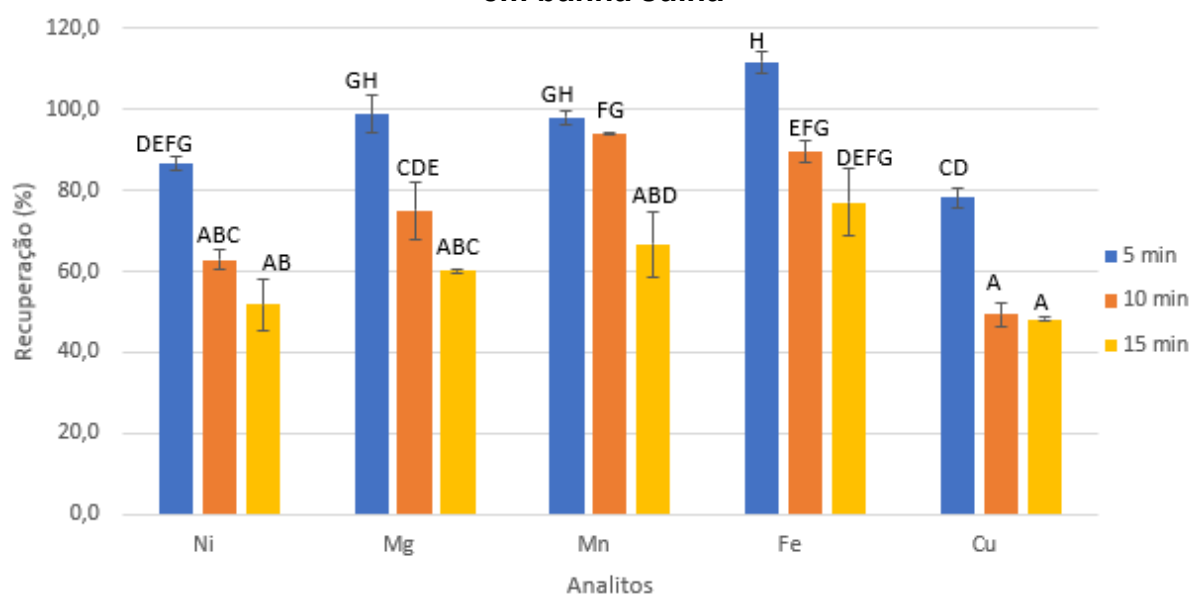
Ao avaliar os resultados (Figura 9 e Tabela 9), pode-se observar que houve diferença significativa entre os ensaios de 10 min e sem o uso de ultrassom para os analitos avaliados ($p < 0,05$), sendo que o uso do ultrassom possui influência positiva nos resultados de microextração desses metais para a banha suína, exceto para o Mg, que não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com e sem o uso do ultrassom, resultado este similar ao observado por Lourenço *et al.* (2019) na microextração desse analito em biodiesel

Ao avaliar o uso do ultrassom (Figura 9) por 5 e 10 min não houve diferença significativa a nível de 5% entre os analitos avaliados; contudo os menores desvios padrões foram obtidos com 10 min de ultrassom e para padronizar para todos os metais, inclusive para o Mg, continuou-se as análises com 10 min de ultrassom.

5.6 Variação do Tempo de Centrifugação

Com o intuito de obter a completa separação da fase aquosa contendo os íons metálicos da fase orgânica, estudou-se a influência do tempo de centrifugação e os resultados obtidos são apresentados na Figura 10 e os resultados da análise estatística dos dados na Tabela 11.

Figura 10 - Teste da centrifugação na recuperação (%) de Ni, Cu, Mg, Mn e Fe em banha suína



Legenda: Letras iguais nas barras indicam não haver diferença significativa entre os tratamentos, conforme teste de Tukey a nível de confiança de 95%, em relação ao uso da centrífuga. As barras de erros representam o desvio padrão.

Fonte: A autora (2022)

Tabela 11 - ANOVA dos resultados de recuperação dos metais Cu, Fe, Mg, Mn e Ni, variando o tempo (min) de centrifugação em 5, 10 e 15 min / 6000 rpm

| Fonte da Variação | SQ | GL | MQ | F | P |
|-------------------|---------|----|-------|-------|----------|
| Metal*Centrifuga | 10850,5 | 14 | 775,0 | 41,22 | 0,000000 |
| Erro | 282,0 | 15 | 18,8 | | |

Legenda: SQ: Soma dos quadrados; GL: grau de liberdade; MQ: Quadrado médio; F: F- crítico
Fonte: A autora (2022)

É possível afirmar, a partir das análises dos resultados, que entre os tempos analisados existe diferença significativa ($p \leq 0,05$) (Tabela 11).

O tempo 5 min de centrifugação, para cada metal isoladamente, diferiu significativamente dos demais tempos de centrifugação (10 e 15 min), tendo maior

percentagem de recuperação e menores desvios padrões, exceto para o Mn, que para esse analito, não possui diferença significativa a nível de 5% entre os tempos de 5 e 10 min e ao avaliar o desvio padrão, o de 10 min é menor (Figura 10).

Para a banha suína à medida que aumentava o tempo de centrifugação observava-se um pequeno decaimento na porcentagem de recuperação dos analitos (Figura 10). Uma possível explicação está na instabilidade da interface entre as fases polar e apolar com o decorrer do tempo, o que favorece a coalescência das fases reduzindo a porcentagem de extração (TAKASHIMA, 2017). Ao contrário de Lourenço *et al.* (2016) que observaram que um aumento no tempo de centrifugação (5 a 15 minutos) favorecia o percentual de recuperação dos analitos para a matriz biodiesel. Por sua vez, para gordura vegetal, a extração de Ni foi melhor quando empregado 10 min de centrifugação (KALSCHNE *et al.*, 2020).

Para a banha suína, para facilitar as análises, padronizou-se o tempo de 5 min de centrifugação para todos os analitos por obter os maiores percentuais de recuperação, inclusive para o Mn.

5.7 Condições Experimentais Otimizados dos Parâmetros da RP-DLLME para Extração de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em Banha Suína

Na Tabela 12 são apresentados, resumidamente, as condições ótimas obtidas nos estudos das variáveis que influenciaram na extração de metais Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em banha suína pela técnica RP-DLLME

Tabela 12 – Condições ideais para aplicação da RP-DLLME para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha suína utilizando F AAS

| Parâmetros | Melhores condições |
|---|---|
| Solvente dispersor | Isopropanol |
| Solvente extrator | HNO ₃ + HCl (na proporção 1:1 (v/v)) |
| Proporção solvente dispersor: extrator | 60/40 % (v/v) |
| Concentração do solvente extrator | 1,0 mol L ⁻¹ |
| Volume da solução (solvente dispersor/ solvente extrator) | 1 mL |
| Tempo de Ultrassom (37 kHz sem agitação, temperatura a 75°C) | 10 min |
| Tempo de Centrifugação (6000 rpm, 30 s de aceleração e frenagem, 25 °C) | 5 min |

Fonte: A autora (2022)

Com estas condições otimizadas foram obtidas as figuras de mérito do procedimento de extração e análise por F AAS, bem como utilizados na determinação destes metais nas amostras comerciais de banha suína.

5.7.1 Curva de Calibração e Faixa Linear para Determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em Banhas Comerciais por F AAS

A curva de calibração analítica e a faixa linear foram realizadas através de calibrações do equipamento com soluções aquosas multielementares (Cu, Fe, Mg, Mn e Ni) preparadas com HNO₃ 0,5% (v/v) em concentrações distintas. Os resultados de influência estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Coeficiente de correlação linear, equação da reta e faixa linear da curva de calibração para Cu, Fe, Mg, Mn e Ni

| Analito | R ² | Equação da reta | Faixa linear, mg L ⁻¹ |
|---------|----------------|------------------------|----------------------------------|
| Cu | 0,9982 | $y = 0,0938x - 0,0009$ | 0,3 - 1,0 |
| Fe | 0,9988 | $y = 0,0709x - 0,0015$ | 0,25 - 1,5 |
| Mg | 0,9985 | $y = 1,1967x + 0,0178$ | 0,3 - 1,0 |
| Mn | 0,9918 | $y = 0,1873x - 0,0074$ | 0,25 - 0,75 |
| Ni | 0,9968 | $y = 0,0847x - 0,0009$ | 0,3 - 1,5 |

Fonte: A autora (2022)

Para os metais estudados observou-se o coeficiente de correlação linear ficou acima de 0,99, os quais podem ser considerados lineares, já que quanto mais próximo estiverem de 1,0, mais confiável e preciso é o procedimento (CARGNELUTTI FILHO *et al.*, 2010).

5.7.2 Figuras de Mérito do Procedimento de Extração Otimizado

5.7.2.1 Limites de detecção e quantificação

Os LD's e o LQ's do método foram estimados conforme descritos nos itens 4.6.3 e 4.6.4, conforme recomendação do INMETRO (2020), e estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Parâmetros - LQ e LD - para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha por F AAS com o emprego de RP-DLLME

| Analito | LD mg Kg ⁻¹ | LQ mg Kg ⁻¹ |
|---------|------------------------|------------------------|
| Cu | 0,0032 | 0,0106 |
| Fe | 0,0041 | 0,0136 |
| Mg | 0,0012 | 0,0042 |
| Mn | 0,0051 | 0,0169 |
| Ni | 0,0037 | 0,0124 |

Fonte: A autora (2022)

Na metodologia indicada no *Codex Alimentarius* para análise de Cu, Fe e Ni (ISO 8294, 1994) em amostras de banha suína, sugere a determinação desses em concentrações inferiores a 0,2 ppm, 1,0 ppm e 1,0 ppm, respectivamente.

O LD e LQ do método RP-DLLME resultou em baixos valores para todos os analitos encontrados e são inferiores aos limites da ISO 8294 (1994), o que possibilita a aplicação do método.

5.7.2.2 Exatidão e precisão

A exatidão e a precisão do método para a determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni foram calculadas conforme descritos nos itens 4.6.1 e 4.6.2, respectivamente, a partir de testes de recuperação e seus respectivos RSD (Desvio relativo padrão). Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15 – Testes de recuperação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni com determinação por F AAS em concentrações de 0,3 e 0,5 mg kg⁻¹ (n=5)

| Adição analito (mg kg ⁻¹) | Cu | | Fe | | Mg | | Mn | | Ni | |
|---------------------------------------|-------|---------|--------|---------|--------|---------|-------|---------|-------|---------|
| | R (%) | RSD (%) | R (%) | RSD (%) | R (%) | RSD (%) | R (%) | RSD (%) | R (%) | RSD (%) |
| 0,5 | 95,64 | 3,09 | 98,4 | 2,52 | 99,02 | 3,33 | 99,16 | 2,86 | 96,43 | 6,46 |
| 0,3 | 97,52 | 2,24 | 100,32 | 4,34 | 104,42 | 2,83 | 99,49 | 3,05 | 99,17 | 7,12 |

Legenda: R: Recuperação – RSD: Desvio relativo padrão

Fonte: A autora (2022)

Os testes que foram adicionados 0,3 mg kg⁻¹ do padrão as recuperações variaram entre 97,52 e 104,42%. Já para o teste de 0,5 mg kg⁻¹ (95,64 e 99,16%) ficaram inferiores ao observado no teste com 0,3 mg kg⁻¹, contudo, conforme, as Diretrizes da Associação de Químicos Analíticos (AOAC) para Requisitos de

Desempenho de Método Padrão (2016) e estudo realizado por González e Herrador (2006), quando a concentração do analito na amostra varia de 100 ppb a 10 ppm, a faixa de recuperação aceitável é de 80 a 110% e RSD máximo foi inferior a 11%. Considerando que os valores de recuperação (Tabela 15) variaram de 95,64 a 104,42 % e RSD inferior a 11%, o método proposto apresentou excelente acuracidade. Desse modo, os resultados confirmam a aplicabilidade do método para determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em banha suína.

5.8 Aplicação do Método Desenvolvido em Amostras de Banha Suína Comerciais

O método aplicado em amostras de banha suína de diferentes marcas comercializadas na cidade de Medianeira (Pr – Brasil), foi proposto para afirmar a eficácia do método a possíveis divergências na matriz da amostra.

Para os testes de recuperação foram separadas amostras com o analito (amostras teste) e preparadas amostras sem o analito para a pré- concentração, determinação e quantificação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni e os resultados estão representados na Tabela 16.

Na literatura consultada há escassez de análises de metais em banha suína para comparar com os resultados obtidos.

Os resultados de recuperação para os analitos trabalhados mantiveram-se entre 90,2 e 103,2% e os RSD entre 0,41 e 8,524 (Tabela 16). Esses resultados de recuperação são aceitáveis por se encontrar dentro da faixa de 80 a 110% e RSD máximo inferior a 11% (GONZÁLEZ; HERRADOR, 2006).

Entre os grupos de Fe, Ni e Mg, não houve diferença significativa na porcentagem de recuperação das banhas de A à F ($p > 0,05$), enquanto houve para o grupo Cu entre as banhas A, B e C e as banhas D, E e F ($p < 0,05$), assim como para o grupo Mn que a banha C difere das banhas A, B, E e F (Tabela 16).

Em relação a quantificação para o Mg as banhas A e D diferiram das demais ($p > 0,05$), já para Ni as banhas A, B e E estas possuem semelhança às banhas C e D ($p \leq 0,05$), contudo diferem significativamente da banha F ($p > 0,05$). Para Fe, as banhas

B, C e E assemelham-se as banhas A e F ($p \leq 0,05$), contudo difere significativamente da banha D ($p > 0,05$) (Tabela 16).

Os percentuais de quantificação dos analitos Cu e Mn ficaram abaixo do LD do procedimento analítico. O *Códex Alimentarius* (1999) permite até 0,4 ppm e o BRASIL (2021) 0,1 ppm para Cu. Desta forma, todas as amostras estavam de acordo com a literatura consultada. Apesar de o cobre ser um elemento essencial para a saúde, uma alta ingestão pode acarretar problemas adversos à saúde, como danos ao fígado e aos rins, além de possuir a característica de pró-oxidante (BARONE *et al.* 2020).

A RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005, dispõe sobre ingestão diária recomendada (IDR) para alguns minerais, dentre eles Cu e Mn que para adultos 0,9 e 2,3 mg, respectivamente, e para crianças 0,44 e 1,5 mg, respectivamente (BRASIL, 2005). Sendo assim, a banha não possui quantidades desses minerais que possam suprir as necessidades das pessoas, sendo necessárias obter de outro alimento.

Em relação ao Fe, metade das amostras apresentaram valor inferior ao limite de quantificação e àquelas que foram quantificadas apresentaram limite inferior ao máximo descrito no *Códex Alimentarius* (1999), que é de 1,5 ppm. Dietas deficientes em ferro podem causar anemia e prejudicar o desenvolvimento intelectual (DE SOUZA *et al.* 2021). No entanto, altas concentrações podem levar a danos nos tecidos, devido a formação dos radicais livres (BAKIRCIOGLU; KURTULUS; YURTSEVER, 2013).

Já para Ni, a única amostra que estava acima do limite de quantificação apresentou-se abaixo do limite estabelecido pelo padrão chinês ($1,0 \text{ ug g}^{-1}$) (CHINA, 2018).

O Fe, Cu e o Ni, são alguns dos precursores da oxidação lipídica, e que altera as características sensoriais (sabor, cor e odor) e nutricional das carnes, reduzindo a vida de prateleira e afetando a aceitação pelo consumidor (LIMA JÚNIOR *et al.*, 2013).

Quanto ao percentual de quantificação de Mg, as amostras que apresentaram os maiores valores foram a F, seguida da C e B. A presença deste elemento pode ser devido ao fato de que é utilizado como coadjuvante na forma de silicato de magnésio no processo de clarificação da banha. Segundo a RDC nº 466, de 10 de fevereiro de 2021, não se tem uma quantidade definida desse coadjuvante, sendo o limite máximo definido como “quantum satis” como ideal (BRASIL, 2021a), conforme descrito na

Tabela 16 – Resultados de recuperação e quantificação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni em amostras de banha suína, aplicando a metodologia RP-DLLME por F AAS (n=5)

| Recuperação | | | | | | | | | | |
|---------------|--------------------|---------|----------------------|---------|---------------------|---------|---------------------|---------|-----------------------|---------|
| Amostra | Cu | | Fe | | Mg | | Mn | | Ni | |
| | R (%)** | RSD (%) | R (%)** | RSD (%) | R (%)** | RSD (%) | R (%)** | RSD (%) | R (%)** | RSD (%) |
| Banha A | 99,5 ^a | 3,98 | 95,1 ^a | 0,41 | 103,4 ^a | 8,524 | 98,3 ^a | 7,318 | 97,6 ^a | 6,432 |
| Banha B | 96,5 ^a | 4,96 | 102,5 ^a | 4,46 | 101,5 ^a | 2,393 | 98,8 ^a | 6,676 | 95,5 ^a | 4,928 |
| Banha C | 97,7 ^a | 4,96 | 99,5 ^a | 6,80 | 101,2 ^a | 6,001 | 91,5 ^b | 5,252 | 95,2 ^a | 3,826 |
| Banha D | 90,2 ^b | 4,63 | 98,0 ^a | 7,47 | 100,6 ^a | 7,385 | 96,8 ^{a b} | 6,847 | 93,2 ^a | 6,429 |
| Banha E | 92,3 ^b | 5,07 | 103,2 ^a | 2,41 | 99,1 ^a | 5,453 | 98,6 ^a | 6,138 | 94,3 ^a | 3,943 |
| Banha F | 91,0 ^b | 4,81 | 95,4 ^a | 4,99 | 102,8 ^a | 5,696 | 97,9 ^a | 5,703 | 92,9 ^a | 3,417 |
| Quantificação | | | | | | | | | | |
| Amostra | Cu | | Fe | | Mg | | Mn | | Ni | |
| | mg k ⁻¹ | SD | mg k ⁻¹ | SD | mg k ⁻¹ | SD | mg k ⁻¹ | SD | mg k ⁻¹ | SD |
| Banha A | < LQ | - | ^{ab} 0,0151 | ± 0,001 | ^a 0,1730 | ± 0,024 | < LQ | - | ^a 0,0098* | ± 0,001 |
| Banha B | < LQ | - | ^a 0,0131* | ± 0,002 | ^c 0,4037 | ± 0,011 | < LQ | - | ^a 0,0099* | ± 0,001 |
| Banha C | < LQ | - | ^a 0,0131* | ± 0,005 | ^d 0,5284 | ± 0,053 | < LQ | - | ^{ab} 0,0111* | ± 0,001 |
| Banha D | < LQ | - | ^b 0,0180 | ± 0,002 | ^a 0,1712 | ± 0,010 | < LQ | - | ^{ab} 0,0109* | ± 0,001 |
| Banha E | < LQ | - | ^a 0,0127* | ± 0,001 | ^b 0,2904 | ± 0,073 | < LQ | - | ^a 0,0103* | ± 0,001 |
| Banha F | < LQ | - | ^{ab} 0,0175 | ± 0,001 | ^e 0,8172 | ± 0,049 | < LQ | - | ^b 0,0125 | ± 0,001 |
| LD método | 0,0032 | | 0,0041 | | 0,0012 | | 0,0051 | | 0,0037 | |
| LQ método | 0,0106 | | 0,0136 | | 0,0042 | | 0,0169 | | 0,0124 | |

Legenda: *: Analitos abaixo do LQ do método; **: Recuperação; As letras a, b representam o Teste de Tukey, com nível de confiança de 95%. O teste foi realizado para a recuperação e quantificação para os grupos de metais separadamente.

Fonte: A autora (2022)

norma, pode ocorrer a presença em quantidades tecnicamente inevitáveis desde que não representem riscos para a saúde humana.

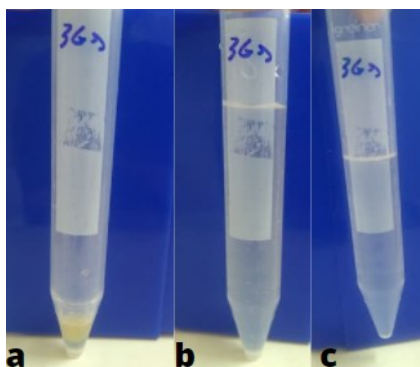
O magnésio está presente em mais de 300 reações metabólicas, desempenha papel fundamental no metabolismo da glicose, na homeostase glicêmica, na síntese de proteínas, dentre outros processos. A IDR desse mineral é de 310 a 320 mg e 400 a 420 mg para mulheres e homens adultos, respectivamente. (SEVERO *et al.*, 2015).

A presença dos metais quantificados pode ser decorrente de fatores como o solo utilizado para a produção da alimentação do animal (milho, soja), água, tratamento de clarificação da banha, das embalagens, dentro outros processos (BAKIRCIOGLU; KURTULUS; YURTSEVER, 2013) que devem ser controlados para evitar contaminação na cadeia e conseqüente chegar ao produto.

Porém, na realização da metodologia, há dificuldades na execução em banhas que não passaram pelo processo de clarificação eficiente, nesse caso foi observado para banhas inspecionadas pelo SIP/POA, pois vestígios de proteína na banha podem prejudicar a execução da leitura em F AAS. A banha que não foi eficientemente clarificada após o processo de RP-DLLME fica conforme a imagem “a” da Figura 11.

Ao aferir com HNO_3 0,5% (v/v) a amostra contaminada com proteína, a mesma fica coberta de resíduos (imagem “b” da Figura 11), dessa forma não é possível realizar a leitura em F AAS, pois pode danificar o equipamento. Para resolver esse impasse foi realizado a filtração das amostras com filtro de seringa de 0,22 μm de permeabilidade hidrofóbico. Após realizar a filtração, verificou-se que os resíduos presentes na amostra foram retirados conforme observados na imagem “c” da Figura 11, sendo assim possível realizar a leitura em F AAS.

Para projetos futuros, sugerimos realizar juntamente com o método de microextração proposto a realização da análise para verificar e quantificar a quantidade de proteínas presente na banha em estudo

Figura 11 – Amostra contaminada com proteína

Legenda: a – Amostra após centrifugação e retirada do excesso deixando apenas a parte sedimentada; b – Amostra “a” aferida o volume com HNO₃ 0,5% (v/v); c – Amostra “b” filtrada.
Fonte: A autora (2022)

5.9 Caracterização do Risco

O conhecimento em relação ao teor de metais em alimentos é de enorme importância para a avaliação de risco ao ser humano. Para os metais essenciais, é necessário à sua presença em quantidades vestigiais no organismo, pois desempenham um papel importante na manutenção de inúmeros processos fisiológicos (BARONE *et al.*, 2020). Para os metais Cu e Mn não foi possível realizar a caracterização do risco, pois os mesmos ficaram abaixo do limite de quantificação (Tabela 16).

5.9.1 Ingestão diária estimada (IDE) de metais a partir do consumo da banha

Em relação aos três grupos de metais avaliados (Fe, Mg e Ni), a inspeção dos dados de consumo (Tabela 17) indicou que o consumo de banha suína forneceu 1,93 a 2,79 % para crianças, 0,61 a 1,08 % para os adolescentes e 0,43 a 1,18 % para adultos do mineral Fe; em relação ao Mg para as crianças 0,87 a 4,22 %, adolescentes 0,28 a 1,63 % e para adultos 0,21 a 1,55 % em relação RDA (Dose diária recomendada). Esses resultados demonstram que para Fe e Mg a banha suína não consegue suprir toda a necessidade desses minerais, sendo necessário a ingestão por outras vias na alimentação.

Para o Ni, não há a RDA, sendo comparado ao UL (Nível de ingestão superior tolerável), conforme Tabela 16. Para esse mineral, os valores obtidos para as crianças

variaram entre 19,81 a 25,83 %, para adolescentes 6,48 a 8,97 % e para adultos 5,13 a 7,60 %. Esses resultados revelaram que a ingestão de Ni a partir da ingestão da banha foi elevada, principalmente para as crianças, contribuindo significativamente para maiores cuidados em relação ao consumo de alimentos que possam conter o mineral Ni para não exceder a quantidade tolerável.

Tabela 17 – Consumo dietético estimado para Fe, Mg e Ni (mg dia⁻¹) através do consumo de banha suína para população de crianças, adolescentes e adultos

| Crianças (5 a 12 anos) | | | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|----------|--------------------|----------|----------|--------------------|----------|----------|----------------------|
| Banha | Fe | | | Mg | | | Ni | | |
| | IDE* (m) | IDE* (f) | % RDA ** | IDE* (m) | IDE* (f) | % RDA ** | IDE* (m) | IDE* (f) | % UL*** |
| A | 0,19 | 0,18 | 2,34 (m); 2,29 (f) | 2,15 | 2,10 | 0,89 (m); 0,87 (f) | 0,12 | 0,12 | 20,25 (m); 19,81 (f) |
| B | 0,16 | 0,16 | 2,03 (m); 1,99 (f) | 5,01 | 4,90 | 2,09 (m); 2,04 (f) | 0,12 | 0,12 | 20,46 (m); 20,01 (f) |
| C | 0,16 | 0,16 | 2,03 (m); 1,99 (f) | 6,55 | 6,41 | 2,73 (m); 2,67 (f) | 0,14 | 0,13 | 22,94 (m); 22,44 (f) |
| D | 0,22 | 0,22 | 2,79 (m); 2,73 (f) | 2,12 | 2,08 | 0,88 (m); 0,87 (f) | 0,14 | 0,13 | 22,53 (m); 22,03 (f) |
| E | 0,16 | 0,15 | 1,97 (m); 1,93 (f) | 3,60 | 3,52 | 1,50 (m); 1,47 (f) | 0,13 | 0,12 | 21,29 (m); 20,82 (f) |
| F | 0,22 | 0,21 | 2,71 (m); 2,65 (f) | 10,13 | 9,91 | 4,22 (m); 4,13 (f) | 0,15 | 0,15 | 25,83 (m); 25,26 (f) |
| Adolescentes (13 a 17 anos) | | | | | | | | | |
| A | 0,10 | 0,11 | 0,91 (m); 0,72 (f) | 1,14 | 1,24 | 0,28 (m); 0,34 (f) | 0,06 | 0,07 | 6,48 (m); 7,03 (f) |
| B | 0,09 | 0,09 | 0,79 (m); 0,63 (f) | 2,67 | 2,90 | 0,65 (m); 0,80 (f) | 0,07 | 0,07 | 6,54 (m); 7,10 (f) |
| C | 0,09 | 0,09 | 0,79 (m); 0,63 (f) | 3,49 | 3,79 | 0,85 (m); 1,05 (f) | 0,07 | 0,08 | 7,34 (m); 7,96 (f) |
| D | 0,12 | 0,13 | 1,08 (m); 0,86 (f) | 1,13 | 1,23 | 0,28 (m); 0,34 (f) | 0,07 | 0,08 | 7,20 (m); 7,82 (f) |
| E | 0,08 | 0,09 | 0,76 (m); 0,61 (f) | 1,92 | 2,08 | 0,47 (m); 0,58 (f) | 0,07 | 0,07 | 6,81 (m); 7,39 (f) |
| F | 0,12 | 0,13 | 1,05 (m); 0,84 (f) | 5,40 | 5,86 | 1,32 (m); 1,63 (f) | 0,08 | 0,09 | 8,26 (m); 8,97 (f) |
| Adultos (18 a 75 ou mais anos) | | | | | | | | | |
| A | 0,08 | 0,09 | 0,99 (m); 0,51 (f) | 0,91 | 1,05 | 0,22 (m); 0,33 (f) | 0,05 | 0,06 | 5,13 (m); 5,96 (f) |
| B | 0,07 | 0,08 | 0,86 (m); 0,44 (f) | 2,11 | 2,45 | 0,50 (m); 0,77 (f) | 0,05 | 0,06 | 5,18 (m); 6,02 (f) |
| C | 0,07 | 0,08 | 0,86 (m); 0,44 (f) | 2,77 | 3,21 | 0,66 (m); 1,00 (f) | 0,06 | 0,07 | 5,81 (m); 6,75 (f) |
| D | 0,09 | 0,11 | 1,18 (m); 0,61 (f) | 0,90 | 1,04 | 0,21 (m); 0,33 (f) | 0,06 | 0,07 | 5,71 (m); 6,63 (f) |
| E | 0,07 | 0,08 | 0,83 (m); 0,43 (f) | 1,52 | 1,77 | 0,36 (m); 0,55 (f) | 0,05 | 0,06 | 5,39 (m); 6,26 (f) |
| F | 0,09 | 0,11 | 1,14 (m); 0,59 (f) | 4,28 | 4,97 | 1,02 (m); 1,55 (f) | 0,07 | 0,08 | 6,54 (m); 7,60 (f) |

Legenda: As letras (m) masculino e (f) feminino; IDE ingestão diária estimada (mg dia⁻¹); % RDA ** dose diária recomendada (DRI, 2006) (Fe, crianças 8 (m) e 8 mg dia⁻¹(f), adolescentes 11 (m) e 15 mg dia⁻¹ (f) e para adultos 8 (m) e 18 mg dia⁻¹(f). Mg, crianças 240 (m) e 240 mg dia⁻¹(f), adolescentes 410 (m) e 360 mg dia⁻¹ (f) e para adultos 420 (m) e 320 mg dia⁻¹(f); %UL*** Nível de ingestão superior tolerável (DRI, 2006) (Ni, criança 0,6 mg dia⁻¹, adolescente e adultos 1,0 mg dia⁻¹.

Fonte: A autora (2022).

5.9.2 Quociente de risco

A partir do cálculo do Quociente de Risco (QR), que avalia o risco potencial de efeitos adversos a saúde de substâncias tóxicas para indicar a avaliação a longo prazo, pode-se verificar que para os três grupos avaliados os resultados obtidos de QR foram inferiores $1,0 \times 10^{-5}$ (Tabela 18), esse valor mostra que é improvável que mesmo populações sensíveis aos minerais Fe, Mg e Ni sofram efeitos adversos à saúde. Com o QR realizou-se o cálculo do Índice de Perigo (IP) (Tabela 18), que expressa o valor acumulativo dos efeitos de diferentes misturas de metais, sendo que o valor obtido foi inferior a 1 para todos as banhas e para os três grupos de faixa etária avaliados.

No entanto, é importante ressaltar que foi empregada uma taxa de ingestão única para os três grupos avaliados ($0,37 \text{ g dia}^{-1}$), parâmetro que influencia significativamente nos resultados de uma avaliação de exposição. Neste trabalho, é importante ressaltar que mesmo os valores obtidos para QR de Ni para crianças, sejam resultados improváveis que as mesmas sofram algum efeito adverso a saúde a % UL, demonstra motivo de preocupação para as crianças (19,81 a 25,83 %) quando se podem estar expostos a esse metal por outras vias.

Contudo, ao avaliar a exposição, há uma série de incertezas que devem ser levadas em consideração como: técnicas (procedimentos de amostragem, preparação da amostra, as variações de consumo por regiões do mesmo país, embalagens das banhas) quanto os fatores biológicos (variabilidade natural na resposta de um indivíduo, biodisponibilidade dos minerais após a ingestão de alimentos, estado nutricional), que precisam ser reconhecidos, pois podem levar a vieses nos resultados (BARONE *et al.* 2020).

Tabela 18 – Quociente de perigo (QH) e índice de perigo (IP) dos metais Fe, Mg e Ni pelo consumo de banha suína para as crianças adolescentes e adultos

| Crianças (5 a 12 anos) | | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Banha | Fe | | Mg | | Ni | | IP (m) | IP (f) |
| | QR (m) | QR (f) | QR (m) | QR (f) | QR (m) | QR (f) | | |
| A | 1,87E-06 | 1,83E-06 | 2,15E-05 | 2,10E-05 | 1,22E-06 | 1,19E-06 | 2,45E-05 | 2,40E-05 |
| B | 1,62E-06 | 1,59E-06 | 5,01E-05 | 4,90E-05 | 1,23E-06 | 1,20E-06 | 5,29E-05 | 5,17E-05 |
| C | 1,62E-06 | 1,59E-06 | 6,55E-05 | 6,41E-05 | 1,38E-06 | 1,35E-06 | 6,85E-05 | 6,70E-05 |
| D | 2,23E-06 | 2,18E-06 | 2,12E-05 | 2,08E-05 | 1,35E-06 | 1,32E-06 | 2,48E-05 | 2,43E-05 |
| E | 1,57E-06 | 1,54E-06 | 3,60E-05 | 3,52E-05 | 1,28E-06 | 1,25E-06 | 3,89E-05 | 3,80E-05 |
| F | 2,17E-06 | 2,12E-06 | 1,01E-04 | 9,91E-05 | 1,55E-06 | 1,52E-06 | 1,05E-04 | 1,03E-04 |
| Adolescentes (13 a 17 anos) | | | | | | | | |
| A | 9,98E-07 | 1,08E-06 | 1,14E-05 | 1,24E-05 | 6,48E-07 | 7,03E-07 | 1,31E-05 | 1,42E-05 |
| B | 8,66E-07 | 9,40E-07 | 2,67E-05 | 2,90E-05 | 6,54E-07 | 7,10E-07 | 2,82E-05 | 3,06E-05 |
| C | 8,66E-07 | 9,40E-07 | 3,49E-05 | 3,79E-05 | 7,34E-07 | 7,96E-07 | 3,65E-05 | 3,96E-05 |
| D | 1,19E-06 | 1,29E-06 | 1,13E-05 | 1,23E-05 | 7,20E-07 | 7,82E-07 | 1,32E-05 | 1,44E-05 |
| E | 8,39E-07 | 9,11E-07 | 1,92E-05 | 2,08E-05 | 6,81E-07 | 7,39E-07 | 2,07E-05 | 2,25E-05 |
| F | 1,16E-06 | 1,26E-06 | 5,40E-05 | 5,86E-05 | 8,26E-07 | 8,97E-07 | 5,60E-05 | 6,08E-05 |
| Adultos (18 a 75 ou mais anos) | | | | | | | | |
| A | 7,90E-07 | 9,18E-07 | 9,06E-06 | 1,05E-05 | 5,13E-07 | 5,96E-07 | 1,04E-05 | 1,20E-05 |
| B | 6,86E-07 | 7,96E-07 | 2,11E-05 | 2,45E-05 | 5,18E-07 | 6,02E-07 | 2,23E-05 | 2,59E-05 |
| C | 6,86E-07 | 7,96E-07 | 2,77E-05 | 3,21E-05 | 5,81E-07 | 6,75E-07 | 2,89E-05 | 3,36E-05 |
| D | 9,42E-07 | 1,09E-06 | 8,96E-06 | 1,04E-05 | 5,71E-07 | 6,63E-07 | 1,05E-05 | 1,22E-05 |
| E | 6,65E-07 | 7,72E-07 | 1,52E-05 | 1,77E-05 | 5,39E-07 | 6,26E-07 | 1,64E-05 | 1,91E-05 |
| F | 9,16E-07 | 1,06E-06 | 4,28E-05 | 4,97E-05 | 6,54E-07 | 7,60E-07 | 4,43E-05 | 5,15E-05 |

Legenda: As letras (m) masculino e (f) feminino; QR quociente de perigo; IP índice de perigo.

Fonte: A autora (2022).

6 CONCLUSÕES

Neste estudo, uma nova metodologia para concentração e determinação de Cu, Fe, Mg, Mn e Ni foi desenvolvido a partir da metodologia RP-DLLME para a matriz banha suína, sendo possível a extração e pré-concentração em conjunto dos analitos, além de realização da determinação por F AAS.

O método RP-DLLME possui como vantagens ser simples e rápido para a preparação de amostras de banha suína para análise de metais. O procedimento, foi realizado utilizando solução contendo os solventes isopropanol (dispersor, 600 µL) e HNO₃ + HCl (1 mol) (extrator, 400 µL) que foi injetada (1 mL) em 5 g amostra com xileno pré aquecida a 75 °C e após no ultrassom por 10 min a 75 °C. Por seguinte, a amostra foi centrifugada (5 min a 6000 rpm), a fase oleosa da amostra foi então retirada parcialmente com auxílio de micropipeta e transferida a fase aquosa para frasco limpo, para posterior aferição com HNO₃ 0,5% (v/v) e determinação elementar por F AAS.

A metodologia resultou em baixos valores de LD e LQ, a exatidão (95 a 104%) e precisão inferior a 8%. Além de não precisar realizar ajustes da viscosidade, já que a calibração do equipamento foi realizada com soluções aquosas, dispersando o uso de solventes e padrões multiorganometálicos, o que eleva os custos da análise e as possibilidades de interferência. Nesse sentido, os bons resultados apresentados para a metodologia RP-DLLME mostraram viáveis para ser utilizado para amostra de banha suína.

Já a caracterização do risco, os valores estimados de ingestão mostraram que a ingestão de metais a partir da ingestão da banha suína estava dentro de seus limites de ingestão diária recomendada para Fe e Mg e dentro dos limites para ingestão tolerável para Ni, para todas as banhas e grupos testados. Para QR, os valores dos metais individualmente indicam que não há risco para a saúde dos grupos avaliados, assim como os seus efeitos combinados (IP) com valores inferiores a 1. O presente estudo indica a necessidade de monitorar a contaminação de Ni nesse produto de forma regular e em maior escala devido a presença de aproximadamente 26% do UL para as crianças.

REFERÊNCIAS

- ABPA. **Relatório Anual 2022**. Associação Brasileira de Proteína Animal, 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/relatorios/>>. Acesso em 15 de maio de 2022.
- AL-DALAHMEH, Y.; AL-SWAIDAN, H. M.; AL-GHAMDI, A. H. Combination of ultrasonication and induced emulsion breaking for eficiente extraction of wear metals from lubricating oils with inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry Determination. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 74, p. 71-80, 2019. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0956713511004713?via%3Dihub> . Acesso em: 15 de jan. de 2022.
- ALMEIDA, C.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. A novel dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) gas chromatography-mass spectrometry (GC–MS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer. **Food Control**, v. 25, n. 1, p. 380–388, maio 2012. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0956713511004713?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 de dez. 2021.
- AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**. v. 18. p. 745 - 761. 2014. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1319610311002201?via%3Dihub>. Acesso em: 15 de out. 2021.
- ANWAR, F. *et al.* Rapid determination of some trace metals in several oils and fats. **Grasas y Aceites**, v. 55, n. 2, p. 160–168, 30 jun. 2004. Disponível em: <https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/162/16>. Acesso em: 14 de out. 2021
- ARANDA, N. *et al.* Consumption of seafood and its estimated heavy metals are associated with lipid profile and oxidative lipid damage on healthy adults from a Spanish Mediterranean area: A cross-sectional study. **Environmental Research**, v. 156, p. 644–651, jul. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0013935116309835> . Acesso em: 20 de out. 2021.
- Associação Brasileira de Criadores de Suínos, ABCS. **Produção de suínos: Teoria e prática**. 1. ed. Brasília, DF, 2014. Disponível em: https://abcs.org.br/wp-content/uploads/2020/06/01_Livro_producao_bloq_reduce.pdf. Acesso em 20 de dez. 2021.
- Associação dos Químicos Analíticos Oficiais (AOAC); **Diretrizes para Requisitos de Desempenho do Método Padrão**; AOAC Official Methods of Analysis, 2016. Disponível em: http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf. Acesso em: 30 de out. de 2021.
- BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y. B.; YURTSEVER, S. Compararison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for

determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES. **Food Chemistry**, v. 138, p. 770 – 775, 2013. Disponível em: < <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814612016639>. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

BAKKALI, K.; MARTOS, N. R.; SOUHAIL, B.; BALLESTEROS, E. Determination of heavy metal content in vegetables and oils from Spain and Morocco by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Letters**, v. 45, n. 8, p. 907–919, 15 maio 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00032719.2012.655658>. Acesso em: 20 de out. 2021.

BARONE, G.; STORELLI, A.; QUAGLIA, N. C.; GAROFALO, R.; MELELEO, D.; BUSCO, A.; STORELLI, M. M. Trace metals in pork meat products marketed in Italy: Occurrence and health risk characterization. **Biological Trace Element Research**, v. 199, p. 2826 – 2836, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12011-020-02417-z>. Acesso em: 04 de jan. de 2022.

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos proteicos de origem animal. In: **Conferencia Apinco**, p. 1-14 2004. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/parametros_qualidade_gorduras_e_subprodutos_proteicos_de_origem_animal_000fyrf0t6n02wx5ok0pvo4k33hlhtkv.pdf. Acesso em: 28 de fev. de 2022.

BHATTARAI, A.; LIKOS, Eviana M.; WEYMAN, C. M.; SHUKLA, G. C. Regulation of cholesterol biosynthesis and lipid metabolism: A microRNA management perspective. **Steroids**, v. 173, p. 108878, set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2021.108878>. Acesso em: 15 de jan. de 2022.

BIPARVA, P.; EHSANI, M.; HADJMOHAMMADI, M. R. Dispersive liquid–liquid microextraction using extraction solvents lighter than water combined with high performance liquid chromatography for determination of synthetic antioxidants in fruit juice samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 27, n. 1, p. 87–94, ago. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.04.002>. Acesso em: 15 de jan. de 2022

BRASIL, Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC nº 88, de 26 de março de 2021, dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mar., 2021. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5780314/IN_88_2021_COMP.pdf/1847e3f8-60fa-4b5e-9bdd-757fe5f20ea4. Acesso em: 12 de dez. de 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005, dispõe sobre o regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de dez., 2000. Disponível em: <

https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html>
Acesso em: 28 de fev. de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos de Origem Animal, 2017**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1>> Acesso em: 21 de ago. de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC nº 466, de 10 de fevereiro de 2021, dispõe sobre os coadjuvantes autorizados para uso na produção de alimentos e ingredientes na função de solventes de extração e processamento**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 de fev., 2021a. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-466-de-10-de-fevereiro-de-2021-303765551> Acesso em: 12 de ago. de 2021.

CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri, São Paulo, Editora Manole, 2015. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788520448458/pageid/562>. Acesso em: 21 de agosto de 2021.

CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, M.; BURIN, C.; SILVEIRA, T. R.; CASAROTTO, G. Tamanho de amostra para estimação do coeficiente de correlação linear de Pearson entre caracteres de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p.12, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001200005> Acesso em: 28 de fev. de 2022.

CARRAPATOSO, I.; LOUREIRO, G.; LOUREIRO, C.; FARIA, E.; TODO-BOM, A.; CHIEIRA, Celso. Dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel. A propósito de dois casos clínicos. **Revista Portuguesa de Imunoalergologia**, p. 261-270, 2004. Disponível em: https://www.spaic.pt/client_files/rpia_artigos/dermatite-endogena-induzida-pela-ingestao-de-niquel-a-proposito-de-dois-casos-clinicos.pdf . Acesso em: 28 de fev. de 2022.

CHISVERT, A.; BENEDÉ, J. L.; PEIRÓ, M.; PEDRÓN, I.; SALVADOR, A. Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products by reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction followed by liquid chromatography. **Talanta**. v. 166, p. 81-86, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.01.037> Acesso em: 03 de jul. de 2021.

CLEMENTE, M.; STOCO, C.; MOCELIN, D.; FERNANDES, L. C. Ácidos graxos poliinsaturados n-3 e sua ação sobre o sistema imunitário de indivíduos participantes de atividade física. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 1, p. 18–27, 2007. Disponível em: <http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/40> . Acesso em: 28 de fev. de 2022.

COCCHI, M.; FAETI, V.; MANFREDINI, M.; MANZINI, D.; MARCHETTI, A.; SIGHINOLFI, S. Determination of Metal Concentration in Fat Supplements for Swine Nutrition by Atomic Absorption Spectroscopy. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**,

v. 88, n. 2, p. 393–398, 1 mar. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15859061/> . Acesso em: 28 de mar. de 2021.

CODEX ALIMENTÁRIUS. **Códex Standard for Named Animal Fats**, 1999. Disponível: <<http://www.fao.org/3/y2774e/y2774e05.htm>> Acesso em: 14 de agosto de 2021.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL 2017. **Guia de Métodos Analíticos**. p. 130 – 145, 2017.

COTÂRLET, M.; STANCIUC, N.; BAHRIM, G. E. *Yarrowia lipolytica* and *Lactobacillus paracasei* solid state fermentations as a valuable biotechnological tool for the pork lard and okaras biotransformation. **Microorganisms**, v.8, p. 1098, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081098>. Acesso em: 05 de jun. de 2021.

DAIRI, S.; GALEANO-DIAZ, T.; ACEDO-VALENZUELA, M. I.; GODOY-CABALLERO, M. P.; DAHMOUNE, F.; REMINI, H.; MADANI, K. Monitoring oxidative stability and phenolic compounds composition of myrtle-enriched extra virgin olive during heating treatment by flame, oven and microwave using reversed phase dispersive liquid–liquid microextraction (RP-DLLME)-HPLC-DAD-FLD method. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 303–314, mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.035>. Acesso em: 05 de jun. de 2021.

DANESHFAR, A.; KHEZELI, T.; LOTFI, H. J. Determination of cholesterol in food samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by HPLC–UV. **Journal of Chromatography B**. v. 877. p. 456-460. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.12.050> Acesso em: 05 de jun. de 2021.

DE SOUSA, C. F. **Otimização da Produção da Centralrest Lda. e validação de processos**, 2013. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Aveiro Portugal, 2013. Disponível em: <https://ria.ua.pt/handle/10773/11572?mode=full>. Acesso em: 05 de jun. de 2021.

DE SOUSA, C. M.; ARAUJO, H. da S.; FRUTUOSO, L. P.; SILVEIRA, M. C. A.; LINHARES, G. L.; SOUZA, M. N. A.; FARIAS, T. B. C. Insuficiência cardíaca associada a anemia: Uso de ferro endovenoso comparado ao placebo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17732>. Acesso em: 08 de out. de 2021.

DEQ, Chemical update worksheet, Michigan, set., 2015. Disponível em: < https://www.michigan.gov/documents/deq/deq-rrd-chem-MagnesiumDatasheet_527861_7.pdf> Acesso em 1 de março de 2022.

DOHNALOVA, L.; BUCEK, P.; VOBORNIK, P.; DOHNAL, V. Determination of nickel in hydrogenated fats and selected chocolate bars in Czech Republic. **Food Chemistry**, v. 217, p. 456–460, fev. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814616313061>. Acesso em: 03 de jul. de 2021.

DRI, Dietary Reference Intake: The essential guide to nutrient requirements. Institute of Medicine. **The National Academies Press**, Washington, p. 1344, 2006. Disponível em: < <https://www.nap.edu/download/11537> > Acesso em 01 de março de 2022.

ELGELMANN, J. L.; PERES, P., P.; IGANSI, A. V.; MONTE, M. L.; POHNDORF, R. S.; CADAVAL JR, T. R. S.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Structured lipids of swine lard and oils from by products of skipjack tuna and of common carp. **Food Processing and Preservation**, v. 45, 2020. Disponível em: <https://ifst-onlinelibrary-wiley.ez48.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1111/jfpp.15154>. Acesso em: 03 de jul. de 2021.

EPA dos EUA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) (2021). **Tabela de concentração baseada em risco**; Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos: Filadélfia, PA, EUA; Washington, DC, EUA, 2021. Disponível em: <https://semspub.epa.gov/work/HQ/401669.pdf>. Acesso em 28 de fev. de 2022.

ESKIN, M. **Bioquímica de Alimentos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. FARAHANI, M. D.; SHEMIRANI, F. Mixed hemi-micelle solid-phase extraction based on modified magnetic nanoparticles for extraction of cadmium and lead from food and water samples. **Journal of AOAC International**, v. 97, n. 6, p. 1682–1688, 1 nov. 2014. Disponível em: <https://academic-oup-com.ez48.periodicos.capes.gov.br/jaoac/article/97/6/1682/5654787>. Acesso em 28 de fev. de 2022

FARAJZADEH, M. A.; AFSHAR MOGADDAM, M. R. Acid–base reaction-based dispersive liquid–liquid microextraction method for extraction of three classes of pesticides from fruit juice samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1431, p. 8–16, jan. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967315018579?via%3Dihub>. Acesso em 28 de ago. de 2021.

FARIÑA, L.; BOITO, E.; CARRAU, F.; DELLACASSA, E. Determination of volatile phenols in red wines by dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography–mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1157, n. 1–2, p. 46–50, jul. 2007. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967307008552>. Acesso em 28 de ago. de 2021

FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; CANALS, A. Rapid determination of hydrophilic phenols in olive oil by vortex-assisted reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and screen-printed carbon electrodes. **Talanta**, v. 181, p. 44-51, 2018. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914017312778> Acesso em 28 de ago. de 2021

FIB. Os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa em alimentos. **Food Ingredients Brasil**, v. 29, p. 38-45, 2014. Disponível em: https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060396904001464897555.pdf. Acesso em: 30 de outubro de 2021

FROEHLICH, G. “Do porco não sobra nem o grito!”: classificações e práticas, saberes e sabores no abate doméstico de porcos. Dissertação (Mestrado Ciência Sociais). Universidade Federal de Santa Maria. p. 109, 1 jan. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/6224>. Acesso em 28 de ago. de 2021

GHASEMZADEH-MOHAMMADI, V. *et al.* Microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. **Journal of Chromatography A**, v. 1237, p. 30–36, maio 2012. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967312003949?via%3Dihub>. Acesso em 28 de ago. de 2021

GOETHE, J. W. V. **Os anos de aprendizado de Wilhelm Meister**. Editora 34, São Paulo, 2006.

GOMES, G. C. C. Isopropanol (CAS 67-63-0). **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, 2016. Disponível em: <<http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v8n6a24.pdf>>. Acesso em 10 de nov. 2021.

GONZALÉZ, A. G.; HERRADOR, M. Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 227-238. 2006. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0165993607000118?via%3Dihub>. Acesso em 28 de ago. de 2021

HARTWIG, C. A.; PEREIRA, R. M.; NOVO, D. L. R.; OLIVEIRA, D. T. T.; MESKO, M. F. Green and efficient sample preparation method for the determination of catalyst residues in margarine by ICP-MS. **Talanta**, v. 174, p. 394–400, nov. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914017306690>. Acesso em 28 de ago. de 2021

HASHEMI, P.; RAEISI, F.; GHIASVAND, A. R.; RAHIMI, A. Reversed-phase dispersive liquid–liquid microextraction with central composite design optimization for preconcentration and HPLC determination of oleuropein. **Talanta**. v. 80, p. 1926 - 1931, 2010. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914009008406>. Acesso em 28 de ago. de 2021

INMETRO. DOQ-CGCRE-008. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. INMETRO, v. 8, Rio de Janeiro, abr., 2020. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidog/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_08.pdf . Acesso em: 15 de novembro de 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (IAL). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia - 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz (IAL), 2008. Disponível em:

<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>
Acesso em: 28 de ago. de 2021

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE – **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009** – POF. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv47307.pdf> Acesso 28 de fevereiro de 2022.

KALSCHNE, D. L.; CANAN, C.; BEATO, M. O.; LEITE, O. D.; FLORES, E. L. M. A new and feasible analytical method using reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) for further determination of Nickel in hydrogenated vegetable fat. **Talanta**, v. 208, p. 120409, fev. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914019310422?via%3Dihub>. Acesso: em 05 de jun. de 2021.

KALSCHNE, D. L.; CANAN, C.; BARIN, J. S.; PICOLOTO, R. S.; LEITE, O. D.; FLORES, E. L. M. Reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction (RP-DLLME) as green sample preparation method for multielement determination in fish oil by ICP-OES. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 230-237, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-019-01606-4> Acesso: em 05 de jun. de 2021.

KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras**. 1. ed. Piracicaba. 2008
LANTMANN, T. L.; SIMONETTI, T.; KINDLEIN, L.; MELLO, J. R. B. Resistência antimicrobiana da *Salmonella spp.* em suínos: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n.2, 2022. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/235305/001136624.pdf?sequence=1#:~:text=Tais%20dados%20demonstram%20que%20a,65%2C21%25%20dos%20isolados>. Acesso em: 28 de mar. de 2022

LARDINOIS, C. K. Time for a new approach to reducing cardiovascular disease: is limitation on saturated fat and meat consumption still justified. **The American Journal of Medicine**, v. 133, n. 9, p. 1009–1010, set. 2020. Disponível em: [https://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(20\)30351-X/fulltext](https://www.amjmed.com/article/S0002-9343(20)30351-X/fulltext). Acesso em: 28 de mar. de 2022.

LIMA JÚNIOR, D. M.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; MORENO, G. M. B. Oxidação lipídica e qualidade da carne ovina. **Acta Veterinária Brasília**, v. 7, n.1, p. 14-28, 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/acta/article/view/3119#:~:text=A%20oxida%C3%A7%C3%A3o%20dos%20lip%C3%ADdeos%20est%C3%A1,met%C3%A1licos%20como%20ferro%20n%C3%A3o%20heme>. Acesso em: 15 de novembro de 2021.

LIMA, R. N.; LEITE, J. H. G. M.; JUNIOR, J. G. B. G.; MOURA, A., K. B.; LIMA, A. F.; LIMA, P. O. Importância do ácido linoleico conjugado (CLA) em produtos de origem animal. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 4, p. 1307-1331, 2018. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/5362#:~:text=Os%20benef%C3%ADcios%20biol%C3%B3gicos%20do%20CLA,epiderme%2C%20tecido%20mam%C3%A1rio%20e%20gastrintestinal>. Acesso em: 15 de novembro de

2021.

LIU, H.; WANG, D.; WAN, K.; ZHANG, J.; YUAN, Z.; YU, C.; YANG, J.; ZOU, L.. Simultaneous quantification of fat-soluble vitamins A, 25-hydroxylvitamin D and vitamin E in plasma from children using liquid chromatography coupled to Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 1177, p. 122795, jul. 2021. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1570023221002762?via%3Dihub>. Acesso em: 15 de fev. de 2022.

LIU, S.; XIE, Q.; CHEN, J.; SUN, J.; HE, H.; ZHANG, X. Development and comparison of two dispersive liquid-liquid microextraction techniques coupled to high performance liquid chromatography for the rapid analysis of bisphenol A in edible oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1295, p. 16-23, 2013. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967313006651?via%3Dihub>. Acesso em: 15 de fev. de 2022.

ŁODYGA-CHRUŚCIŃSKA, E.; SYKUŁA-ZAJĄC, A.; OLEJNIK, D. Determination of nickel in Polish brands of margarines. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 5, n. 4, p. 251–254, dez. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24786404/>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; BRICEÑO, M.; VICENTE-MARTÍNEZ, Y.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.. Rapid screening of water soluble arsenic species in edible oils using dispersive liquid-liquid microextraction. **Food Chemistry**, v. 167, p. 396–401, jan. 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814614010206>. Acesso em: 15 de ago. de 2021.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; VICENTE-MARTÍNEZ, Y.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid-liquid microextraction. **Talanta**, v. 124, p. 106–110, jun. 2014. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914014000897>. Acesso em: 15 de ago. de 2021.

LOURENÇO, E. C. **Desenvolvimento de método empregando microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de Na, K, Ca e Mg em Biodiesel**. 2016. 71 p. Dissertação (Mestre Tecnologias Ambientais). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2935>. Acesso em: 07 de dez. de 2020.

LOURENÇO, E. C.; EYNG, E.; BITTENCOURT, P. R. S.; DUARTE, F. A.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, É. L. M. A simple, rapid and low cost reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of Na, K, Ca and Mg in biodiesel. **Talanta**, v. 199, p. 1–7, jul. 2019. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914019301912>. Acesso em: 15 de ago. de 2021.

MARIKKAR, J. M. N.; YANTY, N. A. M. Effect of Chemical and enzymatic modifications on the identity characteristics of lard: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 17, p. 321 – 330, 2014. Disponível em: <https://www-tandfonline.ez48.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1080/10942912.2011.631251>. Acesso em: 15 de fev. de 2022.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761–770, dez. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/RrbqXWrwyS3JHJMhRCQwJgv/?lang=pt>. Acesso em: 07 de dez. de 2020.

MARTÍN-CALERO, A.; PINO, V.; AFONSO, A. M. Ionic liquids as a tool for determination of metals and organic compounds in food analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 1598–1619, nov. 2011. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S016599361100241X?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

MOEMA, D.; NINDI, M. M.; DUBE, S. Development of a dispersive liquid–liquid microextraction method for the determination of fluoroquinolones in chicken liver by high performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 730, p. 80–86, jun. 2012. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0003267011015595>. Acesso em: 04 de jan. de 2022.

MULLER, E. L.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; KORN, M.G. A.; FLORES, É. M. M. Microwave-assisted samples preparation for trace element determination. **Elsevier**. p. 100 - 133. 2014. Disponível em: <https://pubs-acsc-org.ez48.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1021/ac0497712>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

NASERI, M. Rapid determination of lead in water samples by dispersive liquid–liquid microextraction coupled with electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 75, n. 1, p. 56–62, 15 mar. 2008. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914007007163>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

NESPOLO, C. R.; OLIVEIRA, F. A. DE; OLIVEIRA, F. C. **Práticas em Tecnologia de Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Artmed, 2015.

Níveis máximos da China para contaminantes em alimentos Disponível em < <https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/report/downloadreportbyfilename?filename=China%20Releases%20the%20Standard%20for%20Levels%20of%20Contaminant%20in%20Foods%20Beijing%20China%20-%20Peoples%20Republic%20of%205-9-2018.pdf>>. Acesso em 13 de fevereiro de 2022.

OLIVEIRA, A. S.; HONÓRIO, L.; MATOS, M. L.; SOUZA, J. B. G. Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de clorpirifós em amostras aquosas empregando a microextração líquido- líquido dispersiva seguida por HPLC-UV.

Química Nova, v.43, n. 1, p. 9-15, 2020. Disponível em:

<http://static.sites.sbg.org.br/quimicanova.sbg.org.br/pdf/AR20190191.pdf>. Acesso em: 04 de jan. de 2022.

PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: Uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2190-2193, 2008. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/q8YLSmjKpcvVhrgDDbCZKrB/?lang=pt>. Acesso em 15 de dez. 2021.

PEREIRA, F. M.; BRUM, D. M.; LEPRI, F. G.; CASSELLA, R. J. Extraction induced by emulsion breaking as a tool for Ca and Mg determination in biodiesel by fast sequential flame atomic absorption spectrometry (FS-F AAS) USING Co as internal stand. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 172 -177, 2014. Disponível em:

<https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X14001295?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

PEREIRA, F. M.; ZIMPECK, R. C.; BRUM, D. M.; CASSELLA, R. J. Novel extraction induced by emulsion breaking as tool for the determination of trace concentrations of Cu, Mn and Ni in biodiesel by electrothermal atomic absorption spectrometry.

Talanta, v. 117, p. 32-38, 2013. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0039914013007005>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

PRIEGO-CAPOTE, F.; CASTRO, L. M. D. Analytical uses of ultrasound II. Detectors and detection techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, p. 10-11, 2004.

Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0165993604030365?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

RADIN, J. C.; CORAZZA, G. **Dicionário histórico-social do Oeste catarinense**.

Editora UFFS, 2018. Disponível em:

<https://www.uffs.edu.br/institucional/reitoria/editora-uffs/dicionario-historico-social-do-oeste- Catarinense#:~:text=O%20Dicion%C3%A1rio%20hist%C3%B3rico%20social%20do,s%C3%A9culo%20XIX%20at%C3%A9%20a%20atualidade.> Acesso em: 04 de nov. de 2021.

REIS, P. K. **Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa assistida por vortex para determinação de Fe, Mg e Zn em óleos vegetais por espectrometria de absorção atômica**. 2018. 74 p. Dissertação (Mestre em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2018. Disponível em:

http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/3125/1/CT_DAQBI_M_Reis%2C%20P_riscila%20Karachinski%20dos_2018.pdf Acesso em: 03 de mar. de 2022.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M. M.; AGHAEI, E.; FARDIN, A.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, maio 2006.

Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967306005280>
Acesso em: 04 de jun. de 2021.

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M. Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2342–2357, abr. 2010. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967309017750?via%3Dihub> Acesso em: 04 de nov. de 2021.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2. ed. Blucher, São Paulo, 2007.

RODRIGUES, M. L. K.; FORMOSO, M. L. L. Exposure to selected heavy metals through water ingestion in an area under the influence of tanneries. *Environmental Geochemistry and Health*, v. 27, p. 397 – 408, 2005. Disponível em: <https://link-springer-com.ez48.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007/s10653-004-7980-2.pdf>. Acesso em: 04 de jan. de 2022.

SANTOS, C. R. D. **Fracionamento da banha suína para alteração da viscosidade**. Graduação (Tecnologia Em Alimentos) p. 49, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, 2019. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/13282> Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SEVERO, J. S.; MORAIS, J. B. S.; FREITAS, T.E. C. de; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S. de; POLTRONIERI, F.; MARREIRO, D.do N. Aspectos metabólicos e nutricionais do magnésio. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 35, p. 67-74, 2015. Disponível em: <https://revista.nutricion.org/PDF/352severo.pdf>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SILVA, K. R. N. **Avaliação da Microextração líquido-líquido dispersiva reversa como estratégia para o preparo de amostra de biodiesel para determinação de Ca, Mg, Na e K por espectrometria atômica**. Dissertação (Mestre em química), 89 f. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/1380>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SILVA, P. S. DA. **Bioquímica dos alimentos**. Porto Alegre: **Sagah Educação S.A**, 2018.

SILVA, R. C.; GIOIELLI, L. A. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos a partir de banha e óleo de soja. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, jun. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/twwvLLYYstvgXpTxxMFPRNG/abstract/?lang=pt#:~:text=As%20intera%C3%A7%C3%B5es%20entre%20banha%20e,dos%20lip%C3%ADdios%20do%20leite%20humano.> Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SOROURADDIN, S. M.; FARAJZADEH, M. A.; OKHRAVI, T. Application of deep eutectic solvent as a disperser in reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of Cd (II) and Zn (II) ions from oil samples. **Journal**

of **Food Composition and Analysis**, v. 93, p. 103590, out. 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0889157520304701?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SOUZA, J. P.; CERVEIRA, C.; MICELI, T. M.; MORAES, D. P.; MESKO, M. F. Evaluation of sample preparation methods for cereal digestion for subsequent As, Cd, Hg and Pb determination by AAS-based techniques. **Food Chemistry**. v. 321. 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S030881462030577X>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SOUZA, N. F. **Avaliação da estabilidade de óleos e gorduras**. Graduação (Engenharia de Alimentos), p. 56. Universidade Federal de Mato Grosso, 2018. Disponível em: <https://bdm.ufmt.br/handle/1/264#:~:text=A%20partir%20das%20an%C3%A1lises%20realizadas,resultado%20moderado%20na%20deteriora%C3%A7%C3%A3o%20oxidativa>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SRINIVASAN, D.; KIRK, P. **Química de Alimentos de Fennema**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

STEVENS, S. L. Fat-Soluble Vitamins. **Nursing Clinics of North America**, v. 56, n. 1, p. 33–45, mar. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33549284/>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SUREK, D.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S. G.; DAHLKE, F.; KRABBE, E. L. Ácido linoleico conjugado, na nutrição de suínos, sobre desempenho zootécnico, características de carcaça e rendimento de cortes. **Ciência Rural**, v. 41, n.12, p. 2190-2195, Santa Maria, dez., 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/McNMsj6pqchsVVgTqdxnHrF/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

SZŁYK, E.; SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A. Determination of Cadmium, Lead, and Copper in Margarines and Butters by Galvanostatic Stripping Chronopotentiometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4064–4071, 1 jun. 2004. Disponível em: <https://pubs-acsc-org.ez48.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1021/jf040032w>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

TAKASHIMA, G. M. S. **Microextração líquido-líquido dispersive em fase reversa para a determinação de cobre, cromo e níquel em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. Dissertação (Mestrado em química analítica), 69 f. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/190884>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

THANONKAEW, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; DECKER, E. A. The effect of metal ions on lipid oxidation, colour and physicochemical properties of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) subjected to multiple freeze–thaw cycles. **Food**

Chemistry, v. 95, n. 4, p. 591–599, abr. 2006. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814605001263?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

TSAI, W.; CHUANG, H.; CHEN, H.; HUANG, J.; CHEN, H.; CHENG, S.; HUANG, T. Application of dispersive liquid–liquid microextraction and dispersive micro-solid-phase extraction for the determination of quinolones in swine muscle by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. **Analytica Chimica Acta**. v. 656. p. 56-62. 2009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0003267009013592>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. Disponível em: <<https://www.solufition.com.br/tabela-nutricional/banha-de-porco-usda>>. Acesso em: 11 ago. 2021.

WEN, X.; YANG, Q.; YAN, Z.; DENG, Q. Determination of cadmium and copper in water and food samples by dispersive liquid–liquid microextraction combined with UV–vis spectrophotometry. **Microchemical Journal**. v. 97. p. 249-254. 2011. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X10001992?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

YANG, Q; CHEN, B; HE, M; HU, B. Sensitive determination of seven triazine herbicide in honey, tomato and environmental water samples by hollow fiber-based liquid-liquid-liquid microextraction combined with sweeping micellar electrokinetic capillary chromatography. **Talanta**, v. 186, p. 88–96, ago. 2018. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S003991401830359X>. Acesso em: 04 de nov. de 2021.

ZHAO, X.; HE, Y.; CHEN, J.; ZHANG, J.; CHEN, L.; WANG, B.; WU, C.; YUAN, Y. Identification and direct determination of fatty acids profile in oleic acid by HPLC-CAD and MS-IT-TOF. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 204, p. 114238, set. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708521003496> Acesso em: 04 de nov. de 2021.