

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

NICOLI ANDRESSA CARBONI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO EMPREGANDO RP-DLLME NO
PREPARO DE AMOSTRAS DE BANHA SUÍNA PARA POSTERIOR
DETERMINAÇÃO DE Cd E Pb POR F AAS**

MEDIANEIRA

2021

NICOLI ANDRESSA CARBONI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO EMPREGANDO RP-DLLME NO
PREPARO DE AMOSTRAS DE BANHA SUÍNA PARA POSTERIOR
DETERMINAÇÃO DE Cd E Pb POR F AAS.**

**Development of an analytical method using RP-DLLME in the preparation of
swine lard samples for the further determination of Cd and Pb by F AAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Eder Lisandro De Moraes Flores
Coorientador: Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite

MEDIANEIRA

2021



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

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não 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.

NICOLI ANDRESSA CARBONI

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO EMPREGANDO RP-DLLME NO
PREPARO DE AMOSTRAS DE BANHA SUÍNA PARA POSTERIOR
DETERMINAÇÃO DE Cd E Pb POR F AAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 10 de dezembro de 2021.

Prof.º Eder Lisandro de Moraes Flores
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.º Oldair Donizeti Leite
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.ª Cristiane Canan
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.º Paulo Rodrigo Stival Bittencourt
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

MEDIANEIRA

2021

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ter me dado forças e coragem para chegara até aqui.
A minha família, pelos conselhos e por terem acreditado em mim, eu vos amo infinitamente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser minha âncora nos momentos de felicidade e também de tribulações.

Aos meus pais Carla e Gilberto, por sempre me incentivarem a estudar e nunca desistir, obrigada por me proporcionar condições para que eu pudesse conquistar a graduação. Externo meus agradecimentos também a minha madrasta Tatiana e meu padrasto Jonas, que também sempre estiveram juntos nesta caminhada.

Ao meu esposo Maykon, por todo reconhecimento e auxílio prestado nestes anos, você é minha admiração diária de conhecimento e dedicação.

Aos meus irmãos Madalena, Nicolas e Nathan, obrigada pelos sorrisos e compreensão dos momentos em que me dediquei aos estudos e deixei-vos de lado quando pediam atenção, prometo recompensá-los.

Aos demais familiares, avós, tios, primos, sogros e cunhados, que meu agradecimento chegue a vocês que também compartilharam desta trajetória

Não poderia deixar de agradecer a quem me auxiliou e direcionou para a execução deste trabalho, obrigada Prof^o Dr. Éder Flores e Prof^o Dr. Oldair Leite, agradeço a cada puxão de orelha, esse mérito não é só meu, mas de vocês também! Lhes admiro muito.

Também aos colegas do laboratório e grupo de pesquisa LAITEC, que por inúmeras vezes me auxiliaram em direcionamentos e opiniões.

Por fim, mas não menos importante gostaria de agradecer aos meus colegas de faculdade não só do curso de Licenciatura em Química, mas aqueles que também buscavam nesta mesma instituição os seus sonhos profissionais, e que nos tornamos cúmplices de uma verdadeira amizade aos meus colegas, Márcia Adams, Kelli Nunes, Deise Dorval, Gabriel Costa, Nájila M. Pauli, Jândeysel Pauli, Andressa Elisa Paulus, Eduarda Ben, Angélica Facchi Mahl, Fabrício Lenhardt (*in memoriam*), Aleandro Facchi Mahl, Yuri Facchi de Lima, Murilo Oliveira Beato e Lenine Demarchi, vocês tornaram as noites de estudo mais animada tornando essa jornada mais leve.

Ainda em tempo agradeço aos professores do curso de Licenciatura em Química por todo conhecimento depositado em mim e também a nossa grande universidade UTFPR campi de Medianeira/Pr, por todo acolhimento existente.

RESUMO

A gordura suína popularmente chamada de banha é provinda de fonte animal, geralmente sólida a temperatura ambiente. Este produto além de ser empregada na fabricação de nutrientes animais, está presente na culinária e alimentação de milhões de pessoas. A presença de metais pesados pode estar contida neste material pelo fato do animal absorver o mesmo em seu organismo sendo encontrado em maiores concentrações nos órgãos e vísceras. O método proposto neste trabalho compreende a determinação de Cd e Pb, conferindo um método com características simples, de rápida execução e baixos índices de consumo e rejeitos provindo do uso de reagentes tornando um método menos tóxico de execução. Algumas literaturas foram seguidas como parâmetros para a possibilidade de usar a microextração dispersiva líquido - líquido em fase reversa (RP-DLLME) para gorduras sólidas, como a banha. Este trabalho propõe um método otimizado de preparo de amostras empregando a RP – DLLME para a posterior determinação em Cd e Pb por espectrometria de absorção em chama (F AAS). Como resultado do método de determinação, o procedimento foi ajustado utilizando 5 g de amostra, aquecimento em banho maria a 70 °C por 20 min, adição de 5 ml de solvente xileno para evitar a solidificação durante o processo, posterior injeção da solução extratora, contendo 70% de agente dispersor (n-propanol) e 30% de agente extrator (HNO_3 1,0 mol L⁻¹, v.v⁻¹), seguido da agitação mecânica em vórtex por 1 min e centrifugação por 10 min a 6000 RPM e 25 °C. A espectrometria de absorção em chama (F AAS) é condicionada detecção de inúmeros metais em concentrações de nível traço também devido a sua simplicidade, velocidade e baixo custo.

Palavras-chave: gordura suína; RP-DLLME; microextração; preparo de amostra.

ABSTRACT

The swine fat popularly called lard comes from an animal source, usually solid at room temperature. This product, in addition to being used in the manufacture of animal nutrients, is present in the cooking and feeding of millions of people. The presence of heavy metals may be contained in this material because the animal absorbs it in its body, being found in higher concentrations in organs and viscera. The method proposed in this work comprises the determination of Cd and Pb, providing a method with simple characteristics, fast execution and low consumption and waste rates, resulting from the use of reagents, making it a less toxic method of execution. Some literatures were followed as parameters for the possibility of using reversed-phase liquid-liquid dispersive microextraction (RP-DLLME) for solid fats such as lard. This work proposes an optimized method of sample preparation using RP – DLLME for further determination in Cd and Pb by flame absorption spectrometry (F AAS). As a result of the determination method, the procedure was adjusted using 5 g of sample, heating in a water bath at 70 °C for 20 min, addition of 5 ml of xylene solvent to avoid solidification during the process, subsequent injection of the extracting solution, containing 70% dispersing agent (n-propanol) and 30% extracting agent (HNO₃ 1.0 mol L⁻¹, v.v⁻¹), followed by mechanical vortexing for 1 min and centrifugation for 10 min at 6000 RPM and 25°C. Flame absorption spectrometry (F AAS) is conditioned to detection of numerous metals at trace level concentrations also due to its simplicity, speed and low cost.

Keywords: porcine fat; RP-DLLME; microextraction; sample preparation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO.....	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Gordura Suína	16
3.1.1 Processo de fabricação de gordura suína	17
3.1.2 Principais degradantes da gordura suína	18
3.1.3 Limites de concentração de metais pesados e efeitos tóxicos ao ser humano.	19
3.2 Métodos De Preparo De Amostras	21
3.2.1 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).....	22
3.2.2 Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME).....	23
3.2.3 Espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS)	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1 Instrumentação	26
4.2 Reagentes, Materiais E Solução De Referência	26
4.3 Amostra	28
4.4 Determinação Dos Parâmetros De Influência Para Rp-Dllme	28
4.4.1 Procedimento de descontaminação dos recipientes	28
4.4.2 Procedimento de adição de analitos para ensaios de recuperação.....	29
4.4.3 Avaliação do solvente dispersor	29
4.4.4 Influência da concentração do solvente extrator	30
4.4.5 Influência volume de solução extratora.....	30
4.4.6 Influência do tempo de agitação	30
4.4.7 Influência da agitação empregando o banho de ultrassom.....	30
4.4.8 Avaliação do tempo de centrifugação	31
4.5 Procedimento De Rp-Dllme Proposto Para Cd E Pb Em Gordura Suína ...	31
4.6 Cálculos Dos Ensaios De Recuperação De Analito	32

4.7 Condições Para A Determinação De Cd E Pb Por Espectrometria De Absorção Atômica Com Chama (FAAS)	33
4.7.1 Calibração do equipamento	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Avaliação Dos Parâmetros De Extração Empregando RP-DLLME	34
5.1.1 Avaliação dos solventes dispersores	34
5.1.2 Concentração de HNO ₃ na fase extratora.....	36
5.1.3 Proporção de n-propanol na fase extratora	37
5.1.4 Volume da solução dispersor/extrator.....	38
5.1.5 Tempo de agitação no vortex.....	40
5.1.6 Tempo de banho de ultrassom	41
5.1.7 Tempo de centrifugação	42
5.2 Condições Para Aplicação De RP-DLLME Em Gordura Suína	44
5.3 Resultados Encontrados	46
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A gordura suína é amplamente empregada em segmentos alimentícios tanto humano quanto animal, como também na fabricação de biodiesel, produto este que contribui com a redução de impactos ambientais, no sentido de reutilizar e destinar resíduos que seriam descartados incorretamente. Segundo a Embrapa, são produzidas anualmente 355 mil toneladas de graxa suína, proveniente de abatedouros e destinada principalmente à produção de ração animal.

Neste viés, a gordura suína também faz parte da nutrição humana, a qual vem sendo empregada em grande escala como uma alternativa para o consumidor. Porém devido a “numerosos fatores associados a condições ambientais, às práticas tecnológicas e ao uso indiscriminado de produtos químicos em tratamentos culturais e na produção animal, tem provocado o aparecimento de elementos químicos em alimentos, a exemplo do chumbo e cádmio (FLYNN, 1992).

A contaminação pode ser provinda da alimentação apresentada para os animais, como a utilização de rejeitos industriais que incluem em sua composição metais como cádmio e chumbo como fertilizante de pastagens e plantações agrícolas. O que implica também no fornecimento de uma alimentação por ração e suplemento animal de baixa qualidade a qual será consumida e absorvida pelo animal, sendo o ser humano como consumidor final do produto.

O produto final precisa ser analisado para garantir que contaminantes indesejados estejam dentro do esperado pela legislação de forma natural, ou que tenha sido introduzido do recipiente do reagente, tubulações ou recipiente armazenado (BARELA *et al.*, 2017)

Estes alimentos em especial a gordura suína mesmo que contendo concentrações de metais pesados em nível traço, possuem um efeito acumulativo nos órgãos humanos o que pode ocasionar danos para a saúde.

Para determinar e quantificar os elementos em nível traço “busca-se aumentar a sensibilidade, seletividade, precisão e exatidão, além de evitar interferências e o uso de solventes tóxicos” (WENDT, 2021). Diante disto, as amostras devem ser analisadas via espectrômetro utilizando um método para o seu preparo. Dentre as existentes a mais utilizada para tratamento de amostras de origem orgânica é a digestão assistida por micro-ondas. Esta, porém possui alguns pontos negativos como

“à digestão dos combustíveis podem ser apontados como demorado, eventual ineficiência da digestão, uso de grandes quantidades de ácidos inorgânicos e produção de grandes volumes de resíduos perigosos”. (BARELA *et al.*, 2017) E se ainda for necessário realizar uma etapa de diluição “provavelmente serão obtidos altos limites de detecção (LODs) dificultando a determinação de alguns elementos em baixas concentrações” (BARELA *et al.*, 2017).

O objetivo do presente trabalho busca desenvolver o método analítico empregando a microextração para determinar os teores de cádmio e chumbo encontradas em gordura suína utilizando como método de análise a Microextração Líquido-Líquido Dispersiva em Fase Reversa (RP-DLLME) aliado a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), o qual é um método que possibilita a utilização de pequena quantidade de reagentes e solvente, e conseqüentemente menos impacto ambiental.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Desenvolver método empregando o preparo de amostras para RP-DLLME para posterior determinação de Cd e Pb em gordura suína por F AAS.

2.2 Objetivos específicos

- Ajuste de parâmetros que influenciam na extração da RP-DLLME para a determinação de Cd e Pb por F AAS;
- Caracterizar os parâmetros analíticos do método;
- Validar parcialmente a eficiência do método;
- Determinar a precisão e exatidão na execução do método;
- Aplicação posterior do método proposto para determinação de Cd e Pb em amostras comerciais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Gordura suína

“A suinocultura brasileira ocupa um lugar de destaque mundial, onde o Brasil é o quarto maior produtor e exportador de carne suína” (COINTER, 2019). “A composição geral de carne suína consiste de 72% de água, 20% de proteína, 7% de gordura, 1% de minerais e menos que 1% de carboidratos” (PEÑUELA-SIERRA, 2015). A gordura suína popularmente nomeada apenas por “banha” “era muito utilizada até o início do século XX por ser mais acessível” (ALEGRA, 2019) porém, com o intuito de se obter uma vida mais saudável, ela foi retirada da mesa de muitos consumidores, os quais optaram pelo uso de gorduras vegetais. Essa ideia de “fazer mal a saúde” vem mudando de cenário, haja visto que a banha tem “mais nutrientes e não altera o sabor dos alimentos” (GESSULLI, 2019)

O que diferencia os óleos vegetais da banha em relação a saúde é que os óleos vegetais “quando aquecidos em altas temperaturas, liberam substâncias nocivas à saúde e, além disso, parte da gordura poli-insaturada se transforma em gordura trans, que é o pior tipo de gordura que existe” (ALEGRA, 2019) ou seja, “a distinção entre gorduras e óleos é baseada nas suas propriedades físicas sob temperatura ambiente: gorduras são sólidas e óleos são líquidos” (MACIEL, 2009). Já a banha possui algo em especial, ela possui em suas características a naturalidade não havendo, portanto, o processo de industrialização e/ou modificação, também “é composta por gorduras saturadas, ou seja, um tipo de gordura que tolera temperaturas mais altas sem oxidar ou alterar a composição química do alimento” (ALEGRA, 2019).

O consumo de óleos e gorduras desde que consumidos de forma moderada, é saudável e essencial, pois os lipídeos que compõe este tipo de produto fornecem para o organismo uma fonte de energia além de que, em especial a banha compõe também “vitaminas C, D e as do complexo B, além de minerais como ferro, fósforo, cálcio e ser zero açúcar. A princípio, não possui sódio e conservantes e é rica em ômega 3” (ALEGRA, 2019). Sendo assim, “o alimento mantém-se próprio para consumo por mais tempo e possui um ponto de fumaça mais alto, o que poderia torná-lo melhor para preparações fritas e para o processo de cozimento em altas temperaturas” (MACK; SOUZA, 2019).

A gordura suína vem sendo utilizada em larga escala tanto na indústria alimentícia como também na produção de biodiesel, produção de alimentos para animais (ração), cosmético e farmacêutico.

3.1.1 Processo de fabricação de gordura suína

A gordura suína está localizada em grande parte nos tecidos gordurosos do animal como pele e barriga. Segundo a Embrapa, um suíno produz em média cerca de 8 kg de banha, esta possui característica de ser sólida em temperatura ambiente como também apresentar alta viscosidade.

Para que se obtenha o produto final, a gordura localizada entre a pele e a carne é retirada durante o processo de abate, picada em cubos e submetidas a aquecimento “podendo ser produzida à seco ou na água – o que também influencia no sabor da banha” (GESSULLI, 2019).

No processo de produção por via seca a gordura é exposta a altas temperaturas num forno ou panela com ou sem a presença de água (processo similar ao bacon frito) já no processo de produção molhado a gordura do porco é fervida em água ou vapor com temperatura alta, e como a banha é insolúvel em água, ela é retirada da superfície da mistura ou também separada por centrífuga industrial. Ambos os processos produzem produtos com características diferentes, a banha por via seca é um pouco mais bronzeada na cor e no sabor e tem relativamente baixo ponto de fumaça. Já a banha por via úmida tem um sabor mais neutro, uma cor mais clara, e um ponto de fumaça alta (PARDI *et al.*, 2001).

A sua produção para uma excelente qualidade está limitada à utilização de certos cortes gordos procedentes da limpeza da carcaça no matadouro (SOLÀ-ORIOI, 2020). Isso não proíbe a utilização de partes que durante a limpeza for recuperada.

Segundo Solà-Oriol (2020) a banha é obtida pela fusão da gordura seguida de um processo de clarificação para eliminar restos de proteína, água e partículas sólidas. A banha pode ser encontrada exclusivamente de origem suína ou mistura

com outras espécies (por exemplo, com gordura de ave). Para a determinação da qualidade da banha alguns parâmetros são considerados essenciais como a umidade, impurezas e fracção insaponificável, perfil de ácidos gordos e quantidade de ácidos gordos livres.

Após sofrer um aquecimento prolongado, a gordura se torna com aspecto líquido em forma de fluido e conforme se resfria, a temperatura ambiente se torna sólida. Possui coloração esbranquiçada quando sólida, com sabor e odor característico.

A fim de melhorar a estabilidade à temperatura ambiente a banha é muitas vezes "hidrogenada", um processo que não deve ser confundido com "hidrogenação parcial" de óleos vegetais que cria insalubres gorduras trans. Ela também é muitas vezes tratada com agentes de branqueamento e desodorização, emulsionantes, e antioxidantes, tais como o butilhidroxitolueno (BHT). Estes tratamentos fazem a banha ser mais consistente e evitar a deterioração.

3.1.2 Principais degradantes da gordura suína

As gorduras podem sofrer processos oxidativos “as reações de oxidação e a decomposição dos produtos da oxidação implicam na perda de qualidade e valor nutricional dos alimentos” (SOUZA, 2018). Esta degradação não possui um momento ou modo específico para ocorrer ou seja, ela pode acontecer em qualquer período do processamento desde a fabricação, envase até armazenamento. As principais fontes de degradação “pode ocorrer por oxidação, hidrólise, polimerização, pirólise e absorção de odores e sabores estranhos” (SOUZA, 2018).

A degradação ocorre quando “armazenado em atmosfera de oxigênio, devido à auto-oxidação. Mas quando eles são aquecidos a altas temperaturas, o processo da oxidação é acelerado” (REDA; CARNEIRO, 2007). Portanto, “a presença de ar nos tanques de armazenagem deve ser evitada ao máximo” (BELLAYER; ZANOTTO, 2004).

Também “as gorduras podem ser armazenadas em tanques de aço inox ou ferro, mas o contato com bronze ou cobre deve ser evitado, pois acelera a oxidação” (BELLAYER; ZANOTTO, 2004).

A rancidez no entanto, que nada mais é que a deterioração da gordura, pode ocorrer de duas formas: Pela “rancidez oxidativa causada pela auto-oxidação dos triacilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2014) ou também pela “rancidez hidrolítica, causada pela hidrólise da ligação éster por lipase ou agente químico na presença de umidade” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2014). Esta ainda “diminui a qualidade das gorduras destinadas principalmente a frituras, alterando especialmente as características organolépticas, como a cor (escurecimento), o odor e o sabor dos alimentos” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2014).

Para a determinação de rancidez oxidativa utiliza-se o método de Índice de Peróxido (I.P.) (BELLAVAR; ZANOTTO, 2004)., que por sua vez é utilizado já que “os peróxidos são os primeiros compostos formados quando uma gordura deteriora, toda gordura oxidada dá resultado positivo” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2014).

3.1.3 Limites de concentração de metais pesados e efeitos tóxicos ao ser humano.

Metais são elementos químicos disposto na tabela periódica que são reconhecidos pelas suas propriedades como, serem sólidos a temperatura ambiente (exceto Mercúrio), terem elétrons livres que permitem conduzem corrente elétrica e calor, possuírem brilho e maleabilidade. Já os metais que são considerados como tóxicos “estão localizados entre o cobre e o chumbo na tabela periódica e possuem massa atômica elevada” (AURESCO, 2019).

Quando se tratando das possíveis causas a saúde humana esses metais pesados podem ser prejudiciais, uma vez que a forma de eliminação do organismo é lenta podendo se acumular nos órgãos humanos ocasionando “mudanças bioquímicas, fisiológicas, comportamentais, morfológicas e na reprodução” (AURESCO, 2019)

Entre os metais pesados, daremos maior enfoque nos analitos de interesse neste trabalho, que são Cádmiu e Chumbo.

O cádmio “pode entrar no corpo humano através dos alimentos, da água ou das partículas suspensas no ar que respiramos, assim como pela inalação da fumaça do cigarro” (MANZINI *et al.*, 2010), possui como órgãos-alvo o fígado e os rins,

causando neste último uma disfunção na reabsorção do túbulo proximal (proteinúria) e câncer. Já fígado ele colabora com a diminuição da função glicogênio hepático e um aumento na glicemia, fibrose e cirrose. Outros órgãos e sistemas também podem ser acometidos com alguma anomalia, como é o caso do sistema cardiovascular, que pode ocasionar doenças coronariana e arterial periférica, aumento da pressão arterial e infarto do miocárdio. Ainda nos pulmões causa necrose dos macrófagos alveolares e câncer. No Sistema Nervoso ocorre uma redução da atividade motora e alterações neurocomportamentais e nos olhos a degeneração macular. Assim também no Sistema Reprodutor Masculino, pode se acometer a uma carcinogênese prostática. Como consequência também ele causa distúrbios no metabolismo do cálcio acometendo a osteoporose e osteomalácia (INMETRO, 2014).

O chumbo, elemento pertencente ao grupo 14 da tabela periódica, também contribui com malefícios ao organismo, após a absorção o chumbo se distribui entre sangue (plasma e eritrócitos), tecidos moles (rins, medula óssea, fígado e cérebro) e tecidos mineralizados (ossos e dentes). A toxicidade do chumbo gera desde efeitos claros, ou clínicos, até efeitos sutis, ou bioquímicos, tratando de efeitos no sistema nervoso central, pode ocorrer “vertigens, perda de memória, cefaleia e irritabilidade” (AURESCO, 2019). Os efeitos causados no organismo que podem ser considerados como críticos incluem distúrbios no sistema nervoso e desvios na síntese da heme, como também a anemia, inibição da síntese da hemoglobina e diminuição do tempo de vida dos eritrócitos circulantes, resultando na estimulação da eritropoiese. Já para os efeitos sobre os rins, dividem-se em disfunção tubular renal reversível (exposição aguda) e nefropatia intersticial irreversível (exposição crônica). O chumbo prejudica também o crescimento e maturação da célula, ocasionando um crescimento reduzido como também um comprometimento na fertilidade das mulheres, e nos homens uma contagem reduzida de espermatozoides e motilidade. Em caso de gravidez, o chumbo atravessa a barreira placentária, causando danos fetais (viabilidade do feto e seu desenvolvimento) em caso de exposição no pré-natal o peso do feto é reduzido e o nascimento é prematuro. Para intoxicações agudas a pressão sanguínea é alta, e quando em efeito precoce há o desenvolvimento de cólicas gastrointestinais (INMETRO, 2014; DIB *et al.*, 2017). Portanto, “a toxicidade do chumbo gera desde efeitos claros, ou clínicos, até efeitos sutis, ou bioquímicos” (MOREIRA; MOREIRA, 2004).

Se tratando de limites de concentração que devem ser respeitados, a ANVISA dispõe o regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, segundo a resolução - RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013 (BRASIL, 2013), o chumbo para óleos e gorduras comestíveis de origem vegetal e ou animal (incluindo margarina) possui um limite máximo de 0,10 mg/kg. Já o cádmio não possui especificamente algo direcionado a este tipo de alimento (gordura animal) mas se tratando de produtos cárneos de suínos, seja derivados crus, congelados ou refrigerados, embutidos e empanados crus exceto fígado e rins, a concentração máxima permitida é de 0,05 mg/kg.

O Ministério da Saúde também determina os limites máximos que devem ser cumpridos para as embalagens e equipamentos celulósicos que são destinados a ter contato direto com os alimentos. Segundo a resolução a - RDC nº 88, de 29 de junho de 2016 (BRASIL, 2016) os seguintes limites máximos estabelecidos para os elementos Cádmio (Cd), Chumbo (Pb) no extrato aquoso frio ou quente, segundo as condições de uso propostas: a) Cádmio (Cd) = 0,5 µg/g de produto acabado; b) Chumbo (Pb) = 3 µg/g de produto acabado.

3.2 Métodos de preparo de amostras

Para realizar a determinação de metais contidos em amostras de alimentos como é o caso da gordura suína, é proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) a determinação diretamente por espectrometria de absorção atômica com chama, porém esta amostra deve se encontrar em estado aquoso, o que impossibilitaria a utilização direta da gordura suína, haja visto que a matéria é de origem orgânica e oleaginosa. Sendo portando, a amostra de característica orgânica, a determinação de metais ainda apresenta dificuldades como a complexidade da matriz e alto teor de carbono como também a viscosidade da amostra (WENDT, 2021).

Outro fator que deve adquirir uma atenção especial é o estado físico da amostra, pois a gordura se encontra em estado sólido a temperatura ambiente, sendo necessário, portanto, realizar a transferência dos analitos de interesse para uma fase mais simples, passo este realizado no processo de preparação de amostra.

Buscando solucionar os fatores que permeiam este tipo de matriz, a preparação de amostras vários procedimentos vêm sendo desenvolvidos, entre eles a microextração (LOURENÇO *et al.*, 2019; KALSCHNE *et al.*, 2020), o qual foi utilizado como base para o desenvolvimento do método deste trabalho.

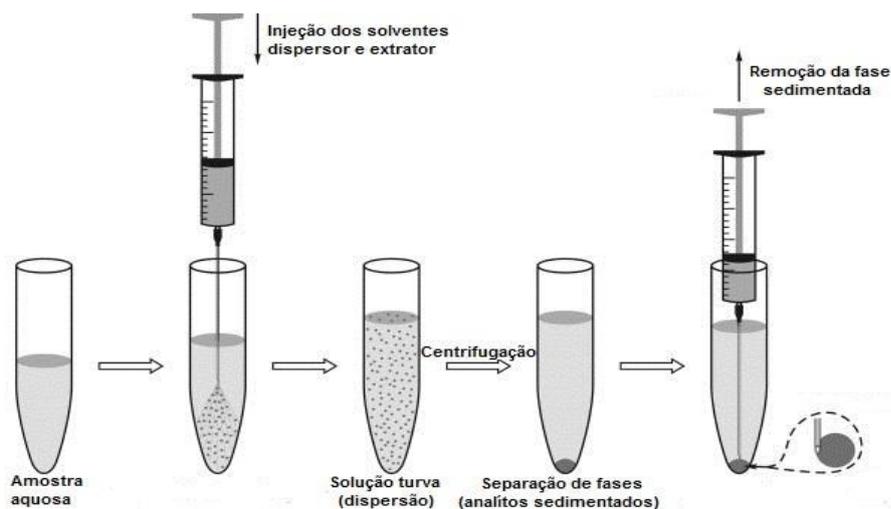
3.2.1 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é uma técnica de preparo de amostra introduzida em 2006 por Rezaee *et al.*, (2006), com a finalidade de pré-concentrar analitos orgânicos a partir de matrizes aquosas, esta técnica supera muitas limitações ocorridas em procedimentos de extração convencionais. “É uma técnica rápida e simples, e emprega altos valores de razão de fases; além de possuir baixo custo, possibilitar melhora significativa na sensibilidade e elevada eficiência para a remoção de interferentes da matriz” (TAKASHIMA, 2017).

O princípio desta técnica consiste em realizar uma mistura entre um solvente dispersor extrator orgânico a uma amostra aquosa, ocorrendo a formação de uma dispersão turva imiscível em água, apresentando inúmeras micro gotas. A solução dispersora extratora em contato com o meio que contém o analito, viabiliza a transferência deste para a solução extratora (TAKASHIMA, 2017).

A preparação das amostras pelo método DLLME pode ser observada na Figura 1. O método consiste em ter a amostras aquosas contendo os analitos, a elas será inserido um solvente dispersor, o qual deve ser um solvente orgânico e miscível em água, e também um solvente extrator, este que deve possuir característica apolar, imiscível e mais denso que a água. A função do solvente dispersor neste caso, por ser imiscível em água possui a função de promover uma rápida interação entre as fases, o que possibilita o solvente extrator permear sobre a amostra em micro gotículas extraíndo os analitos de maneira eficaz (LOURENÇO *et al.*, 2019). A segunda etapa do procedimento ocorre por meio de centrifugação, formando uma fase sedimentada, que é coletada por auxílio de uma seringa ou pipeta (REZAAEE, 2006, REZAAEE, 2010).

Figura 1. Procedimento geral para DLLME



Fonte: Adaptado de Zgola-Grzeškowiak e Grzeškowiak (2011)

3.2.2 Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME)

Esta técnica se diferencia da apresentada anteriormente pela amostra apresentar caráter apolar, desta forma “utiliza-se solventes extratores aquosos em vez do uso de solventes extratores orgânicos” (TAKASHIMA, 2017), ou seja, ela é contrária da DLLME comum pois “a fase orgânica não é mais o extrator, e sim amostra” (LOURENÇO *et al.*, 2019).

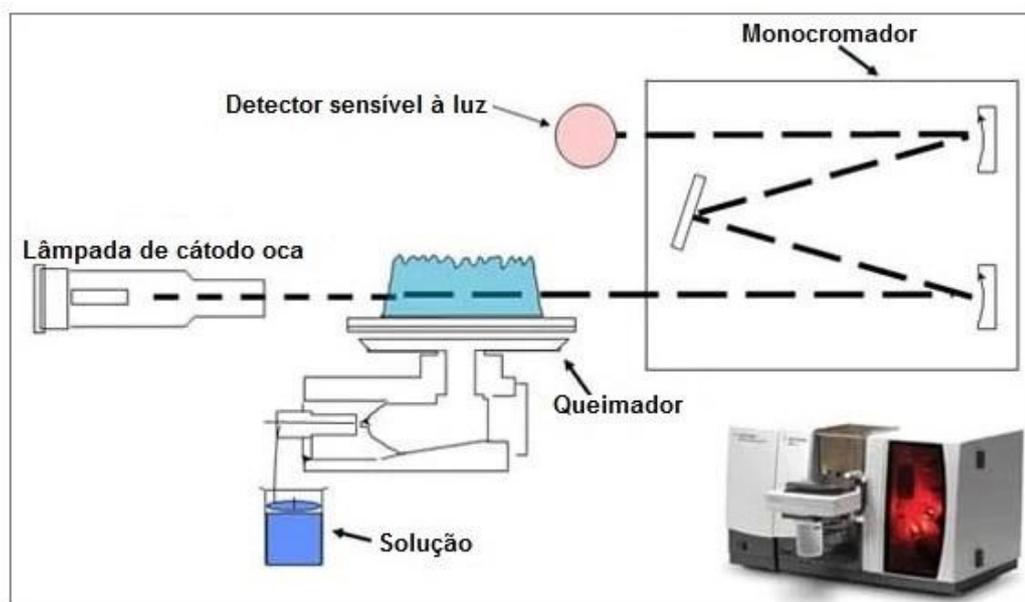
A utilização deste método possibilita um “alto fator de enriquecimento dos analitos, simplicidade no preparo de amostras com segurança e capaz de transferir analitos da matriz para uma fase aquosa usando baixo volume de solvente extrator e velocidade no preparo de amostras” (LOURENÇO *et al.*, 2019), uma vez que os analitos de interesse podem ser encontrados tanto na fase apolar quanto polar, desta forma a extração é feita com seletividade e com base na polaridade (LOURENÇO *et al.*, 2019).

A RP- DLLME é um método que já foi empregado em várias matrizes como já citado neste trabalho e como também apresentado no decorrer deste trabalho, porém quando se trata da determinação de metais em uma matriz de gordura animal como no caso da gordura suína, é vago os resultados encontrados podendo até se dizer nulo. Devido a isso ressalta-se ainda a importância do emprego desta técnica para possíveis estudos e análises.

3.2.3 Espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS)

Esta é uma técnica utilizada para a detecção amplamente empregada devido a sua “simplicidade, velocidade, baixo custo e ampla aplicação” (ALTUNAY *et al.*, 2019). Foi desenvolvida por Walsh e seu princípio consiste em determinações quantitativas de elementos químicos com base na absorção da radiação por átomos livres no estado gasoso (SKOOG *et al.*, 2009). A Figura 2 demonstra o esquema geral de um equipamento usado em FAAS.

Figura 2. Esquema de um espectrômetro de absorção atômica com chama



Fonte: Adaptado de Hind (2011)

A utilização deste equipamento se concentra na usualidade de amostras em forma de soluções, por isso é necessário a realização do processo de tratamento de amostra, pois o mesmo não admite a inserção de matéria oleosa ainda mais gordura que se solidifica facilmente pois a mesma acaba trancando a sucção pelo capilar. A solução é aspirada para a chama, misturando-se ao combustível e ao oxidante, e em seguida é dispersa em forma de aerossol, que atinge a chama. Tendo também como etapas posteriores os processos de nebulização, dessolvatação, volatilização, dissociação, atomização e ionização.

Este equipamento permite a detecção de inúmeros metais pelo princípio da absorção de radiação (para a maioria dos metais) e/ou pela emissão de radiação, para as espécies como Na, K e Li.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Para a realização da determinação dos analitos Cd e Pb em gordura suína fez-se uso de um espectrômetro de absorção atômica (Varian, modelo AA 240-FS, Austrália) com chama de acetileno e ar comprimido com lâmpadas de cátodo oco com corrente recomendada pelo fabricante.

Todas as amostras passaram pelo processo de centrifugação para a ocorrência da etapa de separação. Para o procedimento usou-se a centrífuga (Cientec, CT-5000R, Brasil) com capacidade para 12 tubos de 15 mL e velocidade de rotação de 6000 rpm, aceleração de 30 s e frenagem de 30 s a uma temperatura de 25 °C.

Para a agitação e homogeneização da mistura, se fez uso de agitação mecânica por Vórtex com tempo cronometrado com auxílio de um relógio e velocidade máxima. Em alguns procedimentos, também se fez uso do banho de ultrassom (Elma, modelo Elmasonic P 60 H, capacidade 5,75 L (potência efetiva de 180 W, Alemanha) com ajuste de temperatura.

Durante o procedimento de preparo da amostra a matriz de gordura suína foi aquecida em Banho-Maria (Nova Instruments, Modelo NI 1215) de capacidade de 3 litros com ajuste de temperatura.

Já a etapa de pesagem as amostras foram executadas em uma balança analítica de precisão (Marte, modelo AW 220, Brasil) com resolução de 0,0001 g e capacidade máxima de 220 g.

Para a análise estatística dos dados obtidos por meio de experimentos foi utilizado o programa Microsoft Excel 2010®.

4.2 Reagentes, materiais e solução de referência

Durante a realização dos procedimentos de preparo das soluções e também de limpeza de vidrarias utilizou-se água ultrapura (Gehaka, Brasil) com resistividade

inferior a $18,2 \Omega\text{cm}^{-1}$, acoplado com um equipamento de sistema de osmose reversa (modelo OS 10 LX, Gehaka, Brasil).

Os solventes e reagentes de qualidade analítica utilizados durante todo o desenvolvimento do trabalho foi: n-propanol (pureza $\geq 99,5\%$ Dinâmica, Brasil) e o isopropanol (Sigma Aldrich – P.A) em diferentes proporções, ambos utilizados como agente dispersante; ácido nítrico (HNO_3) (pureza $\geq 65\%$, $d = 1,39 \text{ g.mL}^{-1}$, Sigma-Aldrich) empregado como extrator e como o diluente em amostras e soluções aquosas de referência ($0,5\%$; v.v^{-1}); e xileno (mistura de isômeros, pureza $\geq 98,5\%$) que foi aplicado a amostra para evitar a solidificação durante o processo de manuseio da preparação.

Os materiais utilizados para pipetar quando necessário, durante o procedimento de RP-DLLME como também para o preparo das soluções, foram as micropipetas automáticas (Brand, modelo Transferpette® S, Alemanha), com volumes variáveis entre 10 -100 e 100 -1000 μL .

Durante as etapas de preparo de amostra que se trata da pesagem da amostra, aquecimento em banho-maria, adição da solução de solventes e centrifugação, foram realizadas com auxílio de tubos tipo Falcon de polipropileno de 15 mL e 50 mL da marca Corning, graduadas, com fundo cônico e tampa de rosca para uso em centrífugas.

No preparo de curvas de calibração, as soluções utilizadas possuem referencias individuais contendo de 1000 mg.L^{-1} de Cd e Pb (Specsol®, Brasil). Para a construção da curva foram preparadas soluções com diluições sucessivas para os diferentes pontos da curva de calibração a partir de uma solução mista de 100 mg.L^{-1} sendo esta, preparada a partir das soluções originais.

Na realização dos procedimentos os materiais que foram utilizados passaram por um processo de limpeza e descontaminação utilizando solução de HNO_3 a 10% (v.v^{-1}) preparado a partir de HNO_3 P.A (65% , Dinâmica, Brasil), os mesmos após a descontaminação foram secos em temperatura ambiente.

Para os ensaios de recuperação, realizou-se uma solução de adição de analito na matriz com o auxílio de uma solução padrão mono-elementar em matriz de óleo mineral (Specsol®, Brasil) na concentração de $100 \pm 0,6 \mu\text{g.g}^{-1}$, sendo um padrão contendo Cd e outro padrão contendo Pb.

Necessitando-se que todas as leituras realizadas pudessem garantir um nível de exatidão, confiabilidade e veracidade dos dados fornecidos, empregou-se o uso do

CRM (*Certified Reference Materials*) (EnviroMAT EP-H-3) de água, com concentração média de 4,6 mg.L⁻¹ para Cd e de 19,4 mg.L⁻¹ para Pb.

4.3 AMOSTRA

Para a evolução desta pesquisa, a amostra comercial de gordura animal suína utilizada como base para os testes, foi adquirida em supermercado da cidade de Medianeira – PR, optando pela escolha de uma marca e empresa conhecida na região oeste paranaense. As amostras foram acondicionadas em geladeira com temperatura entre 0 °C e 8 °C a fim de manter suas propriedades assim como prevê o fabricante, não excedendo também o prazo de validade de 30 dias após aberto indicado na embalagem. A matriz só era retirada de refrigeração no momento de uso para o preparo das amostras e determinação.

4.4 Determinação dos parâmetros de influência para RP-DLLME

Tendo em consideração os estudos desenvolvidos com base no método da RP-DLLME executados pelo grupo de pesquisa do mesmo laboratório que este estudo em questão, permitiu determinar os fatores e parâmetros utilizados para o desenvolvimento deste trabalho, bem como as revisões de literatura pesquisadas e as adaptações realizadas. Entre os trabalhos desenvolvidos pode-se citar como eixo norteador os seguintes estudos: o preparo de amostra de biodiesel por RP-DLLME para a determinação de Na, K, Ca e Mg por F AAS (LOURENÇO, 2016), a RP-DLLME empregada no preparo de amostra para a determinação de níquel em gordura vegetal hidrogenada (KALSCHNE, 2019) e ainda a utilização da RP-DLLME para posterior determinação de Cu e Fe em óleos isolantes por F AAS (WENDT, 2021).

4.4.1 Procedimento de descontaminação dos recipientes

Os recipientes a serem utilizados durante o processo de preparo de amostras, são previamente descontaminados para posterior utilização.

O processo de descontaminação começa com a lavagem dos recipientes com água e sabão, posteriormente são enxaguados com água ultrapura e acondicionados em solução de detergente neutro por aproximadamente 24 h. Decorrido este tempo, os recipientes eram novamente lavados e enxaguados com água ultrapura e mergulhados em uma solução de HNO_3 10% pelo mesmo período que o passo anterior.

Após cessado o período, os recipientes eram retirados da solução de HNO_3 e colocados para secar em temperatura ambiente para posterior utilização no preparo de amostras.

4.4.2 Procedimento de adição de analitos para ensaios de recuperação

Para o preparo dos ensaios de recuperação realizou-se o procedimento de adição de analito que segue: em uma balança analítica, pesou-se determinada quantidade de gordura suína em frascos de polipropileno (50 mL) devidamente descontaminados, a quantidade ficava acordo com o necessário para ser utilizado para as amostras do procedimento. Neste mesmo recipiente adicionava-se quantidades específicas do padrão monoelementar de óleo mineral contendo os analitos de Cd e Pb, para que obtivesse a concentração de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de analito na matriz, para que desta forma pudesse avaliar a exatidão e precisão do método em relação a recuperação dos analitos de interesse.

Após a inserção do padrão, a mistura era homogeneizada por meio de agitação mecânica intensa por 1 min. Desta mistura eram pesados em frascos individuais de polipropileno (15 mL) devidamente identificados, a quantidade de 5 g. Este procedimento era realizado todas as vezes em que o ciclo do processo de análise se iniciava, a fim de se minimizar possíveis erros.

4.4.3 Avaliação do solvente dispersor

No estudo do solvente dispersor, comparou-se a eficiência de recuperação do analito entre o isopropanol e n-propanol. Durante o estudo a proporção entre o agente dispersor e extrator foi avaliada em diferentes porcentagens, as quais variaram de 20,

30, 40 e 50% em relação ao agente dispersor em relação ao volume total da mistura (50 mL).

4.4.4 Influência da concentração do solvente extrator

Em análise para o solvente extrator, foi optado pela utilização de HNO_3 desta forma, foi realizado testes quanto a sua eficiência comparando a recuperação obtida dos analitos. Para este estudo as concentrações variaram de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mol.L⁻¹ de extrator.

4.4.5 Influência volume de solução extratora

De forma a analisar a quantidade necessária para se ter uma recuperação adequada quanto a extração dos analitos, avaliou-se o volume de solução extratora em comparação com a melhor eficácia para o menor volume de reagente possível para 0,5, 1,0; 1,5 e 2 mL.

4.4.6 Influência do tempo de agitação

A influência da agitação realizada posteriormente a adição da solução dispersora e extratora também foi avaliada, para este processo fez-se o uso do vórtex para agitação mecânica. Os tempos avaliados foram de 0 s, 30 s, 1 e 2 min, em temperatura ambiente.

4.4.7 Influência da agitação empregando o banho de ultrassom

Para esta análise, substituiu-se a agitação mecânica pelo banho de ultrassom, a fim de analisar a sua influência quanto a recuperação dos analitos. Os tempos destinados a avaliação do ultrassom foram de 5, 10, 15 e 20 min acondicionadas a uma temperatura de 70°C e frequência de 37 kHz.

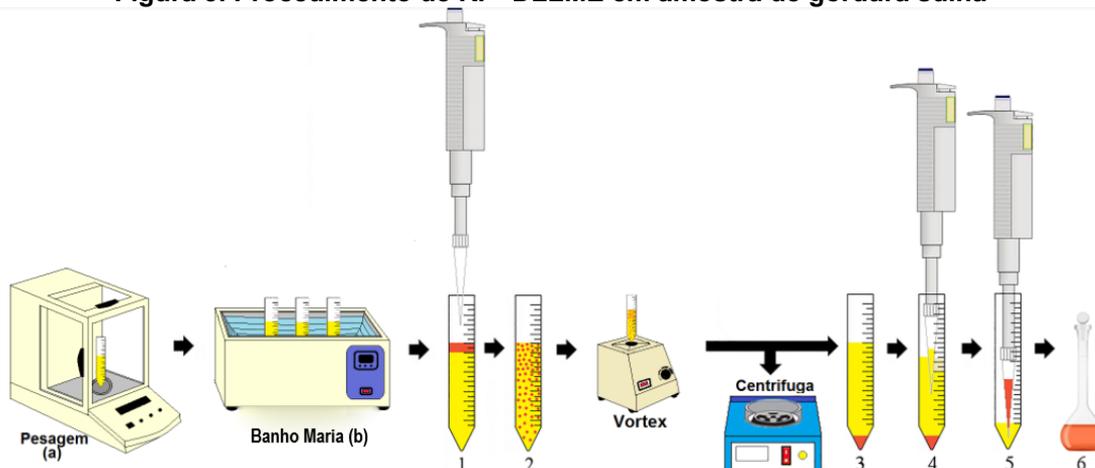
4.4.8 Avaliação do tempo de centrifugação

A centrifugação também foi um parâmetro a ser analisado quanto a melhor recuperação obtida. Para isso utilizou-se a centrífuga com a variação de tempo de funcionamento. Os tempos analisados foram de 5, 10, 15 e 20 min.

4.5 Procedimento de RP-DLLME proposto para Cd e Pb em gordura suína

Inicialmente pesou-se 5,0 g de amostra de banha suína diretamente em tubos de polipropileno do tipo Falcon com capacidade de 15 mL devidamente identificados, posteriormente as amostras foram levadas a aquecimento em banho-maria por aproximadamente 20 minutos a 70 °C, em seguida adicionou-se 5 mL de xileno e por fim 1,0 mL da solução dispersor e extrator com o auxílio de uma micropipeta. Após adicionado à solução, os tubos foram submetidos a agitação mecânica com o auxílio do vórtex, para que a solução dispersora e extratora obtivesse um maior contato com o analito. Após realizado este procedimento, as amostras foram encaminhadas à centrifugação por 10 min a 6000 RPM a 25 °C. Decorrido o tempo, as amostras obtiveram duas fases bem definidas, com o auxílio de uma pipeta, retirou-se parte da amostra orgânica que ficou na parte superior para facilitar a retirada da fase aquosa. A fase aquosa após separada da fase orgânica era inserida em um novo tubo de polipropileno de capacidade de 15 mL, sendo aferido a um volume total de 3 mL com uma solução de ácido de HNO₃ a 0,5% (v.v⁻¹) a qual posteriormente foi submetida para a determinação por F AAS. A Figura 3 a seguir representa o procedimento de RP-DLLME.

Figura 3. Procedimento de RP- DLLME em amostra de gordura suína



Etapa (a) pesagem da amostra em balança analítica; (b) aquecimento em banho Maria; RP-DLLME: (1) Adição da solução de solventes dispersor e extrator; (2) formação imediata de solução turva e agitação no vórtex; (3) separação de fases por centrifugação; (4) retirada de parte da amostra orgânica (5) retirada da solução aquosa contendo os analitos e transferência para balão volumétrico; e (6) aferição da fase aquosa para determinação por FAAS.

Fonte: Adaptado de Kalschne et.al. (2019)

4.6 Cálculos dos ensaios de recuperação de analito

O roteiro descrito anteriormente faz parte dos processos realizados a fim de analisar o índice de recuperação dos analitos para que o método seja válido e apresente as melhores condições para se obter as melhores recuperações das amostras investigadas. Para descobrir a porcentagem de recuperação referente aos ensaios, utilizou-se a equação descrita abaixo para realização dos cálculos. Os cálculos referentes a esses ensaios foram efetuados a partir da equação 1.

$$\text{Recuperação \%} = \left(\frac{c_1 - c_2}{c_3} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Onde:

C_1 é a concentração final da amostra com adição do analito;

C_2 é a concentração pré-existente na amostra antes da adição do analito;

C_3 é o valor de analito adicionado na amostra;

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os testes de recuperação foram aplicados para todas as amostras e parâmetros analisados. A fim de garantir a maior precisão e exatidão nos dados coletados, o método foi conduzido de forma a garantir o melhor desempenho e eficácia.

4.7 Condições para a determinação de Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

Para a determinação dos metais Cd e Pb seguiu-se as condições e recomendações expressas pelo fabricante do F AAS (Varion), sendo realizado alguns ajustes para a melhoria das condições de medição. O método de absorção atômica foi o utilizado para a realização das determinações, sendo assim utilizou-se como combustível o gás acetileno (White Martins, pureza 99,8%) e como oxidante o ar comprimido. As condições e parâmetros instrumentais a serem seguidos, podem ser conferidos na Tabela 1 expressa abaixo.

Tabela 1 - Condições instrumentais F AAS

Parâmetros	Pb	Cd
Comprimento de Onda (nm)	217,0	228,8
Fenda Espectral (nm)	1,0	0,5
Corrente da Lâmpada (mA)	7,0	6,0
Vazão de Ar (L.min ⁻¹)	10	10
Vazão de Acetileno (L.min ⁻¹)	2,2	2,2

Fonte: Autoria própria (2021)

4.7.1 Calibração do equipamento

Para a realização da calibração do equipamento, utilizou-se soluções previamente preparadas a partir de soluções de referência a adição de 0,5% de HNO₃ (v.v⁻¹) concentrado aplicado de forma externa. As concentrações das soluções da curva de calibração foram de: 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,4 e 2,0 mg.L⁻¹ de Cd e Pb.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação dos parâmetros de extração empregando RP-DLLME

As condições e parâmetros são itens essenciais para se obter e desenvolver um método de extração que seja eficiente e que apresente excelentes resultados. Portanto para este trabalho, buscou-se utilizar e analisar alguns parâmetros que afetam a determinação e extração dos analitos, com isso buscou-se por parâmetros já pré-estabelecidos e reportados na literatura, portanto, utilizou-se como norteador os trabalhos realizados que utilizam a RP-DLLME, como o estudo desenvolvido para a extração de metais em biodiesel (LOURENÇO *et al.*, 2019) e para a extração de níquel em gordura vegetal hidrogenada (KALSCHNE *et al.*, 2020).

Tendo em consideração os trabalhos anteriormente citados, usou-se como parâmetros os seguintes itens: tipo de solvente extrator e dispersor, concentração do solvente extrator, proporção da mistura de solvente extrator e dispersor, volume total da solução dispersor/extrator, tempo de agitação, tempo de ultrassom e tempo de centrifugação.

Ainda em tempo, um pré-teste foi realizado com a amostra. Considerando que a matriz amostral possui característica de ser sólida a temperatura ambiente e que também o período em que o trabalho desenvolvido ocorreu no inverno brasileiro com temperaturas ainda mais baixas necessitou a inserção do solvente xileno na amostra a fim de evitar a solidificação durante o procedimento. Portanto, inicialmente foi determinado o parâmetro de massa/volume (m/v) do solvente. Para esse teste foram pesados 5,0 g de amostra em 3 tubos de 15 mL, no qual foram adicionados 3,0, 4,0 e 5,0 mL em cada tubo respectivamente, com isso o parâmetro que melhor se destacou foi o de 5,0 mL, sendo inserido esse volume nas amostras em todos os ciclos de testes.

5.1.1 Avaliação dos solventes dispersores

Na avaliação dos solventes dispersores, foram analisadas as recuperações promovidas pelo isopropanol e n-propanol por mistura com HNO₃ diluído. Neste caso

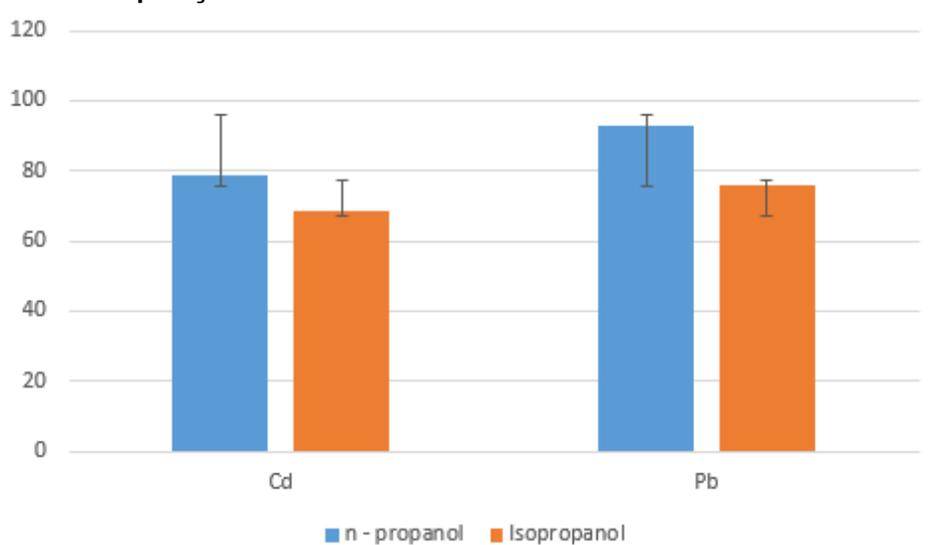
o objetivo dos dispersores é promover uma interação rápida e eficiente entre a amostra e o extrator ocorrendo, portanto, uma dispersão eficiente e consequentemente uma boa extração dos analitos.

Os solventes analisados foram selecionados com base nas características compatíveis com as recomendadas pelo procedimento de RP-DLLME, sendo elas a temperatura de ebulição e sua miscibilidade na amostra orgânica e no solvente extrator (LOURENÇO, 2016).

A escolha do agente dispersor que mais se adequa a extração dos analitos presentes em amostras de gordura suína, ocorreu após a aplicação do isopropanol e n-propanol nas amostras, procedimento realizado como descrito no item 4.5 com análises em triplicata para ambos dispersores. Após inserção do solvente foi possível de imediato visualizar a formação de uma solução turva e da formação de micro gotas, que indicaram o efeito do dispersor.

Considerando os testes realizados a melhor recuperação foi obtida com o uso do solvente n-propanol por apresentar resultados mais próximos de 100% de recuperação para ambos os analitos estudados, como pode ser observado na figura 4.

Figura 4. Efeito do uso de isopropanol e n-propanol como solventes dispersores na recuperação de Cd e Pb em amostras de óleo mineral isolante



Condições: massa de amostra: 5 g; adição de xileno: 5mL; mistura de solventes: 70% (v.v⁻¹) de dispersor e 30% (v.v⁻¹) de extrator a 2,0 mol.L⁻¹; volume da solução extrator/dispersor 1,0 mL; temperatura 70 °C por 20 min e centrifugação 10 min.

Fonte: Autoria própria (2021)

Desta forma, a partir deste teste e levando em consideração a melhor dispersão com o solvente n-propanol, ele foi utilizado para a determinação dos parâmetros posteriores a este ensaio.

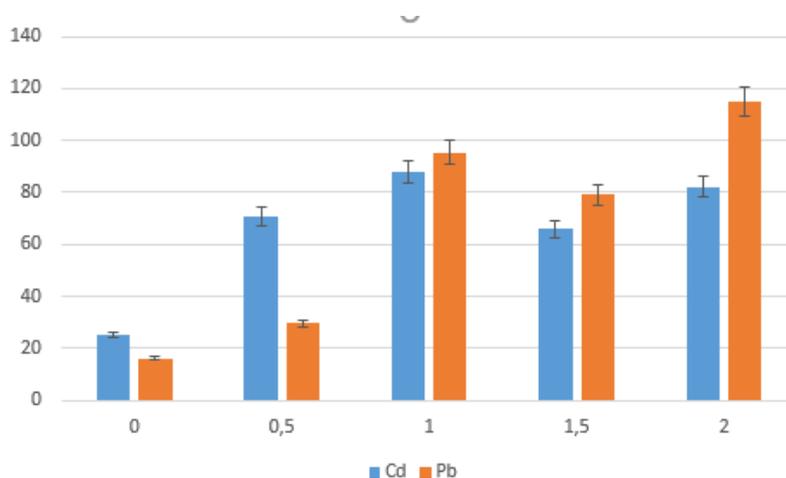
5.1.2 Concentração de HNO₃ na fase extratora

Como solução extratora, foi utilizado o ácido nítrico, e com isso foi testado a influência da sua concentração em relação a extração dos analitos das amostras. A proporção de ácido para solução dispersora para a realização do teste foi fixada em 30% (v.v⁻¹). Desta forma, foram realizados ensaios de recuperação para identificar a melhor concentração de HNO₃, para uma extração eficiente dos analitos da amostra.

No método da RP-DLLME deve-se levar em consideração a insolubilidade do solvente extrator na matriz da amostra, para que o fator de enriquecimento dos analitos na fase extratora e a recuperação sejam considerados eficientes (LOURENÇO, 2016).

Para o ensaio de concentração de HNO₃ nas amostras de gordura suína com adição de analitos Cd e Pb foram pesadas e aquecidas a 70 °C e submetidas a injeção rápida de 1 mL da mistura contendo o extrator (HNO₃ a 0; 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mol.L⁻¹ (30%, (v.v⁻¹)) e dispersor (n-propanol (70%, (v.v⁻¹))), em seguida foram submetidas a 1 min de agitação com auxílio de vórtex e 10 minutos de centrifugação. Os dados obtidos estão representados na figura 5.

Figura 5. Ensaio de concentração de HNO₃ na fase extratora



Onde o eixo horizontal é a concentração de Ácido nítrico (mol L^{-1}) e o eixo vertical a recuperação dos analitos (%).

Condições: massa da Amostra: 5 g; adição de xileno: 5mL; dispersor: n-Propanol; Proporção: 70:30 variando a concentração de HNO_3 ; Volume de Solução: 1 mL; Temperatura da Amostra: 70 °C; Agitação por vórtex: 1min; Centrifugação: 10 minutos. As barras de erros representam desvio padrão ($n=3$).

Fonte: Autorial própria (2021)

Analisando os dados obtidos, pode-se observar que para a recuperação de Cd, a concentração que apresentou a melhor recuperação foi obtida pela concentração de 1 mol.L^{-1} , porém para a recuperação de Pb a porcentagem mais alta foi obtida pela concentração de 2 mol.L^{-1} , contudo a recuperação de 1 mol.L^{-1} também se mostrou satisfatória. A fim de satisfazer ambos os analitos e analisando que a recuperação de Pb com concentração de 2 mol.L^{-1} se excedeu dos 100%, o que pode ter origem de uma possível contaminação dos recipientes utilizados, portanto, optou-se pela concentração de 1 mol.L^{-1} sendo essa a concentração fixada para os ensaios posteriores.

5.1.3 Proporção de n-propanol na fase extratora

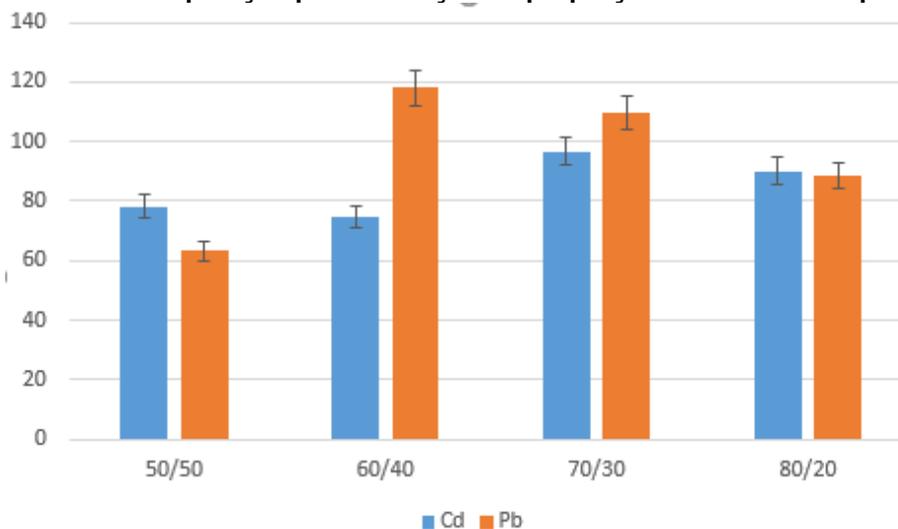
Neste estudo foi avaliado as proporções relacionadas ao solvente dispersor para com o solvente extrator, pois o mesmo contribui para a eficácia do papel do extrator frente ao analito.

Tendo em vista também que o emprego desta etapa contribui para uma redução do consumo de reagentes propondo um método quimicamente verde, foi realizado testes com as proporções de 50:50; 60:40; 70:30 e 80:20% v.v⁻¹ de n-propanol: HNO_3 $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, respectivamente, em amostras de banha (5 g) com a adição de Cd e Pb, que foram aquecidas a 70 °C e submetidas à injeção rápida da solução contendo o dispersor e o extrator (HNO_3 $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, v.v⁻¹), em seguida as amostras foram submetidas à agitação no vórtex por 1 min e posteriormente levadas a centrifugação por 10 min.

Como apresentado na Figura 6, o qual demonstra as recuperações obtidas para as diferentes proporções de n-propanol como agente dispersor, temos como resultado mais significativo para o elemento de Cd a proporção de 70:30 (v.v⁻¹). Já para o elemento de Pb a proporção de 60:40 (v.v⁻¹) foi a que obteve o maior percentual, porém o resultado obtido com a proporção de 70:30 (v.v⁻¹) foi o que mais se aproximou

do 100% esperado, satisfazendo ambas as condições para ambos os elementos. Portanto, a proporção de 70:30 (v.v⁻¹) serviu como condição para os ensaios subsequentes.

Figura 6. Ensaios de recuperação para avaliação da proporção de solvente dispersor



Condições: massa da Amostra: 5 g; adição de xileno: 5mL; dispersor: n-Propanol; Proporção com variação; Concentração de HNO₃: 1 mol.L⁻¹; Volume de Solução: 1 mL; Temperatura da Amostra: 70 °C; Agitação por vórtex: 1 min; Centrifugação: 10 min. As barras de erros representam desvio padrão (n=3).

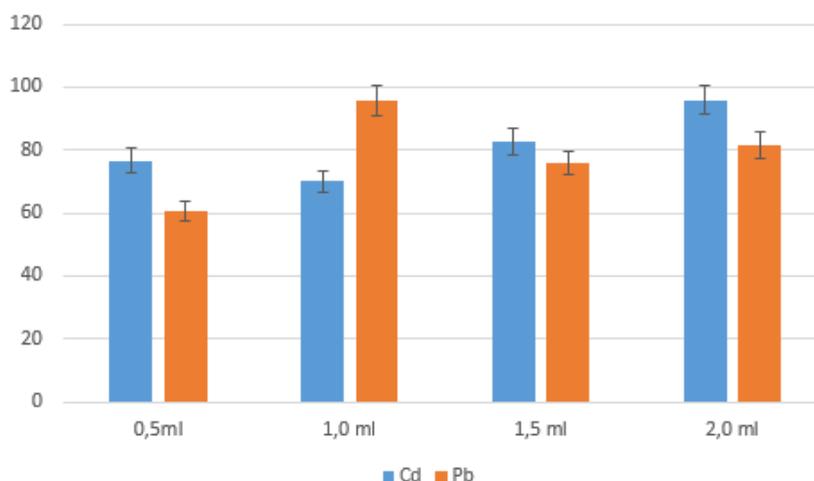
Fonte: Autoria própria (2021)

5.1.4 Volume da solução dispersor/extrator

Neste parâmetro foi analisado a influência da solução dispersora e extratora quanto a recuperação dos analitos. Esse processo tem como objetivo de obter um preparo de amostra com maior exatidão e com uso de solventes em quantidades adequadas, evitando a excessiva adição de reagente sendo que poderia obter um resultado consideravelmente melhor e com menor uso, colaborando assim com o meio ambiente.

Para este ensaio foi realizado os testes com volumes variando de 500; 1000; 1500 e 2000 µL, adicionadas em triplicadas as amostras previamente pesadas (5 g) aquecidas a 70 °C e adicionado 5 mL de xileno posteriormente submetida a injeção rápida da solução dispersor (n-propanol, na proporção de 70:30% v.v⁻¹) e extrator (HNO₃ 1,0 mol.L⁻¹, v.v⁻¹), variando-se os volumes adicionados. Posteriormente as amostras foram submetidas à agitação no vórtex por 1 min e posteriormente levadas a centrifugação por 10 min. Os resultados obtidos podem ser observados na figura 7.

Figura 7. Testes de recuperação para avaliação do volume de Solução Extratora

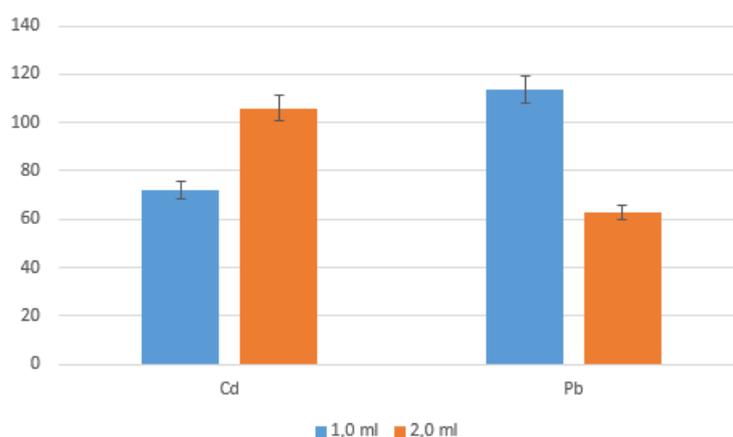


Condições: massa da Amostra: 5 g; adição de xileno: 5 mL; dispersor: n-Propanol; Proporção com variação; Concentração de HNO_3 : 1 mol.L^{-1} ; Volume de Solução: variando de 0,5 a 2,0 mL; Temperatura da Amostra: $70 \text{ }^\circ\text{C}$; Agitação por vórtex: 1min; Centrifugação: 10 minutos. As barras de erros representam desvio padrão ($n=3$).

Fonte: Autoria própria (2021)

Considerando as recuperações obtidas para Cd apontou-se um melhor resultado para a condição de adição de 2 mL já para o elemento de Pb a melhor condição foi obtida inserindo 1 mL. Para retirar a dúvida existente entre os valores de 1 e 2 mL, foi realizado um novo teste com estes parâmetros os quais estão apresentados na figura 8.

Figura 8. Testes de recuperação para avaliação do volume de Solução Extratora entre 1 e 2 mL.



Condições: massa da Amostra: 5 g; adição de xileno: 5 mL; dispersor: n-Propanol; Proporção com variação; Concentração de HNO_3 : 1 mol.L^{-1} ; Volume de Solução: variando de 1,0 e 2,0 mL; Temperatura da Amostra: $70 \text{ }^\circ\text{C}$; Agitação por vórtex: 1min; Centrifugação: 10 min. As barras de erros representam desvio padrão ($n=3$).

Fonte: Autoria própria (2021)

Repetindo-se o teste, os resultados não se diferenciaram dos já obtidos, porém a discrepância das porcentagens recuperadas para o metal de Pb entre 1 e 2 mL

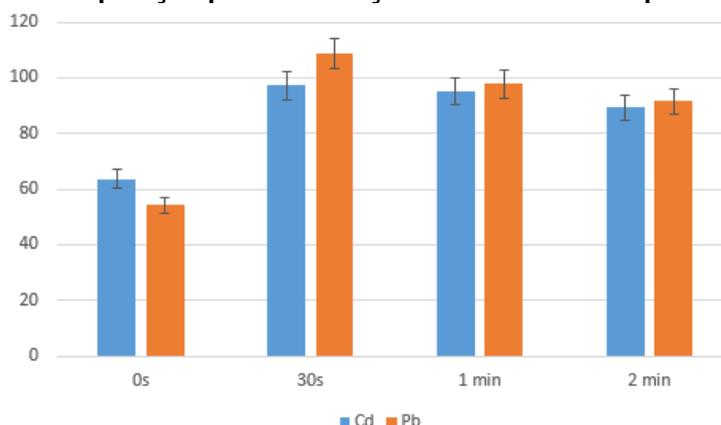
diferente do encontrado para os resultados de Cd, portanto foi escolhido o volume de 1000 μL a fim de satisfazer ambos os elementos.

5.1.5 Tempo de agitação no vórtex

A agitação é um fator necessário pois ela é responsável por promover e colaborar com uma maior interação entre os solventes e a amostra, este parâmetro é empregado no método da RP- DLLME após injetar a solução dispersor/extrator e sendo realizada de forma manual. Porém como já previsto em alguns trabalhos como o de determinação de Cu e Fe em óleos isolantes (WENDT, 2021), analisou-se o uso de agitação mecânica por vórtex, com o intuito de garantir maior homogeneidade e repetibilidade na forma e intensidade de agitação.

Para esta avaliação, verificou-se a influência do tempo de agitação sendo considerado os tempos de 0; 30; 60 e 120 s. Para este ensaio, as amostras foram pesadas em triplicatas, onde posteriormente foram aquecidas a 70 °C e submetidas à injeção rápida de 1 mL da solução extrator (HNO_3 1,0 mol L^{-1} (30%, (v.v⁻¹)) e dispersor (n-propanol (70%, (v.v⁻¹)), e então foram submetidas a agitação. Em seguida, as amostras foram levadas para a centrifugação por 10 min. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 9.

Figura 9. Ensaio de recuperação para a avaliação de diferentes tempos de agitação no vórtex.



Condições: 10 g de amostra; 5 mL de xileno; 70% de dispersor n-propanol; 30% de extrator HNO_3 a 1,0 mol. L^{-1} ; 1,0 mL da solução dispersor/extrator; aquecimento a 70 °C; diferentes tempos de agitação no vórtex (0 a 2 min); centrifugação em 10 min. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).

Fonte: Autoria própria (2021)

Como esperado o resultado para ambos os elementos com a condição sem agitação não foram eficientes. Contudo para a agitação acima de 30 s se mostraram com resultados satisfatórios de recuperação de ambos os analitos, dentro da faixa estabelecida pelo INMETRO (2020) (80 a 120%).

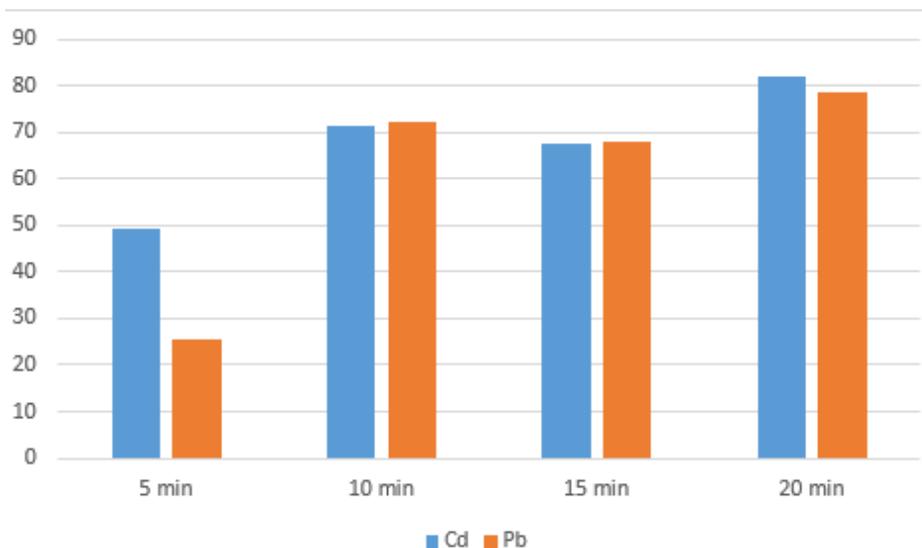
Contudo, em busca da melhor eficiência de recuperação os resultados com agitação da amostra por 1,0 min para ambos os elementos apresentaram resultados próximos entre si, com recuperação de 95% para Cádmio e 97% para Chumbo, sendo esta a condição adotada para análises posteriores por estarem próximas de 100% e satisfazerem ambos os elementos. Porém as determinações ocorridas com a agitação da amostra, por 0,5; 1,0 ou 2,0 min, já possuem resultados satisfatório o que quer dizer que pode ser utilizado ainda como condição de parâmetro.

5.1.6 Tempo de banho de ultrassom

Tendo como base os parâmetros utilizados em trabalhos que empregam o método por RP-DLLME o ensaio de banho de ultrassom também foi realizado com a finalidade de avaliar a sua influência nos resultados de recuperação bem como na exatidão da extração.

As amostras de gordura foram pesadas e aquecidas a 70 °C e adicionado o solvente xileno. Logo em seguida submetidas a injeção rápida da mistura contendo o extrator (HNO_3 1 mol.L⁻¹ (30%, (v.v⁻¹)) e dispersor (n-propanol (80%, (v.v⁻¹)) em seguida foram submetidas o banho de ultrassom, pulando a etapa de agitação mecânica. Neste momento as amostras foram encaminhadas a quatro procedimentos diferentes, todos com temperatura de 70 °C: uso do banho de ultrassom (37 kHz), por 5, 10, 15 e 20min, após foram encaminhadas a 10 min de centrifugação. Os resultados estão mostrados na Figura 10.

Figura 10. Efeito do uso de ultrassom na recuperação de Cd e Pb



Condições: 10 g de amostra; 5mL de xileno; 70% de dispersor n-propanol; 30% de extrator HNO₃ a 1,0 mol L⁻¹; 1,0 mL da solução dispersor/extrator; aquecimento a 70 °C;). Diferentes tempos de banho de ultrassom; centrifugação em 10 min. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).

Fonte: Autoria própria (2021)

Como pode ser observado há uma significativa diferença entre os ensaios com a variação do tempo de uso de ultrassom para todos os analitos estudados. E em ambos os elementos, os melhores resultados foram obtidos quando utilizado durante 20 min. Em uma revisão feita por Andruch *et al.*, (2013), foi relatado o uso do ultrassom em procedimentos de microextração e enfatiza ainda a sua influência positiva no que diz respeito ao seu resultado empregado no uso da extração. “Porém, até o momento não há estudos para avaliar a influência do uso de ultrassom empregando RP-DLLME” (LOURENÇO, 2016). Com base nos resultados obtidos, e considerando que a agitação por vórtex contribuiu para um bom resultado, os ensaios posteriores foram realizados sem o uso de ultrassom.

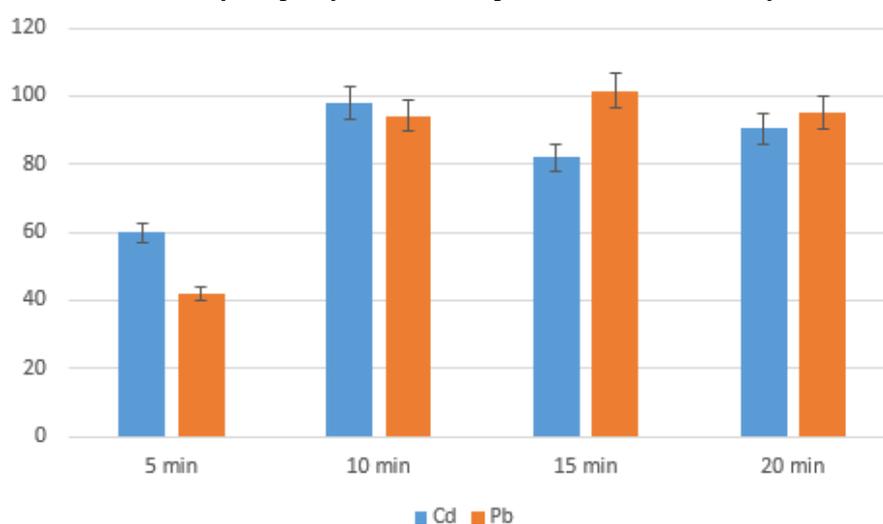
5.1.7 Tempo de centrifugação

O uso da centrifugação é empregado para auxiliar na separação por completa da fase orgânica, pelo movimento de rotação e com o princípio da densidade, as partículas mais densas se sedimentam no fundo do recipiente, o que neste caso ocorre com a fase aquosa da amostra, aquela que carrega os analitos de interesse. Para este procedimento a centrifugação foi incorporada ao método com intuito de

diminuir o tempo de processamento das amostras garantindo a separação completa das fases e a recuperação eficiente dos analitos.

Os tempos de centrifugação analisados foram de 5, 10, 15 e 20 min com as condições de rotação de 6000 rpm, aceleração de 30 s e frenagem de 30 s a uma temperatura de 25 °C. Neste processo as amostras foram pesadas e aquecidas a 60°C, inseriu-se o solvente Xileno e então injetou-se a solução dispersor (n-propanol (70%, (v.v⁻¹)) e extrator (HNO₃ 1,0 mol.L⁻¹ (30%, (v.v⁻¹))), em seguida as amostras foram submetidas a agitação no vórtex por 1 min, seguida de centrifugação. Os resultados dos ensaios de recuperação podem ser observados na Figura 11.

Figura 11. Ensaios de recuperação para a avaliação de diferentes tempos de centrifugação



Condições: 10 g de amostra; 5mL de xileno; 70% de dispersor n-propanol; 30% de extrator HNO₃ a 1,0 mol.L⁻¹; 1,0 mL da solução dispersor/extrator; aquecimento a 70 °C; Agitação no vórtex por 1 min; centrifugação entre 5 a 20 min. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).

Fonte: Autoria própria (2021)

Conforme os resultados ilustrados na Figura 10, o preparo de amostras gordura suína para a recuperação de Cd e Pb com o baixo uso da centrifugação (5 min) resulta em uma baixa recuperação e extração dos analitos, sendo este o menor resultado de recuperação dentre as condições testadas, o que mostra a importância da separação completa das fases, com a sedimentação total dos analitos na fase aquosa. Com isso, “pode-se afirmar que o tempo de centrifugação tem grande influência na recuperação de metais em amostras oleosas” (WENDT, 2021) o que já era previsto na literatura. Segundo Lourenço *et al.*, (2019) o tempo e a velocidade de centrifugação, quando

aplicados em preparo de amostra por RP-DLLME, podem variar de acordo com a amostra, o analito e os solventes utilizados na extração.

Analisando, portanto, os resultados obtidos, pode-se concluir que as recuperações nos tempos de 10 a 20 min apresentam resultados satisfatórios, desta forma essas condições podem ser utilizadas para a determinação de Cd e Pb. Porém optou-se pelo uso de 10 min como padrão, pois tendo em vista sua boa recuperação e relacionando o tempo que o procedimento levaria para ser concluído, este seria o mais adequado.

5.2 Condições para aplicação de RP-DLLME em gordura suína

Tendo em vista todos os ensaios realizados, as condições consideradas como ideais ficaram definidas para a aplicação do procedimento de RP-DLLME em amostras de gordura suína para posterior determinação de Cd e Pb. Dentre os parâmetros estudados neste presente trabalho, as melhores condições estão expressas na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros definidos para RP- DLLME de Gordura Suína para Determinação de Cd e Pb

Parâmetro	Condição
Massa da amostra	5 g
Volume de xileno	5 mL
Proporção de Dispensor/Extrator	70:30 (v.v ⁻¹)
Dispensor	n-Propanol - 700µL
Extrator	HNO ₃ , 1,0 mol.L ⁻¹ -300µL
Volume de dispensor/extrator	1000 µL
Tempo de agitação por Vórtex	1 min
Tempo de ultrassom	20 min
Centrifugação	10 min

Fonte: Autoria própria (2021)

Os Limites de Detecção (LD) e Limites de Quantificação (LQ) instrumentais discriminados na tabela 3, levaram em consideração a média dos brancos das amostras nas análises dos dois metais (n=10) conforme INMETRO, 2020. Para a preparação dos brancos foi utilizada 1 mL de solução extratora e aferindo a 4 mL com água ultrapura, seguindo os mesmos procedimentos utilizados nas amostras.

A frequência analítica para o método proposto é de 12 amostras por hora, desde sua pesagem até a sua análise, uma vez que a centrífuga utilizada comporta apenas 12 tubos de 15 mL e isso acaba prolongando o tempo de preparo.

Tabela 3. Parâmetros dos limites de Detecção e Quantificação Instrumentais

Metais	LD ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.g}^{-1}$)
Pb	0,03	0,09
Cd	0,02	0,06

Fonte: Autoria própria (2021)

Para avaliar a calibração e a faixa linear, a calibração foi feita de maneira externa com a utilização de soluções padrão com concentrações variadas. As soluções padrões foram preparadas com água ultrapura HNO_3 0,5% v.v⁻¹. Todos os valores da faixa linear foram detectados no equipamento por sinal de absorvância e relacionados com a concentração dos analito e por fim criando a curva de calibração e representada pelo coeficiente de correlação linear (R^2), conforme tabela 4.

Tabela 4. Coeficiente de Correlação Linear, Equação da reta e faixa linear para Pb e Cd.

Analito	Equação da reta	R^2	Faixa linear, mg.L^{-1}
Pb	$y = 0,0212x + 0,0008$	0,9948	0,1 - 2,0
Cd	$y = 0,2371x + 0,011$	0,9973	0,1 - 2,0

Fonte: Autoria própria (2021)

5.3 Resultados encontrados

Durante os procedimentos realizados para os testes de recuperação dos analitos e tendo em vista também os parâmetros estabelecidos pela Anvisa (2013), em relação a concentração dos mesmos em gordura suína, pode-se dizer que a amostra trabalhada estava dentro das condições, pois as mesmas se encontravam abaixo do limite de detecção ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) pré-estabelecida na curva de calibração, sendo assim, para quantificar a real concentração dos analitos, necessita-se o uso de procedimentos e equipamentos mais sensíveis.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método que foi utilizado e desenvolvido no presente trabalho é destacado pela sua simplicidade nas etapas de execução, bem como a rapidez e o baixo uso de reagentes como também as baixas concentrações destes, o que acarreta em um viés verde e consciente perante o meio ambiente considerando que também reduz a produção de resíduos.

Com este estudo, portanto, foi possível desenvolver um novo método de preparo de amostras utilizando como matriz a gordura suína a fim de quantificar e determinar metais pesados em especial os elementos de Cádmio e Chumbo utilizando como método a RP-DLLME com auxílio de determinação por F AAS.

Esse método vem a contribuir com as análises necessárias a serem realizadas com a matriz de banha, material este muito utilizada na indústria alimentícia humana e animal. Os elementos determinados se encontra em níveis traços onde o método pode ser empregado pode quantificar os mesmos.

O preparo do método por RP-DLLME foi otimizado, utilizando 5 g de amostra, aquecimento em banho maria a 70 °C por 20 min, adição de 5ml de solução de Xileno, injeção da solução extratora, contendo 70% de agente dispersor (n-propanol) e 30% de agente extrator (HNO_3 1,0 mol.L⁻¹, v.v⁻¹), seguido da agitação mecânica em vórtex por 1 minuto e centrifugação por 10 minutos. Este procedimento proporcionou resultados eficientes de recuperação de Cd e Pb em amostras de gordura suína.

Para uma etapa posterior e este estudo, pode ser sugerido a comparação de recuperação deste método com outro método como o ICP-MS, a fim de verificar a eficácia do método. Outro ponto a ser destacado é aplicar o método com vários tipos diferentes de amostras, procurando abranger as formas de produção colonial e industrial de múltiplas marcas de banha para a analisar os possíveis índices de metais encontrados, assim como também utilizar gordura já usada para verificar a proporção de indicativos da matriz.

REFERÊNCIAS

ALTUNAY, N.; ELIK, A.; GURKAN, R. Innovative and practical deep eutectic solvent based vortex assisted microextraction procedure for separation and preconcentration of low levels of arsenic and antimony from sample matrix prior to analysis by hydride Generation-atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 293, p. 378-386, 2019.

ANDRUCH, V.; BURDEL, M.; KOCÚROVÁ, L.; ŠANDREJOVÁ, J.; BALOGH, I. S.; Application of ultrasonic irradiation and vortex agitation in solvent microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 1-19, 2013

ANVISA (Agência Nacional De Vigilância Sanitária). RESOLUÇÃO A - RDC Nº 88, DE 29 DE JUNHO DE 2016. **Regulamento técnico sobre materiais, embalagens e equipamentos celulósicos destinados a entrar em contato com alimentos**. Diário Oficial da União, 30 de Junho de 2016.

ANVISA (Agência Nacional De Vigilância Sanitária). Resolução da diretoria Colegiada – RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013. **Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos**. Diário Oficial da União, 30 de agosto de 2013.

AURESCO, V. G. T. **Determinação dos metais cobre, cádmio e chumbo em suplementos de óleo de peixe – omêga-3**. TCC (Graduação em Licenciatura em Química) – UTFPR- Campo Mourão. 2019.

Banha suína é mais saudável que óleos vegetais? Alegria foods, 2019. Disponível em: <https://www.alegrafoods.com.br/banha-suina-e-saudavel-oleos-vegetais/> . Acesso em 8 novembro 2021.

BARELA, P. S.; SILVA, N. A.; PEREIRA, J. S. F.; MARQUES, J. C.; RODRIGUES, L. F.; MORAES, D. P.; **Microwave-assisted digestion using diluted nitric acid for further trace elements determination in biodiesel by SF-ICP-MS**, Fuel, Volume 204, 2017, Pages 85-90, ISSN 0016-2361, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.05.028>

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. L. **Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal**. Nutri- time. Disponível em: https://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigosBK/Artigo04_bellaver.pdf . Acesso em 8 novembro 2021.

COINTER (Congresso Internacional das Ciências Agrárias). **Tecnologia e produção artesanal de banha e torresmo**. PDVAgro 201, 4ªed, 2019. Disponível em: <https://cointer.institutoidv.org/inscricao/pdvagro/uploadsAnais2020/TECNOLOGIA-E-PRODU%C3%87%C3%83O-ARTESANAL-DE-BANHA-E-TORRESMO-.pdf> . Acesso em: 30 outubro 2021.

DIB, C. C.; MATOS, G. M.; TERÇARIOL, S. G. **A intoxicação por chumbo como patologia do trabalho**: revisão de literatura. FISIOSALE, 2017. Disponível em: <https://fisiosale.com.br/assets/a-intoxica%C3%A7%C3%A3o-por-chumbo-como->

[patologia-do-trabalho-revis%C3%A3o-de-literatura..pdf](#) . Acesso em: 29 outubro 2021.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) **Gordura animal**. Agroenergia. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1om7kf02wyiv802hvm3jholyyoom.html>. Acesso em 8 novembro 2021.

FLYNN, A. **Minerals and trace elements in milk**. Advances in Food and Nutrition Research, v. 36, p. 209 - 252, 1992.

Food Ingredients Brasil. Os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa em alimentos. Revista-fi, n. 29, p. 38-45, 2014.

HIND, A. **An Introduction to Optical Spectroscopy: Atomic spectroscopy**. 2011. Disponível em: https://www.agilent.com/labs/features/2011_101_spectroscopy.html. Acesso em: 08 novembro 2021.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia). **Toxicidade dos metais**. Brasília: INMETRO, 2014. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/Efeitos-toxicol%C3%B3gicos-dos-metais-c%C3%A1dmio-e-chumbo_Dra-Maria-de-F%C3%A1tima.pdf . Acesso em 08 novembro 2021.

INMETRO. **Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos – DOQ-CGCRE-008**, revisão 09, junho 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. p.1020, 2008.

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 a Green Sample Preparation Method for Multielement Determination in Fish Oil by ICP-OES. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 230-237, 2019.

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 Níquel in Hydrogenated vegetable fat. **Talanta**, v. 208, p. 120409, 2020.

LOURENÇO, E. C. **Desenvolvimento de métodos empregando microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para determinação de Na, K, Ca e Mg em biodiesel**. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.

LOURENÇO, E. C.; EYNG, E.; BITTENCOURT, P. R. S.; DUARTE, F. A.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. 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, 2019.

MACIEL, R.; **Uso de óleos e gorduras nas rações**. UFLA- Departamento de Zootecnia. 2009. Disponível em: https://dzo.ufla.br/Roberto/uso_oleos_gorduras.pdf. Acesso em: 29 outubro 2021.

MACK, T. T. A. D.; SOUZA, R. G. D. **Controvérsias acerca do consumo e produção de banha suína**. CIEA- UnB, 2019. Disponível em: https://www.ciea.com.ar/web/CIEA2019/doc/29-V/11_MACK---Thaliane-Dias.pdf . Acesso em 30 outubro 2021.

MANZINI, F. F.; SÁ, K. B. D.; PLICAS, L. M. D. A.; Metais pesados: fonte e ação toxicológica. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 6, n. 12, p. 800-815, 2010.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C.; Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publica**, v.15, n. 2, p.119-29, 2004.

OLIVEIRA, A. Os fatos que trouxeram a banha de porco de volta às prateleiras. Gessulli Agribusiness ©. 2019. Disponível em: <https://www.suinculturaindustrial.com.br/imprensa/os-fatos-que-trouxeram-a-banha-de-porco-de-volta-as-prateleiras/20190821-102935-l861> . Acesso em 30 outubro 2021.

PARDI, M. C., SANTOS, I. F. dos, SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne** (2nd ed.). UFG, 2001.

PEÑUELA-SIERRA, L. M.; CASTAÑEDA-SERRANO R. D.; SANMIGUEL, R. A. **Ácidos graxos poliinsaturados e ácido linoléico conjugado na carne suína. Benefícios para a saúde humana: Revisão**. PubVet. Maringá, v. 9, n. 7, p. 337-347, 2015.

REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. I. B.; óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, n. 27, p. 60-67, 2007.

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

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2342-2357. 2010.

SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R.; HOLLER, F. J. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª Edição. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SOLÀ-ORIOU, D. **Banha de porco**. Comunidade Profissional Suinícola. 2020. Disponível em: https://www.3tres3.com.pt/artigos/banha-de-porco_13527/ . Acesso em 7 novembro 2021.

SOUZA, N. F.; **Avaliação da estabilidade de óleos e gorduras**. 2018. 56 f. TCC (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Mato Grosso,

Campus Universitário do Araguaia, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Barra do Garças, 2018.

TAKASHIMA, G. M. D. S. **Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa para a determinação de cobre, cromo e níquel em biodiesel por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. 2017. 69 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2017.

WENDT, J. F. DE B. **Emprego da microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa (RP-DLLME) para posterior determinação de Cu e Fe em óleos isolantes por FAAS: uma abordagem verde para preparo de amostras**. Medianeira – UTFPR, 2021.

ZGOTA-GRZESKOWIAK, A.; GRZESKOWIAK, T. Dispersive liquid-liquid microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1382-1399, 2011.