

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**DETERMINAÇÃO MULTI-ELEMENTAR EM AMOSTRAS DE
ÓLEO VEGETAL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO
ÓPTICA COM PLASMA INDUZIDO POR MICRO-ONDAS
(MIP OES)**

ANGÉLICA FAGUNDES CARNEIRO

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JULHO - 2019

**DETERMINAÇÃO MULTI-ELEMENTAR EM AMOSTRAS DE
ÓLEO VEGETAL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO
ÓPTICA COM PLASMA INDUZIDO POR MICRO-ONDAS
(MIP OES)**

ANGÉLICA FAGUNDES CARNEIRO

Nutricionista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2013

Dissertação de mestrado acadêmico
apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Agrárias da Universidade
Federal do Recôncavo da Bahia.
(Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JULHO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

C298d	<p>Carneiro, Angélica Fagundes Determinação multi-elementar em amostras de óleo vegetal por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) / Angélica Fagundes Carneiro. _ Cruz das Almas, BA, 2019. 87.; il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Ciência Animal.</p> <p>1. Óleo Vegetal 2. Indústria 3. Óleo Vegetal Comestível. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 665.3</p>
-------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO

**DETERMINAÇÃO MULTI-ELEMENTAR EM AMOSTRAS DE ÓLEO
VEGETAL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM
PLASMA INDUZIDO POR MICRO-ONDAS (MIP OES)**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ANGÉLICA FAGUNDES CARNEIRO**

Realizada em 26 de julho de 2019

Professor Dr. Fabio de Souza Dias
Universidade Federal da Bahia – UFBA
Examinador interno (Orientador)

Professora Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Examinador interno

Professor Dr. Sivanildo da Silva Borges
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Examinador Externo

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO	6
1.1 Óleos vegetais comestíveis	6
1.2 Contaminação de óleos vegetais	7
1.3 Técnicas analíticas	8
1.4 Preparo de amostras	11
1.5 Técnicas de otimização	13
ARTIGO 1 OTIMIZAÇÃO DE PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA EXTRAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM AMOSTRAS DE ÓLEOS VEGETAIS ATRAVÉS DE QUEBRA DE EMULSÃO E DETERMINAÇÃO POR MIP OES ¹	27
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE A	61
ARTIGO 2 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE AMOSTRAS DE ÓLEOS VEGETAIS ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO POR QUEBRA DE EMULSÃO E DETERMINAÇÃO POR MIP OES ²	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXO 1	85

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Óleos vegetais comestíveis

Óleo vegetal comestível é definido como produtos compostos principalmente por triglicerídeos de ácidos graxos, refinados a partir de processos tecnológicos apropriados e adquiridos exclusivamente de matéria-prima vegetal. É permitido conter pequenas quantidades de outros lipídios como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres que estão espontaneamente presentes nos óleos vegetais (BRASIL, 2006).

A produção e o consumo de óleos vegetais têm crescido consideravelmente no decorrer dos últimos anos, de acordo com especialistas da OCDE (Organization for Economic Co-Operation and Development) e da FAO (Food and Agriculture Organization) a produção de óleos vegetais per capita se elevará em 1,5% ao ano comparando-se ao período de 2013 a 2015, sendo que a produção global aumentará em mais de 40 toneladas em 2025 (OCDE-FAO, 2016). Os óleos vegetais são aproveitados para além de fins alimentícios, sendo muito utilizados na indústria, como matéria-prima para os mais diversos tipos de produtos: cosméticos, fármacos, inseticidas, sabões, tintas, vernizes, lubrificantes e outros (DUGO et al., 2004; KUMAR, SHARMA, UPADHYAYA, 2016).

Os óleos vegetais são compostos sobretudo por triacilgliceróis (> 95 %) e pequenas quantidades de mono e diacilgliceróis (LEHNINGER e NIELSON, 1995). A produção do óleo vegetal é realizada por meio de métodos físicos e químicos (técnicas de prensagem e solvente como extrator) utilizando as sementes e/ou polpas de oleaginosas (MORETTO et al., 2002). Ao final da prensagem obtém-se dois produtos: um subproduto conhecido como torta que abrange a parte sólida, resultante da prensagem e o óleo bruto que, em sua composição, pode apresentar partículas sólidas advindas da técnica de prensagem. Após esse processo, o óleo bruto é encaminhado para a filtração e em seguida para a etapa de purificação e a torta é submetida ao processo de extração por solvente (RAMALHO e SUAREZ, 2013).

Na extração por solvente o subproduto é colocado em contato com o solvente para que ocorra a transferência do óleo da fase sólida para a fase líquida (PERRY

e CHILTON, 1986). O solvente mais utilizado nesse procedimento é o hexano por apresentar baixo ponto de ebulição e reduzir a decomposição do óleo, ao mesmo tempo que possui desvantagens em relação a inflamabilidade e alto custo (RAMALHO e SUAREZ, 2013). A partir desse processo, o extrato final pode ser submetido à filtração ou centrifugação para a retirada de partículas sólidas, através de uma etapa complementar de evaporação que promove a remoção do solvente (GEANKOPLIS, 2003).

As técnicas mais modernas e sofisticadas (extração mecânica por prensas contínuas) para produção de óleos em grande escala são usadas nas indústrias nos dias atuais, entretanto apesar de toda tecnologia existente, em alguns lugares do mundo ainda se utiliza procedimentos rudimentares de extração por prensagem movida a tração animal (RAMALHO e SUAREZ, 2013).

A nutrição humana é beneficiada pelas características dos óleos vegetais que são considerados boas fontes de energia, auxiliam no transporte de vitaminas lipossolúveis, contribuem na redução das taxas de colesterol LDL (ZHU et al., 2011), desempenham papel importante durante o crescimento, desenvolvimento embrionário humano e na função cerebral (KUMAR, SHARMA, UPADHYAYA, 2016). Seus efeitos são importantes na prevenção terapêutica e profilática de doenças crônicas, visto que protegem o organismo da ação oxidativa de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que degradam lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (SZYD OWSKA-CZERNIAK et al., 2008; RAMADAN e MOERSEL, 2006).

1.2 Contaminação de óleos vegetais

A contaminação do solo representa riscos potenciais para a saúde humana. Os poluentes podem ameaçar a segurança alimentar e nutricional além de poder gerar danos ao ecossistema (LEE et al., 2013). A presença de alguns elementos traço em óleos vegetais pode estar associada com os mecanismos de produção e extração, com a aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes na agricultura, exposição ambiental e em falhas no armazenamento (ZHU et al., 2011).

Conforme Klotz et al., (2003) dependendo do nível de exposição, alguns elementos desempenham importantes tarefas no sistema biológico. Nesse sentido, os elementos são classificados em dois grupos, sendo eles: essenciais, que são

indispensáveis para a saúde humana tais como, cobre, zinco e cromo (Cr^{3+}), e os não essenciais que de acordo com Nfon et al., (2009) são tóxicos mesmo em níveis de baixa exposição tais como chumbo, cádmio e alumínio.

Oligoelementos essenciais como selênio, manganês, zinco e cobre possuem papéis fundamentais nas reações enzimáticas, vias de sinalização, resposta imunológica e na estruturação proteica das células. Alterações fisiológicas, morfológicas e funcionais estão correlacionadas com as deficiências e as superexposições, aspectos que favorecem a incidência e a gravidade de muitas doenças (BORNHORST et al., 2017).

Os elementos tóxicos podem provocar intoxicação de forma crônica ou aguda, sendo que a maioria deles possui alta afinidade com o grupo sulfidril e inibe mais de duzentas reações enzimáticas no sistema biológico (JAN et al., 2015). A exposição de maneira prolongada aos metais tóxicos leva à toxicidade em vários órgãos do corpo humano, causando hepatonefrotoxicidade e neurotoxicidade como afirmaram Caito e Aschner (2015). A exposição aos metais tóxicos causa inibição da função da membrana celular, agravos à respiração e a síntese proteica, rupturas genéticas, danos oxidativos e, em se tratando das plantas, ocorre inibição da fotossíntese e prejuízos em relação à absorção de água e nutrientes (BERNAL et al., 2007).

Visando um maior critério de qualidade e uma importante manutenção das características sensoriais dos óleos como o frescor, sabor e estabilidade, bem como um bom armazenamento e benefícios à saúde humana, é relevante a determinação de elementos tóxicos em amostras de óleos comestíveis, pois podem apresentar efeitos deletérios sobre as características como sabor e estabilidade oxidativa dos óleos comestíveis (BURGUERA e BURGUERA, 2012).

1.3 Técnicas analíticas

O desenvolvimento de métodos analíticos eficientes e precisos que promovam a determinação de metais traço em amostras de óleos comestíveis é de grande relevância, pois favorece um melhor controle de qualidade desses produtos. Contudo, a determinação de metais se configura como um grande desafio devido à

baixa concentração de alguns elementos e a complexidade das amostras (BURGUERA e BURGUERA, 2012; HOSSEINI, 2015).

Muitas técnicas analíticas são empregadas na determinação de metais em óleos, dentre as quais pode-se mencionar a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), Espectrometria de Emissão Óptica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) (CHAVES et al., 2011; LIORENT-MARTÍNEZ et al., 2011; BARRIENTOS et al., 2016).

Bakircioglu, Toprakasever e Kutulus (2014) determinaram zinco em amostras de óleos vegetais usando como técnica de preparo de amostras a quebra de emulsão por F AAS. Ainda, Cabrera-Vique, Bouzas e Oliveras-López (2012) conseguiram bons resultados na determinação de Cu, Cr, Fe, Mn e N em amostras de azeite de oliva usando a técnica analítica de espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS).

A espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado é uma técnica que utiliza uma fonte de excitação de plasma de argônio à alta temperatura (7.000 - 10.000 K) e promove uma excitação dos íons que por sua vez emitem radiação em comprimentos de onda característicos (SKOOG et al., 2008). Em trabalho utilizando ICP OES, De Souza et al., (2005) determinaram Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Mn em azeite de oliva, óleo de soja, margarina e manteiga obtendo boa sensibilidade para todos os elementos com boas recuperações (entre 91,3% e 105,5%) e limite de detecção para óleos ($0,9 - 10 \text{ ng g}^{-1}$) e gorduras ($3,3 - 36 \text{ ng g}^{-1}$).

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado é uma técnica muito utilizada para determinação simultânea de mais de 70 elementos. Essa técnica analítica se baseia na detecção por meio da razão carga/massa, esses são formados no plasma e introduzidos no analisador de massa (SKOOG et al., 2008). He et al. (2014) determinaram Mg, Mn, Fe, Zn, Ag, Ba, Pb e Cr utilizando ICP-MS em óleos vegetais comestíveis, por meio de extração induzida por quebra de emulsão e obtiveram os limites de detecção e quantificação para Mg, Mn, Fe, Zn, Ag, Ba, Pb e Cr de $0,004$ a $0,271 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,013$ a $0,903 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas foi lançada comercialmente no ano de 2011 e utiliza um magnetron como fonte de excitação, sendo o seu baixo custo operacional um fator atrativo para popularizar a técnica (WEI et al., 2013). A técnica gera um plasma de nitrogênio magneticamente excitado que diminui ainda mais os custos operacionais. O sistema de introdução de amostras utilizado para esta aplicação consiste em um nebulizador OneNeb, uma tocha de quartzo de alta precisão e sensibilidade, além de um detector de estado sólido CCD (DRVODELIC e CAUDURO, 2013).

O MIP OES é preciso e confiável, sendo uma boa alternativa em relação a outras técnicas como F AAS e ICP OES. Essa técnica apresenta algumas vantagens em relação ao F AAS que é normalmente utilizado, abrangendo melhores limites de detecção, menor custo operacional, análise multi-elementar, eliminação de gases inflamáveis como, por exemplo, acetileno e óxido nitroso, dentre outros (DRVODELIC e CAUDURO, 2013).

Amais et al. (2013) utilizaram MIP OES para determinar silício em amostras de diesel e biodiesel obtendo limites de detecção variando entre 5 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os desvios padrão relativos (RSD) inferiores a 2% em todos os casos. Em conformidade, Willians et al. (2017) determinaram Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn em uma variedade de amostras como queijo, manteiga, pasta de amendoim, fórmula infantil e biodiesel, obtendo limites de detecção de 2, 20, 30, 0,6, 2 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Karlsson, Sjöberg e Ogar (2015) fizeram uma comparação entre análises de oligoelementos presentes em girassol (*Helianthus annuus*) digeridos em ácido nítrico por espectroscopia de emissão atômica com plasma de microondas (MP AES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Este trabalho evidenciou que a digestão do material vegetal é uma matriz adequada para determinação de metais por MIP OES e que para os metais principais (Ca, K, Mg, Na), metais litogênicos (Al, Fe, Mn) e metais traço (As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V, Zn) houve uma alta correspondência pelo ICP-MS, exceto para As, Co e Mo devido ao fato de apresentarem concentrações abaixo do limite de detecção para o MIP OES

1.4 Preparo de amostras

Em se tratando de amostras de óleo, é um grande desafio minimizar o elevado teor de matéria orgânica, assim como lidar com as características específicas da matriz como a viscosidade, imiscibilidade em água e reduzidas concentrações dos analitos (NUNES et al., 2011).

A etapa de preparo de amostra se configura como uma fase crítica dentre as operações analíticas. Pois, de forma geral, a etapa em que acontece a maioria dos erros, levando-se mais tempo e maiores gastos. O tratamento da amostra essencialmente deve ser simples, rápido, usar pequenos volumes de ácidos, proporcionar uma aplicabilidade em um grande número de amostras e permitir resultados precisos e exatos (DUTRA et al., 2004).

Diferentes métodos de preparo de amostras podem ser usados para determinar metais traço em óleos, como por exemplo, digestão ácida (ZHU et al., 2011), simples diluição (LIENEMANN et al., 2007) e extração ácida (NASCENTES, KORN, ARRUDA, 2001) e quebra de emulsão (CASTRO, 2015).

A digestão ácida é realizada a partir do uso de ácidos inorgânicos normalmente sob aquecimento usando energia térmica ou por micro-ondas (LIORENT- MARTÍNEZ et al., 2011). O procedimento de preparo de amostra por via úmida possui como principal vantagem a compatibilidade entre a solução final e as técnicas analíticas. Entretanto, em relação às desvantagens, para sistemas abertos, é uma técnica lenta que necessita de muitas horas de aquecimento, exige grande quantidade de reagentes, produz vapores tóxicos e promove a perda de analitos voláteis.

A técnica de digestão de amostras por micro-ondas pode ser realizada por meio de frascos abertos ou fechados. Uma das vantagens dessa técnica quando comparada com os métodos tradicionais que utilizam chama ou placa de aquecimento é a velocidade do procedimento. O sistema fechado pode alcançar pressões e temperaturas mais elevadas em relação ao sistema aberto, o que se configura uma vantagem desse sistema (SKOOG et al., 2008). As principais desvantagens para a técnica de digestão de amostras por micro-ondas são limitações com a massa de amostra devido ao volume dos recipientes e risco de explosão (SOUSA et al., 2015).

Dentre outras formas de preparo de amostras está a quebra da emulsão, que é definida pela perda da estrutura química da mistura, bem como das suas propriedades físico-químicas de forma irreparável (CASTRO, 2015). A emulsão é um sistema formado a partir de duas fases líquidas imiscíveis em que se adiciona um surfactante, formando uma mistura heterogênea com baixa estabilidade, visto que após um tempo ocorre a separação de fases novamente (Figura 1) (HELLWEG e EIMER, 1998; TRINDADE et al., 2006).

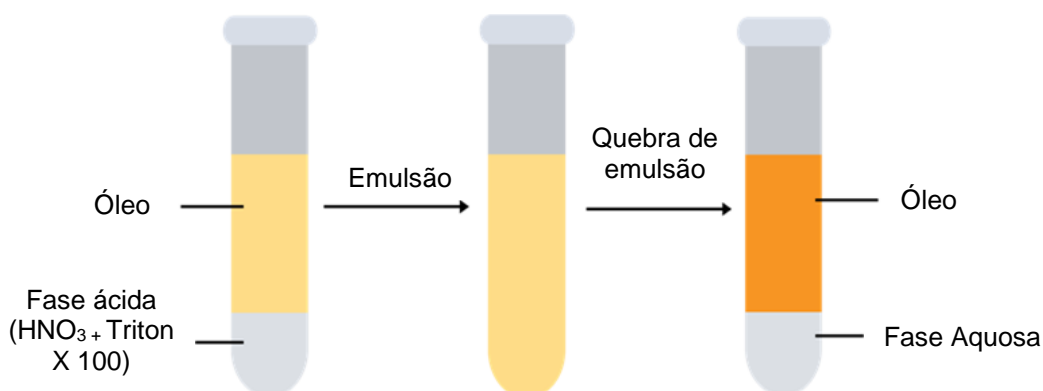


Figura 1- Esquema do procedimento apresentado para pré-concentração e extração dos metais traço em amostras de óleo vegetal.

A emulsificação das amostras representa uma alternativa interessante para a modificação de matrizes complexas e possui vantagens como, por exemplo, mínimo de manipulação da amostra o que reduz os riscos de contaminação, não há perdas de analitos por volatilização, necessita de baixo consumo de reagente, viabiliza o uso de padrões aquosos para calibração e é uma técnica rápida quando comparada aos demais métodos de digestão de amostras (AMAIS et al., 2012).

A quebra de emulsão abrange fenômenos importantes como, por exemplo, floculação, “creaming”, sedimentação e coalescência, demonstrado na Figura 2. A floculação é um aglomerado de gotas, caracterizando um empacotamento, entretanto é possível reconhecer as gotas, pois não ocorre perda de identidade, dessa maneira a floculação representa uma formação de agregados de gotas que a depender da situação podem sedimentar rapidamente ou se as condições foram favoráveis as gotas podem sofrer coalescência aumentando de tamanho (CASTRO, 2015).

Uma das maneiras de aumentar a velocidade de sedimentação é por meio do aquecimento da emulsão, visto que a temperatura elevada promove redução da viscosidade do óleo e a sua maior expansão, fato que faz aumentar a diferença entre as densidades das fases (CASTRO, 2015).

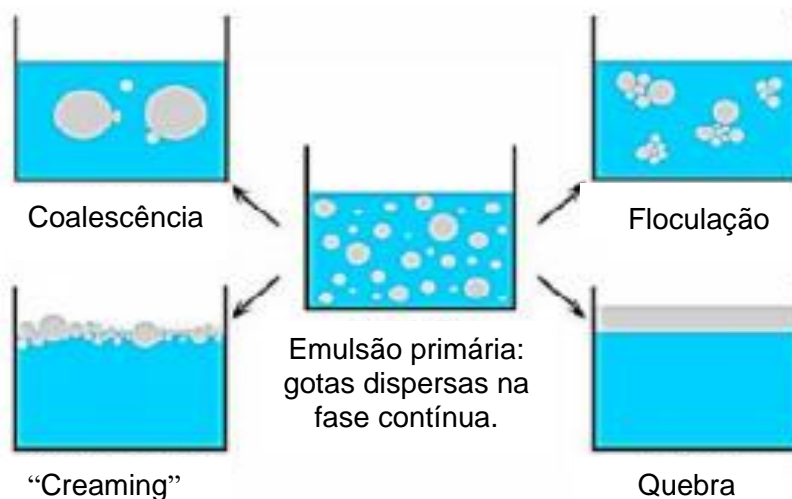


Figura 2 - Processo de Coalescência, Creaming, Floculação e Quebra de emulsão (TADROS, 2004).

Casella et al. (2018) estudaram os parâmetros experimentais que afetam a extração induzida pela quebra de emulsão. Avaliaram a influência de vários tipos e concentrações de surfactantes, assim como dois tipos de ácidos em concentrações distintas (HCl e HNO₃) utilizados para extrair As, Cr, Cu, Mn, Pb e V de óleo mineral enriquecido. Em todos os experimentos a quebra da emulsão ocorreu por aquecimento a 90 °C em um banho termostático. Os resultados obtidos mostraram boa eficiência da técnica empregada para extração de metais.

1.5 Técnicas de otimização

Em grande parte dos procedimentos analíticos são utilizadas técnicas de otimização que são empregadas com o objetivo de melhorar as características de um método ou sistema, de modo a aprimorar a sua eficiência, a fim de possibilitar a determinação dos analitos em diversas amostras (FERREIRA et al., 2002; BEZERRA, 2008).

As técnicas de otimização normalmente são executadas pelo monitoramento de um único fator e observa-se a provável influência sobre uma resposta experimental, o que designa uma otimização univariada, ou seja, apenas um fator é alterado e os demais são mantidos constantes, sendo a influência de cada variável avaliada separadamente. Essa metodologia de otimização é classificada por ter resultados de mais fácil interpretação, contudo possui eficiência baixa, pois requer, na maioria das vezes um grande número de experimentos o que leva a um consumo maior de tempo e material. Além disso, essa técnica reduz a probabilidade de encontrar valores ótimos, visto que os parâmetros não são avaliados simultaneamente (LUNDSTEDT et al., 1998 ; FERREIRA et al., 2002 ; FERREIRA et al., 2007).

Em contrapartida, as técnicas de otimização multivariadas têm sido cada vez mais aprimoradas, visto que possuem vantagens tais como a redução do número de experimentos, e a menor utilização de reagentes e melhor aproveitamento de tempo. Essas técnicas têm como fundamento o desenvolvimento de modelos matemáticos que possibilitam avaliar a significância estatística da interação entre os fatores, assim como o efeito de forma individual. A partir da significância dos fatores, as condições ótimas são determinadas, o que promove maior confiabilidade dos dados (LUNDSTEDT et al., 1998; FERREIRA et al., 2007).

Segundo Novaes et al. (2018) o uso correlacionado de planejamentos de misturas e metodologia de superfície de respostas ainda é pouco utilizado quando se trata da otimização de algumas fases do método analítico que objetiva definir as melhores condições de um procedimento. Contudo, Sahin, Demirtas e Burnak (2016) afirmaram a necessidade de considerar alguns fatores para a escolha apropriada de um planejamento de mistura tais como: o número de variáveis e as interações entre elas; a complexidade de cada planejamento; os custos; a modelagem dos dados e a validação estatística.

Modelos de misturas ternárias são muito usados pelas vantagens que apresentam, dentre elas a simplicidade de interpretação gráfica. A figura geométrica que representa um planejamento de mistura contendo três componentes é apresentado por um triângulo equilátero onde os pontos que se encontram nos vértices designam os componentes puros, os pontos localizados nos lados representam a mistura entre dois componentes (mistura binária) e os pontos que se

encontram no interior do triângulo caracterizam misturas em que os três componentes estão presentes (FERREIRA et al., 2007), conforme está apresentado na Figura 3 (a).

Em alguns casos, se faz necessário o emprego de “modalidade” específica de planejamento de mistura. A utilização de um planejamento de mistura com restrição ocorre por razões que irão depender do sistema a ser otimizado, visto que em alguns momentos, por motivos práticos, o domínio experimental deve ser limitado. Esse fato pode ocorrer conforme a necessidade da presença de todos os componentes para a formação de um determinado produto ou material e ainda para que a mistura demonstre o efeito de interesse. Logo, manifesta-se a importância de determinar limites inferiores e/ou limites superiores de cada componente que irá formar essa mistura. Os limites definidos irão estabelecer um novo planejamento que representará uma fração do campo experimental inicial sem permitir que o estudo perca a eficiência e a aplicabilidade, como apresentado na Figura 3 (b)

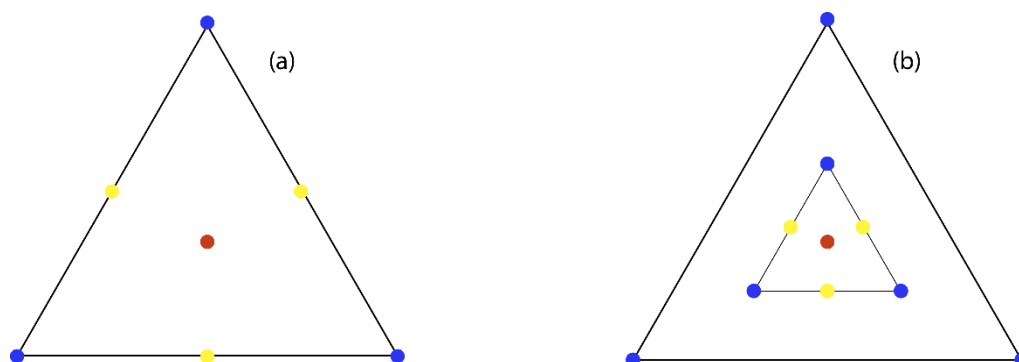


Figura 3 – Planejamento de mistura com três componentes (a); Planejamento de mistura com restrição (b).

(MASSART et al., 1997; CALADO e MONTGOMERY et al., 2003; BARROS NETO et al., 2010).

Carvalho et al. (2013) propôs um trabalho com planejamento de mistura com restrição para biodiesel objetivando avaliar e otimizar a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja quando misturado com diferentes quantidades de biodiesel de sebo e mamona. Obteve-se o melhor resultado na seguinte composição: soja a 82,5% (v / v), sebo a 7,5% (v / v) e mamona a 10,0% (v / v).

Um outro desenho experimental de misturas com restrição é o planejamento de D-optimal. Este planejamento ainda é muito pouco explorado para a otimização

de procedimentos químicos (ESBENSEN, 2001). O D-optimal é essencialmente utilizado quando ocorre mistura de componentes, sendo o número de experimentos especificado. Esse planejamento é adequado para se usar quando tem um grande número de amostras, quando a área experimental é irregular ou não simétrica (DE AGUIAR et al., 1995), como demonstrado na Figura 4.

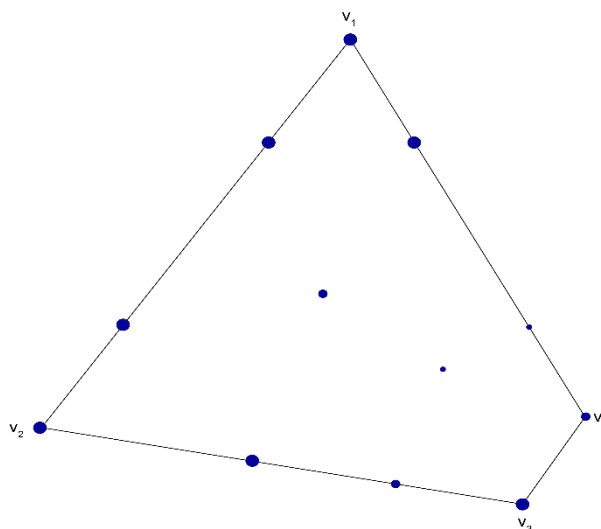


Figura 4 – Desenho experimental de misturas com restrição (D-Optimal).

Cortazar et al. (2005) utilizaram um planejamento de mistura D-optimal para otimizar a extração assistida por micro-ondas de nonilfenóis (NP), mono- e dietoxilatos de nonilfenol (NP1EO e NP2EO, respectivamente) e ésteres de ftalato. Obtiveram resultados para a extração ótima destes compostos com uma pressão intermediária (159 kPa), metanol puro com duração de 15 minutos.

Em um processo de otimização pode ocorrer uma situação na qual tem-se mais de uma condição ou resposta a ser maximizada ou minimizada. Então no ano de 1980, Derringer e Suich desenvolveram um método para otimizar múltiplas respostas chamado desejabilidade. É uma função conveniência cujo objetivo é encontrar uma condição que contemple todas as respostas envolvidas no processo alcançando um valor desejável (DERRINGER e SUICH, 1980; NOVAES et al., 2017).

A função desejabilidade é baseada na construção de uma resposta individual (desejabilidade individual, d_i), gerando por fim uma função de desejabilidade global (D), isso é, após obter os valores para as respostas estes são associados a um único número. As respostas são valores parciais e variam de 0 a 1, o valor 0 (zero)

caracteriza uma resposta inaceitável, ao mesmo tempo que 1 determina o valor mais aceitável (FERREIRA, 2007). Uma vez especificadas as funções de desejabilidade (d_i) para todas as respostas, a desejabilidade global (D) é obtida pela média geométrica de todas as desejabilidades individuais, conforme a equação a seguir, onde m é número de respostas estudadas no processo de otimização:

$$D = \sqrt[m]{d_1 d_2 \dots d_m}$$

De acordo com Derringer e Suich (1980) quando se pretende obter os maiores resultados de uma resposta deve-se utilizar a fórmula de transformação que está apresentada na Equação 1b. As funções de desejabilidade parciais consistem basicamente em estabelecer valores mínimo, máximo e um valor alvo para a resposta considerada, (y_i^{\min}), (y_i^{\max}), (y^{alvo}), respectivamente.

A desejabilidade que requer maximização é descrita assumindo que acima do valor alvo, qualquer valor é satisfatório (desejabilidade máxima) e que abaixo do limite inferior (y_i^{\min}) qualquer resposta é inaceitável, como está representada pelas condições 1a e 1c. Já a desejabilidade de funções que requerem minimização, o valor alvo deve coincidir com o valor mínimo e valores abaixo do valor alvo são satisfatórios. Valores acima do valor limite superior (y_i^{\max}) são completamente inaceitáveis. Esta situação é descrita nas condições 2a e 2c.

$$d = 0 \text{ se } \hat{y}_i < y_i^{\min} \quad (1a)$$

$$d = \left(\frac{\hat{y}_i - y_i^{\min}}{y^{\text{alvo}} - y_i^{\min}} \right) \text{ se } y_i^{\min} \leq \hat{y}_i \leq y^{\text{alvo}} \quad (1b)$$

$$d = 1 \text{ se } \hat{y}_i > y^{\text{alvo}} \quad (1c)$$

$$d = 1 \text{ se } \hat{y}_i < y^{\text{alvo}} \quad (2a)$$

$$d = \left(\frac{\hat{y}_i - y_i^{\max}}{y^{\text{alvo}} - y_i^{\max}} \right) \quad (2b)$$

$$d = 0 \text{ se } \hat{y}_i > y_i^{max} \quad (2c)$$

Pages et al. (2006) usaram um planejamento de misturas e função desejabilidade na otimização da proporção de metanol, solução tampão e acetato de etila na fase extratora para procedimento de otimização utilizando cromatografia líquida de fase reversa (RPLC) de naftodiantronas no extrato de erva de São João (*Hypericum Perforatum*). A melhor composição da mistura ternária foi determinada por um desenho abrangendo três variáveis de mistura.

REFERÊNCIAS

- AMAI, R. S.; DONATI, G. L.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. A simple dilute-and-shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 318-322, 2013.
- AMAI, R. S.; GARCIA, E. E.; MONTEIRO, M. R.; NÓBREGA, J. A. Determination of Ca, Mg, and Zn in biodiesel microemulsions by FAAS using discrete nebulization. **Fuel**, v. 93, p. 167-171, 2012.
- BAKIRCIOGLU, D. B.; TOPRAKSERVER, N.; KURTULUS, Y. B. Determination of zinc in edible oils by flow injection F AAS after extraction induced by emulsion breaking procedure. **Food Chemistry**, v. 151, p. 219- 224, 2014.
- BARRIENTOS, E. Y.; WROBEL, K.; TORRES GUZMAN, J. C.; CORRALES ESCOBOSA, A. R.; AND WROB, K. Determination of SeMet and Se (IV) in biofortified yeast by ion-pair reversed phase liquid chromatography-hydride generation-microwave induced nitrogen plasma atomic emission spectrometry (HPLC-HG-MP-AES). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, Cambridge, v.31, n.1, p.203–211, 2016.
- BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E.; Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria, 4a. ed., **Bookman**: Porto Alegre, 2010.
- BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, n. 76, p. 965, 2008.
- BORNHORST, J.; KIPP, A. P.; HAASE, H.; MEYER, S.; SCHWERDTLE, T. The crux of inept biomarkers for risks and benefits of trace elements. **TRAC Trends in Analytical Chemistry**, 2017.
- BRASIL, Instrução normativa MAPA nº 49, 22 de dezembro de 2006. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Seção 1, p. 140 – 141.

BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Analytical applications of emulsions and microemulsions. **Talanta**, n. 96, p.11- 20, 2012.

CABRERA-VIQUE, C.; BOUZAS, P. R.; OLIVERAS-LÓPEZ, M. J. Determination of trace elements in extra virgin olive oils: A pilot study on the geographical characterization. **Food Chemistry**, v. 134, p. 434-439, 2012.

CAITO, S.; ASCHNER, M. Neurotoxicity of metals. In: Handbook of clinical neurology. **Elsevier**, p.169-189, 2015.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D.; Planejamento de experimentos usando o statistica, 1a. ed., **E-papers**: Rio de Janeiro, 2003.

CARVALHO, A. L.; SANTANA, S. M. F.; SILVA, C. S.; PEPE I. M.; BEZERRA M. A.; ARAGÃO, L. M.; QUINTELLA, C. M.; TEIXEIRA, L. S. G. Evaluation of the oxidative stability of biodiesel blends from soybean, tallow and castor bean using experimental mixture design. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 8, p. 1373-1379, 2013.

CASSELLA, R. J.; BRUM, D. M.; ROBAINA, N. F.; LIMA, C. F. Extraction induced by emulsion breaking: A model study on metal extraction from mineral oil. **Fuel**, v. 215, p. 592-600, 2018.

CASTRO, R. M. L. de. Emulsão: uma revisão bibliográfica. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://www.maxwell.vrac.puc-cio.br/17051/17051_3.PDF> Acesso em: 02 junho 2018.

CHAVES, E. S.; LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; CURTIUS, A. J.; FRANK, V. Determination of trace elements in biodiesel and vegetable oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry following alcohol dilution. **Spectrochimica Acta B**, v. 66, p. 733-739, 2011.

CORTAZAR, E.; BARTOLOMÉ, L.; DELGADO, A.; ETXEBARRIA, N.; FERNANDEZ, L. A.; USOBIAGA, A.; ZULOAGA, O. Optimisation of microwave-assisted extraction for the determination of nonylphenols and phthalate esters in

sediment samples and comparison with pressurised solvent extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 534, n. 2, p. 247-254, 2005.

DE AGUIAR, P. F.; BOURGUIGNON, B.; KHOTS, M. S.; MASSART, D. L.; PHAN-THAN-LUU, R. D-optimal designs. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 30, n. 2, p. 199-210, 1995.

DE SOUZA, R. M.; MATHIAS, B. M.; DA SILVEIRA, C. L. P.; AUCÉLIO, R. Q. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry for trace multi-element determination in vegetable oils, margarine and butter after stabilization with propan-1-ol and water. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 5, p. 711-715, 2005.

DERRINGER, G; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of quality technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DRVODELIC, N.; CAUDURO, J. Determination of metals in wine using the Agilent 4100 Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer. **Application Note for Agilent 4100 Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer**. Mulgrave, Australia, 2013.

DUGO, G.; LAPERA, L.; LATORRE, G.; GIUFFRIDA, D. Determination of Cd (II), Cu (II), Pb (II), and Zn (II) content in commercial vegetable oils using derivative potentiometric stripping analysis. **Food Chemistry**, v. 87, p. 639-645, 2004.

DUTRA, M. J. A.; SANTOS, D. M.; COELHO, N. M. M. Comparação de procedimentos analíticos para preparo de amostras para determinação de cálcio e magnésio em leite. **Revista Analytica**, nº 12, p. 36-40, 2004.

ESBENSEN, K.H. *Multivariate Data Analysis-in Practice*, 5th ed., CAMO Process AS, Oslo, 2001.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; DA SILVA, E. G. P.; DOS SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; DAVID, J. M.; DE ANDRADE, J. B.; BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C. S. F.; BARROS NETO, B. Statistical designs and response surface

techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A**, p. 1158, v. 2, 2007.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E. G. P.; Portugal, L. A.; Reis, P. S.; Souza, A. S.; Santos, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, n. 597, p. 179, 2007.

FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, H. C.; FERNANDES, M. S.; CARVALHO, M. S. J. **Anal. At. Spectrom**, n. 17, p. 115, 2002.

GEANKOPLIS, C. J. Transport processes and separations process principles. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2003.

HE, Y. M.; CHEN, J. J.; ZHOU, Y.; WANG, X. J.; LIU, X. Y. Extraction induced by emulsion breaking for trace multi-element determination in edible vegetable oils by ICP-MS. **Analytical Methods**, v. 6, n. 14, p. 5105-5111, 2014.

HELLWEG, T.; EIMER, W.; **Colloid. Surf. A**. p. 136, 1998.

HOSSEINI, M.; HEYDARI, R.; ALIMORADI, M. Reversed-phase vortexassisted liquid-liquid microextraction: A new sample preparation method for the determination of amygdalin in oil and kernel samples. **Journal Separation Science**, v. 38, n. 4, p. 663-669, 2015.

JAN, A.; AZAM, M.; SIDDIQUI, K.; ALI, A.; CHOI, I.; HAQ, Q. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 12, p. 29592-29630, 2015.

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

KLOTZ, L-O., KRÖNCKE, K. D., BUCHCZYK, D. P.; SIES, H. Role of Copper, Zinc, Selenium and Tellurium in the Cellular Defense. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1448-1451, 2003.

KUMAR, A.; SHARMA, A.; C UPADHYAYA, K. Vegetable oil: nutritional and industrial perspective. **Current genomics**, v. 17, n. 3, p. 230-240, 2016.

LEE, S. S., LIM, J. E., EL-AZEEM, S. A. M. A., CHOI, B., OH, S.-E.; OK, Y. S. Heavy metal immobilization in soil near abandoned mines using eggshell waste and rapeseed residue. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 1719–1726, 2013.

LEHNINGER, A.; NIELSON, D.L.; COX, M.M. **Bioquímica**, 3.ed. New York: Worth Publisher, 1995. 1152p.

LIENEMANN, C.P.; DREYFUS. S.; PECHEYRAN, C. and DONARD, O.F.X. Trace Metal Analysis in Petroleum Products: Sample Introduction Evaluation in ICP-OES and Comparison with an ICP-MS Approach. **Oil & Gas Science and Technology**, v.62, p. 69 -77, 2007.

LIENEMANN, C.P.; Oil Gas Sci Technol. **Rev. IFP**. n° 6, v° 60, p. 951, 2005.

LIORENT-MARTÍNEZ, E.J.; ORTEGA-BARRALES, P.; FERNÁNDEZ-DECÓRDOVA, M. L.; DOMÍNGUEZ-VIDAL, A.; RUÍZ-MEDINA, A. Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1257-1262, 2011.

LUNDSTEDT, T.; SEIFERT, E.; ABRAMO, L.; THELIN, B.; NYSTROM, A.; PETTERSEN, J.; BERGMAN, R. Experimental design and optimization. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**. v. 42, p. 1-2, 1998.

MASSART, D. L.; VANEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, J. M. C.; JONG, S.; LEWIS, P. J.; SMEYERS-VERBERKE. J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics**, 1st ed., Part A, vol. 20B, Elsevier: Amsterdam, 1997.

MORETTO, E. **Introdução à Ciência de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 2002. 255p.

NASCENTES, C.C.; KORN, M.; ARRUDA, M.A.Z. A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables. **Microchemical Journal**, v. 69, n. 1, p. 37-43, 2001.

NFON, E., COUSINS, I. T., JÄRVINEN, O., MUKHERJEE, A. B., VERTA, M.; BROMAN, D. Trophodynamics of mercury and other trace elements in a pelagic food chain from the Baltic Sea. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 6267- 6274, 2009.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; DE PAULA, V. F.; JÚNIOR, B. B. N.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; DE ALMEIDA BEZERRA, M. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies de Resposta-Parte II: Variáveis de Mistura. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 2, 2018.

NUNES, L. S.; BARBOSA, J. T. P.; FERNANDES, A. P.; LEMOS, V. A., DOS SANTOS, W. N. L.; KORN, M. G. A.; TEIXEIRA, L. S. G. Multi-element determination of Cu, Fe, Ni and Zn content in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. **Food Chemistry**, v. 127, p. 780-783, 2011.

OECD-FAO. (2016). OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025: Special Focus: Sub-Saharan Africa.

PAGES, G.; MAZARIN, M.; SERGENT, M.; PHAN- TAN-LUU, R.; DELAURENT, C. Optimization of the assay of naphthodianthrones in dry St John's wort extract by reversed-phase liquid chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, n. 4, p. 716-723, 2006.

PERRY, R. H.; CHILTON, C. H. Manual de engenharia química. 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1986.

RAMADAN, M. F, MOERSEL, J.T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. **Journal of Food Compostion and Analysis**. V. 19, p.838-42, 2006.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. **Revista Virtual de química**, v. 5, n. 1, p. 2-15, 2012.

SAHIN, Y. B.; DEMIRTAS, E. A.; BURNAK, N. Mixture designs: a review of recent applications in the food industry. Pamukkale University Muhendislik Bilimleri Dergisi, v. 22, p. 297, 2016.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, 8 ed, São Paulo: Thomson, 2008.

SOUSA, R. A. de; CAMPOS, N. da S.; ORLANDO, R. Preparação de amostras para análise elementar. Juiz de Fora: **Departamento de Química**, Uffj, p. 12, 2015.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK, A.; KARLOVITS, G.; DIANOCZKI, C.; RECSEG, K.; SZŁYK, E. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, n. 2, p. 141-149, 2008.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 108-109, 227-258, 2004.

TRINDADE, J. M.; MARQUES, A. L.; LOPES, G. S.; MARQUES, E. P.; ZHANG, J. Arsenic determination in gasoline by hydride generation atomic absorption spectroscopy combined with a factorial experimental design approach. **Fuel**, v. 85, n. 14-15, p. 2155-2161, 2006.

WEI, L.; PATRICK, S.; DOUG, S.; TIMOTHY J. H.; SUSIE Y. D.; Microwave plasma-atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta**, Amsterdam, v. 112, p. 43-48, 2013.

WILLIAMS, C. B.; WITTMANN, T. G.; MCSWEENEY, T.; ELLIOTT, P.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. Dry ashing and microwave-induced plasma optical emission

spectrometry as a fast and cost-effective strategy for trace element analysis. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 15-19, 2017.

ZHU, F.; FAN, W.; WANG, X.; QU, L.; YAO, S. Health risk assessment of eight heavy metals in nine varieties of edible vegetable oils consumed in China. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 3081-3085, 2011.

ARTIGO 1

OTIMIZAÇÃO DE PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA EXTRAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM AMOSTRAS DE ÓLEOS VEGETAIS ATRAVÉS DE QUEBRA DE EMULSÃO E DETERMINAÇÃO POR MIP OES ¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Talanta, em versão na língua inglesa.

Otimização de procedimento analítico para extração de elementos traço em amostras de óleos vegetais através de quebra de emulsão e determinação por MIP OES

Autora: Angélica Fagundes Carneiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

RESUMO: Este estudo propôs o desenvolvimento e otimização de um procedimento analítico para determinação de elementos traço (alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco) em amostras de óleos vegetais comestíveis, utilizando um processo de extração ácida por quebra de emulsão como método de preparação das amostras e determinação por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-Ondas (MIP OES). Para a otimização do método analítico foi utilizado um desenho experimental D-optimal no intuito de obter as melhores condições experimentais para a quebra de emulsão. As variáveis concentração HNO_3 (v/v), concentração de Triton X 100 (m/v) e a quantidade da amostra foram avaliadas de forma multivariada, obtendo a melhor eficiência de recuperação com 1 mL de HNO_3 , 1 mL de Triton-X 100 e 3 mL da amostra. A partir do método desenvolvido foi possível determinar (alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco) em amostras de óleos vegetais comestíveis com baixos limites de detecção e boa precisão.

Palavras-chave: óleos comestíveis, metais, D-optimal, extração induzida por quebra de emulsão.

Analytical procedure optimization for trace elements extraction in edible vegetable oil samples by emulsion braking and MIP OES determination

Author: Angélica Fagundes Carneiro

Advisor: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Abstract: This study proposed the development and optimization of an analytical procedure for trace elements determination (aluminum, barium, copper, chromium, phosphorus, nickel, titanium and zinc) in edible vegetable oils using an acid extraction process followed by emulsion breaking as a sample preparation method and determination by microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). For the analytical method optimization, a D-optimal experimental design was used in order to obtain the best experimental conditions for emulsion breaking. The concentrations for HNO₃ (v/v) and Triton X 100 (m/v) as well as the sample amount were evaluated in a multivariate manner, obtaining the best recovery efficiency with 1 mL of HNO₃, 1 mL of Triton-X 100 and 3 mL of the sample. It was possible to determine (aluminum, barium, copper, chromium, phosphorus, nickel, titanium and zinc) in edible vegetable oil samples with low detection limits and good precision, using the developed method in this paper.

Keywords: edible oils, metals, D-optimal, extraction induced by emulsion breaking.

1.INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais são de extrema importância para a nutrição humana, sendo amplamente consumidos em todo o mundo (BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009). De acordo com Burguera e Burguera (2011) determinar elementos traço em óleos vegetais é um processo de grande relevância em que se pode avaliar a sua qualidade, frescor, estabilidade, armazenamento e seus benefícios à saúde humana.

Os elementos traço se apresentam em baixas concentrações (frequentemente abaixo de 0,1%, cerca de 1000 mg kg⁻¹), são encontrados no solo, na água, no ar, nas plantas e animais. Insumos agrícolas podem ser fontes de contaminação do solo por elementos traço, entretanto alguns desses elementos são considerados essenciais como, por exemplo, Zn e Cr, enquanto que Cd, Pb e Hg não apresentam funções biológicas e são considerados tóxicos à saúde humana (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2001; BARKER e PILBEAM, 2007).

Sabe-se que os elementos traço em óleos vegetais podem ser oriundos de diversas fontes como, por exemplo, solo, genótipo da planta, atividades antropogênicas por meio do descarte de efluentes industriais, urbanos e agropecuários, falhas nas etapas de produção (refino, branqueamento e desodorização), contaminação por equipamentos, dentre outros (CAMARGO; ALLEONI e CASAGRANDE, 2001; JAMALI et al., 2008).

A avaliação da qualidade dos óleos, pode ser feita por meio da determinação de elementos traço, uma vez que a presença desses geram efeitos na taxa de oxidação e compromete a qualidade, as características e propriedades dos produtos (ANTHEMIDIS, ARVANITIDIS, STRATIS, 2005).

A determinação de elementos traço em óleos vegetais é um grande desafio em consequência da baixa concentração dos analitos e a complexidade da matriz. O preparo da amostra é uma etapa crítica, visto que o tempo investido para a execução do trabalho analítico é grande, além de contribuir para elevar os custos e, sobretudo, é nessa fase que a maioria dos erros aleatórios ocorrem (KRUG, 2008; LORENT-MARTINEZ et al., 2011; BARAN e YASAR, 2012).

Segundo Krug (2008) é de grande importância garantir que o sinal analítico na etapa de quantificação seja procedente exclusivamente da absorção ou emissão

atômica do elemento de interesse, estando livre de espécies interferentes. Para possibilitar a liberação do analito da matriz da amostra geralmente utiliza-se a digestão ácida como preparo da amostra. Entretanto esse procedimento demanda tempo e a depender do sistema (aberto ou fechado) não é possível determinar elementos como Ar, Se, Hg, Sb entre outros analitos voláteis.

O procedimento de quebra de emulsão é uma alternativa à digestão ácida para extração de analitos. São formadas a partir da mistura entre os líquidos constituintes, sendo o processo favorecido pela adição de um agente tensoativo (surfactante), que reduz a tensão superficial da água e promove a interação entre os líquidos imiscíveis. Geralmente as emulsões são instáveis voltando a apresentar duas fases: a aquosa contendo os analitos e a fase orgânica (óleo) (CASSELLA et al., 2010).

Para a determinação de elementos traços a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES) vem demonstrando eficiência em diversos tipos de amostras, tais como: solos, combustíveis, fertilizantes, alimentos, dentre outros (LI et al., 2013; DONATI et al., 2013; NHAM e TAYLOR, 2011).

Conforme Niedzielski et al. (2015) em comparação às técnicas tradicionais de ICP, a técnica MIP OES pode ser considerada favorável por oferecer baixo custo e boa operacionalização, assim como um adequado desempenho na detecção dos analitos. O uso do nitrogênio como gás de alimentação do plasma, oriundo do ar atmosférico, possibilitou a redução dos custos operacionais em comparação ao ICP OES.

A otimização de experimentos tem como finalidade melhorar e aperfeiçoar o desempenho de um sistema e/ou processo, a fim de obter as melhores condições de operacionalização. Dessa maneira, a otimização tem sido aplicada para determinar as condições ótimas na aplicação do método, resultando na melhor resposta possível, maior sensibilidade e melhores características analíticas (BEZERRA et al., 2008; NOVAES, 2017).

O desenho de mistura D-Optimal é aplicado em experimentos em que ocorre mistura de uma ou mais substâncias, e gera uma nova região experimental que se encontra em uma sub-região da área das proporções matematicamente possíveis. Possibilita a redução do número de pontos a serem avaliados no experimento e

garante que as proporções consideradas em cada ponto sejam estimadas de forma confiável, o que gera economia financeira e de tempo (PINTO e PEREIRA, 2007).

O presente estudo propôs o desenvolvimento de um procedimento analítico para determinação de elementos traço (alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio, zinco) em amostras de óleos vegetais comestíveis, utilizando um processo de extração ácida por quebra de emulsão como método de preparo das amostras e quantificação por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP OES).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização da amostra: Azeite de oliva

O azeite de oliva é um óleo comestível obtido do fruto da oliveira, por meio exclusivamente de procedimentos mecânicos ou meios físicos, entretanto só é permitido ser submetido a tratamentos como lavagem, decantação, centrifugação e filtração. Vale ressaltar que tratando-se do azeite de oliva, a extração é realizada sem uso de solventes químicos (BRASIL, 2005).

A amostra de azeite de oliva usada para otimização do método analítico foi produzida e envasada no Brasil (embalagem - lata), possui controle de qualidade e é reconhecida no mercado nacional desde o ano de 1942. A mesma foi adquirida no mercado local da cidade de Cruz das Almas- BA.

As características nutricionais da amostra estudada foram retiradas do rótulo do produto e estão demonstradas a seguir: porção de 13 mL (1 colher de sopa); 6,2g de gordura poli-insaturada; 1,9g de gordura saturada; 3,9g de gordura monoinsaturada; 108 kcal; não apresentou sódio, carboidratos, proteínas e fibras.

O método otimizado foi aplicado a uma segunda amostra de azeite de oliva produzida e envasada na Espanha (embalagem - garrafa) compreendendo características nutricionais conforme a embalagem: porção de 13 mL (1 colher de sopa); 12 g de gorduras totais, 108 kcal; não contém quantidades significativas de sódio, carboidratos, proteínas e fibras.

2.2 Reagentes e soluções

Uma solução padrão organometálica (conastan) de $50 \mu\text{g g}^{-1}$ contendo 20 elementos (Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Mn, Mg, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn) foi utilizada como solução padrão para calibração, sendo que as concentrações utilizadas nos experimentos foram preparadas por meio de diluição adequada a partir da solução padrão.

O Triton X 100 (Reagen) de concentração 30 % m/v usado para fins de emulsificação foram preparados dissolvendo massas adequadas em água ultrapura. O ácido nítrico empregado nos experimentos foi de grau analítico (Merck), concentração 30% v/v diluído em água ultrapura, obtida a partir de uma purificação de água Milli-Q Element A10 water purification System (Millipore, Bedford, MA, USA) que foi utilizada em todo o experimento.

2.3 Procedimento experimental

As emulsões foram formadas a partir de agitação manual com o objetivo de melhorar a extração dos analitos que em seguida foram submetidas a uma temperatura de 90°C em banho termostaticado (TE-056 mag - Tecnal) durante um intervalo de 20 minutos para separação das fases. Foram utilizados padrões aquosos para calibração do procedimento preparados a partir da diluição da solução padrão multi-elementar com adição de padrão interno (Berílio, Gálio e Ítrio).

Na Figura 1(a) é possível observar uma solução bifásica das substâncias, sendo 3 mL de azeite de oliva, 1 mL de HNO_3 e 1 mL de Triton X 100, na Figura 1 (b) nota-se a emulsão formada e na Figura 1(c) constata-se o resultado da quebra da emulsão por aquecimento. A fase ácida aquosa formada na parte inferior do tubo de ensaio após a quebra da emulsão foi transferida com o auxílio de uma micropipeta para um tubo de vidro com tampa, apropriado para pequenas quantidades de amostras e em seguida foram quantificadas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

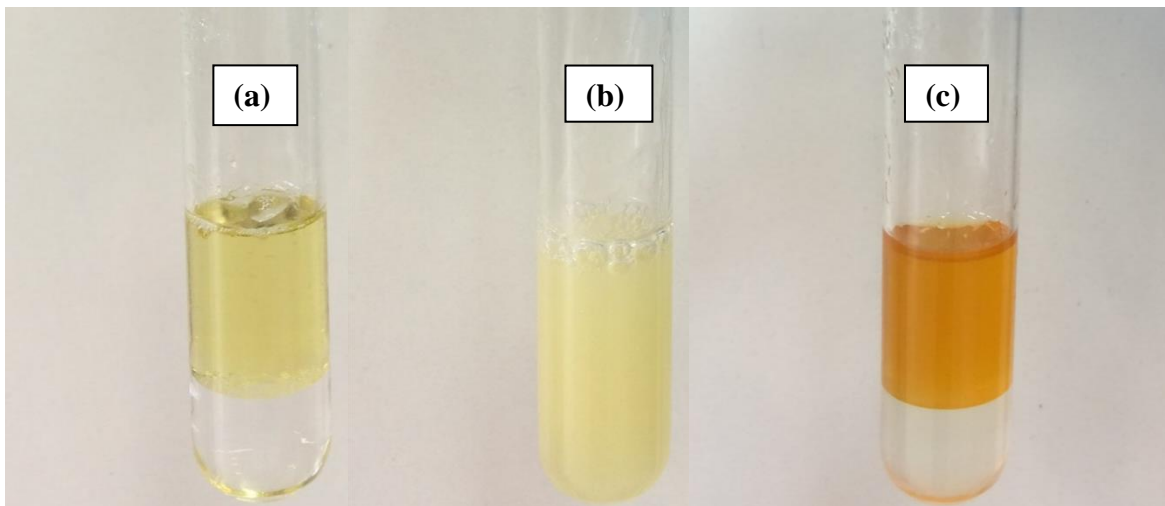


Figura 1 – 3 mL de azeite de oliva, 1 mL de HNO_3 e 1 mL de Triton X 100 (a); Emulsão formada (b); Quebra de emulsão por aquecimento, separação de fases, sendo a fase aquosa ácida na parte inferior do tubo de ensaio e fase orgânica na parte superior (c).

Com o objetivo de atestar a exatidão e comparar os resultados encontrados pelo método proposto, foi realizada uma digestão ácida assistida por micro-ondas como preparo de amostra, utilizando o azeite de oliva. Empregou-se uma metodologia adaptada de Cindric et al. (2007) e conforme o Cook Book do equipamento Anton Paar para Multiwave 3000 (5 mL de HNO_3 a 65%; 2 mL de H_2O_2 a 30%; 0,5g de azeite de oliva), equipado com 8 recipientes de quartzo de alta pressão, temperatura operacional máxima de 280°C e a pressão 8 MPa. Em seguida as amostras foram quantificadas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

2.5 Instrumentação

Para a quantificação dos analitos foi utilizado a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES, 4200, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) empregando nitrogênio proveniente do ar atmosférico como gás suporte para o plasma. As configurações operacionais do equipamento estão apresentadas na Tabela 1 (APÊNDICE A).

As leituras foram realizadas nos seguintes comprimentos de onda: linhas atômicas (I) – Al (396,152 nm), Cu (324,754 nm), Cr (425,433 nm), P (213,618 nm), Ni (352,454 nm), Zn (213,857 nm); linhas iônicas (II) – Ba (493,403 nm) e Ti (334,941 nm). Foi utilizada uma balança analítica (Bioscale) com sensibilidade mínima a 0,01 g e banho termostaticado (TE-056 mag - Tecnal).

2.6 Otimização das variáveis experimentais

No intuito de obter a resposta de maior extração dos elementos traços, três variáveis incluindo quantidade de HNO_3 , Triton X 100 e volume de azeite de oliva foram otimizadas. Aplicou-se um procedimento de otimização multivariada, usando o desenho experimental de misturas D-optimal e a recuperação de cada analito foi obtida como respostas. O desenho experimental de misturas D-optimal permite perceber não somente os efeitos principais como também os efeitos de interação entre as variáveis independentes no experimento.

Foram estabelecidos limites de volumes mínimos, médios e máximos para as variáveis estudadas, sendo respectivamente, HNO_3 (100, 550, 3000 μL), Triton X-100 (100, 550, 3000 μL) e amostra (3000, 3900, 4800 μL). Na Tabela 2 estão listados os 19 experimentos randomizados realizados em conformidade com o planejamento e suas respectivas condições experimentais para assegurar a independência dos resultados. A significância dos efeitos foi analisada através da análise de variância e ajustada a diferentes modelos matemáticos.

As melhores condições foram determinadas a partir da recuperação máxima para cada analito. Os experimentos de otimização foram realizados usando uma mistura de HNO_3 , Triton X 100 e azeite de oliva. Todas as análises estatísticas foram processadas no software STATISTICA versão 7.0.

Tabela 2 - Planejamento Experimental.

Experimentos	HNO₃ (μL)	Triton X 100 (μL)	Óleo vegetal (μL)
1	101	1000	3899
2	1000	1000	3000
3	1000	312	3688
4	594	100	4306
5	100	100	4800
6	735	786	3478
7	171	441	4389
8	1000	312	3688
9	550	550	3900
10	727	294	3978
11	399	1000	3601
12	550	550	3900
13	100	100	4800
14	101	1000	3899
15	594	100	4306
16	458	592	3950
17	550	550	3900
18	1000	751	3249
19	1000	1000	3000

As quantidades relativas dos solventes que compõe uma emulsão precisam ser consideradas com a finalidade de oferecer concomitantemente informações a respeito dos resultados pertinentes acerca da interação entre eles (DEJAEGER, 2011). Desse modo, os planejamentos de misturas permitem determinar e avaliar os efeitos dos componentes, visto que cada resposta está em função das proporções utilizadas (MONTGOMERY, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No intuito de obter a melhor composição de mistura e uma maior extração dos analitos, o sistema foi constituído por uma combinação de ácido nítrico, surfactante (Triton X 100) e amostra com restrição (azeite de oliva).

Na Tabela 3 estão os resultados das concentrações como a resposta analítica para os analitos estudados nos 19 experimentos gerados a partir do desenho experimental de misturas D-optimal.

O planejamento de misturas apresentou como proporção ideal (1 mL HNO₃, 1 mL Triton X 100 e 3 mL Azeite de oliva) que foi utilizada para a preparação da amostra com a finalidade de fornecer uma emulsão apropriada para em seguida realizar a introdução no instrumento analítico e quantificar simultaneamente oito analitos. O fato das emulsões apresentarem características semelhantes às soluções aquosas, tornou possível o uso de padrões aquosos para a calibração, evitando assim o uso de padrões mais caros como os padrões orgânicos (AZCARATE et al., 2019) que podem ocasionar, em alguns casos, problemas de reprodutibilidade (SOUZA, DA SILVEIRA, AUCELIO, 2004).

De forma geral, em um planejamento de mistura ocorre uma variação das respostas conforme a correlação das proporções de cada componente (AZCARATE et al., 2019), no desenho experimental em questão, todos os componentes da mistura estiveram presentes, alguns em proporções reduzidas, porém a soma deles caracterizou a unidade como um todo.

De acordo com Meira e Dias (2017) a aplicação de um planejamento de mistura com restrição para a extração de cádmio em amostras de sedimentos e água permitiu uma otimização rápida e eficiente das variáveis químicas, além de apresentar simplicidade operacional.

Tabela 3 - Desenho experimental D-otimal e concentração como resposta analítica.

Experimento	Componentes			Respostas							
	(A) HNO ₃	(B) Triton X-100 µl	(C) Amostra	Alumínio (Al)	Bário (Ba)	Cobre (Cu)	Cromo (Cr)	Fósforo (P) µg g ⁻¹	Níquel (Ni)	Titânio (Ti)	Zinco (Zn)
1	101,1	1000	3898,9	0,091787	<LQ	0,008091	0,000335	0,20036	0,780465	0,124884	0,159561
2	999,6	1000	3000,4	0,395077	<LQ	0,013741	0,005593	0,292796	0,15756	0,093260	<LQ
3	1000	312	3687,9	0,236222	0,001656	0,002978	<LQ	0,146398	0,049108	0,030958	0,096158
4	594	100	4305,9	0,136598	0,001073	0,000468	0,001047	0,062948	0,080423	0,039892	0,019636
5	100	100,2	4799,7	0,044127	0,002014	0,001962	0,000211	<LQ	0,096550	0,051012	0,056625
6	735,2	786,4	3478,4	<LQ	0,004488	0,010886	0,003622	0,386262	0,092282	0,076507	0,316243
7	170,7	440,7	4388,6	0,097803	0,001725	0,006029	0,000711	0,207068	0,278815	0,086170	0,155998
8	1000	312	3688	0,250981	0,003745	0,005070	0,003921	<LQ	0,058959	0,046897	0,155314
9	550	550	3900	0,195333	0,002180	0,005662	0,001795	0,191123	0,090145	0,059191	0,139516
10	727,5	294,1	3978,4	0,178832	0,002262	0,003450	0,002555	<LQ	0,027959	0,041347	0,127776

<LQ – menor que o limite de quantificação.

Continuação da tabela 3.

Tabela 3 - Desenho experimental D-optimal e concentração como resposta analítica.

Experimento	Componentes			Respostas							
	(A) HNO ₃	(B) Triton X-100	(C) Amostra	Alumínio (Al)	Bário (Ba)	Cobre (Cu)	Cromo (Cr)	Fósforo (P)	Níquel (Ni)	Titânio (Ti)	Zinco (Zn)
	μl			μg g ⁻¹							
11	399,4	1000	3600,6	0,139922	0,003602	<LQ	0,001476	0,202514	<LQ	0,096569	0,146692
12	550	550	3900	0,193827	0,003813	0,006801	0,002650	0,229499	0,116344	0,068810	0,171953
13	100	100,2	4799,8	0,043209	0,001104	0,001808	0,000242	0,120516	0,099660	0,051740	0,064714
14	101,1	1000	3898,9	0,097006	0,004071	0,007122	0,000413	0,261232	0,820429	0,113714	0,207525
15	594	100	4306	0,136598	0,001073	0,000468	0,001047	0,062948	0,080423	0,039892	0,019636
16	458,2	592,1	3949,7	0,181012	0,003657	0,009589	0,002321	0,202514	0,477783	0,102494	0,350151
17	550	550	3900	0,191141	0,003391	0,006446	0,002013	0,229499	0,465254	0,087664	0,301061
18	1000	750,7	3249,3	0,307219	0,004044	0,011312	0,005524	0,120516	0,119643	0,056732	0,372035
19	999,6	1000	3000,4	0,352419	<LQ	0,014285	0,005683	0,261232	0,125352	0,056969	0,902393

<LQ – menor que o limite de quantificação.

Na Figura 2 (a) e (b) são apresentados os gráficos de contorno e superfície de resposta (SR) para a mistura formada por diferentes proporções de amostra (azeite de oliva), Triton x-100 (30% m/v) e solução de ácido nítrico (30% v/v). A função desejabilidade global (D) apresentou um valor máximo de 0,806 para uma mistura composta por 1 mL HNO₃ (30% v/v), 1 mL Triton X 100 (30% m/v) e 3 mL de amostra (azeite de oliva). De acordo com o ajuste realizado, a desejabilidade obtida é altamente aceitável, levando em conta o grande número de respostas sendo simultaneamente otimizadas.

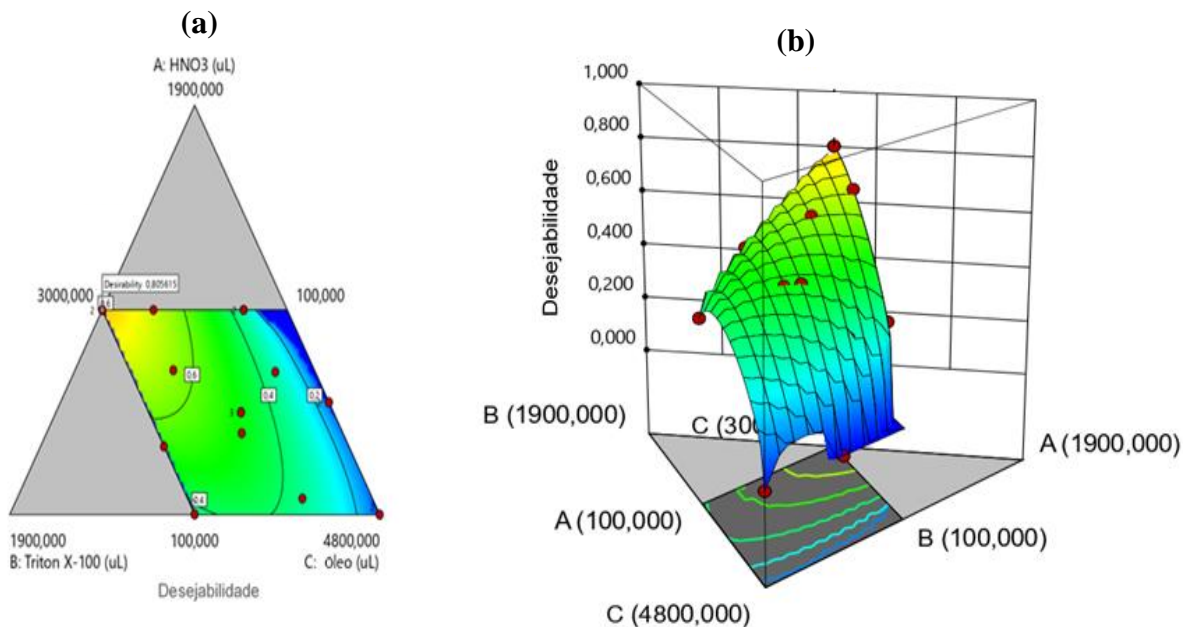


Figura 2 – Gráfico de contorno (a); Gráfico de Superfície de resposta em três dimensões (b).

A validação dos modelos foi realizada aplicando a ANOVA (Tabela 4). Cada resposta foi ajustada a um modelo único, sendo eles, especial cúbico, linear e quadrático, que melhor explicaram o comportamento de cada elemento extraído pela mistura triton X-100, ácido nítrico e amostra. Como pode ser observado na Tabela 4, a falta de ajuste para todos os modelos estudados não foi significativa ($p > 0,05$). Os valores R^2 ajustados (entre 0,7076 e 0,9882) indicam que os modelos podem explicar satisfatoriamente a variabilidade dos dados.

Tabela 4 - Avaliação do ajuste dos modelos matemáticos para cada resposta analítica e valores estatísticos a partir da ANOVA e regressão dos modelos selecionados.

Elemento	Modelo	Transformação	ANOVA p-valor		R ²
			Modelo	Falta de ajuste	
Al	Especial cubico	Nenhuma	0,0164	0,2091	0,9867
Ba	Linear	Nenhuma	0,003	0,8914	0,7076
Cu	Quadrático	Nenhuma	0,0005	0,0863	0,9642
Cr	Quadrático	Nenhuma	< 0,0001	0,629	0,9882
P	Quadrático	Inverso da raiz quadrada	0,012	0,7575	0,9091
Ni	Linear	Logaritmo na base 10	< 0,0001	0,3166	0,7199
Ti	Linear	Nenhuma	< 0,0001	0,7132	0,8268
Zn	Quadrático	Logaritmo na base 10	0,007	0,1891	0,9072

A função desejabilidade é utilizada na otimização de sistemas com mais de uma resposta possibilitando a otimização simultânea (GARCIA e PEREIRA-FILHO, 2015). Ballus et al. (2014) utilizaram a função desejabilidade para otimizar a separação de compostos fenólicos em azeite de oliva extravirgem, empregando os modelos para 37 respostas ao mesmo tempo, com objetivo de atingir as melhores condições experimentais. Ainda, Pinzi et al. (2018) aplicaram a função desejabilidade para otimizar simultaneamente as características da mistura de combustível constituída por óleo diesel, etanol e óleo de rícino e apresentou valores satisfatórios das propriedades físicas e químicas mais relevantes do combustível.

Cassella et al. (2010) utilizaram a quebra de emulsão como uma estratégia para extrair Cu, Fe, Ni e Pb a partir de óleo diesel baseando-se na formação de emulsões contendo surfactante, HNO₃ e óleo, em seguida aplicou-se a quebra de emulsão por aquecimento e obteve bons limites de detecção, utilizando a técnica analítica espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ET AAS).

De acordo com a IUPAC (2002) a validação de método analítico é essencial e imprescindível para garantir que o método desenvolvido esteja de acordo com padrões reconhecidos internacionalmente, além de garantir um controle interno de qualidade, possibilitando a produção de dados analíticos confiáveis. A validação de dados tem como principal objetivo a eliminação de erros que possam existir nas etapas de procedimento, manuseio, identificação, até as análises de amostras,

assegurando a adequação do método analítico a sua finalidade (SKOOG et al., 2008).

Foram utilizadas curvas de calibração no intuito de obter o sinal analítico a partir de concentrações conhecidas do analito. Foram preparadas curvas constituídas por Triton X 100 e aquosa, ambas com padrão interno (PI). A adição de padrão interno compensa os desvios instrumentais, as instabilidades e os efeitos de matriz (SKOOG et al., 2008). Nesse trabalho foi considerado o Berílio como padrão interno, devido as melhores correções nas variações do sinal analítico e as mudanças nas condições analíticas.

Na tabela 5 estão listados os elementos, os coeficientes angulares e os coeficientes de determinação (R^2) para cada curva analítica, respectivamente.

Tabela 5 - Característica das curvas analíticas utilizadas no método.

Elementos	Curva	Coeficiente angular	R^2
Al*	Em meio de Triton X-100	5103	0,999
	Em meio aquoso	5177,2	0,993
Ba*	Em meio de Triton X-100	27800	0,999
	Em meio aquoso	26807	0,996
Cu	Em meio de Triton X-100	12707	0,999
	Em meio aquoso	12250	0,998
Cr*	Em meio de Triton X-100	4959	0,991
	Em meio aquoso	4988,4	0,997
P	Em meio de Triton X-100	1112	0,999
	Em meio aquoso	1160	0,999
Ni	Em meio de Triton X-100	2122	0,990
	Em meio aquoso	2033	0,998
Ti	Em meio de Triton X-100	4875	0,999
	Em meio aquoso	4973	0,999
Zn	Em meio de Triton X-100	1271	0,998
	Em meio aquoso	1305	0,995

*Adição de berílio como padrão interno

A partir do teste T de Student com 95% de confiabilidade não foi encontrada diferença significativa entre a curva aquosa e a curva com Triton X 100. Para os elementos Al, Ba e Cr foi necessário utilizar curvas com o padrão interno (Berílio).

Na Tabela 6 estão demonstradas as figuras de desempenho do método proposto. A precisão do método analítico foi expressa pelo desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV).

O desvio padrão relativo foi calculado conforme a equação 1, onde s é o desvio padrão das recuperações e M é a média das recuperações.

$$CV\% = \frac{s}{M} \times 100 \quad (1)$$

Embora a amostra apresentasse um alto teor de matéria orgânica em sua matriz, foi possível obter um resultado satisfatório para a precisão do método, apresentando desvio padrão relativo mínimo de 0,59% para P e valor máximo de 2,19% para o Cr em uma concentração de 1,2 (mg kg⁻¹) e mínimo de 0,47% para P e 1,22% para Ti em uma concentração 2,0 (mg kg⁻¹).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) considera a definição concedida pela International Standardization Organization (documento ISO 11843) para o limite de detecção (LD) que compreende a menor concentração de um analito que pode ser detectada na ausência da substância em questão (um valor em branco) com um limite de 95% de confiança, o que compreende também a probabilidade estabelecida de falsos positivos e falsos negativos (THOMPSON, STEPHEN e WOOD, 2002).

O cálculo do LD foi realizado de acordo com a equação 2 a seguir, onde s é o desvio padrão do sinal do branco e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica.

$$LD = 3,3 \frac{s}{S} \quad (2)$$

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão em uma amostra sob condições experimentais pré-determinadas, com um limite de 95% de confiança (THOMPSON, STEPHEN e WOOD, 2002).

O LQ também foi calculado levando em consideração os parâmetros da curva analítica, conforme a equação 3, onde s é o desvio padrão do sinal do branco e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica.

$$LQ = 10 \frac{s}{S} \quad (3)$$

Conforme está definição, observa-se na Tabela 6 que os limites de detecção (LD) obtidos alternaram entre os valores mínimos de 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Ni e Ba e máximo de 17 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Ti, respectivamente, enquanto os limites de quantificação (LQ) foram de 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Ba e 55 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para Ti, respectivamente.

Tabela 6 - Características analíticas do método.

Elementos	LD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)	
			1,2 (mg kg^{-1})	2,0 (mg kg^{-1})
Al (III)	5	18	2,15	0,50
Ba (II)	1	1	1,13	0,77
Cu (II)	3	11	1,01	0,85
Cr (VI)	2	5	2,19	1,13
P (I)	11	36	0,59	0,47
Ni (II)	1	2	0,89	0,71
Ti (II)	17	55	1,30	1,22
Zn (II)	7	2	0,66	0,58

No intuito de verificar a eficiência do procedimento de extração induzida por quebra de emulsão e a exatidão do presente método, foi realizado um teste de adição e recuperação das amostras utilizando um padrão organometálico.

O cálculo do teste de adição e recuperação foi realizado de acordo com a equação 4.

$$\text{Re } c\% = \frac{[(\text{concentração da amostra} + \text{valor adicionado}) - \text{concentração da amostra}]}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad (4)$$

Os percentuais de recuperação obtidos estão apresentados na Tabela 7. Para todos os analitos as porcentagens de recuperação foram adequadas para fins quantitativos, estando entre 90% e 102 % para o azeite de oliva, 92% e 106 % para o óleo de abacate e 91 % e 102% para o óleo de coco.

Tabela 7- Resultados de recuperação (%) obtidos por testes de adição e recuperação.

Elementos	Amostra	Concentração (mg kg ⁻¹)		Recuperação (%)
		Adicionado	Encontrado	
Al (III)	Azeite de oliva	0	0,06	----
		0,5	0,52	92
		1,5	1,43	91
	Óleo de abacate	0	0,03	----
		0,5	0,49	92
		1,5	1,48	97
	Óleo de coco	0	0,01	----
		0,5	0,51	100
		1,5	1,37	91
Ba (II)	Azeite de oliva	0	0	----
		0,5	0,47	94
		1,5	1,42	95
	Óleo de abacate	0	0,08	----
		0,5	0,58	100
		1,5	1,52	96
	Óleo de coco	0	0	----
		0,5	0,47	94
		1,5	1,53	102
Cu (II)	Azeite de oliva	0	0	----
		0,5	0,45	90
		1,5	1,38	92
	Óleo de abacate	0	0	----
		0,5	0,48	96
		1,5	1,53	102
	Óleo de coco	0	0	----
		0,5	0,49	98
		1,5	1,48	99
Cr (IV)	Azeite de oliva	0	0	----
		0,5	0,48	96
		1,5	1,4	93
	Óleo de abacate	0	0,02	----
		0,5	0,49	94
		1,5	1,50	99
	Óleo de coco	0	0	----
		0,5	0,46	92
		1,5	1,47	98

P (I)	Azeite de oliva	0	0,12	----
		0,5	0,6	96
		1,5	1,51	93
	Óleo de abacate	0	0,10	----
		0,5	0,57	94
		1,5	1,64	103
	Óleo de coco	0	0	----
0,5		0,48	96	
1,5		1,48	99	
Ni (II)	Azeite de oliva	0	0	----
		0,5	0,45	90
		1,5	1,38	92
	Óleo de abacate	0	0,14	----
		0,5	0,67	106
		1,5	1,53	93
	Óleo de coco	0	0,36	----
0,5		0,83	94	
1,5		1,72	91	
Ti (II)	Azeite de oliva	0	0	----
		0,5	0,51	102
		1,5	1,37	91
	Óleo de abacate	0	0	----
		0,5	0,59	98
		1,5	1,52	101
	Óleo de coco	0	0	----
0,5		0,46	92	
1,5		1,44	96	
Zn (II)	Azeite de oliva	0	0,1	----
		0,5	0,57	94
		1,5	1,47	91
	Óleo de abacate	0	0,16	----
		0,5	0,63	94
		1,5	1,54	92
	Óleo de coco	0	0	----
0,5		0,46	92	
1,5		1,44	96	

A extração por quebra de emulsão foi aplicada a duas amostras distintas de azeite de oliva, os resultados estão demonstrados na Tabela 8. Todas as leituras foram realizadas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

As maiores concentrações obtidas na amostra de azeite de oliva (1) foram Ni ($0,906 \pm 0,025$), P ($0,143 \pm 0,026$), Zn ($0,111 \pm 0,004$), Al ($0,090 \pm 0,010$) e Cr ($0,080 \pm 0,003$) mg kg⁻¹. A presença de Ni, Zn, Al e Cr na amostra podem ser explicados,

possivelmente, devido a composição da embalagem em que estava armazenada (lata de folha-de-flandres - liga composta por ferro, aço e estanho).

Em contrapartida na amostra de azeite de oliva (2) foram encontradas menores concentrações quando se compara a amostra supracitada para Al ($0,041 \pm 0,009$), P ($0,032 \pm 0,006$), Zn ($0,004 \pm 0,001$) e Cr ($0,029 \pm 0,001$) mg kg⁻¹, provavelmente pelo fato da amostra estar armazenada em uma garrafa de vidro escurecido.

As embalagens do tipo lata, compostas por folha-de-flandres, possuem características como impermeabilidade, alta resistência aos danos mecânicos e não são transparentes. Enquanto que as embalagens de vidro possuem impermeabilidade aos gases, mas a proteção contra a foto-oxidação pode variar de acordo com as características da embalagem (vidro escurecido ou vidro transparente) (BOSKOU, 2006).

A embalagem de vidro possui vantagens em comparação a outros tipos de embalagem como, por exemplo, permite a visualização do produto (BOSKOU, 2006), entretanto torna-se o produto mais caro. Já as latas compostas por folha-de-flandres, embora possibilitem maior proteção ao produto, a depender da qualidade do material que é feita ou se o processo de galvanização não foi realizado com eficiência, poderá, com o tempo, permitir a migração de metais da embalagem para o produto (OLIVEIRA, 2006).

As concentrações de Ba, Cu e Ti ficaram abaixo do limite de quantificação para as duas amostras analisadas, bem como a concentração do Ni para a amostra de azeite de oliva (2).

Tabela 8 – Resultado das análises utilizando método de extração induzida por quebra de emulsão para duas amostras distintas de azeite de oliva – concentração (mg kg⁻¹).

MIP OES		
(Quebra de emulsão)		
	Azeite de oliva (1)	Azeite de oliva (2)
Al (III)	0,090±0,010	0,041± 0,009
Ba (II)	<LQ	<LQ
Cu (II)	<LQ	<LQ
Cr (VI)	0,080±0,003	0,029 ± 0,001
P (I)	0,143±0,026	0,032 ± 0,006
Ni (II)	0,906±0,025	<LQ
Ti (II)	< LQ	<LQ
Zn (II)	0,111±0,004	0,004 ± 0,001

Embalagem lata (1); embalagem vidro escurecido (2).

Na Tabela 9 são apresentados os resultados das leituras realizadas no MIP OES para dois métodos de preparo de amostra distintos. Considerando a amostra de óleo de abacate, observa-se que extração induzida por quebra de emulsão apresentou as maiores concentrações para Ni ($1,69 \pm 0,03$), Al ($0,14 \pm 0,02$), P ($0,13 \pm 0,006$) e Cr ($0,02 \pm 0,001$) mg kg^{-1} , quando comparada ao método de extração por digestão ácida assistida por micro-ondas. Ba, Cu e Ti apresentaram resultados abaixo do limite de detecção para ambos os métodos, já P e Cr demonstraram valores abaixo do limite de detecção para o método de extração por digestão ácida assistida por micro-ondas.

Robaina, Brum e Cassella (2012) analisaram Cr e Mn em amostras de óleos comestíveis (óleo de canola, óleo de soja, óleo de milho e óleo de girassol), utilizando extração induzida por quebra de emulsão e obtiveram resultados abaixo do limite de detecção para Cr nas amostras de óleo de soja e óleo de girassol e para Mn nas amostras de óleo de canola e girassol. As concentrações encontradas para Cr no óleo de milho foi $1,06 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ e óleo de canola $0,34 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$. O óleo de soja apresentou para Mn a concentração de $0,37 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ e o óleo de milho $8,62 \pm 0,46 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os valores determinados para a concentração de Al e Ni, no óleo de coco, foram semelhantes para os dois métodos. Para Cr a concentração determinada pelo método de extração induzida por quebra de emulsão foi de $0,011 \pm 0,005 \text{mg kg}^{-1}$. Os demais elementos apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção.

O óleo de prímula apresentou para os dois métodos de extração concentrações semelhantes para Al, Ni, Ti e Zn. Para o método de extração induzida por quebra de emulsão foram encontradas concentrações de P ($0,10 \pm 0,01$), Ba ($0,09 \pm 0,01$) e Cr ($0,02 \pm 0,001$) mg kg^{-1} .

Cindric, Zeiner e Steffan (2007) fizeram uma determinação multi-elementar em amostras de óleos vegetais (azeite de oliva, semente de abóbora, óleo de girassol, óleo de gergelim, avelã, uva, soja e óleo de arroz) utilizando digestão ácida assistida por micro-ondas como método de extração. O poder de detecção da técnica analítica ICP-OES foi satisfatório para a determinação de Ca, Fe, Mg, Na e Zn, entretanto, como foi identificado uma quantidade muito baixa de Al, Cu, Co, Cr, K, Ni, Mn e Pb, utilizou-se GFAAS como uma segunda técnica analítica para

quantificação. Mendil et al. (2009) utilizaram digestão ácida assistida por micro-ondas para analisar azeite de oliva, margarina, manteiga e óleo de avelã, girassol e milho. Foi usado a técnica F AAS para determinar Fe, Mn, Zn, Cu, Na, K, Ca e Mg, e GF-AAS para determinar Cd, Co e Pb. Foram encontrados Cu, Pb e Co em azeite de oliva, Fe e K em margarina, Zn e Mn em óleo de milho, Na e Mg na manteiga, Ca em óleo de girassol e Cd em óleo de avelã.

A amostra de azeite de oliva (1) estudada apresentou resultados similares para as concentrações de Al, Ni e Zn nos dois métodos de extração. Para o método de extração induzida por quebra de emulsão foram encontradas concentrações de P ($0,14 \pm 0,02$) e Cr ($0,08 \pm 0,003$) mg kg^{-1} , os demais elementos apresentaram resultados abaixo do limite de detecção.

Em trabalho similar Bakircioglu, Kurtulus, Yurtsever (2013) e Juranovic, Breinhoelder e Steffan (2003) utilizaram a técnica de extração induzida por quebra de emulsão e a técnica de digestão ácida assistida por micro-ondas, encontrando resultados similares para as concentrações de Zn nas amostras de azeite de oliva ($2,206 \pm 1,136 \text{ mg kg}^{-1}$) e óleo de abóbora ($3,22 \mu\text{g g}^{-1}$), respectivamente. Para a amostra de azeite de oliva (1) foi encontrado valores de concentração para Zn ($0,10 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$) e Cu (<LQ) a partir do método de extração digestão ácida assistida por micro-ondas, em conformidade González et al. (2010) encontraram concentrações similares para Zn ($0,12 \pm 0,10 \mu\text{g g}^{-1}$) e Cu (<LQ) em óleo de argan marroquino, também utilizando o mesmo método de extração.

Tabela 9 – Comparação dos resultados obtidos nos procedimentos de extração induzida por quebra de emulsão (QE) e digestão ácida assistida por micro-ondas (DA) - concentração (mg kg^{-1}).

Analito	QE Óleo de Abacate	DA Óleo de Abacate	QE Óleo de Coco	DA Óleo de Coco	QE Óleo de Prímula	DA Óleo de Prímula	QE Azeite de oliva	DA Azeite de oliva
Al (III)	0,14±0,02	0,12±0,02	0,09±0,01	0,08±0,01	0,07±0,02	0,06±0,01	0,09±0,01	0,07±0,01
Ba (II)	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,09±0,01	< LQ	<LQ	< LQ
Cu (II)	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	<LQ	< LQ
Cr (VI)	0,02±0,001	< LQ	0,01±0,005	< LQ	0,02±0,001	< LQ	0,08±0,003	< LQ
P (I)	0,13±0,006	< LQ	< LQ	< LQ	0,10 ± 0,01	< LQ	0,14±0,02	< LQ
Ni (II)	1,69±0,03	1,4 ± 0,1	1,85±0,06	1,7 ± 0,1	1,19±0,04	1,2 ± 0,1	0,90±0,02	0,92 ± 0,02
Ti (II)	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,03±0,01	0,04±0,01	< LQ	< LQ
Zn (II)	0,11±0,01	0,11±0,01	< LQ	< LQ	0,14±0,01	0,12±0,01	0,11±0,004	0,10±0,01

Levando-se em consideração a determinação de elementos traço em amostras de óleos publicados na literatura, precedentes a este trabalho, foi destacado na Tabela 10 algumas pesquisas em que estão apresentados: as amostras analisadas, os analitos, tratamento de amostra, técnica analítica, limite de quantificação e resposta (RSD ou adição e recuperação).

Cassella et al. (2018) analisaram As, Cr, Cu, Mn, Pb, V em óleo mineral através da técnica de quebra de emulsão, baseando-se em uma metodologia de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) e obtiveram recuperação de 94% e 101%. No presente trabalho, o tempo necessário para obter a quebra da emulsão e a eficiência da extração foram tomados como respostas para avaliação.

Em trabalho análogo, Bakircioglu, Kurtulus e Yurtsever (2013) determinaram analitos (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) em amostras de óleos comestíveis da Turquia (óleos de girassol, avelã, canola, milho e azeite de oliva), utilizando os procedimentos de extração ultrassônica, digestão úmida e extração induzida por quebra de emulsão em que obtiveram resultados satisfatórios de recuperação alcançando valores entre 96% e 109% para a última técnica citada. Os autores consideraram o procedimento de quebra de emulsão rápido, confiável, simples e uma boa opção quando se comparado com os outros procedimentos estudados.

A técnica de extração induzida por quebra de emulsão também se mostrou eficiente na determinação de Ca, Mg e Zn em diferentes tipos de óleos lubrificantes (minerais, semi-sintéticos e sintéticos) (FERNANDES et al., 2018).

González et al. (2010) utilizaram a metodologia baseada em espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e o procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas para a determinação de oligoelementos em óleo de argan marroquino. Para garantir a precisão de todo o procedimento, foram realizados testes de adição e recuperação obtendo resultados entre 91% a 120%.

Em trabalho similar, Azcarate et al. (2019) determinaram metais em óleo lubrificante por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas e obtiveram resultados de RSD igual e inferior a 6,2% para todos os analitos.

A técnica de preparo de emulsão demonstrou ser mais eficiente quando se comparada a outras técnicas de preparo de amostra como, por exemplo, a técnica de digestão ácida, considerando parâmetros como economia, segurança, meio ambiente, tempo e baixo risco de contaminação (ANTHEMIDIS et al., 2005). Não foram reportados trabalhos, na literatura, que utilizassem o planejamento D-optimal para otimizar os componentes da mistura para extração multi-elementar induzida por quebra de emulsão e determinação por MIP OES, sendo este um importante diferencial neste trabalho.

Tabela 10 – Determinação de elementos traço em diferentes tipos de óleos encontradas na literatura.

Amostra	Analito	Tratamento de amostra	Técnica Analítica	LQ	Resposta	Autores
Óleo mineral	As, Cr, Cu, Mn, Pb, V	Quebra de emulsão	GF AAS	0,08 – 2,5 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação 91 – 104 %	Cassella et al. (2018)
Óleos de girassol, avelã, canola, milho e azeite de oliva	Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	Extração Ultrassônica	ICP OES	0,002 – 7,384 (mg kg^{-1})	Recuperação 96 – 109 %	Bakircioglu, Kurtulus e Yurtsever (2013)
		Digestão Úmida		0,008 – 1,136 (mg kg^{-1})		
		Quebra de Emulsão		0,0126 – 8,982 (mg kg^{-1})		
Óleos lubrificantes	Ca, Mg, Zn	Quebra de Emulsão	F AAS	15 – 134 (ng g^{-1})	-	Fernandes et al. (2018)
Óleo de Argan Marroquino	Al, Ca, Cr, Fe, K, Li, Mg, Na, V, Zn	Digestão ácida assistida por micro-ondas	ICP OES	0,079 – 184,1 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperação 91 – 120 %	González et al. (2010)
Óleo lubrificante	Al, Ba, Ca, Cu, K, Mg, Mn, Mo, Si, Ti, Zn	Quebra de emulsão	MIP OES	1,40 – 5,62 (mg kg^{-1})	RSD 2,8 – 6,2	Azcarate et al. (2019)

CONCLUSÃO

A otimização multivariada e a utilização do planejamento de mistura com restrição D-optimal propiciaram uma eficiente definição dos valores ótimos para a determinação dos analitos (Al, Ba, Cr, Cu, P, Ni, Ti e Zn) usando MIP OES. O método proposto apresentou exatidão, precisão e eficiência demonstrando resultados satisfatório para os limites de detecção, limites de quantificação, desvio padrão relativo e concentrações dos analitos.

Ainda que as amostras apresentassem uma matriz complexa, vale destacar que foi possível utilizar padrões aquosos para a calibração, o que tornou o procedimento mais viável, devido a maior simplicidade e menor custo quando se comparado aos padrões orgânicos.

O procedimento de preparo de amostra foi compatível com a técnica analítica empregada, apresentando aplicabilidade satisfatória, baixo custo, rapidez, redução dos riscos de contaminação e perdas de analito, o que proporcionou confiabilidade na quantificação dos analitos e se apresentou mais eficiente que a técnica de digestão ácida.

REFERÊNCIAS

- ANTHEMIDIS, A. N.; ARVANITIDIS, V.; STRATIS, J. A. On-line Emulsion Formation and Multi-element Analysis of Edible Oils by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 271-278, ISSN 0003-2610, 2005.
- AZCARATE, S. M.; LANGHOFF, L. P.; CAMIÑA, J. M.; SAVIO, M. A green single-tube sample preparation method for wear metal determination in lubricating oil by microwave induced plasma with optical emission spectrometry. **Talanta**, v.195, p. 573-579, 2019.
- BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y. B.; YURTSEVER, S. Comparison 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, n. 2-3, p. 770-775, 2013.
- BALLUS, C. A.; MEINHART, A. D.; DE SOUZA CAMPOS JR, F. A.; BRUNS, R. E.; GODOY, H. T. Doehlert design-desirability function multi-criteria optimal separation of 17 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary zone electrophoresis. **Food chemistry**, v. 146, p. 558-568, 2014.
- BARAN, E. K.; YASAR, S. B. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** n.114, p.1320–1326, 2012.
- BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. Hand book of nutrition, 2 ed. **Boca Raton**: CRC Press, p. 662, 2007.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**, SpringerVerlag, Berlin, Germany, 4th ed. 2009.
- BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, n. 76, p. 965, 2008.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada-RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Disponível em:<

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_270_2005_.pdf/8f80bf4d-a38a-4699-9f8f-582186b3797d>. Acesso em: 25 de março de 2019.

BOSKOU, D.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M. Olive Oil Composition, In Boskou, D. (Ed), Olive Oil: **Chemistry and Technology**. AOCS Press: Champaign, ed. 2, cap. 4, p 41-72, 2006.

BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Pretreatment of oily samples for analysis by flow injection-spectrometric methods. **Talanta**, n. 83, p. 691–699, 2011.

CAMARGO, O. A.; ALLEONI, L. R. F.; CASAGRANDE, J. C. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos. In: Ferreira, M. E.; Cruz, M. C. P.; Raij, B.; Abreu, C.A. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura, led., Jaboticabal, Potafos, p. 89-124, 2001.

CASSELLA, R. J.; BRUM, D. M.; DE PAULA, C. E. R.; LIMA, C. F. Extraction induced by emulsion breaking: a novel strategy for the trace metals determination in diesel oil samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 11, p. 1704-1711, 2010.

CINDRIC, I. J.; ZEINEZ, M; STEFFAN, I. Trace elemental characterization of edible oils by ICP-AES and GFAAS. **Microchemical Journal**, v. 85, p. 136 -139, 2007.

DEJAEGHER, B.; VANDER HEYDEN, Y. Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 56, n. 2, p. 141-158, 2011.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; SCHIAVO, D.; NOBREGA, J. A.; Determination of Cr, Ni, Pb and V in gasoline and ethanol fuel by microwave plasma optical emission spectrometry. **Journal Analytical Spectrometry**, v. 28, p. 755 – 759, 2013.

FERNANDES, A.; VINHAL, J. O.; DUTRA, A. J. B.; CASSELLA, R. J. Study of the extraction of Ca, Mg and Zn from different types of lubricating oils (mineral, semi-synthetic and synthetic) employing the emulsion breaking strategy. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 1112-1118, 2018.

GONZÁLVEZ, A.; GHANJAOU, M.; EL RHAZI, M.; DE LA GUARDIA, M. Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy determination of trace element composition of argan oil. **Food Science and Technology International**, v. 16, n. 1, p. 65-71, 2010.

GARCIA, J. A.; PEREIRA-FILHO, E. R. Desenvolvimento de um método de preparo de amostras para avaliação de matérias primas de materiais escolares. **Quim. Nova**. v. 38, n. 6, p. S1-S2, 2015.

International Organization for Standardization (ISO). Capability of Detection; Report No. ISO 11843-1; ISO: Geneve, Switzerland, 1997.

JAMALI, M. K.; KAZI, T. G.; ARAIN, M. B.; AFRIDI, H. I.; JALBANI, N.; SARFRAZ, R. A.; BAIG, J. A. J. **Hazard Mater**, n. 158, p.644– 651, 2008.

JURANOVIC, I.; BREINHOELDER, P.; STEFFAN, I. Determination of trace elements in pumpkin seed oils and pumpkin seeds by ICP-AES. **Journal of analytical atomic spectrometry**, v. 18, n. 1, p. 54-58, 2003.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soil and plants, 3rd ed. **Boca Raton**: CRC, p. 413, 2001.

KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, 1^a ed. Piracicaba, p. 340, 2008.

LI, W.; SIMMONS, P.; SHRADER, D.; HERRMAN, T. J.; DAI, S. Y.; Microwave plasmaatomic emission spectrometry as a tool for the determination of copper, iron, manganese, and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta**, v. 112, p. 43 – 48, 2013.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; ORTEGA-BARRALES, P.; CÓRDOVA, M. L. F.; DOMÍNGUEZ-VIDAL, A.; RUIZ-MEDINA, A. **Food Chem.** n. 127, p. 1257–1262, 2011.

Multiwave 3000: Microwave Sample Preparation Cook Book; Anton Paar GmbH. Graz, 2003, p. 322.

MEIRA, L. A; DIAS, F. DE S. Application of constrained mixture design and Doehlert matrix in the optimization of dispersive liquid-liquid microextraction assisted by ultrasound for preconcentration and determination of cadmium in sediment and water samples by FAAS. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 56-63, 2017.

MENDIL, D., OLUOZLU, O.D., TUZEN, M., SOYLAK, M. Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, n. 1-3, p. 724-728, 2009.

MONTGOMERY, D. C. Design and Analysis of Experiments, fifth ed. Arizona State University, John Wiley, Inc., New York, 2000.

NHAM, T.; TAYLOR, C. Cost-effective analysis of major, minor and trace elements in foodstuffs using the 4100 MP-AES. **Application Note**, Foods and Beverages, Nº 5990-8685EN, 2011.

NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, L.; WACHELKA, M.; JAKUBOWSKI, K.; WYBIERALSKA, J. The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP-OES) in 23 elements determination in geological samples. **Talanta**, v. 132, p. 591-599, 2015.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; PAULA, V. F.; NASCIMENTO JR, B. B., BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; BEZERRA, M. A. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de resposta-parte i: variáveis de processo. **Rev. Virtual Quim.** v. 9, p. 1184-1215, 2017.

ROBAINA, N.F.; BRUM, D.M.; CASSELLA, R. J. Application of the extraction induced by emulsion breaking for the determination of chromium and manganese

in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 99, p. 104-112, 2012.

OLIVEIRA, L. M. Requisitos de proteção de produtos em embalagens plásticas rígidas. Centro de Tecnologia de Alimentos – ITAL, Campinas, p. 328, 2006.

PINTO, E. R.; PEREIRA, L. A. Função no r para obtenção do desenho d-ótimo em modelos de misturas com restrições, Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

PINZI, S.; LÓPEZ, I.; LEIVA-CANDIA, D. E.; REDEL-MACÍAS, M. D.; HERREROS, J. M.; CUBERO-ATIENZA, A.; DORADO, M. P. Castor oil enhanced effect on fuel ethanol-diesel fuel blend properties. **Applied Energy**, v. 224, p. 409-416, 2018.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, 8 ed, São Paulo: Thomson, 2008.

THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

APÊNDICE A

Tabela 1 - Configurações operacionais do equipamento de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

Parâmetros	Al (III)	Ba (II)	Cu (II)	Cr (VI)	P (I)	Ni (II)	Ti (II)	Zn (II)
Posição de Visualização (mm)	0	0	0	0	0	0	0	0
Nebulizador	----- Pneumático Concêntrico -----							
Câmara de Nebulização	----- Ciclônica de passo único -----							
Velocidade da Bomba (rpm)	----- 15 -----							
Tempo de Leitura em (s)	----- 3 -----							
Replicatas	----- 3 -----							
Tempo de Estabilização (s)	----- 10 -----							
Tempo de Captação (s)	----- 10 -----							
Fluxo de Nitrogênio (L min ⁻¹)	----- 22,5 -----							
Fluxo de Nebulização (mL min ⁻¹)	0,95	0,65	0,7	0,9	0,35	0,7	0,6	0,45

ARTIGO 2

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE AMOSTRAS DE ÓLEOS VEGETAIS ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO POR QUEBRA DE EMULSÃO E DETERMINAÇÃO POR MIP OES²

²Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Journal of Food Composition and Analysis, em versão na língua inglesa.

Avaliação da composição mineral de amostras de óleos vegetais através da extração por quebra de emulsão e determinação por MIP OES

Autora: Angélica Fagundes Carneiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Resumo: O presente estudo propôs a aplicação de um procedimento analítico para determinar elementos traço (alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco) em amostras de óleos vegetais comestíveis como, óleo de abacate, óleo de pequi, óleo de coco, óleo de babaçu, óleo de licuri, óleo de semente de uva e óleo de primula adquiridos da agricultura familiar e nos mercados locais de cidades dos estados da Bahia e Maranhão. Os experimentos foram realizados a partir das condições otimizadas de um planejamento de mistura com restrição, sendo usados no preparo das amostras 1 mL de HNO₃, 1 mL de Triton-X 100 e 3 mL da amostra oleosa. Em seguida, as emulsões foram formadas através de agitação manual e conduzidas em banho termostático a uma temperatura de 90° C durante um espaço de tempo de 20 minutos para separação das fases. Após a separação, a fase aquosa foi coletada com o auxílio de uma micropipeta e transferida para tubos de vidro com tampa apropriados para pequenas amostras e foram quantificados por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas. As concentrações mínimas e máximas obtidas de elementos traço em óleos comestíveis foram 0,032 – 0,521; <LQ – 0,095; 0,013 – 0,032; 0,011 – 0,041; 0,076 – 0,425; 0,462 – 1,847; 0,023 – 0,034 e 0,110 – 0,460mg kg⁻¹ para alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco, respectivamente.

Palavras-chave: óleos comestíveis, elementos traço, extração induzida por quebra de emulsão, metais.

Mineral composition evaluation of vegetable oil samples by emulsion breaking extraction and determination by MIP OES

Author: Angélica Fagundes Carneiro

Advisor: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Abstract: The present study proposed an analytical procedure application for trace elements determination (aluminum, barium, copper, chromium, phosphorus, nickel, titanium and zinc) in edible vegetable oil samples such as avocado oil, pequi oil, coconut oil, babassu oil, licuri oil, grape seed oil and evening primrose oil purchased from family farms and local markets of several cities, in the state of Bahia and Maranhão. The experiments were performed with the mixed restriction schedule optimized conditions, using 1 mL of HNO₃, 1 mL of Triton X 100, and 3 mL of oil for sample preparation. Thereafter, the emulsions were formed by manual shaking and conducted in a thermostated bath at a temperature of 90° C for 20 minutes to separate the phases. After separation, the aqueous phase was collected with a micropipette and transferred into suitable sample-capped glass tubes and quantified by microwave induced plasma optical emission spectrometry. The minimum and maximum trace elements determined in edible vegetable oils were: 0,032 – 0,521; <LQ – 0,095; 0,013 – 0,032; 0,011 – 0,041; 0,076 – 0,425; 0,462 – 1,847; 0,023 – 0,034 e 0,110 – 0,460 mg kg⁻¹ for aluminum, barium, copper, chromium, phosphorus, nickel, titanium, and zinc, respectively.

Keywords: Edible oils, trace elements, emulsion-induced extraction, metals.

1. INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais desempenham papel de extrema importância na nutrição humana, uma vez que representam boas fontes de energia, exercem funções como reguladores biológicos, oferecem compostos essenciais à síntese de estruturas celulares, desempenham atividade no transporte de vitaminas lipossolúveis (A, E, D e K), dentre outros (GUNSTONE, 2011).

Desde a antiguidade os óleos vegetais são utilizados pela humanidade, sendo seus benefícios aproveitados na alimentação e também nas indústrias química e farmacêuticas (LÓPEZ-GARCIA et al. 2014; TRINDADE et al., 2015).

Óleos e gorduras vegetais são produtos compostos essencialmente por glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal(is). Podem abranger reduzidas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres, em temperatura de 25°C os óleos vegetais se apresentam na forma líquida, já as gorduras vegetais se apresentam na forma sólida ou pastosa (BRASIL, 2005).

De acordo com Chaiyasit et al. (2007) a concentração de espécies metálicas em óleos vegetais é frequentemente baixa, entretanto a determinação desta é de grande interesse, visto que espécies metálicas como por exemplo, Ni, Zn, Mn, Cu podem acelerar os processos de oxidação de óleos comestíveis e causar mudanças e alterações negativas em relação ao sabor e odor destes produtos.

Os metais são classificados como essenciais, por exemplo, Cu, Zn, Mn, Mg e/ou tóxicos como Cd, Pb, Al, Ti, Ba. Contudo, os metais essenciais quando são ingeridos excessivamente podem gerar efeitos tóxicos (GOPALANI et al., 2007).

O Cromo (III) é uma espécie que é essencial para o ser humano, atua no metabolismo da glicose conforme referiram Cubadda et al. (2003) entretanto as plantas são acumuladoras de Cr (III) e Cr (IV), sendo essa última espécie altamente carcinogênica, além de representar uma enorme ameaça a contaminação de águas e causar danos ao DNA das plantas (ALLUÉ et al., 2014).

O níquel em quantidades inadequadas se caracteriza como um elemento tóxico ao ser humano e apresenta consequências para a saúde como dermatite, hipersensibilidades e câncer (ZAMBELLI e CIURLI, 2013). A toxicidade envolvendo o bário ainda não foi totalmente esclarecida, mas sabe-se que uma das

consequências é a hipocalcemia que pode levar a taquicardia, fraqueza muscular, hipertensão e/ou hipotensão e paralisia (ATSDR, 2011). Ainda, segundo a Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2011) a toxicidade ao titânio promove consequências relacionadas ao sistema respiratório.

O zinco é um oligoelemento que desempenha inúmeras funções fisiológicas, estruturais, catalíticas e regulatórias. Exerce papel na divisão celular, possui ação antioxidante, e juntamente com o cobre atuam como cofatores de enzimas responsáveis pela defesa imunológica (DE MACÊDO et al., 2010; CHASAPIS et al., 2012), entretanto efeitos gastrintestinais estão envolvidos com a toxicidade desses elementos (ATSDR, 2011).

Ainda, alterações no metabolismo do cobre possui ligação com a doença de Wilson (DW) ou degeneração hepatolenticular, que se caracteriza pelo acúmulo progressivo intracelular do elemento, acometendo principalmente órgão como fígado e cérebro (AGGARWAL e BHATT, 2013).

O fósforo possui papel importante para o corpo humano, abrangendo a integridade e saúde óssea, sinalização celular e metabolismo energético proteico (PENIDO e ALON, 2012). A hiperfosfatemia está diretamente envolvida com a calcificação de órgãos como os rins, porosidade óssea e má absorção do cálcio (BRASIL, 2010).

Sabe-se que a exposição a alguns metais tóxicos possui efeitos cancerígenos além de possuir associação com o aparecimento de outras doenças como Alzheimer. Entretanto sabe-se que muitos mecanismos de carcinogênese influenciados por metais não são ainda claramente entendidos. Já em relação ao Alzheimer, existe hipótese que a presença e acúmulo de metais na região cerebral como, por exemplo, alumínio causa estresse oxidativo com consequente alteração da atividade da barreira hematoencefálica (WISE et al., 2008; ARVAND e KERMANIAN, 2013; WANG L et al., 2016; DO FALCO et al., 2016).

Para garantir a segurança alimentar e nutricional dos consumidores de óleos vegetais é de extrema importância que as boas práticas de fabricação ocorram em todas as fases de manipulação desde a colheita, preparo, processamento, armazenamento, transporte e distribuição ao mercado consumidor. Para reduzir o risco de agravos à saúde da população através de alimentos impróprios ao consumo é de grande relevância aplicar o método de Análise de Perigos e Pontos Críticos de

Controle (APPCC), que trata-se de um sistema dinâmico para identificar pontos de perigos de contaminação com o objetivo de corrigir de forma eficiente os pontos críticos (BRASIL, 1993 ; BRASIL, 2006).

Nesse contexto, acredita-se que a segurança alimentar e nutricional tem o objetivo de garantir a todos o direito a uma alimentação segura, regular, permanente e que contemple alimentos de qualidade. Contudo, com o crescente aumento populacional, progressão da expectativa de vida, mudanças nas referências de escolha no consumo alimentar, faz-se necessário fomentar melhorias na segurança das cadeias alimentares (KING et al., 2017).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a composição mineral (alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco) em amostras de óleos vegetais comestíveis como óleo de abacate, óleo de pequi, óleo de coco, óleo de babaçu, óleo de licuri, óleo de semente de uva e óleo de primula, utilizando um processo de extração ácida por quebra de emulsão como método de preparo de amostras e quantificação por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Caracterização das Amostras

2.1.1 Óleo de Abacate

O abacate é um fruto que pertence ao gênero *Persea* da família Lauraceae. Possui uma quantidade considerável de lipídios e minerais essenciais à saúde humana como magnésio, potássio e fósforo, estando esses em maior concentração no mesocarpo (TAN, 2019) de onde também é extraído o óleo através de técnicas mecânicas ou naturais, que utilizam baixas temperaturas (<50°C) (WONG; REQUEJO-JACKMAN e WOOLF, 2010).

A extração do óleo de abacate virgem possibilita conservar os pigmentos, bem como os compostos bioativos sensíveis a altas temperaturas, além de manter o aroma e o sabor naturalmente característicos. O óleo de abacate é rico em ácidos graxos monoinsaturados, vitaminas, antioxidantes e compostos bioativos como

fitoesteróis que o torna um alimento funcional (BERASATEGI, BARRIUSO, ANSOARENA e ASTIASARÁN, 2012).

As informações a seguir sobre as características nutricionais da amostra estudada foram retiradas do rótulo do produto: porção de 13 mL (1 colher de sopa), 1g de gordura saturada; ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 1,6g; ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 8,8g; 126 kcal; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.2 Óleo de Babaçu

Babaçu é o nome dado às palmeiras oleaginosas que pertence família *Palmae* e que são integrantes dos gêneros *Attalea* e *Orbignia* (TEIXEIRA, 2008). O óleo do coco babaçu pode ser extraído mecanicamente ou através da utilização de solvente, sendo este método mais caro, entretanto apresenta mais eficiência. De maneira artesanal o óleo é extraído por meio de fervura (CARVALHO, 2007).

Segundo o Codex Alimentarius Commission (2008) o óleo extraído das sementes de babaçu é uma boa fonte de fitoesteróis como, por exemplo, o sitosterol, compostos que exercem uma importante função no controle da hipercolesterolemia (KAMAL-ELDIN; MOAZZAMI, 2009).

A amostra estudada não apresentou rótulo, mas conforme Campestre (1974) em uma porção de 13 mL (1 colher de sopa) o óleo de babaçu apresenta 42% de gordura saturada; ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 1,4 – 6,6%; ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 9 – 20%; 90 kcal; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.3 Óleo de Coco

A presença de ácidos graxos saturados, como o ácido graxo láurico (C12:0), representa cerca de 50% do óleo de coco, sendo uma característica expressiva do produto (MYHRSTAD et al., 2011) assim como a presença dos triglicerídeos de cadeia média (TCM) que correspondem em média de 70 a 80% do total (ANVISA, 1999).

As informações a seguir acerca das características nutricionais da amostra estudada foram retiradas do rótulo do produto: porção de 15 mL (1 colher de sopa), 13g de gordura saturada; ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 0,94g; ácidos

graxos monoinsaturado (ômega 9) 5,65g; 125 kcal; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.4 Óleo de Licuri

Palmeira nativa do território brasileiro, encontrada desde o Pernambuco ao sul da Bahia, sendo seu nome científico *Syagrus coronata* (BRASIL, 2006). O óleo de licuri é obtido principalmente através do extrativismo por grupo de moradores e cooperativas da região Nordeste do Brasil e é uma importante fonte de renda nesta região (DRUMOND et al., 2004).

A amostra estudada não apresentou rótulo, mas segundo Ramalho (2006) uma porção de 100g do óleo de licuri apresenta ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 1%; ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 4,1%; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.5 Óleo de Prímula

Planta nativa da América do Norte, foi inserida na Europa no século XVIII como planta ornamental. Pertencente à família botânica das Onagraceae, da espécie *Oenothera biennis*, sendo possível extrair das suas sementes o óleo de prímula (WILLIAMSON; DRIVER; BAXTER, 2012).

As informações a seguir sobre as características nutricionais da amostra estudada foram retiradas do rótulo do produto: porção de 13 mL (1 colher de sopa), 1g de gordura saturada; ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 2g e (ômega 3) 7g; ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 2g; 126 kcal; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.6 Óleo de Pequi

O pequi é uma planta classificada como frutífera e/ou oleaginosa, considerando as suas características e a forma de utilização (DE OLIVEIRA et al., 2008). Possui um fruto que compreende uma série de funções e propriedades terapêuticas, bem como tem sido utilizado na indústria de cosméticos a partir da extração do seu óleo (CARVALHO; PEREIRA; ARAUJO, 2015).

A amostra estudada não apresentou rótulo, mas segundo Miranda-Vilela et al. (2009) em uma porção de 100g o óleo de pequi apresenta ácidos graxos poli-

insaturado (ômega 6) 1,36% e 0,51% (ômega 3); ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 54,28%; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.1.7 Óleo de Semente de Uva

O óleo de semente de uva oferece um alto teor de ácido graxo essencial, especificamente o ácido linoleico, e dispõe também de um elevado teor de vitamina E em sua composição, que desempenha ação antioxidante e possui característica antitumoral (FERNANDES et al., 2013).

As informações a seguir sobre as características nutricionais da amostra estudada foram retiradas do rótulo do produto: porção de 13 mL (1 colher de sopa), 1,3g de gordura saturada; ácidos graxos poli-insaturado (ômega 6) 2g; ácidos graxos monoinsaturado (ômega 9) 15g; 126 kcal; não apresenta sódio, carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibras.

2.2 Aquisição das amostras

Todas as amostras de óleos comestíveis foram adquiridas nos mercados locais das cidades de Salvador-Ba e Cruz das Almas-Ba, exceto o óleo de Pequi que foi adquirido na cidade de Caetité-Ba, o óleo de Licuri na cidade de Maragogipe-Ba e o óleo de babaçu adquirido no estado do Maranhão, sendo esses citados oriundos da agricultura familiar. As variedades de óleos vegetais comestíveis foram mantidas em local livre de luz e em temperatura ambiente.

2.3 Reagentes e soluções

Uma solução padrão organometálica (conastan) de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ contendo 20 elementos (Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Mn, Mg, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn) foi utilizada como solução padrão para calibração, sendo que as concentrações utilizadas nos experimentos foram preparadas através de diluição adequada a partir da solução padrão.

O Triton X-100 30% m/v que foi utilizado em soluções para fins de emulsificação foram preparados dissolvendo massas adequadas do surfactante em água ultrapura. O ácido nítrico empregado nos experimentos foi de grau analítico (Merck), concentração 30% v/v diluído em água ultrapura, obtida a partir da

purificação de água Milli-Q Element A10 water purification System (Millipore, Bedford, MA, USA) utilizada em todo o experimento.

A solução de HNO₃ 30% v/v foi estabelecida de acordo com a otimização do experimento, assim como a do surfactante. O método de extração dos analitos atende aos requisitos de baixo custo, rapidez e eficiência de extração com alto potencial para aplicação direta.

2.4 Procedimento experimental

Para a determinação dos elementos traço (Al, Ba, Cu, Cr, P, Ni, Ti, Zn), as diferentes amostras de óleos foram submetidas a um processo de extração ácida por quebra de emulsão. Para isso, foram feitas emulsões estáveis utilizando uma solução surfactante de Triton X 100 (Reagen), HNO₃ (Merck) e a amostra oleosa.

Em tubos de ensaio foram adicionadas 1 mL de Triton X 100, 1 mL de HNO₃ e 3 mL das amostras. As emulsões foram formadas a partir de agitação manual com o objetivo de melhorar a extração dos analitos que em seguida foram submetidas a uma temperatura de 90° C em banho termostatizado (TE-056 mag - Tecnal) durante intervalo de tempo de 20 minutos para separação das fases.

A fase ácida aquosa foi transferida com o auxílio de uma micropipeta para um tubo de vidro com tampa, apropriado para pequenas quantidades de amostras que foram encaminhadas para a leitura no MIP OES e quantificação dos analitos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a otimização das variáveis químicas em estudo e preparo das amostras por meio de procedimento de extração induzida por quebra de emulsão, foi realizada a determinação de Al, Ba, Cu, Cr, P, Ni, Ti e Zn por MIP OES em sete amostras de óleos vegetais comestíveis. Os resultados obtidos nas análises estão apresentados na Tabela 1. Como pode ser observado, as concentrações dos elementos traços diferiram entre as amostras de óleos.

No presente trabalho as concentrações mínimas e máximas obtidas de elementos traço em óleos comestíveis foram 0,032 – 0,521; <LQ – 0,095; 0,013 – 0,032; 0,011 – 0,041; 0,076 – 0,425; 0,462 – 1,847; 0,023 – 0,034 e 0,110 – 0,460 mg kg⁻¹ para alumínio, bário, cobre, cromo, fósforo, níquel, titânio e zinco, respectivamente.

Tabela 1 – Determinação de elementos traço em amostras de óleos vegetais comestíveis por MIP OES.

Elementos	Concentração (mg kg ⁻¹)							Recomendação nutricional (DRIs)
	Óleo de Abacate	Óleo de Babaçu	Óleo de Coco	Óleo de Licuri	Óleo de primula	Óleo de Pequi	Óleo de semente de uva	
Al	0,140±0,020	0,104 ± 0,059	0,090 ± 0,010	0,032 ± 0,017	0,074 ± 0,022	0,521± 0,066	0,115 ± 0,071	-
Ba	< LQ	<LQ	< LQ	<LQ	0,095 ± 0,008	<LQ	<LQ	-
Cu	< LQ	<LQ	< LQ	<LQ	< LQ	0,032 ± 0,003	0,013 ± 0,001	200 – 10,000 µg/dL
Cr	0,026 ± 0,001	<LQ	0,011 ± 0,005	0,041 ± 0,001	0,021 ± 0,001	<LQ	<LQ	0,2 – 45 µg/dL
P	0,130 ± 0,006	0,076 ± 0,007	< LQ	0,425 ± 0,035	0,106 ± 0,011	0,245 ± 0,199	<LQ	100 – 4,000 mg/dL
Ni	1,695 ± 0,030	0,607 ± 0,068	1,847 ± 0,060	0,462 ± 0,081	1,194 ± 0,040	0,850 ± 0,524	0,652 ± 0,076	ND – 12,0 µg/kg
Ti	< LQ	0,027 ± 0,004	< LQ	0,023 ± 0,002	0,034 ± 0,010	0,024 ± 0,007	<LQ	-
Zn	0,110 ± 0,01	0,112 ± 0,001	< LQ	0,460 ± 0,041	0,145 ± 0,012	0,344 ± 0,091	<LQ	2 – 40 mg/dL

<LQ – menor que o limite de quantificação.

Em comparação aos dados demonstrados na Tabela 1, pode-se observar na Tabela 2 (ANEXO 1) os valores das recomendações nutricionais (DRIs) para indivíduos saudáveis elaboradas pelo comitê do Food and Nutrition Board/Institute of Medicine (2001), em que se tem apresentado também as principais funções dos elementos para o organismo humano, os valores da ingestão dietética recomendada (RDA), valores da ingestão limite superior tolerável (UL) e os efeitos do consumo excessivo de acordo com a faixa etária e gênero.

Comparando-se as DRIs aos resultados encontrados nas amostras de óleos comestíveis, observa-se que o óleo de coco, óleo de abacate e óleo de prímula apresentaram maiores concentrações de níquel, sendo $1,847 \pm 0,060 \text{ mg kg}^{-1}$; $1,695 \pm 0,030 \text{ mg kg}^{-1}$ e $1,194 \pm 0,040 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente, seguidos das amostras de óleo de pequi ($0,850 \pm 0,524 \text{ mg kg}^{-1}$), óleo de uva ($0,652 \pm 0,076 \text{ mg kg}^{-1}$), óleo de óleo de babaçu ($0,607 \pm 0,068 \text{ mg kg}^{-1}$) e óleo de licuri ($0,462 \pm 0,081 \text{ mg kg}^{-1}$). O limite superior tolerável estabelecido para todas as faixas etárias descritas ($0,2 - 1,0 \text{ mg kg}^{-1}$), ainda, em estudos mais recentes a FAO/OMS Aditivos Alimentares - JECFA (2011) estabeleceu que a ingestão diária tolerável provisória (PTWI) de níquel é $12,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal.

Estudos epidemiológicos evidenciaram um risco maior de câncer de pulmão e câncer nasal quando se tratou de trabalhadores de mineração de níquel e refinarias (SHEN e ZHANG, 1994; LIGHTFOOT et al., 2017). Conforme Lee et al. (2016) os íons de níquel possuem um potencial carcinogênico capaz de gerar danos celulares expressivo e apoptose.

O cobre é um elemento considerado essencial ao organismo humano, mas um consumo exacerbado tem ligação direta com problemas de saúde, como distúrbios gastrointestinais e danos hepáticos. A deficiência desse mineral leva à anemia hipocrômica, osteoporose e leucopenia, principalmente em crianças (DRIS, 2001; KANUMAKALA, BONEH, ZACHARIN, 2002). A concentração de cobre para o óleo de pequi e óleo de semente de uva foram $0,032 \pm 0,003 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,013 \pm 0,001 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, estando de acordo com as DRIs (2001). As demais amostras estudadas apresentaram resultados abaixo do limite de quantificação.

Em trabalho similar Bakircioglu, Kurtulus e Yurtsever (2013) determinaram cobre em óleo de canola, utilizando a extração induzida por quebra de emulsão e obtiveram uma concentração de $0,570 \pm 0,046 \text{ mg kg}^{-1}$.

O cromo (III) é um mineral essencial ao corpo humano e participa do metabolismo dos carboidratos o que contribui e auxilia na sensibilidade da ação da insulina (DRIs, 2001; DRAKE et al., 2012). A concentração de cromo para o óleo de licuri foi $0,041 \pm 0,002 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo a maior concentração encontrada entre todas as amostras estudadas e estabeleceu conformidade com o trabalho Bakircioglu, Kurtulus e Yurtsever (2013) que determinaram cromo em óleo de canola e milho.

O zinco desempenha inúmeras funções no metabolismo humano e é considerado um micronutriente essencial, pois é cofator enzimático de mais de 300 enzimas e a sua ausência pode afetar o funcionamento das reações. Uma reserva adequada de zinco é primordial para a estrutura óssea e regulação da expressão gênica, já o excesso pode afetar a biodisponibilidade de cobre (DRIs, 2001; YASUDA e TSUTSUI, 2016). As concentrações de zinco foram descritas na literatura como 0,06 e $3,39 \mu\text{g g}^{-1}$ (ONIANWA et al., 2001). No presente trabalho foi possível determinar esse mineral em maior quantidade no óleo de licuri, óleo de pequi, óleo de prímula, óleo de abacate e óleo de babaçu, respectivamente. As amostras de óleo de coco e óleo de semente de uva apresentaram valores abaixo do limite de quantificação.

O fósforo é um elemento químico de grande importância para o funcionamento do organismo humano, possui ligação direta com o metabolismo de glicídios, lipídeos, proteínas e desempenha papel na ativação de diferentes enzimas. Assim como o cálcio, o fósforo é um constituinte mineral de grande importância para o tecido ósseo (MONTEIRO et al., 2017). Neste trabalho a concentração de fósforo foi determinada em maior quantidade no óleo de licuri, óleo de pequi, óleo de abacate, óleo de prímula, óleo de babaçu, respectivamente. As amostras de óleo de coco e óleo de semente de uva apresentaram valores abaixo do limite de quantificação. Mitić et al. (2018) determinaram simultaneamente metais em óleos comerciais de sementes de abóbora e o fósforo foi um dos elementos mais abundantes.

No presente trabalho os elementos encontrados apresentaram valores dentro das faixas estabelecidas para ingestão dietética recomendada (RDA), exceto para Ni que apresentou valores maiores que os recomendados, como já descrito anteriormente. Em conformidade com as DRIs, não foi possível encontrar valores de referência para Alumínio, Bário e Titânio. Desta forma, de acordo com a FAO /

OMS Aditivos Alimentares - JECFA (2011) a ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) para alumínio é de 2 mg kg⁻¹ de peso corporal. A estimativa estabelecida para a ingestão dietética diária de bário é entre 6 a 10 µg kg⁻¹ para adultos (ROSE et al., 2010; ANSES, 2011) e para o titânio a ingestão dietética ainda é controversa, embora muitos trabalhos científicos já evidenciaram que este pode bioconcentrar e bioacumular levando a alterações em órgãos de animais (JOVANOVIĆ, 2015).

Observando a importância da determinação multi-elementar em óleos, Novaes et al. (2015) determinaram Ca, Fe, K, Mg e Zn em polpa e amêndoa do fruto pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) coletados nas feiras livres de três municípios baianos utilizando espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Os níveis de concentrações encontradas foram: para Ca 1709,1 a 2453,2 µg g⁻¹; para Fe 5,51 a 36,4 µg g⁻¹; para K 684,3 a 1845,4 µg g⁻¹; para Mg 448,9 a 511,7 µg g⁻¹ e para Zn 54,9 a 133,7 µg g⁻¹.

Foi proposto por Cindric, Zeiner, Steffan (2007) um método para determinação do perfil inorgânico de óleos comestíveis, dentre eles o óleo de semente de uva, visto que as amostras apresentaram quantidades muito baixas de Al, Cu, Co, Cr, K, Ni, Mn e Pb foi utilizada a técnica analítica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS). Para o Al, Cu e Ni obtiveram uma média de 0,07; 0,24 e 0,08 µg g⁻¹ respectivamente. No presente trabalho foi encontrado resultados para os mesmos elementos de 0,115 ± 0,071; 0,013 ± 0,001 e 0,166 ± 0,077mg kg⁻¹, respectivamente.

Bakircioglu, Kurtulus e Yurtsever (2013) selecionaram o procedimento de quebra de emulsão como a técnica de preparo de amostra que apresentou menor tempo e menores desvios quando comparada a extração ultra-sônica e procedimentos de digestão por via úmida. O procedimento também pode ser aplicado no intuito de determinar oligoelementos em biodiesel além de óleos vegetais.

CONCLUSÃO

O procedimento de extração induzido por quebra de emulsão utilizado para determinação dos elementos traços Al, Ba, Cu, Cr, P, Ni, Ti e Zn em amostras de óleos comestíveis (óleo de abacate, óleo de pequi, óleo de coco, óleo de babaçu, óleo de licuri, óleo de semente de uva e óleo de primula) foi útil para análise de rotina em laboratório e pode ser considerado uma boa alternativa à outros procedimentos de preparo de amostras como, por exemplo, digestão ácida. A aplicação desta técnica permitiu a determinação da composição mineral de forma satisfatória para todos os óleos analisados.

Comparando-se as amostras de óleos vegetais comestíveis estudadas, somente a concentração de níquel apresentou valores acima da recomendação de ingestão provisória recomendada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da escassez de trabalhos científicos com os óleos estudados fica evidente a necessidade de que novas pesquisas sejam realizadas com o objetivo de ampliar os conhecimentos sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999, Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de óleos e gorduras vegetais. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm>. Acesso em 02 de maio de 2019.

AGGARWAL, A. e BHATT, M. Update on Wilson disease. In: International review of neurobiology. **Academic Press**, p. 313-348, 2013.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY [ATSDR]. Toxicological profile for zinc and zinc compounds. Atlanta, 2011, Disponível em< <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=54>>. Acesso em 05 de abril de 2019.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY [ATSDR]. Toxicological profile for copper and copper compounds. Atlanta, 2011. Disponível em< <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=37>>. Acesso em 05 de abril de 2019.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY [ATSDR]. Toxicological profile for barium and barium compounds. Atlanta, 2011. Disponível em< <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=57>>. Acesso em 05 de abril de 2019.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY [ATSDR]. Toxicological profile for titanium and titanium compounds. Atlanta, 2011. Disponível em<<https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=122>>. Acesso em 05 de abril de 2019.

ALLUÉ, J.; GARCÉS, A. M.; BECH, J.; BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fractionation of chromium in tannery sludge-amended soil and its availability to fenugreek plants. **Journal of soils and sediments**, v. 14, n. 4, p. 697-702, 2014.

ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation. Environnement, Travail), 2011. Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT2). Disponível

em<<http://www.anses.fr/fr/content/les-%C3%A9tudes-de-l'alimentation-totale-eat>>. Acesso em: 01 de abril de 2019.

ARVAND, M.; KERMANIAN, M. Potentiometric determination of aluminum in foods, pharmaceuticals, and alloys by AIMCM-41-modified carbon paste electrode. **Food analytical methods**, v. 6, n. 2, p. 578-586, 2013.

BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y. B.; YURTSEVER, S. Comparison 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, n. 2-3, p. 770-775, 2013.

BERASATEGI, I.; BARRIUSO, B.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. **Food chemistry**, v. 132, n. 1, p. 439-446, 2012.

BRASIL. ILSI, Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes, 2010.

BRASIL. Instrução normativa MAPA nº 49, 22 de dezembro de 2006. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF. 26 dez. 2006, Seção 1, p. 140 – 141.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n. 270, de 22 de setembro de 2005: Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. 2005.

BRASIL. Licuri. **Ministério da Educação**. Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica, Brasília, DF. nov., 2006, Seção 1, p. 1 – 32.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria nº 1.428, de 26 de novembro de 1993: Aprova o Regulamento Técnico para inspeção sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de boas práticas de produção e de prestação de serviços na área de alimentos e o regulamento técnico para o estabelecimento do padrão de identidade e qualidade para serviços e produtos na área de alimentos, 1993.

CAMPESTRE. Óleo de coco babaçu- Ficha Técnica. São Bernardo dos Campos, São Paulo, 1974. Disponível em< <http://www.campestre.com.br/oleos->

[vegetais/oleo-de-coco-de-babacu/oleo-de-coco-babacu-ficha-tecnica/](#) >. Acesso em 02 de maio de 2019.

CARVALHO, J. D. V. Cultivo de babaçu e extração do óleo. Dossiê Técnico, Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília–CDT/UnB. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas–SBRT, 2007.

CARVALHO, L. S.; PEREIRA, K. F.; ARAÚJO, E. G. Características botânicas, efeitos terapêuticos e princípios ativos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*). **Arquivo Ciências da Saúde**, v. 19, n. 2, p. 147-157, 2015.

CINDRIC, I. J.; ZEINER, M.; STEFFAN, I. Trace elemental characterization of edible oils by ICP–AES and GFAAS. **Microchemical Journal**, v. 85, n. 1, p. 136-139, 2007.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 47, n. 3, p. 299-317, 2007.

CHASAPIS, C. T.; LOUTSIDOU, A. C.; SPILIOPOULOU, C. A.; STEFANIDOU, M. E. Zinc and human health: an update. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 4, p. 521-534, 2012.

Codex Alimentarius Commission, Codex-Stan 210: Codex Standard for Named Vegetable Oils. Rome, 2008.

CUBADDA, F.; GIOVANNANGELI, S.; IOSI, F.; RAGGI, A.; STACCHINI, P. Chromium determination in foods by quadrupole inductively coupled plasma–mass spectrometry with ultrasonic nebulization. **Food chemistry**, v. 81, n. 3, p. 463-468, 2003.

DE FALCO, A.; CUKIERMAN, D. S.; HAUSER-DAVIS, R. A.; REY, N. A. Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.

DE MACÊDO, É. M. C.; AMORIM, M. A. F.; DA SILVA, A. C. S.; DE CASTRO, C. M. M. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de

crianças com desnutrição grave. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 3, p. 329-336, 2010.

DE OLIVEIRA, M. E. B.; GUERRA, N. B.; BARROS, L. D. M.; ALVES, R. E. Aspectos agronômicos e de qualidade do pequi. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

DRAKE, T.; RUDSER, K.; SEAQUIST, E.; SAEED, A. Chromium infusion in hospitalized patients with severe insulin resistance: a retrospective analysis. **Endocrine Practice**, v. 18, n. 3, p. 394-398, 2012.

DRUMOND, M. A. Licuri *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Documentos 199, Petrolina, EMBRAPA Semiárido, 2007.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R., PEREIRA, J. A.; RAMALHOSA, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 161-166, 2013.

Food and Nutrition Board - Institute of Medicine - National Academy of Sciences. New dietary reference intakes: recommended levels for individual intakes 2001 Recommended Dietary Allowances, revises, 1998.

GOPALANI, M.; SHAHARE, M.; RAMTEKE, D. S.; WATE, S. R. Heavy metal content of potato chips and biscuits from Nagpur city, India. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 79, n. 4, p. 384-387, 2007.

GUNSTONE, F. D. *Vegetables Oils in Food Technology: properties and uses*, 2 ed. **New Jersey: Wiley-Blakwell**, 2011.

JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series, v. 966, p. 7–18, 2011.

JOVANOVIĆ, B. Revisão crítica dos regulamentos de saúde pública do dióxido de titânio, um aditivo alimentar humano. **Avaliação e gestão ambiental integrada**, v.11, n. 1, p. 10-20, 2015.

KAMAL-ELDIN, A.; MOAZZAMI, A. Plant sterols and stanols as cholesterol-lowering ingredients in functional foods. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2009.

KANUMAKALA, S., BONEH, A., ZACHARIN, M. Pamidronate treatment improves bone mineral density in children with Menkes disease. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v.25, p. 391–398, 2002.

KING, T.; COLE, M.; FARBER, J. M.; EISENBRAND, G.; ZABARAS, D.; FOX, E. M.; HILL, J. P. Food safety for food security: Relationship between global megatrends and developments in food safety. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 160-175, 2017.

LEE, Y. J.; LIM, S. S.; BAEK, B. J.; AN, J. M.; NAM, H. S.; WOO, K. M.; CHO, M. K.; KIM, S. H.; LEE, S. H. Nickel (II)-induced nasal epithelial toxicity and oxidative mitochondrial damage. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 42, p. 76-84, 2016.

LIGHTFOOT, N. E.; BERRIAULT, C. J.; SEILKOP, S. K.; CONARD, B. R. Nonrespiratory mortality and cancer incidence in a cohort of Canadian nickel workers. **Archives of environmental & occupational health**, v. 72, n.4, p.187-203, 2017.

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, 2014.

MIRANDA-VILELA, A. L.; GRISOLIA, C. K.; RESCK, I. S.; MENDONÇA, M. A. Characterization of the major nutritional components of Caryocar brasiliense fruit pulp by NMR spectroscopy. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2310-2313, 2009.

MITIĆ, M.; PAVLOVIĆ, A.; TOŠIĆ, S.; MAŠKOVIĆ, P.; KOSTIĆ, D.; MITIĆ, S.; KOCIĆ, G.; MAŠKOVIĆ, J. Optimization of simultaneous determination of metals in

commercial pumpkin seed oils using inductively coupled atomic emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 141, p. 197-203, 2018.

MONTEIRO, T. H.; DE PAULA, B. M. F.; VANNUCCHI, P. I.; PAULA, H. I.; MORAIS, B. ILSI BRASIL INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE DO BRASIL, 2017.

MYHRSTAD, M. C.; NARVERUD, I.; TELLE-HANSEN, V. H.; KARHU, T.; LUND, D. B.; HERZIG, K. H.; MAKINEN, M.; HALVORSEN, B.; RETTERSTØL, K.; KIRKHUS, B.; GRANLUND, L.; HOLVEN, K. B.; ULVEN, S. M. Effect of the fat composition of a single high-fat meal on inflammatory markers in healthy young women. **British journal of nutrition**, v. 106, n. 12, p. 1826-1835, 2011.

Novaes, C. G.; Neto, J. H. S.; Ledo, P. F.; Silva, M. J.; dos Santos, B. G. S.; Ribeiro, J. P. Determinação de Ca, Fe, K, Mg e Zn em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) usando Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente. **Exatas Online**, v. 6, n. 2, p. 11-20, 2015.

ONIANWA, P. C., ADEYEMO, A. O., IDOWU, O. E., OGABIELA, E. E. Copper and zinc contents of Nigerian foods and estimates of the adult dietary intakes. **Food Chemistry**, v. 72, p. 89–95, 2001.

PENIDO, M. G.; ALON, U. S. Phosphate homeostasis and its role in bone health. **Pediatric nephrology**, v. 27, n. 11, p. 2039-2048, 2012.

RAMALHO, C. I. LICURI (*Syagrus coronata*), v. 30, n. 8, p. 2006. Disponível em <<http://www.cca.ufpb.br/lavouraxerofila/culturas.html>>. Acesso em 02 de maio de 2019.

ROSE, M.; BAXTER, M.; BRERETON, N.; BASKARAN, C. Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 10, p. 1380-1404, 2010.

SHEN, H. M.; ZHANG, Q. F. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. **Environmental health perspectives**, v. 102, n. 1, p. 275-282, 1994.

TAN, C. X. Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 381-392, 2019.

TEIXEIRA, M. A. Babassu - a new approach for an ancient Brazilian biomass, **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 9, p. 857-864, 2008.

Trindade, A. S.; Dantas, A. F.; Lima, D. C.; Ferreira, S. L.; Teixeira, L. S. Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for determination of Cu, Fe, Ni and Zn in vegetable oils by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 185, p. 145-150, 2015.

WANG, L.; WISE, J. T. F.; ZHANG, Z.; SHI, X. Progress and prospects of free radicals in metal-induced carcinogenesis. **Curr Pharmacol Rep**, v. 2, n. 4, p. 178-86, 2016.

WILLIAMSON, E.; DRIVER, S.; BAXTER, K. Interações medicamentosas de Stockley: plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. **Editores Artemed**, Porto Alegre-RS, 2012.

WISE, S. S.; HOLMES, A. L.; WISE, S.R. Hexavalent chromium-induced DNA damage and repair mechanisms. **Reviews on environmental health**, v. 23, n. 1, p. 39-58, 2008.

WONG, M.; REQUEJO-JACKMAN, C.; WOOLF, A. What is unrefined, extra virgin cold-pressed avocado oil, **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 87, p. 1099, 2010.

YASUDA, H.; TSUTSUI, T. Infants and elderly are susceptible to zinc deficiency. **Scientific reports**, v. 6, p. 21850, 2016.

ZAMBELLI, B.; CIURLI, S. Nickel and human health, Interrelations between essential metal ions and human diseases. **Springer**, Dordrecht, p. 321-357, 2013.

ANEXO 1

Tabela 2 – Função dos elementos no organismo humano, recomendações nutricionais (DRIs) para indivíduos saudáveis de acordo com a faixa etária e gênero e efeitos do consumo excessivo.

Elementos	Função	Faixa etária/Gênero	RDA	UL	Efeito do consumo excessivo
Cobre (Cu)	Componente de enzimas no metabolismo do Ferro.	Lactente	(µg/dL)	(µg/dL)	Distúrbios gastrointestinais e danos hepáticos.
		0–6 meses	200	ND	
		7–12 meses	220	ND	
		Crianças			
		1–3 anos	340	1,000	
		4–8 anos	440	3,000	
		Masculino			
		9–13 anos	700	5,000	
		14–18 anos	890	8,000	
		19–30 anos	900	10,000	
		31-50 anos	900	10,000	
		50-70 anos	900	10,000	
		> 70 anos	900	10,000	
		Feminino			
		9–13 anos	700	5,000	
14–18 anos	890	8,000			
19–30 anos	900	10,000			

		31-50 anos	900	10,000	
		50-70 anos	900	10,000	
		> 70 anos	900	10,000	
		Gestante			
		≤ 18 anos	1000	8,000	
		19-30 anos	1000	10,000	
		31-50 anos	1000	10,000	
		Lactação			
		≤ 18 anos	1300	8,000	
		19-30 anos	1300	10,000	
		31-50 anos	1300	10,000	
Cromo (Cr)	Auxilia na sensibilidade da ação da insulina.	Lactente	(µg/dL)	(µg/dL)	Insuficiência renal crônica.
		0-6 meses	0,2	ND	
		7-12 meses	5,5	ND	
		Crianças			
		1-3 anos	11	ND	
		4-8 anos	15	ND	
		Masculino			
		9-13 anos	25	ND	
		14-18 anos	35	ND	
		19-30 anos	35	ND	
		31-50 anos	35	ND	

		50-70 anos	30	ND	
		> 70 anos	30	ND	
		Feminino			
		9-13 anos	21	ND	
		14-18 anos	24	ND	
		19-30 anos	25	ND	
		31-50 anos	25	ND	
		50-70 anos	20	ND	
		> 70 anos	20	ND	
		Gestante			
		≤ 18 anos	29	ND	
		19-30 anos	30	ND	
		31-50 anos	30	ND	
		Lactação			
		≤ 18 anos	44	ND	
		19-30 anos	45	ND	
		31-50 anos	45	ND	
Fósforo (P)	Manutenção do balanço ácido básico do organismo, armazenamento e transferência de energia e síntese de nucleotídeo.	Lactente	(mg/dL)	(mg/dL)	Calcificação metastática, porosidade esquelética, interferência com absorção de cálcio.
		0-6 meses	100	ND	
		7-12 meses	275	ND	
		Crianças			
		1-3 anos	460	3,000	

4-8 anos	500	3,000
Masculino		
9-13 anos	1,250	4,000
14-18 anos	1,250	4,000
19-30 anos	700	4,000
31-50 anos	700	4,000
50-70 anos	700	4,000
> 70 anos	700	3,000
Feminino		
9-13 anos	1,250	4,000
14-18 anos	1,250	4,000
19-30 anos	700	4,000
31-50 anos	700	4,000
50-70 anos	700	4,000
> 70 anos	700	3,000
Gestante		
≤ 18 anos	1,250	3,500
19-30 anos	700	3,500
31-50 anos	700	3,500
Lactação		
≤ 18 anos	1,250	4,000
19-30 anos	700	4,000

		31–50 anos	700	4,000		
Níquel (Ni)	Nenhuma função biológica clara em humanos foi identificada, Pode servir como cofator de metaloenzimas e facilitar o uso, a absorção e o metabolismo de ferro em microorganismos.	Lactente	(mg/dL)	(mg/dL)	Diminuição do ganho de peso corporal, Obs.: Como observado em estudos realizados com animais.	
		0–6 meses	ND	ND		
		7–12 meses	ND	ND		
		Crianças				
		1–3 anos	ND	0,2		
		4–8 anos	ND	0,3		
		Masculino				
		9–13 anos	ND	0,6		
		14–18 anos	ND	1,0		
		19–30 anos	ND	1,0		
		31-50 anos	ND	1,0		
		50-70 anos	ND	1,0		
		> 70 anos	ND	1,0		
		Feminino				
		9–13 anos	ND	0,6		
		14–18 anos	ND	1,0		
		19–30 anos	ND	1,0		
		31-50 anos	ND	1,0		
		50-70 anos	ND	1,0		
		> 70 anos	ND	1,0		

		Gestante	ND	1,0	
		≤ 18 anos	ND	1,0	
		19-30 anos	ND	1,0	
		31-50 anos			
		Lactação	ND	1,0	
		≤ 18 anos	ND	1,0	
		19-30 anos	ND	1,0	
		31-50 anos			
Zinco (Zn)	Componente de múltiplas enzimas e proteínas; envolvidos na regulação da expressão gênica.	Lactente	(mg/dL)	(mg/dL)	Interferência
		0-6 meses	2	4	no metabolismo do cobre.
		7-12 meses	3	5	
		Crianças			
		1-3 anos	3	7	
		4-8 anos	5	12	
		Masculino			
		9-13 anos	8	23	
		14-18 anos	11	34	
		19-30 anos	11	40	
		31-50 anos	11	40	
		50-70 anos	11	40	
		> 70 anos	11	40	

Feminino		
9-13 anos	8	23
14-18 anos	9	34
19-30 anos	8	40
31-50 anos	8	40
50-70 anos	8	40
> 70 anos	8	40
Gestante		
≤ 18 anos	12	34
19-30 anos	11	40
31-50 anos	11	40
Lactação		
≤ 18 anos	13	34
19-30 anos	12	40
31-50 anos	12	40
