



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
QMC 5515- ESTÁGIO SUPERVISIONADO

Helena Dias e Silva

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO DESENVOLVIDO NO SETOR
LABORATORIAL AVANÇADO EM SANTA CATARINA DO LABORATÓRIO
FEDERAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA**

Florianópolis, SC

2024

Helena Dias e Silva

**ANÁLISE DE UMIDADE POR MICRO-ONDAS/INFRAVERMELHO E GORDURA
POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE BAIXA RESOLUÇÃO EM
ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE COMPANHIA**

Relatório de Estágio Supervisionado (QMC 5515)
apresentado ao Departamento de Química da
Universidade Federal de Santa Catarina
desenvolvido no Laboratório Federal de Defesa
Agropecuária – Setor Laboratorial Avançado
(SLAV) em São José/SC

Orientador: Prof. Dr. Miguel Soriano Balparda
Caro
Supervisor: Msc. Andre Barbosa da Silva

Florianópolis, SC

2024

E Silva, Helena Dias

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO DESENVOLVIDO NO
SETOR LABORATORIAL AVANÇADO EM SANTA CATARINA DO
LABORATÓRIO FEDERAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA : ANÁLISE DE
UMIDADE POR MICRO-ONDAS/INFRAVERMELHO E GORDURA POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE BAIXA RESOLUÇÃO EM
ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE COMPANHIA / Helena Dias E Silva
; supervisor, Miguel Soriano Balparda Caro, coorientador,
Andre Barbosa Da Silva, 2024.

34 p.

Relatório de Estágio - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

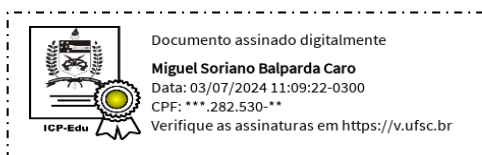
1. Química - Bacharelado. 2. Química. 3. Análise de
Conformidade. 4. Nutrição animal. 5. Analítica. I. Caro,
Miguel Soriano Balparda. II. Da Silva, Andre Barbosa. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química
- Bacharelado. IV. Título.

Helena Dias e Silva

Relatório de Estágio Supervisionado desenvolvido no Setor Laboratorial Avançado em
Santa Catarina do Laboratório Federal da Defesa Agropecuária

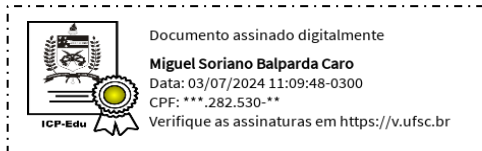
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de
Bacharel em Química Tecnológica e aprovado em sua forma final pelo Curso Química.

Florianópolis, 26 de junho de 2024.



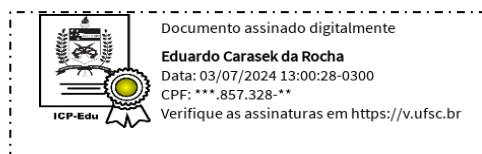
Coordenação do Curso

Banca examinadora

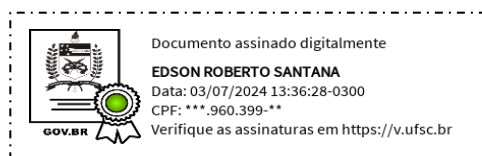


Prof. Miguel Soriano Balparda Caro, Dr.

Orientador



Prof. Eduardo Carasek da Rocha, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Edson Roberto Santana Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha mãe, Vivian Ferreira Dias, minha melhor amiga, que sempre investiu na minha educação, segurou minha mão nos momentos mais difíceis e nunca mediu esforços para me ver feliz. Ao meu irmão gêmeo, Heitor Dias e Silva, por me incentivar constantemente e estar sempre ao meu lado. Ao meu pai, Osnilson Rodrigues Silva, que mesmo à distância me mostrou o verdadeiro significado de dedicação. Agradeço a toda a minha família por acreditar em mim e me apoiar em cada passo desta jornada. Ao meu amado Vinícius, pelo amor e carinho durante esse período.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação: Diogo, Natália, Amandinha, Chantal, Stephany, Vinnie, Paulo e Gui. E aos meus amigos de longa data: Luana, Letícia, Luigi, Flaviana e Mimi. Sou imensamente grata por sempre me estenderem a mão e acolherem minhas lamúrias. Vocês foram fundamentais para a minha caminhada.

Agradeço ao MAPA e ao Msc. Andre Barbosa pela valiosa oportunidade de realizar este estágio. A todos os trabalhadores do SLAV-SC, em especial ao Maurício, Daniela, Ana Roberta e ao Luciano, minha sincera gratidão pela atenção, ajuda e paciência ao longo deste período.

Agradeço também ao Prof. Dr. Miguel Caro pela orientação e apoio neste projeto, e à Universidade Federal de Santa Catarina, que foi minha segunda casa durante esses anos. Aos técnicos, auxiliares e docentes que me acompanharam e contribuíram para o meu desenvolvimento ao longo da minha formação, meu muito obrigado.

RESUMO

As medidas físico-químicas realizadas em laboratórios químicos são fundamentais para tomar decisões na produção, controle e fiscalização de produtos e processos. A análise de alimentos para animais é crucial para garantir a competitividade e assegurar a saúde dos animais e o direito dos consumidores. O Setor Laboratorial de Santa Catarina realiza análises quantitativas de umidade e gordura em rações utilizando métodos gravimétricos, com secagem em estufa e extração da gordura por sistema Soxhlet. Contudo, esses métodos são morosos e geram muitos resíduos. Neste contexto, a tecnologia por secagem por micro-ondas e infravermelho para análise de umidade, aliada ao uso da ressonância magnética nuclear de baixa resolução para quantificação da gordura total foram empregadas para otimizar um método rápido e reprodutível com análises em até 30 minutos. O método foi validado a partir de sua precisão. A análise estatística confirmou que os métodos gravimétricos tendem a produzir valores maiores de gordura em comparação com a tecnologia de ressonância magnética nuclear (diferença entre as médias de 9,35%) e menores de umidade em comparação com a tecnologia de micro-ondas e infravermelho (-5,32%). Após o estudo, foi obtido um Erro Médio Quadrático da Validação Cruzada (RMSECV) de 1,6%. Além disso, o estágio proporcionou acompanhar outras atividades como determinação de resíduos de sedativos e β - agonistas em rim por LC-MS/MS e bases voláteis totais por acidimetria em pescado que permitiram a aplicação dos conhecimentos adquiridos durante a formação acadêmica, constituindo-se de valiosa experiência profissional na área da Química.

Palavras-chave: nutrição animal; análise de conformidade; PET.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparelhos do sistema SMART 6 e ORACLE.....	13
Figura 2. Acondicionamento da amostra sobre o papel de fibra de vidro e filme track	16
Figura 3. Gráfico de barras para as concentrações de umidade e gordura em % mensuradas e pareadas quanto aos métodos de referência e sistema SMART 6/ORACLE.....	19
Figura 4. Gráfico de regressão correlacionando as matrizes X e Y correspondente aos resultados obtidos pelos métodos de referência e valores preditos utilizando o sistema SMART 6/ORACLE.....	20
Figura 5. Gráfico correspondente aos resultados obtidos pelos métodos de referência e valores preditos utilizando o sistema SMART 6/ORACLE após o ajuste e resíduos dos valores de predição.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.O.A.C - Métodos Oficiais de Análises

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANOVA - Análise de variância

FT-NIR - Espectroscopia no Infravermelho Próximo por Transformada de Fourier

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ISO - Organização Internacional de Normalização

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas

LFDA - Laboratórios Federal de Defesa Agropecuária

LR-NMR - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear em Baixa Resolução

MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária

NMKL - Comitê Escandinavo para Análise de Alimentos

N-BVT - Bases Nitrogenadas Voláteis Totais

SLAV-SC - Setor Laboratorial Avançado em Santa Catarina

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO.....	9
2. INTRODUÇÃO.....	10
3. REVISÃO DA LITERATURA REFERENTE AO TRABALHO DESENVOLVIDO.....	11
3.1 ANÁLISE DE CONFORMIDADE.....	11
3.2 VALIDAÇÃO CRUZADA.....	11
3.3 REGULAMENTAÇÃO DE UMIDADE E GORDURA.....	12
3.4 SISTEMA SMART 6/ORACLE.....	13
4. OBJETIVOS.....	16
4.1 OBJETIVO GERAL.....	16
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
5. METODOLOGIA.....	17
5.1 PREPARO DE AMOSTRAS.....	17
5.2 MÉTODOS CLÁSSICOS DE REFERÊNCIA.....	17
5.3 ANÁLISE DE UMIDADE E GORDURA PELO SISTEMA SMART6/ORACLE.....	17
6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NO ESTÁGIO.....	20
7. OUTRAS ATIVIDADES REALIZADAS.....	25
7.1 ANÁLISE DE NBVT.....	25
7.2 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE SEDATIVOS E β -AGONISTAS EM RIM POR LC-MS/MS.....	27
8. CONCLUSÃO E PERSPECTIVA.....	29
9. CONTRIBUIÇÃO DO ESTÁGIO À FORMAÇÃO PROFISSIONAL.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

1. APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) é o órgão da administração pública federal responsável por formular e executar as políticas públicas relacionadas à agricultura e à pecuária. Os laboratórios oficiais do MAPA, conhecidos como Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária (LFDA), são responsáveis pela vigilância e exame de alimentos e insumos da cadeia agropecuária no Brasil. Eles não apenas realizam inspeções e atividades de monitoramento, mas também fazem auditorias em laboratórios credenciados. Os LFDA são estabelecimentos cruciais para o cumprimento das regulamentações sanitárias e fitossanitárias, trabalhando ativamente na prevenção e gestão de doenças que têm o potencial de impactar a agricultura, a pecuária e a segurança dos alimentos. Esses laboratórios ocupam posição fundamental na manutenção da excelência e da segurança dos produtos agropecuários brasileiros, atendendo tanto ao mercado interno quanto os produtos que entram e saem do país. As suas operações abrangem uma vasta gama de áreas, incluindo a avaliação da qualidade de produtos de origem animal e vegetal, a identificação de doenças em animais e o monitoramento de pragas, entre várias outras atividades essenciais.

Os LFDA, distribuídos em seis unidades pelo Brasil, abrangem as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A unidade de Santa Catarina, conhecida como setor laboratorial avançado (SLAV-SC), atua como uma extensão do LFDA do Rio Grande do Sul. Conta com duas unidades laboratoriais, o Laboratório de Identidade e Qualidade de Alimentos (IQA) e o Laboratório de Resíduos e Contaminantes em Alimentos (RCA).

A rotina da unidade de Santa Catarina conta com o recebimento de amostras, sendo elas: pescados, produtos lácteos, produtos cárneos e ração animal, provenientes de todas as regiões do país. Contam com análise de nitrito e nitrato, conservantes, sedativos, sulfitos, glicocorticoides, pH, bases voláteis totais, umidade, proteína e HPA's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), biotoxinas marinhas, entre outras. O SLAV-SC possui acreditação na ABNT NBR ISO/IEC 17025 pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), garantindo a confiabilidade, rastreabilidade e universalidade dos ensaios.

2. INTRODUÇÃO

Na competitiva indústria de alimentos para animais de estimação, a conformidade com os regulamentos e níveis de garantia declarados é crucial para inibir fraudes econômicas, propiciar competição justa e prevenir danos à sanidade animal. Para conseguir isso, os laboratórios de controle desempenham um papel vital na condução das análises laboratoriais.

A unidade do SLAV-SC IQA realiza diversos ensaios físico-químicos, entre eles, umidade e gordura em produtos cárneos e pescados. Nos produtos destinados à alimentação humana, a análise de teor de umidade é realizada em sistema gravimétrico com secagem da amostra através de radiação por infravermelho e por micro-ondas. Já o teor de gordura é quantificado por ressonância magnética nuclear utilizando sistema automatizado. No entanto, produtos destinados à alimentação animal são analisados por métodos clássicos gravimétricos, com umidade em secagem por estufa até massa constante de sólidos secos e gordura por hidrólise ácida seguida de extração. No entanto, essas abordagens são morosas e consomem solventes como éter e hexano em grande quantidade – gerando expressiva quantidade de resíduos em rotina analítica de alta frequência. Contudo, novos instrumentos vêm surgindo com o avanço da Metrologia Química e técnicas quimiométricas oferecendo ao serviço laboratorial maior reprodutibilidade, mantendo a universalidade e a confiabilidade dos resultados.

Durante o período de estágio, outras atividades também foram realizadas em paralelo, como o acompanhamento das análises de bases voláteis totais por acidimetria e a determinação de resíduos de sedativos e β -agonistas em rim por LC-MS/MS. Essas análises não terão seus dados aqui apresentados devido aos termos de confidencialidade e sigilo dos dados de amostras de rotina realizados no MAPA. Outrossim, também foram realizadas algumas atividades relacionadas a treinamentos, sendo eles tanto práticos quanto teóricos em relação aos ensaios, análises e práticas laboratoriais, capacitações e gestão de qualidade e segurança de um laboratório, que atende aos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025.

3. REVISÃO DA LITERATURA REFERENTE AO TRABALHO DESENVOLVIDO

3.1 ANÁLISE DE CONFORMIDADE

No Brasil, a regulamentação dos alimentos para animais é fiscalizada pelo MAPA, conforme estabelecido pelo Decreto nº 6.296, de 11 de dezembro de 2007. A Instrução Normativa MAPA nº 9, de 9 de julho de 2003, estabelece normas específicas relacionadas à identidade e à qualidade desses alimentos. Essas regulamentações estabelecem as diretrizes que as indústrias de alimentos para animais de estimação no Brasil devem seguir para garantir a conformidade com os padrões de qualidade e segurança dos produtos (BRASIL, 2003).

Nesse contexto, a análise química por meio de métodos validados para avaliar a composição química dos produtos para alimentação animal desempenha um papel crucial para assegurar a precisão e a confiabilidade dos resultados (CECCHI, 2003). Esse processo envolve várias etapas como a avaliação da linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e limites de quantificação dos métodos analíticos utilizados.

A metrologia química tem se modernizado com o surgimento de novos instrumentos como o sistema SMART 6/ORACLE, contribuindo para o amadurecimento de diversas áreas da ciência. A consolidação da quimiometria - uma fusão de matemática, estatística e química - tem propiciado o avanço significativo do tratamento de dados analíticos multivariados, tornando possível a aplicação de muitas técnicas inovadoras que propiciam o aumento da frequência analítica e diminuem a geração de resíduos químicos (MILLER, 2005).

3.2 VALIDAÇÃO CRUZADA

Para a verificação de desempenho de métodos analíticos exigida pela norma ISO 17025:2017, a validação cruzada estima a precisão de um modelo aplicado a amostras diferentes. Os conjuntos são distribuídos e representados por variável descritiva paramétrica. A escolha do melhor modelo de calibração para os valores mensurandos considera os valores da raiz quadrada do erro médio quadrático de

previsão (RMSEP – do inglês, *Root Mean Squares Error of Prediction*), que expressa o grau de concordância entre o valor estimado pelo modelo avaliado e o valor tido como de referência para cada parâmetro que se busca quantificar.

A validação cruzada é uma técnica amplamente utilizada em aplicações quimiométricas para determinar o número adequado de componentes em um modelo, minimizando o risco de sobreajuste. Esse processo envolve a divisão do conjunto de dados em duas partes: uma para a construção do modelo e outra para testar o modelo. Além disso, a validação cruzada aprimora modelos preditivos, permitindo que, a partir de dados históricos, seja possível prever dados futuros com maior precisão (BRO et al., 2008).

Métodos multivariados frequentemente são utilizados para estabelecer limites de controle que consideram inter-relações entre múltiplas variáveis. A validação cruzada pode ser empregada para validar esses limites, garantindo que sejam robustos e aplicáveis a diferentes condições operacionais do processo (KOURTI; MACGREGOR, 1996).

3.3 REGULAMENTAÇÃO DE UMIDADE E GORDURA

O MAPA regulamenta os níveis de umidade e gordura em rações animais de companhia (**Tabela 1**) por diversos motivos que impactam tanto a qualidade dos produtos quanto a saúde animal e humana, conforme os critérios estabelecidos na Portaria nº 3/2009 do MAPA (BRASIL, 2009). A determinação desses níveis ajuda a garantir a composição nutricional adequada, onde a umidade ideal preserva nutrientes, evita o crescimento de microrganismos e assegura a palatabilidade da ração, enquanto o teor de gordura fornece energia e contribui para a absorção de vitaminas lipossolúveis. Níveis adequados de ambos os componentes garantem o bom desenvolvimento e a saúde dos animais. Além disso, a padronização desses níveis de garantia auxilia na uniformidade e confiabilidade dos resultados nas análises, combatendo possíveis fraudes.

Tabela 1. Padrões de identidades de umidade e gordura dos produtos destinados à alimentação de animais de companhia

Classificação	Níveis de garantia (%)	Alimento seco	Alimento semi-úmido	Alimento úmido
Cães em crescimento	Umidade (máx.)	12	30	84
	Extrato etéreo (mín.)	7	6	1,3
Cães adultos	Umidade (máx.)	12	30	84
	Extrato etéreo (mín.)	4,5	3,6	1
Gatos em crescimento	Umidade (máx.)	12	30	84
	Extrato etéreo (mín.)	8	6,5	1,5
Gatos adultos	Umidade (máx.)	12	30	84
	Extrato etéreo (mín.)	8	6,5	1,5

Fonte: Ministério da Agricultura e da Pecuária (2009)

3.4 SISTEMA SMART 6/ORACLE

O sistema SMART 6 é um analisador de umidade que utiliza tecnologia de micro-ondas e infravermelho como fonte de radiação para que ocorra a secagem da amostra. A secagem é realizada por meio da rotação e vibração molecular, que aumentam o atrito e geram calor, elevando a energia cinética das moléculas. Esse processo faz com que as moléculas de água evaporem. Essa abordagem permite uma análise rápida de umidade em qualquer tipo de produto alimentício. A energia de dupla frequência proporciona uma secagem eficiente, através da remoção de moléculas voláteis por meio da rotação do dipolo e aquecimento uniforme da superfície da amostra para eliminar componentes não polares por vibração molecular. Além disso, o SMART 6 vem pré-programado com uma variedade de métodos de secagem otimizados para a conseguinte utilização do sistema ORACLE para determinação da gordura.

O sistema ORACLE determina a porcentagem de gordura em alimentos por ressonância magnética nuclear de baixa resolução isolando os prótons de hidrogênio presentes na gordura, conseguindo distingui-la de outras fontes de prótons nas matrizes alimentares, como carboidratos e proteínas. O sistema ORACLE pode ser utilizado independentemente ou em conjunto com o SMART 6, permitindo a análise combinada de gordura e umidade em menos de 10 minutos, sem necessidade de uso de solventes ou preparo anterior da amostra (“ORACLE - Rapid NMR Fat Analyzer”).

Ambos os sistemas da marca CEM oferecem uma solução eficiente e versátil para a análise de umidade e gordura em alimentos. Além disso, o sistema QuikPrep™ é utilizado para acondicionar as amostras à temperatura necessária para análise no SMART 6 e ORACLE, garantindo a fusão completa da gordura e a uniformidade da temperatura. Essa combinação dos equipamentos (**Figura 1**) produz resultados analíticos precisos e confiáveis, contribuindo para a qualidade e a segurança dos produtos alimentícios.

Figura 1. Aparelhos SMART 6 e ORACLE



Fonte: CEM

O SMART 6 possui uma biblioteca abrangente de métodos pré-programados para uma variedade de amostras alimentares. O recurso "One Touch" do aparelho permite acesso rápido a esses métodos prontos para uso e oferece a opção de download para testar virtualmente qualquer tipo de amostra de alimento. Por outro lado, o aparelho ORACLE elimina a necessidade de desenvolvimento de método, podendo ser usado para analisar qualquer amostra de alimento, o que o torna conveniente e eficaz para determinar parâmetros nutricionais de sua composição ("ORACLE excels in international study").

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar produtos destinados à alimentação de animais de companhia quanto ao seu teor de umidade utilizando secagem por micro-ondas/infravermelho e de gordura por ressonância magnética nuclear de baixa resolução com o sistema automatizado SMART 6/ORACLE da marca CEM.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os resultados de umidade e gordura obtidos pela aplicação dos métodos clássicos (métodos de bancada) e dos métodos executados no sistema SMART 6/ORACLE a um conjunto de 15 amostras de alimentos para animais de companhia produzidas por estabelecimentos fiscalizados, com base na conformidade dos níveis de garantia informados nos rótulos dos produtos.
- Utilizar validação cruzada com ajuste do modelo de regressão por coeficiente de regressão ajustado e erro quadrático médio de previsão para verificar o desempenho dos métodos de umidade e gordura executados no sistema SMART 6/ORACLE.

5. METODOLOGIA

5.1 PREPARO DE AMOSTRAS

Foram utilizadas 15 amostras de alimentos completos para cães e gatos nacionais, coletadas pelo MAPA em estabelecimentos registrados. Foi também utilizada neste estudo uma amostra de ensaio de proficiência (EPCBO-14C-94 - ração extrusada). As amostras foram moídas em um moinho ultracentrífugo com malha de abertura de 1,0 mm durante 10 minutos e posteriormente transferidas para frascos de vidro e armazenadas em temperatura ambiente até as análises.

5.2 MÉTODOS CLÁSSICOS DE REFERÊNCIA

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105°C com circulação de ar por 4 horas até a obtenção de peso constante. A gordura total foi determinada após hidrólise ácida das amostras com ácido clorídrico 4,0 mol L⁻¹ no sistema automatizado Hydrotherm (C. Gerhardt GmbH & Co). Em seguida, a gordura foi extraída com éter de petróleo ou hexano no sistema automático Soxtherm (C. Gerhardt GmbH & Co). Os resultados foram calculados de acordo com a equação 1:

$$(g / 100 g) = \frac{mA - mB}{mC} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

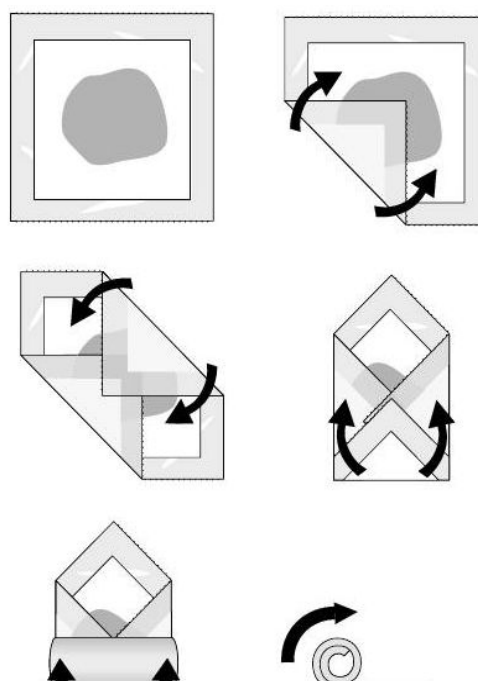
onde y: valor do mensurando (g/100 g); mA: massa do recipiente+amostra antes do processo (g); mB: a massa do recipiente+amostra após o processo (g); mC: massa de amostra (g) (BRASIL, 2022).

5.3 ANÁLISE DE UMIDADE E GORDURA PELO SISTEMA SMART6/ORACLE

A análise de umidade no aparelho CEM SMART 6 foi realizada pesando 1,0 g de amostra sobre um papel de fibra de vidro. Posteriormente, a amostra foi acondicionada na câmara de secagem do aparelho e foi selecionado o método de secagem otimizado. A secagem foi realizada em cerca de 5 minutos e a umidade

calculada em $g/100g$. Com a amostra seca, a gordura foi analisada pelo sistema ORACLE. Para isso, o papel de fibra de vidro com a amostra seca foi enrolado em folha de filme track e acondicionada por 45 minutos em um bloco aquecedor à $44,2^{\circ}\text{C}$ (**Figura 2**). Após esse período a gordura foi quantificada e o valor obtido em $g/100g$.

Figura 2. Acondicionamento da amostra sobre o papel de fibra de vidro e filme track



Fonte: CEM

5.4 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DE ANÁLISE

Os resultados das análises foram avaliados a partir da sua exatidão por um modelo de regressão linear, onde o eixo Y corresponde aos dados sistema CEM SMART 6 ORACLE e o eixo X aos resultados de referência. Foi realizado o teste-t (em par para médias) com objetivo de avaliar se houve diferença significativa entre os resultados das médias obtidas por meio dos métodos de referência e pelo sistema CEM SMART 6 ORACLE. O modelo foi ajustado por raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP) e do coeficiente de correlação.

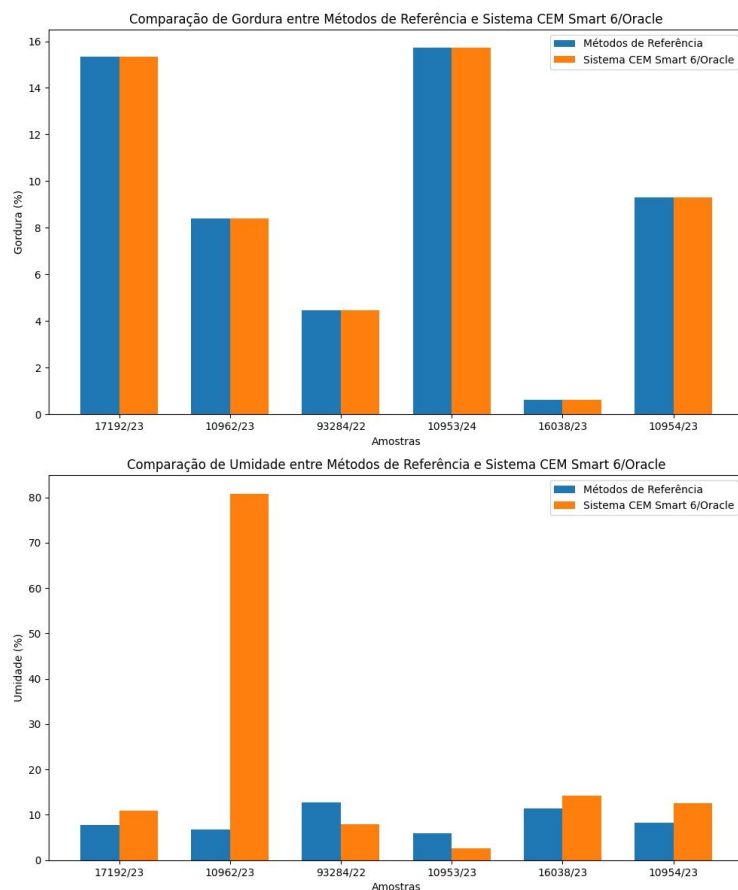
5.5 SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

Ao longo de todo o procedimento, foram adotadas medidas de segurança rigorosas. Isso incluiu o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como guarda-pós, luvas, calças e calçados fechados. Os reagentes foram manipulados em capelas com exaustão adequada. Todos os resíduos gerados foram devidamente separados e descartados em recipientes específicos. Além disso, os descartes passaram pelo processo de tratamento conduzido pelo sistema de gerenciamento de resíduos do SLAV. Tais práticas são fundamentais para salvaguardar a segurança no ambiente laboratorial e preservar a integridade dos pesquisadores.

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NO ESTÁGIO

Por meio do gráfico de barras (**Figura 3**), pode-se observar as concentrações de gordura e umidade (em porcentagem) mensuradas por métodos de referência e pelo sistema SMART 6 (umidade em porcentagem) hifenado com o ORACLE (gordura em porcentagem). Observando o gráfico percebe-se uma similaridade quanto às concentrações considerando as amostras para ensaio de gordura. Já considerando a umidade, é possível visualizar diferenças quanto aos valores. Entretanto, os valores de sólido seco são utilizados para o ensaio de gordura, propagando as variações de massa atribuídas ao mensurando. Isso pode ser observado quando os resultados do teste t pareado indicaram que diferença significativa entre os conjuntos, isto é, os métodos são diferentes em média. A média das diferenças das amostras para gordura foi positiva (9,35 %) demonstrando que o método de referência tende a medir valores de gordura mais altos do que no sistema da marca CEM. A significância estatística ($t = 2,32$) apoia a rejeição da hipótese nula (H_0), indicando que existe diferença entre as médias. Já para a umidade, a média das diferenças foi negativa -5,32 %, onde o método de referência tende a medir valores de umidade mais baixos do que o método CEM. A significância estatística ($t = -2,48$) também apoia a rejeição da hipótese nula, indicando uma diferença real entre os métodos.

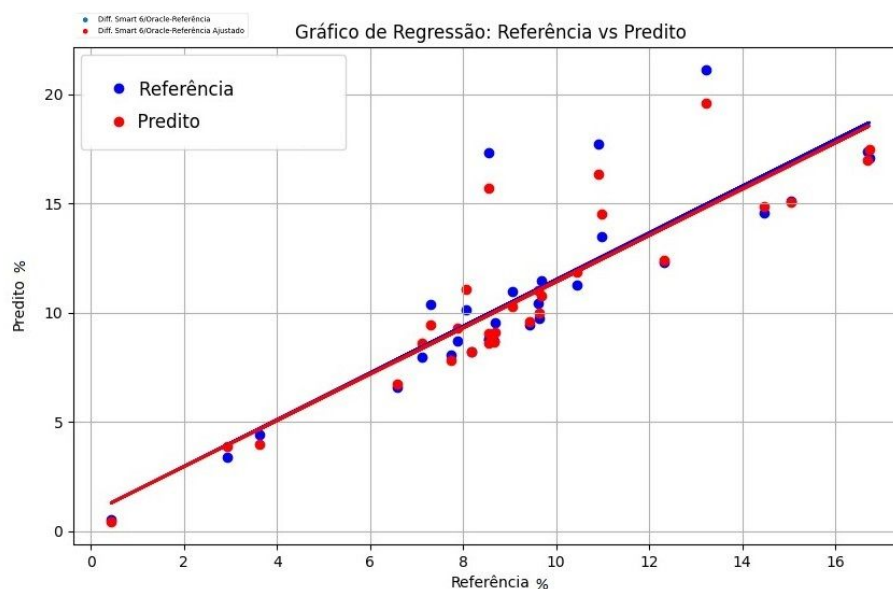
Figura 3. Gráfico de barras para as concentrações de umidade e gordura em % mensuradas e pareadas quanto aos métodos de referência e sistema SMART 6/ORACLE



Fonte: Autor (2024)

Dessa forma, obtido o perfil de precisão e bias por meio das diferenças sistemáticas entre os métodos, foi realizado o gráfico de regressão dos resultados em aplicações práticas com as amostras. O modelo (**Figura 4**) foi ajustado com o erro médio quadrático de previsão e coeficiente de correlação.

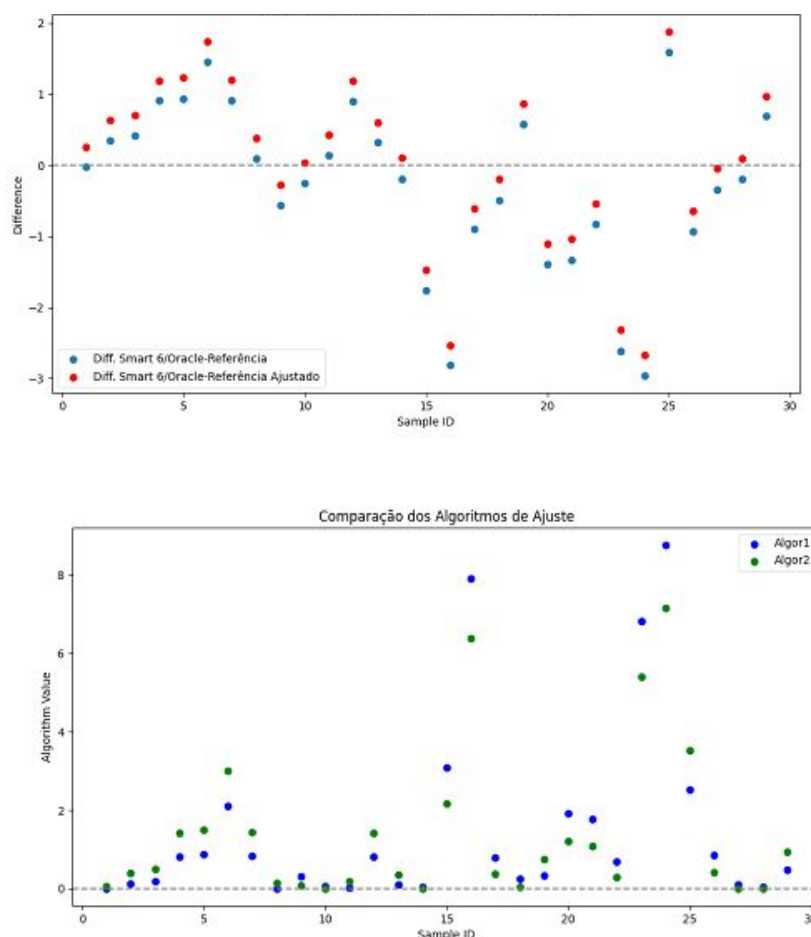
Figura 4. Gráfico de regressão correlacionando as matrizes X e Y correspondente aos resultados obtidos pelos métodos de referência e valores preditos utilizando o sistema SMART 6/ORACLE



Fonte: Autor (2024)

O valor da média da diferença é -0,29, indicando que, em média, o método Smart 6/Oracle mede umidade 0,29% abaixo do método de referência. Após o ajuste, a média da diferença entre as medições dos dois métodos é 0,00, o que significa que o ajuste foi bem-sucedido em corrigir o viés médio (**Figura 5**).

Figura 5. Gráfico correspondente aos resultados obtidos pelos métodos de referência e valores preditos utilizando o sistema SMART 6/ORACLE após o ajuste e resíduos dos valores de predição



Fonte: Autor (2024)

A faixa de trabalho da regressão abrangeu de 0,5% a 20% de gordura, cobrindo os níveis de garantia declarados nas amostras de fiscalização, cujo valor varia de acordo com o animal e a fase de crescimento. Os parâmetros do modelo foram considerados satisfatórios, apresentando um valor de RMSECV de 1,6% e coeficiente de determinação de 0,93. Por outro lado, o desvio padrão após o ajuste permanece 1,2, isto é, a variação nas diferenças permanece a mesma.

A aplicabilidade com as amostras (**Tabela 2**) revelam variações em relação aos níveis de garantia indicados. Enquanto a primeira amostra apresentou

conformidade na umidade quanto ao limite máximo estabelecido pelo MAPA, a gordura ficou abaixo. Na segunda amostra, a umidade se manteve dentro do intervalo especificado, porém a gordura também se apresentou inferior, por fim, a terceira ultrapassou o limite máximo permitido, enquanto a gordura estava em conformidade com o mínimo estipulado. Essas discrepâncias ressaltam a importância de um controle rigoroso de qualidade na produção e na rotulagem dos produtos, garantindo a conformidade com os padrões estabelecidos e a segurança do consumidor.

Tabela 2. Avaliação da conformidade de alimentos completos para gato e cães quanto aos limites para gordura e umidade determinadas pelo sistema CEM

Alimento	Umidade %	Nível garantia %	Gordura %	Nível garantia %
Cães	8,63	10 (máx)	7,00	8 (mín)
Gato	8,00	12 (máx)	1,70	15 (mín)
Cães	23,0	21 (máx)	4,00	3 (mín)

Fonte: Autor (2024)

7. OUTRAS ATIVIDADES REALIZADAS

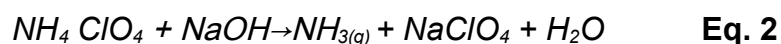
7.1 ANÁLISE DE NBVT

O pescado desempenha um papel de grande importância no cenário alimentício atual, e garantir sua qualidade e segurança é fundamental para proporcionar alimentos seguros à população. Dada a sua natureza perecível, é imprescindível manusear o pescado com o máximo cuidado durante todo o processo de produção.

Um método amplamente adotado para avaliar a qualidade do pescado é a determinação das Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (NBVT). Esse método envolve a medição dos níveis de compostos de baixo peso molecular, incluindo trimetilamina, dimetilamina e amônia, que são produzidos à medida que o peixe se deteriora. Ao empregar este método, podemos avaliar com eficácia a frescura e a qualidade do peixe (MIWA; LIWA, 1992).

Para garantir a qualidade do pescado armazenado, uma variedade de elementos físicos, bioquímicos, microbiológicos e sensoriais é empregada para avaliar se o alimento continua fresco. Segundo a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e Pecuária, o limite aceitável para NBVT em peixes é de 30 mg por 100g de carne de peixe (BRASIL, 1997).

O método volumétrico por acidimetria é empregado para quantificar o NBVT. Para extrair as bases voláteis da amostra, uma solução de ácido perclórico a 6% é utilizada. Em seguida, uma porção de 50 mL do filtrado é obtida e o ácido do meio é neutralizado pela adição de NaOH em excesso. Algumas gotas de fenolftaleína são adicionadas e o extrato é submetido à destilação por arraste de vapor, propiciando a coleta dos componentes básicos voláteis. Esse processo ocorre após a adição do hidróxido de sódio à solução, convertendo todo o sal de amônio em amônia como representado na equação abaixo (Equação 2):



Durante a destilação, um becker contendo 100 mL de ácido bórico a 3% e 3 gotas do indicador de tashiro é posicionado no destilador para receber a amônia. As bases absorvidas são tituladas com HCl 0,1 mol L⁻¹. A mudança de cor do indicador é utilizada para identificar o ponto de viragem e, conseqüentemente, a concentração de NBVT.

A desprotonação do ácido bórico possibilita a titulação. A partir disso, é possível determinar a quantidade de mols consumidos pela amônia, permitindo estimar a concentração total de amônia. As bases de nitrogênio absorvidas no becker são então tituladas utilizando um ácido padronizado para determinar a concentração de NBVT.

O processo envolve a quebra das ligações de nitrogênio em um ambiente ácido, resultando na formação de um sal de amônio. Uma vez formado o sal, uma base forte é introduzida na solução, causando a liberação de amônia. Após a produção de amônia, esta é destilada e coletada em solução ácida. Por meio de titulação, a concentração global de nitrogênio pode ser determinada (FERREIRA; MONTEIRO; SILVA, 2004).

O cálculo (Equação 3) é realizado utilizando o fator de correção da solução ácida empregada. Este fator é determinado durante o preparo da solução ácida, pois sua concentração pode variar da especificada para o procedimento. Para garantir precisão, é crucial estabelecer e definir este fator.

$$NBVT (mg/100g) = \frac{(V - Vb) \times f \times 14 \times 0,1 \times 2 \times 100}{m} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde V é o volume da solução ácida utilizada para titulação da amostra Vb é o volume de titulante gasto para a titulação do branco, 2 é o fator de diluição, m é a massa da amostra, 14 é a massa molar do nitrogênio, 0,1 a molaridade da solução de HCl e f é o fator de correção da solução ácida utilizada, indicado pela equação a seguir (Equação 4):

$$f = \frac{m}{0,053 \times V \times 0,10} \quad \text{Eq. 4}$$

Sendo o V o volume gasto na titulação e o m a massa do sal usada na titulação (BRASIL, 2022). A destilação de nitrogênio por arraste de vapor em ambiente alcalino tornou-se um método analítico estabelecido, devido à sua longa história de uso e à sua capacidade de fornecer resultados precisos e consistentes.

7.2 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE SEDATIVOS E β -AGONISTAS EM RIM POR LC-MS/MS

O Brasil ganha reconhecimento internacional por seu papel significativo na produção de alimentos, especialmente no setor de carnes, que tem experimentado crescimento tanto nacional quanto internacionalmente. Para atender à crescente demanda, os produtores pecuários implementaram as “Boas Práticas de Manejo” como parte de suas estratégias, com o objetivo de valorizar toda a cadeia produtiva, melhorar a qualidade dos produtos e promover o bem-estar animal.

O uso de medicamentos veterinários, incluindo sedativos e β -agonistas, é crucial para reduzir doenças e melhorar a qualidade de vida dos animais. Porém, é importante ressaltar que essas substâncias podem se acumular e deixar resíduos, principalmente nos rins e no fígado (FRENICH et al., 2010). Para garantir a segurança do consumidor e proteger a saúde pública, órgãos reguladores como o MAPA estabelecem os limites máximos de resíduos permitidos e implementam programas de monitoramento para garantir a segurança alimentar.

Nesse contexto, a técnica de determinação de resíduos de sedativos e β -agonistas por LC-MS/MS está sendo empregada para monitorar os níveis permitidos nos rins bovinos, suínos e equinos. Os sedativos e agonistas são extraídos das amostras por meio de uma técnica de extração sólido-líquido, seguida por uma purificação do extrato em baixa temperatura.

Para tanto, realiza-se a pesagem de 2,0 g da amostra e posterior centrifugação para que todo o material que esteja fixado à parede do tubo se

concentre no fundo dele. É necessário fortificar as amostras brancas (com ausência dos analitos em questão) e os controles com as soluções apropriadas (padrões em concentrações conhecidas para calibração externa);

Adiciona-se 10 mL de acetonitrila para realizar a extração e utiliza-se o ultraturrax para a homogeneização da amostra. Após o extrato centrifugado, este permanece em refrigeração por 40 minutos, isso é fundamental para promover precipitação proteica dos extratos.

As amostras são levadas à centrífuga por 20 minutos a aproximadamente 4000 rpm/0°C e o sobrenadante é transferido para um tubo falcon contendo celite (terra diatomácea) para a extração dispersiva em fase sólida. O falcon vai novamente para a centrífuga por 20 minutos a aproximadamente 4000 rpm/0°C. 1 mL do extrato sobrenadante é levado para evaporar em banho-maria (50°C) sob fluxo de nitrogênio ou ar comprimido para a evaporação e obtenção do resíduo seco. Por fim, ele é reconstituído com metanol. O extrato obtido vai para a análise em sistema de LC-MS/MS (BRASIL, 2022).

O processo de cromatografia líquida (LC) envolve a separação de vários componentes dentro de uma amostra, explorando suas interações únicas com uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária composta por uma coluna de fase reversa e duas fases móveis, fase (A) e fase (B). Em seguida, a espectrometria de massa (MS) é utilizada para determinar a identidade e a quantidade dos analitos, avaliando seus atributos específicos de massa e carga.

Ao utilizar a técnica LC-MS/MS, torna-se possível detectar até mesmo as menores quantidades desses compostos em amostras complexas, como tecidos biológicos, graças à sua excepcional sensibilidade e seletividade.

O sistema de cromatografia líquida recebe a amostra, fazendo com que os analitos se separem como resultado de suas interações com a fase estacionária. Uma vez separados, os analitos sofrem ionização e fragmentação no espectrômetro de massa. Os íons fragmentados são então cuidadosamente selecionados e monitorados durante uma segunda etapa de espectrometria de massa. Por meio deste processo, a identificação e quantificação precisas dos analitos podem ser alcançadas (AL SAYED OMAR; KHALIFA, 2022).

Os resultados são calculados utilizando a equação da linha obtida na curva de calibração ($y = ax + b$), permitindo a determinação da concentração com base na resposta correspondente (BRASIL, 2022).

8. CONCLUSÃO E PERSPECTIVA

Neste estudo, o sistema CEM SMART 6 em hífenado com o CEM ORACLE foi comparado a métodos de referência para medição de concentrações de umidade e gordura. Os resultados demonstraram que as medições de gordura obtidas em ambos os métodos foram semelhantes, embora houvesse disparidades notáveis nas medições de umidade. A análise estatística confirmou que, em média, o método de referência tendeu a produzir maiores valores de gordura (com diferença média de 9,35%) e menores valores de umidade (-5,32%) em comparação ao sistema CEM.

O modelo de regressão formulado exibiu um erro médio quadrático de predição notavelmente baixo de 1,6% e um impressionante coeficiente de determinação (R^2) de 0,93, validando ainda mais a resiliência do ajuste. Contudo, vale ressaltar que o desvio padrão das diferenças permaneceu consistente em 1,2%.

A avaliação de amostras reais revelou desvios dos níveis de garantia designados, uma vez que certas amostras não atingiram os limites predeterminados para teor de umidade e gordura. Estas disparidades sublinham a importância da implementação de medidas rigorosas de controle de qualidade em todos os processos de fabrico e rotulagem para garantir a adesão às diretrizes regulamentares e salvaguardar o bem-estar do consumidor.

Para concluir, embora o sistema CEM SMART 6/ORACLE apresente um desempenho promissor, é essencial fazer consistentemente as modificações para manter a precisão, a exatidão e a confiabilidade das medições de umidade e gordura em alimentos.

9. CONTRIBUIÇÃO DO ESTÁGIO À FORMAÇÃO PROFISSIONAL

O estágio realizado no SLAV desempenhou um papel vital na aplicação do conhecimento que adquiri durante minha graduação em um ambiente de laboratório profissional. Proporcionou-me a valiosa experiência de observar e participar nos procedimentos oficiais de análise, melhorando a minha compreensão dos processos de inspeção.

Essa experiência não só permitiu a aplicação prática dos conhecimentos adquiridos, mas também proporcionou um vislumbre do dia a dia de um laboratório que segue normas de gestão da qualidade reconhecidas internacionalmente, como a ABNT NBR ISO/IEC 17025, cruciais para garantir a precisão e a confiabilidade dos resultados.

O estágio obrigatório teve um papel crucial no meu desenvolvimento como profissional na área de química tecnológica, especialmente considerando que foi realizado em um laboratório conceituado, credenciado e reconhecido pela sua adesão aos padrões da indústria. Ao concluir o meu estágio, adquiri uma compreensão profunda da importância e do impacto que os profissionais da química têm na sociedade, bem como do seu inestimável papel no âmbito profissional e a rotina laboratorial. Esta experiência revelou-se altamente importante, tanto para o meu currículo como para o meu crescimento global, tanto profissional como pessoal.

REFERÊNCIAS

1. AL SAYED OMAR, O.; KHALIFA, M. A. **High performance liquid chromatography: Theory, instrumentation and application in drug quality control**. Berlim, Germany: De Gruyter, 2022.
2. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 185, de 13 de Maio de 1997**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 Maio 1997.
3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 9, de 09 de julho de 2003**. Regulamento técnico sobre fixação de padrões de identidade e qualidade de alimentos completos e de alimentos especiais destinados a cães e gatos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 14 de julho de 2003.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 6296, de 11 de dezembro de 2007**. Inspeção e fiscalização obrigatórias dos produtos destinados à alimentação animal. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, 12 de dezembro de 2007.
5. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. **Portaria nº 3, de 26 de março de 2009**. Brasília.
6. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA, 2022.
7. Bro, R., Kjeldahl, K., Smilde, A. K., & Kiers, H. A. L. (2008). **Cross-validation of component models: A critical look at current methods**. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390(5), 1241-1251.
8. CECCHI, H. M; **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. Campinas: SP: Editora da Unicamp, 2003.p. 60-70.
9. FERREIRA, F.N; MONTEIRO, M. I. C; SILVA. L. I. D. **Determinação de Nitrogênio Total em amostras de Rocha Petrolífera pelo Método Kjeldahl/Indofenol**. Jornada de Iniciação Científica, CETEM/RJ. 2004.
10. FRENICH, A. G. et al. **Veterinary drugs and growth-promoting agent analyses**. New York: Nova Science Publishers, 2010.
11. HORWITZ, W. (2000) **Official Methods of AOAC International**. 17th Edition, Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International, Gaithersburg.
12. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.

13. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008 – Revisão de 05 agosto. 2016.
14. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO. ISO 12099:2010. **Animal feeding stuffs, cereals and milled cereal products — guidelines for the application of near infrared spectrometry**. Geneva: ISO, 2010.
15. Kourti, T., & MacGregor, J. F. (1996). **Multivariate SPC methods for process and product monitoring**. *Journal of Quality Technology*, 28(4), 409-428.
16. MILLER, J. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 5. ed. Filadélfia, PA, USA: Prentice Hall, 2005.
17. Miwa, K., & Low, S. J. (Eds.). (1992). **Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products (2nd ed.)**. Singapore: Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
18. ORACLE - **rapid NMR fat Analyzer**. Disponível em: <<https://cem.com/oracle>>. Acesso em: 3 maio. 2024.
19. ORACLE **excels in international study**. Disponível em: <<https://cem.com/oracle-excels-in-international-study>>. Acesso em: 3 maio. 2024.
20. **SMART 6**. Disponível em: <<https://cem.com/smart-6>>. Acesso em: 3 maio. 2024.

ANEXO A – Certificado de conclusão de estágio



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA SERVIÇO DE ESTÁGIO DE ESTUDANTES

Declaramos, para fins de comprovação, que Helena Dias e Silva portadora da Cédula de Identidade RG nº _____ do CPF nº _____ esteve devidamente cadastrada no Centro de Integração Empresa Escola – CIEE, no curso de Química Bacharel Tecnológico na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, o que possibilitou sua inclusão em vaga de estágio de nível superior nesta Repartição Pública Federal, permanecendo de 02 de janeiro de 2024 até 10 de maio de 2024, totalizando **564 (quinhentos e sessenta e quatro) horas de estágio**, sua jornada diária foi de 6 horas diárias.

A estudante cumpriu seu estágio regularmente neste Ministério da Agricultura e Pecuária - MAPA.

Por ser verdade, firmo o presente.

Assinado Eletronicamente

GIZELLE FEITOSA FERREIRA

Chefe de Serviço de Estágio de Estudantes- Substituta



Documento assinado eletronicamente por **Gizelle Feitosa Ferreira, Chefe de Serviço - Substituto(a)**, em 21/05/2024, às 11:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site:

https://sei.agro.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 35390428 e o código CRC DEB14178.

Referência: Processo nº 21050.007745/2023-89

SEI: nº 35390428