

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

JULIA DA SILVA SIEGA

**DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
POR MEIO DE ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM
AMOSTRAS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2021

JULIA DA SILVA SIEGA

**DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS
POR MEIO DE ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM
AMOSTRAS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química, do
Departamento de Engenharia Química da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dra. Simone Delezk
Inglez

PONTA GROSSA

2021



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

TERMO DE APROVAÇÃO

Determinação de elementos potencialmente tóxicos por meio de espectrometria de absorção atômica em amostras de café torrado e moído

por

Julia da Silva Siega

Monografia apresentada no dia 29 de março de 2021 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dra. Erica Roberta Lovo da Rocha Watanabe
(UTFPR)

Prof. Me. Matheus Lopes Demito
(UNICESUMAR)

Profª. Dra. Simone Delezuk Inglez
(UTFPR)
Orientador

Profª. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso (ou Programa)”

RESUMO

SIEGA, Julia da Silva. **Determinação de elementos potencialmente tóxicos por meio de espectrometria de absorção atômica em amostras de café torrado e moído.** 2021. 36 f.. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Paraná. Ponta Grossa, 2021.

O café é um alimento consumido diariamente no mundo, é muito versátil e pode ser utilizado para produção tanto de bebidas como também comidas. Esse fruto contribuiu e ainda contribui muito para o desenvolvimento do Brasil, colaborando para economia e também estando presente na cultura do povo brasileiro. O presente trabalho visou analisar através da espectrometria de absorção atômica a incidência de elementos potencialmente tóxicos, em duas amostras de café do tipo arábico, torrado e moído. O preparo das amostras foi através de três diferentes métodos, sendo eles: digestão ácida tradicional, digestão ácida assistida por ultrassom e digestão em meio alcalino. Os elementos analisados foram: Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Chumbo (Pb), componentes responsáveis por afetar a qualidade do café e proporcionar danos à saúde dos que o consomem quando presentes em quantidades acima do permitido pela legislação. Os métodos de digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica foram eficientes na extração dos elementos, levando em conta um menor gasto de tempo e também um menor consumo de amostras e reagentes na realização das análises. Porém levando em conta os parâmetros de exatidão não obtivemos confiabilidade suficiente para que o método seja preciso e exato, resultado esse que podemos atrelar aos baixos coeficientes de determinação (R^2) das curvas de calibração.

Palavras-chave: Café; Elementos potencialmente tóxicos; Preparo de amostras.

ABSTRACT

SIEGA, Julia da Silva. **Determination of potentially toxic** elements by atomic absorption spectrometry in samples of roasted and ground coffee. 2021. 36 p. Undergraduate thesis (Bachelor degree in Chemical Engineering) - Federal Technological University of Paraná. Paraná. Ponta Grossa, 2021.

Coffee is a food consumed daily in the world, it is very versatile and can be used to produce both drinks and food. This fruit contributed and still contributes a lot to the development of Brazil, contributing to the economy and also being present in the culture of the Brazilian people. The present work aimed to analyze, through atomic absorption spectrometry, the incidence of potentially toxic elements, in two samples of Arabica coffee, roasted and ground. The preparation of the samples was done through three different methods, namely: traditional acid digestion, acid digestion assisted by ultrasound and digestion in alkaline medium. The elements analyzed were: Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Copper (Cu), Nickel (Ni) and Lead (Pb), components responsible for affecting the quality of coffee and providing damage to the health of those who consume it when present in quantities above what is permitted by law. The methods of acid digestion assisted by ultrasound and basic digestion were efficient in extracting the elements, taking into account less time spent and also less consumption of samples and reagents in the analysis. However, taking into account the accuracy parameters, we did not obtain sufficient reliability for the method to be precise and exact, a result that we can tie to the low coefficients of determination (R^2) of the calibration curves.

Keywords: Coffee; Potentially toxic elements; Sample preparation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do processo de cavitação induzido pelo ultrassom.	19
Figura 2 - Diagrama representativo de um espectrômetro de absorção atômica.....	19
Figura 3 - Esquema pré-tratamento via digestão ácida tradicional.	22
Figura 4 - Esquema pré-tratamento via digestão ácida assistida por ultrassom.	22
Figura 5 - Esquema pré-tratamento via digestão básica	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Faixas de calibração para Cd, Cr, Cu, Ni e Pb. Fonte: Autoria própria.....	21
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coeficientes de determinação curvas de calibração.....	24
Tabela 2 – Resultados obtidos das análises em material preparado via digestão ácida tradicional.....	24
Tabela 3 – Resultados obtidos das análises em material preparado via digestão ácida assistida por ultrassom.....	25
Tabela 4 – Resultados obtidos das análises em amostras preparadas via digestão básica.....	25
Tabela 5 – Comparação entre os métodos de pré-tratamento das amostras.....	26
Tabela 6 – Concentração e desvio padrão do elemento chumbo tratado via digestão assistida por ultrassom.....	26
Tabela 7 – Concentração e desvio padrão do elemento chumbo tratado via digestão básica.....	27
Tabela 8 – Comparação entre concentrações e parâmetros de exatidão.	28

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

As	Arsenio
Cd	Cádmio
Cu	Cobre
Cr	Cromo
Pb	Chumbo
Mn	Manganês
Ni	Níquel
Zn	Zinco
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>
HG-AAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
FAAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GF-AAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy</i>
HNO ₃	cido nítrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
TMAH	Hidróxido de tetrametilamonio
LOD	<i>Limite of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
PVC	Policloreto de vinila

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	PROBLEMA	11
1.2	OBJETIVO GERAL.....	11
1.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
1.4	JUSTIFICATIVA	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NO CAFÉ	13
2.1.1	Cádmio.....	13
2.1.2	Cobre	14
2.1.3	Chumbo	15
2.1.4	Cromo	15
2.1.5	Níquel	16
2.2	AVALIAÇÃO DA TOXIDADE DO CAFÉ POR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS.....	16
2.3	DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM AMOSTRAS DE CAFÉ.....	17
2.3.1	Digestão Ácida Tradicional	17
2.3.2	Digestão Básica	18
2.3.3	Digestão Assistida por Ultrassom.....	18
2.3.4	Espectrometria de Absorção Atômica	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1	REAGENTES.....	21
3.2	CURVAS DE CALIBRAÇÃO.....	21
3.3	PROCEDIMENTO ANALÍTICO DE PREPARO DE DETERMINAÇÃO DOS ELEMENTOS EM AMOSTRAS DE CAFÉ	21
3.3.1	Determinação de Cd, Cr, Cu, Ni e Pb.....	21
3.4	PARÂMETROS DE EXATIDÃO	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1	DIGESTÃO ÁCIDA TRADICIONAL	24
4.2	DIGESTÃO ÁCIDA ASSISTIDA POR ULTRASSOM	25
4.3	DIGESTÃO BÁSICA.....	25
5	CONCLUSÃO.....	28
6	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O café é um fruto que da origem a uma bebida consumida diariamente pela maioria das pessoas no mundo inteiro. No Brasil teve sua produção iniciada em 1727, trazido da Guiana Francesa pelo Sargento mór Francisco de Mello Palheta a pedidos do capitão general do Estado do Maranhão e Grão Pará, atual Estado do Maranhão. O sargento trouxe consigo cerca de mil sementes e cinco mudas que foram plantadas em chácaras daquela antiga Província, o café logo se desenvolveu, porém sem muito destaque perante as outras atividades. Quatro anos depois começou a ser exportado, custando sete libras peso (FRAGA,1963).

Com o passar dos anos, o café passou a ser cultivado em diversas regiões do Brasil, com a produção do *Coffea arabica* (Café Arábica) e também do *Coffea canéfora* (Café Conilon) (EMBRAPA). Segundo a UNICAFÉ, empresa brasileira e umas das maiores no segmento mundial em exportação de café, as atuais regiões produtoras do café no país são São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Espírito Santo, Bahia e Rondônia, sendo Minas Gerais o maior produtor de café atual do Brasil, correspondendo a mais da metade de toda a produção brasileira e o Espírito Santo o segundo maior produtor nacional.

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, com uma participação média de 40% nas exportações mundiais (MELLONI et al., 2013). Na safra de julho de 2018 até junho de 2019 nosso país bateu um novo recorde de exportação, o volume embarcado foi de 41,1 milhões de sacas, aumento de 35% em relação ao ciclo anterior, gerando uma receita cambial de US\$ 5,39 bilhões, 9,8% a mais que a safra 2017/2018 (SALOMÃO, 2019). Além de toda receita originada do café, esse produto contribuí para a sociedade brasileira de maneira muito ampla, gerando empregos e colaborando para o assentamento da zona rural (MELLONI et al., 2013).

Estudos comprovam que, com o passar dos anos, os consumidores brasileiros de café estão ficando cada vez mais exigentes (ARRUDA et al., 2009). Um fator de grande importância para os consumidores é a qualidade do café, qualidade essa que, segundo Carvalho et al. (1994), é influenciada por diversos fatores, como: características edafoclimáticas, cultivares, condução e manejo na lavoura, colheita, tipo de processamento, secagem e armazenamento. A qualidade do café também é muito caracterizada pelo aroma da bebida, são mais de 800 compostos voláteis que compõe a formação do aroma e sabor (FRANCA et al., 2004; MAARSE & VISSCHER, 1996).

Levando em conta essa busca pela qualidade do café, tanto visando assegurar a saúde dos que o consomem quanto a reputação que o nosso café tem no mercado é de extrema importância

garantir a ausência de elementos potencialmente tóxicos nesse produto. Esses contaminantes, que podem estar presentes nos grãos de café, se presentes em grandes concentrações causam danos a saúde quando absorvidos pelo organismo. Danos como alterações celulares, complicações no DNA, mutagênese, carcinogênese, etc (PASCALICCHIO, 2002).

Neste sentido a problemática que se apresenta consiste na análise da presença ou não de elementos potencialmente tóxicos no café torrado e moído, e a comparação com a legislação brasileira em vigor, visando a garantia da qualidade tanto do café consumido no Brasil quanto do café de exportação.

1.1 PROBLEMA

Qual a possível incidência de elementos potencialmente tóxicos no café, que afetam a sua qualidade?

1.2 OBJETIVO GERAL

Analisar diferentes métodos de preparo de amostras para avaliar a incidência de elementos potencialmente tóxicos no café torrado e moído.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aplicar o método de digestão ácida tradicional para o preparo de amostra.
2. Aplicar o método de extração assistida por ultrassom para o preparo de amostra.
3. Aplicar um meio alcalino para preparo de amostra.
4. Comparar os três diferentes métodos para a determinação dos elementos Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Chumbo (Pb) por espectrometria de absorção atômica de duas amostras de café, torrado e moído.

1.4 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho tem como justificativa analisar a incidência de elementos potencialmente tóxicos no café do tipo arábica, torrado e moído via diferentes métodos de pré-tratamento de amostra. Os métodos são: digestão ácida tradicional, digestão básica e digestão ácida assistida por ultrassom. A análise será feita levando em conta a quantidade de amostra e reagentes necessários para o pré-tratamento, assim como o tempo de preparo e execução dos métodos. Será também pontuada a eficiência dos métodos, levando-se em conta a abrangência dos metais e os resultados obtidos via espectrômetro de absorção atômica. A escolha de um método eficaz e confiável contribui para bons resultados em análises, além de vantagens como

a necessidade de uma menor quantidade de reagente e amostra, e um menor período de tempo para a realização são favoráveis economicamente, gerando menores gastos, e ambientalmente, gerando menos resíduos.

Os elementos a serem analisados serão elementos potencialmente tóxicos, já descritos nos objetivos específicos deste trabalho, a escolha desses elementos se dá pelo seu alto potência de toxicidade e exposição humana. É de extrema importância a garantia do respeito ao limite de tolerância imposto pela legislação brasileira, sendo também essa uma justificativa pela elaboração desse trabalho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS NO CAFÉ

O café, sendo um fruto que dá origem a uma bebida consumida diariamente no mundo, exige um cuidado com relação aos seus componentes. Provido da agricultura, tem sua qualidade fortemente influenciada por diversos fatores pré e pós colheita.

Esses fatores podem influenciar de diversas maneiras a qualidade do café, assim como os componentes presentes nele, como nutrientes, micronutrientes e também elementos potencialmente tóxicos como metais pesados. Esses elementos estão na maioria das vezes presentes no solo, e sendo assim de fácil acesso as mudas de café, que podem absorvê-los e armazená-los durante o seu crescimento. O acúmulo desses elementos no solo pode ocorrer de maneira natural, referida como antecedentes geoquímicos, ou de maneira antropológica, ou seja, devido a interação do homem com a natureza (PATINHA et al, 2018).

Os principais elementos potencialmente tóxicos presentes no café estudados são arsênio (As), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Cu), cádmio (Cd), cromo (Cr), níquel (Ni) e chumbo (Pb). Nesse estudo focamos em cinco desses elementos, sendo que um deles está entre as dez principais substâncias que merecem maior atenção devido à sua toxicidade e potencial para a exposição humana, segundo *The Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2017 Substance Priority List (ATSDR)*.

O elemento Zinco não foi estudado neste trabalho devido a sua classificação como um micronutriente, e os elementos Arsênio e Manganês devido a falta das lâmpadas de cátodo oco na instituição de ensino, impossibilitando assim a determinação de sua concentração por meio da espectrometria de absorção atômica.

2.1.1 Cádmio

Elemento químico de símbolo Cd, número atômico 48 e massa molar 112,40 g mol⁻¹, pertencente ao grupo 12 da tabela periódica e considerado pela *The ATSDR 2017 Substance Priority List* a sétima substância ao que se refere ao cuidado e atenção devido a sua toxicidade e potencial para a exposição humana.

Esse elemento passou a ter um maior foco em pesquisas, devido a sua não participação em nenhuma função fisiológica no organismo humano, sendo assim um elemento suspeito de causar câncer (HERNÁNDEZ-CARABALLO et al., 2004) e também devido a sua longa meia vida e lenta excreção do organismo humano (OGA, 2003).

A exposição humana a esse elemento, em maior escala, se deve ao consumo de alimentos e cigarros contaminados, contaminação essa que pode ser provida de fertilizantes agrícolas, esgoto, chorume e da própria atmosfera (FERREIRA et al., 2007). Na atividade industrial, esse elemento é utilizado como componente de coberturas anticorrosivas, ligas metálicas, pigmentos, manufatura de PVC e baterias (ANGERER et al., 1988).

O elemento cádmio possui semelhança química com o elemento zinco, e quando substituído por ele em nosso organismo pode causar mau funcionamento dos processos biológicos (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Além de que a presença desse elemento pode ocasionar disfunções renais e divergências no metabolismo do cálcio nas funções vitais do corpo humano (OGA, 2003). Segundo Carvalho e Tavares (1992), estudos apresentam que, esse elemento pode ser normalmente encontrado nos rins e no fígado, locais onde já foi detectado que sua meio vida biológica é de aproximadamente 10 anos, podendo chegar a 40 anos no organismo (OGA, 1996; WHO 1992).

2.1.2 Cobre

Elemento químico de símbolo Cu, número atômico 29 e massa molar $63,54 \text{ g mol}^{-1}$, pertencente ao grupo 11 da tabela periódica é um metal de cor avermelhada, em temperatura ambiente se encontra no estado sólido, bom condutor de eletricidade e é um dos elementos que ocorrem naturalmente na superfície terrestre (ATSDR, 2004), possui relativa abundância na natureza (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

O excesso de cobre na natureza se deve principalmente pela mineração de metais não-ferrosos, aplicação de fungicidas e fertilizantes na lavoura (KABATA-PENDIAS, 2000) e queima de combustíveis fósseis (CALLENDER, 2003). Normalmente esse elemento está presente na natureza na forma Cu^{1+} e Cu^{2+} , em compostos minerais, e na agricultura, como sulfato de cobre é amplamente utilizado como pesticida (ATSDR, 2004).

Esse elemento é essencial para a vida humana, está presente em enzimas e proteínas estruturais do corpo humano, além também de ser essencial em processos fisiológicos, como a respiração celular, produção de melanina, biossíntese de tecido conectivo, defesa de radicais livres e metabolismo de ferro intracelular, como a assimilação de ferro na formação da hemoglobina (OLESZCZUK, 2008). Porém, em grandes quantidades o cobre pode ser prejudicial para a saúde, quando exposto de forma aguda, os sintomas gerados são diversos, como náusea, vomito e diarreia. E a exposição crônica pode causar lesões no DNA devido ao aumento dos radicais livres no organismo (HARTWIG; JAHNKE, 2017).

2.1.3 Chumbo

Elemento químico de símbolo Pb, número atômico 82 e massa molar de $207,2 \text{ g mol}^{-1}$, pertence ao grupo 14 da tabela periódica. No século XVI, Georgius Agricola, em “De Re Metallica”, descreveu o chumbo como um metal “mortal e nocivo”.

As emissões desse elemento no meio ambiente podem ser naturais ou antropogênicas. As fontes naturais decorrem das erupções vulcânicas, decomposição de rochas e emissões do mar. Já as antropogênicas se devem a utilização em larga escala desse material pelo homem nos últimos séculos, como a exploração de minérios, liberando chumbo no ar, rios e solo. Na atmosfera, esse elemento foi muito liberado devido a queima de combustíveis fósseis, as indústrias que empregam a fusão de chumbo em seus processos de fabricação e também ao descarte errado desse material, em baterias, por exemplo. Durante anos o chumbo tetraetila foi adicionado na gasolina em vários países para que se aumentasse a octanagem, aumentando ainda mais a emissão desse metal no meio ambiente (BRASIL, 2017).

Já com relação a exposição humana, pode ocorrer devido a ingestão de alimentos, ar, poeira e bebidas contaminadas, inspiração de fumaça de cigarro, contato com itens de porcelana vitrificadas incorretamente, brinquedos pintados, cosméticos faciais, tintura de cabelo, impressão colorida e remédios populares. Os efeitos colaterais em humanos dessa exposição podem causar problemas hepáticos, cardiovasculares, carcinogênicos, reprodutivos e de desenvolvimento, renal, crescimento, endócrino, hematológico e neurológico (MOREIRA e MOREIRA, 2004).

2.1.4 Cromo

Elemento químico de símbolo Cr, número atômico 24 e massa molar 52 g mol^{-1} , possui várias colorações, é cristalino, de baixa ductibilidade e maleabilidade. Seu nome deriva da palavra grega “Chroma” que significa cor e é o vigésimo-primeiro elemento mais abundante da crosta terrestre, em massa (LEE, 1999).

Na natureza esse elemento pode ser encontrado em duas formas principais, o cromo (III) e o cromo (VI). As fontes de maior emissão desse elemento na natureza são devidas as ações humanas, sendo proveniente das indústrias têxteis, refinarias de petróleo e galvanizações, além também de ser amplamente empregado em tratamentos de água. Já as fontes naturais de contaminação são erupções vulcânicas e incêndios florestais. Normalmente é transferido para o meio ambiente pela água ou ar.

As funções exercidas pelo cromo dependem da forma com que ele se encontra, por exemplo, o cromo (III) é considerado um nutriente essencial para os humanos, em conta partida,

o cromo (VI) é tóxico por ser considerado um agente carcinogênico (MANZOORI et al., 2007). Em excesso, a exposição e inalação do cromo (IV) pode causar ulceração no septo nasal, inflamações na mucosa, bronquite crônica e enfisema. Já a ingestão do cromo (III) está relacionada com distúrbios do sono, alterações de humor, dores de cabeça e alterações do metabolismo do ferro (ALTHUIS et al, 2002; LEFAVI et al, 1992).

2.1.5 Níquel

Elemento químico de símbolo Ni, número atômico 28 e massa molar 58,7 g mol⁻¹, pertence ao grupo 10 da tabela periódica. Possui coloração branca-prateada, em temperatura ambiente está no estado sólido, é condutor de eletricidade e calor, apresenta caráter ferromagnético, porém não pode ser laminado, polido ou forjado facilmente.

Esse elemento é essencial para funções fisiológicas de plantas e animais (ATSDR, 2008). É encontrado naturalmente em diversos minerais, meteoritos (formando ligas com ferro) e no núcleo da terra. Na natureza esse elemento é proveniente de poeiras vulcânicas e da própria formação do solo (ATSDR, 2005). Já na indústria, esse elemento é utilizado em operações metalúrgicas, como a fabricação de aço inoxidável, ligas de níquel e operações da metalurgia em pó, camadas base na galvanoplastia do cromo, em reações de hidrogenação (fabricação de margarina e manteiga) é utilizado como catalisador (GONZALEZ, 2016). Uma importante fonte de exposição a esse metal é na ingestão de alimentos e bebidas contaminados, e segundo estudos, em jejum a absorção do níquel em nosso organismo é maior (AHMAD, ASHRAF, 2011; KAS, DAS, DHUNDASI, 2008).

Os efeitos da ingestão desse metal no organismo humano são diversos e dependem de vários fatores, como as espécies químicas, forma física, quantidade e fonte (SHARMA et al., 2009, ASHRAF, 2011; SCHAUMFLÖFFEL, 2012). Segundo FORGACSA et al. (2012 apud GONZALEZ, 2016). Os danos causados podem ser desde a dermatite, causando vermelhidão e em casos extremos úlceras na pele, causa também problemas na reprodução devido a alteração hormonal, e intoxicações (OLIVEIRA, 2010).

2.2 AVALIAÇÃO DA TOXIDADE DO CAFÉ POR ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS

A avaliação do café pode ser realizada a partir da legislação brasileira, que designa os valores de limites máximo de tolerância para o café torrado em grão e pó designados de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n° 42 de agosto de 2013.

Essa resolução estabelece a tolerância máxima para cinco metais em diversos tipos de alimentos, sendo eles: arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio e estanho. Segundo a resolução, os limites máximos para o cádmio e chumbo são, respectivamente, $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$. Para os outros elementos estudados, essa resolução não apresenta nenhum limite exigido (BRASIL, 2013).

Em contrapartida, o Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965, estabelece um limite máximo de contaminantes inorgânicos de 30 mg kg^{-1} para cobre 5 mg kg^{-1} para o níquel em alimentos de forma geral, $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ para o cromo para qualquer tipo de alimento (BRASIL, 1965). Esse decreto tem como finalidade a proteção dos consumidores e a garantia da qualidade dos alimentos visando a menor incidência possível de contaminantes inorgânicos.

2.3 DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EM AMOSTRAS DE CAFÉ

Para a determinação de metais pesados em amostras é necessário que haja um pré-tratamento das amostras, os métodos mais comuns de tratamento são a calcinação como via seca, digestão ácida tradicional, digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica, como vias úmidas. As técnicas clássicas usadas nas indústrias de alimentos para a extração de componentes bioativos são baseadas na escolha correta de solventes associados a exposição ao calor e/ou agitação (PICÓ, 2013).

Na dissolução de elementos da fase sólida para a fase líquida, as técnicas convencionais são bastante eficientes, porém normalmente exigem muito trabalho, utilização de muitas quantidades de ácidos concentrados e reagentes perigosos (TADEO et al., 2010).

2.3.1 Digestão Ácida Tradicional

A digestão ácida tradicional, método oficial apresentado pelo *Method 3050D* (USEPA, 1996), é o processo mais antigo e o mais utilizado na preparação de amostras, proporcionando resultados tanto para materiais orgânicos como inorgânicos, auxiliando para a destruição da matriz da amostra como também contribuindo para a redução ou eliminação de interferências. Além de proporcionar o processamento de uma grande quantidade de amostras, por meio de um sistema de aquecimento simples, como em bloco digestor (MATUSIEWICZ, 2003).

2.3.2 Digestão Básica

A digestão básica é um método alternativo e simples se comparado aos métodos convencionais de preparo de amostras além de também englobar uma vasta gama de analitos de diferentes tipos de amostra. O método consiste na utilização de reagentes classificados como básicos para a extração de componentes de interesse, alguns dos reagentes que podem ser utilizados são: hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) e hidróxido de amônio (HARBERS et al., 1982). A vantagem da utilização desse método é a redução da quantidade de amostra necessária para a sua realização e também do tempo de preparo da amostra.

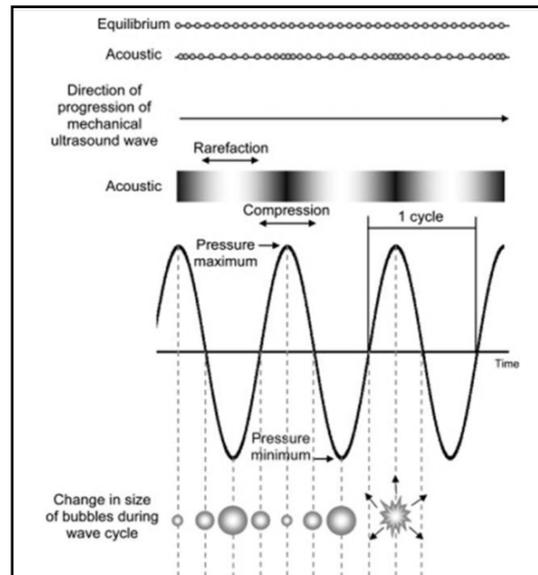
2.3.3 Digestão Assistida por Ultrassom

Segundo Picó (2013), a extração de componentes orgânicos de plantas e sementes através de solventes possui uma melhora significativa quando associado ao ultrassom. Os efeitos proporcionados por esse equipamento facilitam a penetração do solvente nos materiais celulares e também gera um aumento na transferência de massa, que ocorre devido ao efeito do *microstreaming*. Além de proporcionar o rompimento das paredes celulares biológicas, liberando o conteúdo celular (AWAD et al., 2012).

Uma maior atenção vem sendo atribuída a esse tratamento de amostra, principalmente em relação a extração de produtos naturais que normalmente demoraram horas ou dias seguindo o método convencional (CHANDRAPALA et al., 2013; CRAVOTTO, 2011). Essa técnica vem sendo reconhecida como uma eficiente forma de extração, que reduz dramaticamente o tempo de preparo da amostra, aumento dos rendimentos e melhor qualidade na extração (AWAD et al., 2012).

O tratamento das amostras é geralmente realizado em um banho ultrassônico de alta frequência e baixa potência, e consiste em um tanque de aço inoxidável com transdutores na parte inferior ou lateral que geram ondas ultrassônicas entre 20 e 400kHz (RODRIGUES; FERNANDES, 2017). A melhoria na extração da amostra se deve aos ciclos de expansão e compressão nas partículas induzidas pela onda ultrassônica, as quais resultam em microbolhas que colapsam e liberam grandes quantidades de energia (RUTKOWSKA et al., 2017).

Figura 1 - Esquema do processo de cavitação induzido pelo ultrassom.

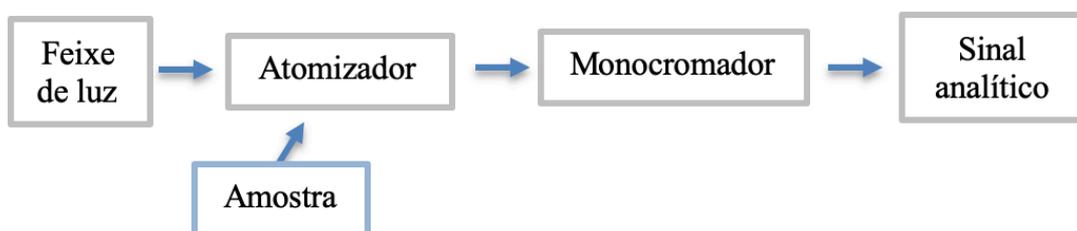


Fonte: Picó, 2013.

2.3.4 Espectrometria de Absorção Atômica

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica analítica que proporciona a determinação da concentração de um determinado elemento partindo da premissa de que os átomos livres no estado fundamental, absorvem radiação eletromagnética em um comprimento de onda específico. Utilizando-se de adequadas fontes de radiação e uma correta seleção dos comprimentos de onda, se obtém um sinal específico o qual foi absorvido pelo elemento e assim se mensura quantitativamente os átomos do elemento que estão presentes na determinação (FERNÁNDEZ et al., 2018).

Figura 2 - Diagrama representativo de um espectrômetro de absorção atômica.



Fonte: Silva, 2018.

Segundo o diagrama apresentado na Figura 2, a primeira etapa do processo é a atomização do analito que está presente na amostra, em seguida atravessa o atomizador um feixe de radiação de uma lâmpada com o comprimento de onda específico e a radiação é

absorvida pelos átomos livres no estado gasoso. Esse feixe que corresponde ao elemento é separado no monocromador, e assim se obtém um sinal analítico, e esse sinal é dado devido a absorção ou atenuação do feixe de radiação pelos átomos do analito (SILVA, 2018; CHEREMISINOFF, 1996).

A lâmpada responsável pela emissão de radiação em um comprimento de onda específico é uma lâmpada de cátodo oco, interiormente revestida com o elemento de interesse e preenchida com gás inerte. O gás é ionizado por uma corrente elétrica, fazendo com que o cátodo seja bombardeado pelos íons, arrancando átomos do elemento do interior da lâmpada e promovendo colisões com os íons do gás inerte excitando os íons do elementos de interesse e emitindo o feixe de luz no comprimento de onda do elemento (HILL; FISHER, 2017).

Existem 3 tipos de atomizadores, e são eles que definem a característica da técnica analítica do ASS (FERNÁNDEZ et al., 2018), podendo ser de forno de grafite (GF-AAS), atomização em chama (FAAS) ou geração de hidretos (HG-AAS) (BEATY; KERBER, 1993). Neste estudo focaremos na utilização do FAAS para análise dos elementos.

2.3.4.1 Espectrometria de absorção atômica com atomização em chama

A primeira etapa consiste na aspiração da amostra para uma câmara de nebulização, onde é nebulizada na forma de aerossol e transportada até a chama, assim sendo atomizada (HILL, FISHER, 2017). A chama fica alinhada ao feixe de luz, possibilitando a determinação da concentração dos átomos presentes, devido da quantidade de luz absorvida naquele comprimento de onda. O sinal do analito gerado, a absorvância, é tão longo e constante quanto a solução é aspirada (BEATY; KERBER, 1993).

De acordo com Silva (2018, p.35)

A atenção ao utilizar a técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização em chama é para a qualidade dos gases a serem usados, visto que a falta de homogeneidade da química das chamas e falha na otimização da altura do queimador comprometem a qualidade do sinal analítico; [...]

É uma técnica muito simples e rápida, levando em conta a determinação elementar ser quase instantânea (BEATY; KERBER, 1993). A composição da chama depende do elemento desejado, porém para a maioria dos elementos é uma chama de ar/acetileno, em temperaturas de 2100°C e 2400°C (SKOOG et al., 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas através do método indutivo de maneira quantitativa duas amostras de café do tipo arábica, torrado e moído, em triplicata, com três diferentes técnicas de preparo de amostra, sendo elas a digestão ácida tradicional, digestão ácida assistida por ultrassom e a digestão básica. Os reagentes utilizados foram todos de grau analítico e as vidrarias previamente tratadas em banho de ácido nítrico (HNO_3) 10% v v⁻¹ por 24 horas.

As amostras de café analisadas foram de duas marcas distintas, adquiridas em um supermercado da cidade de Ponta Grossa no estado do Paraná. E essas amostras já vieram de fábrica torradas e moídas em embalagens de 500 gramas seladas.

3.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados foram: ácido nítrico (HNO_3) 65% supra puro, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 65% e hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) 25% m v⁻¹.

Água ultrapura foi utilizada no preparo de soluções, limpeza de vidrarias e limpeza do espectrômetro de absorção atômica.

3.2 CURVAS DE CALIBRAÇÃO

As curvas de calibração para os elementos analisados Cd, Cr, Cu, Ni e Pb foram obtidas a partir de padrão-estoque (Specsol), em faixas demonstradas no quadro abaixo.

Quadro 1 - Faixas de calibração para Cd, Cr, Cu, Ni e Pb.

Elemento	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb
Faixa (mg L ⁻¹)	0,0005 – 0,005	1 - 20	1 - 10	1 – 20	0,5 - 5

Fonte: Autoria própria.

3.3 PROCEDIMENTO ANALÍTICO DE PREPARO DE DETERMINAÇÃO DOS ELEMENTOS EM AMOSTRAS DE CAFÉ

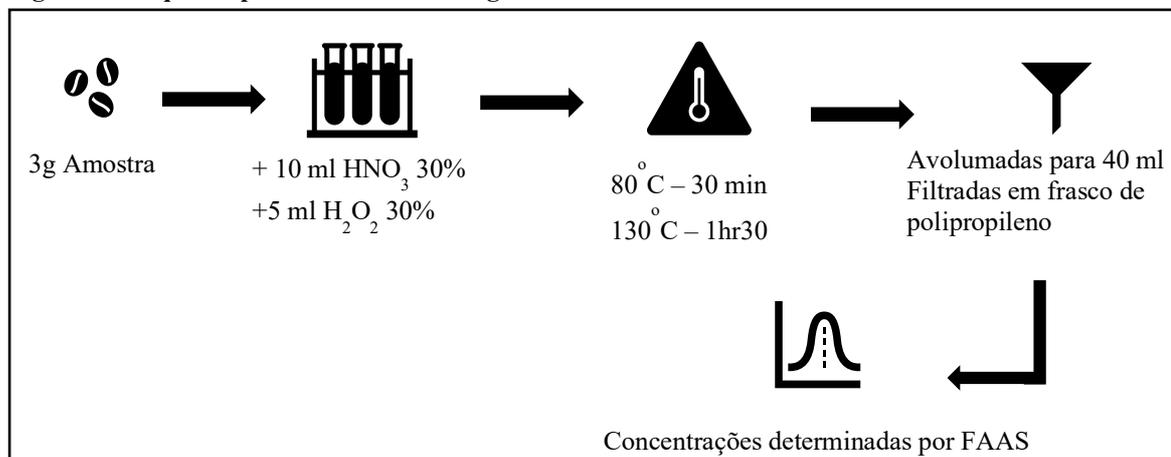
3.3.1 Determinação de Cd, Cr, Cu, Ni e Pb

3.3.1.1 Digestão ácida tradicional

Alíquotas de 3 gramas de ambas as amostras foram pesadas diretamente em tubos de ensaio. Posteriormente foi adicionado 10 mL de HNO_3 (30%) v v⁻¹ e 5 mL de H_2O_2 (30%) v v⁻¹, e em seguida os tubos foram levados ao bloco digestor a uma temperatura de 80°C por 30 minutos e após isso, a temperatura foi elevada para 130°C e as amostras mantidas por 1 hora e 30 minutos.

Após a permanência no bloco digestor, avolumou-se para 40 mL com água ultrapura, filtrou-se para frascos de polipropileno, e por fim as concentrações foram determinadas por FAAS.

Figura 3 - Esquema pré-tratamento via digestão ácida tradicional.

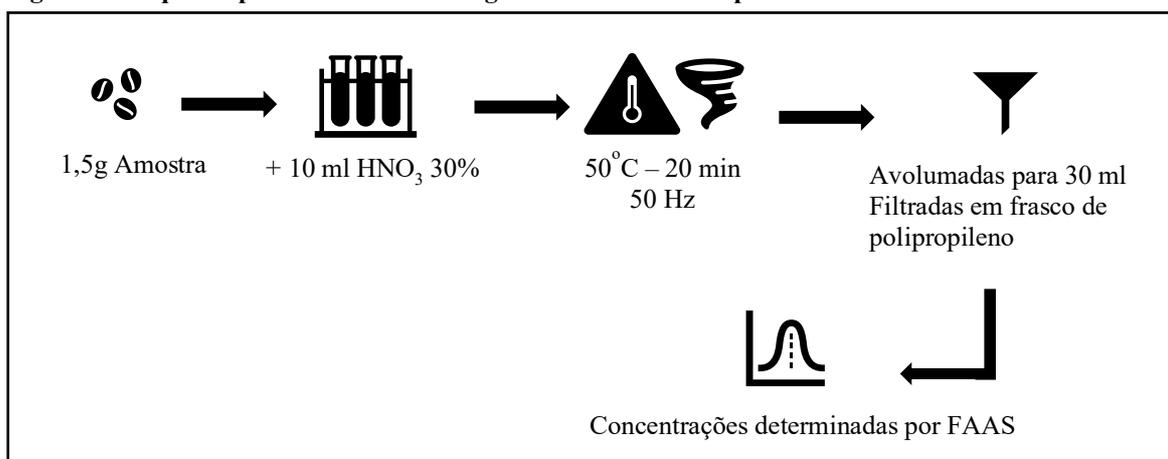


Fonte: Autoria própria.

3.3.1.2 Digestão ácida assistida por ultrassom

Alíquotas de 1,5 gramas de ambas as amostras foram pesadas em tubos de polipropileno. Posteriormente foi adicionado 10 mL de HNO₃ (30%) v v⁻¹ e em seguida os tubos foram submetidos ao ultrassom, em uma temperatura de 50°C por 20 minutos. Avolumou-se as amostras para 30 mL com água ultrapura, filtrou-se para novos frascos de polipropileno, e por fim as concentrações foram determinadas por FAAS.

Figura 4 - Esquema pré-tratamento via digestão ácida assistida por ultrassom.

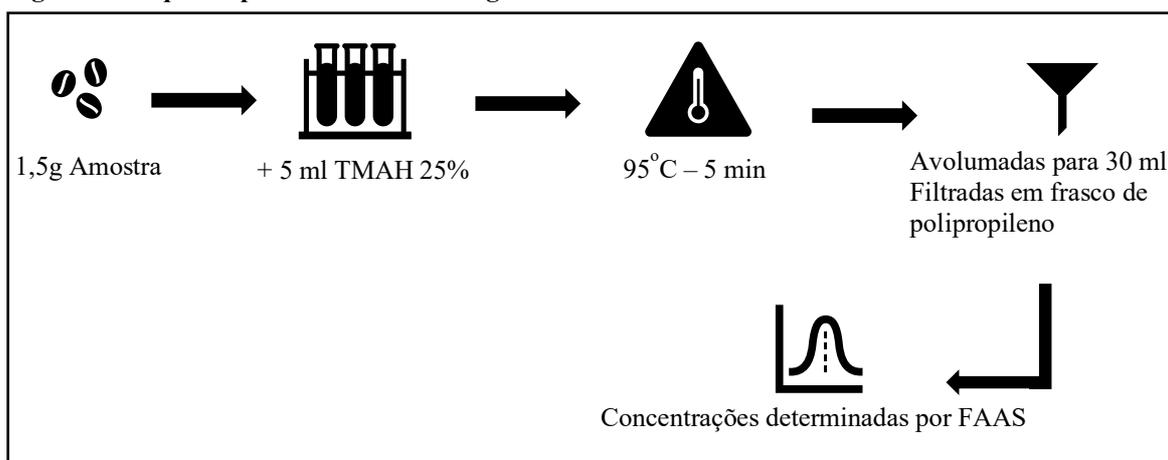


Fonte: Autoria própria.

3.3.1.3 Digestão básica

Alíquotas de 1,5 gramas de ambas as amostras foram pesadas em tubos de polipropileno. Posteriormente 5 mL de TMAH foi adicionado, e em seguida as amostras foram submetidas a um banho a 95°C por 5 minutos. Avolumou-se as amostras para 30 mL e depois elas foram filtradas em novos tubos de polipropileno. Finalmente, as concentrações foram determinadas por FAAS.

Figura 5 - Esquema pré-tratamento via digestão básica



Fonte: Autoria própria.

Para todas as técnicas, a determinação da concentração desses elementos foi realizada aplicando a Equação 1.1, em que $C_{café}$ é dado pela concentração do elemento no café (mg g^{-1}), C_{FAAS} a concentração do elemento na solução determinado por FAAS (mg L^{-1}), V_{final} o volume final da solução em que o elemento se encontra (L) e $m_{café}$ a massa de café pesada para realizar o procedimento de extração (g).

$$C_{café} = C_{FAAS} \frac{V_{final}}{m_{café}} \quad \text{Eq. (1.1)}$$

3.4 PARÂMETROS DE EXATIDÃO

Seguindo a IUPAC (1978), os limites de detecção e quantificação são ditos como a menor concentração de analito que pode ser detectada e quantificada, respectivamente. A validação estatística do método proposto foi realizada por meio da avaliação dos parâmetros de mérito, em que os limites de detecção (LOD) foi determinado a partir do desvio padrão de dez medidas consecutivas do branco das amostras dividido pelo valor da inclinação da respectiva curva de calibração multiplicado pelo fator de segurança 3, que confere nível de confiança de 99,6%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a determinação das concentrações dos elementos analisados, primeiramente realizamos a leitura das soluções padrões de cada elemento, levando em consideração as faixas de calibração demonstradas no Quadro 1. Para que uma curva de calibração seja considerada confiável, é necessário que o coeficiente de determinação (R^2) seja no mínimo 0,98.

Tabela 1 – Coeficientes de determinação curvas de calibração.

Coeficiente de determinação					
Elemento	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
R^2	0,82	0,96	0,95	0,82	0,58

Fonte: Autoria própria.

Como podemos observar na Tabela 1, nossos resultados não foram muito pertinentes com os resultados que a literatura espera para classificar nossas curvas como confiáveis, pois obtivemos um R^2 de mínimo de 0,58 e máximo de 0,96.

Com as curvas de calibração e as equações da reta delimitadas, foi possível a determinação das concentrações dos elementos analisados nas duas amostras de café torrado e moído.

4.1 DIGESTÃO ÁCIDA TRADICIONAL

As análises foram realizadas e os resultados obtidos pelo tratamento da amostra via digestão ácida tradicional se encontram na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados obtidos das análises em material preparado via digestão ácida tradicional.

Concentração média (mg kg^{-1})					
Elemento	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
Amostra 1	2,81	0,44	1,09	0,28	0,0051
Amostra 2	2,89	0,45	1,13	0,29	0,0053
Limite (mg kg^{-1})	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que os resultados obtidos por esse método de preparo de amostras se mantiveram muito próximos para as duas amostras analisadas e quatro dos cinco elementos analisados tiveram resultados positivos com relação a tolerância presente na legislação brasileira, sendo o elemento cromo o único que extrapolou a tolerância.

4.2 DIGESTÃO ÁCIDA ASSISTIDA POR ULTRASSOM

No preparo das amostras via digestão ácida assistida por ultrassom, Tabela 3, foi possível perceber uma grande diferença quando comparado aos resultados apresentados anteriormente, no preparo tradicional.

Tabela 3 - Resultados obtidos das análises em material preparado via digestão ácida assistida por ultrassom.

Elemento	Concentração média (mg kg ⁻¹)				
	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
Amostra 1	5,89	0,92	2,3	0,58	0,0089
Amostra 2	6,02	0,93	2,3	0,58	0,0079
Limite (mg kg⁻¹)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Autoria própria.

A melhora na extração desses elementos ocorre devido a exposição das amostras as ondas ultrassônicas, as quais facilitam a penetração do solvente nos materiais celulares e também ocasionam um aumento da transferência de massa como resultado do efeito de *micro-streaming*. Os ciclos de expansão e compressão introduzidos nas partículas resultam em micro-bolhas, que quando colapsam liberam uma alta quantidade de energia favorecendo a extração (RUTKOWSKA et al., 2017).

Embora os resultados da concentração dobrem com relação a alguns elementos, os mesmos elementos que se encontraram dentro dos limites via tratamento tradicional, também se mantiveram via tratamento assistido por ultrassom, com exceção do Pb.

4.3 DIGESTÃO BÁSICA

Com relação aos resultados das amostras tratadas via digestão básica, Tabela 4, foram muito próximos aos resultados das amostras assistidas por ultrassom, com exceção do Cd que obteve um aumento significativo na sua concentração.

Tabela 4 - Resultados obtidos das análises em amostras preparadas via digestão básica.

Elemento	Concentração média (mg kg ⁻¹)				
	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
Amostra 1	5,71	0,91	2,25	0,57	0,011
Amostra 2	5,39	0,85	2,12	0,54	0,010
Limite (mg kg⁻¹)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Autoria própria.

O TMAH sendo classificado como uma base forte, possui alta eficiência na recuperação do analito presente na matriz da amostra (ORLANDO et al., 2009), e como um bom extrator contribuiu para os resultados presentes na Tabela 4.

Na tabela 5 temos um comparativo entre os três métodos de pré-tratamento de amostras utilizados neste trabalho, sendo eles: digestão ácida tradicional, digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica. Analisando os resultados apresentados nas tabelas 2, 3 e 4 das concentrações encontradas juntamente com a tabela abaixo, verificamos a maior eficiência dos métodos alternativos em comparação ao método tradicional, obtendo uma diminuição na quantidade de amostra e no número de reagentes necessários para a análise, além também do tempo de preparo, sendo 6 vezes menor na digestão assistida pro ultrassom e 24 vezes menor na digestão ácida.

Tabela 5 – Comparação entre os métodos de pré-tratamento das amostras.

Método	Digestão ácida tradicional	Digestão ácida assistida por ultrassom	Digestão básica
Quantidade de amostra (g)	3	1,5	1,5
Número de reagentes	2 reagentes (15ml)	1 reagente (10ml)	1 reagente (5ml)
Tempo (minutos)	120	20	5

Fonte: Autoria própria.

Sendo assim, foi verificado que os métodos testados foram eficientes na digestão das amostras, e os elementos Cu, Cd e Ni permaneceram abaixo do limite estabelecido pela legislação em todos. Observou-se que o elemento chumbo se manteve dentro do limite somente no tratamento via digestão ácida tradicional, e analisando o desvio padrão (σ) de ambas as amostras deste elemento quando tratado via digestão assistida por ultrassom, pode-se perceber que mesmo assim o elemento se encontra fora do limite comprovando a permanência da concentração acima da tolerância.

Tabela 6 - Concentração e desvio padrão do elemento chumbo tratado via digestão assistida por ultrassom.

Concentração (mg kg⁻¹)		
Amostra	Pb	σ
Amostra 1	0,58	0,02
Amostra 2	0,58	0,002

Fonte: Autoria própria.

É possível observar o mesmo resultado quando analisamos o desvio padrão no preparo via digestão básica, embora que mais próximas da tolerância, ambas amostras ainda permanecem foram do limite estabelecido pela legislação.

Tabela 7 – Concentração e desvio padrão do elemento chumbo tratado via digestão básica.

Concentração (mg kg ⁻¹)		
Amostra	Pb	σ
Amostra 1	0,57	0,034
Amostra 2	0,54	0,033

Fonte: Autoria própria.

O menor limite estabelecido pela legislação é referente aos elementos Cr e Cd, no qual somente o Cr obteve resultados extrapolando esse limite em todos os métodos de tratamento das amostras, questionando-se assim a possibilidade de contaminação dos tubos de polipropileno pela solução padrão desse mesmo elemento. Já com relação ao cádmio, foi o elemento em que se observou a pior curva de calibração, com os menores coeficientes de determinação, ponto que influenciou muito nos resultados na análise e deve ser levado em consideração.

Uma possível razão para a diferença entre os resultados do tratamento via digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica comparados a digestão tradicional é com relação ao procedimento de pré-tratamento das amostras. Na digestão ácida tradicional, os tubos que estão no bloco digestor não possuem tampa, caracterizando assim um sistema aberto e possibilitando a perda ou a volatilização dos elementos, acarretando uma menor concentração durante a leitura via FAAS.

Outro ponto importante é com relação as curvas de calibração, obtivemos valores de R² variando de 0,58 até 0,96. E para que uma calibração seja considerada confiável, o R² deve ser no mínimo 0,98.

Já, analisando a confiabilidade dos resultados baseados nos parâmetros de exatidão, sendo eles LOD e LOQ no qual o limite de detecção é a menor concentração de analito que pode ser detectada e o LOQ que é a menor concentração de analito que pode ser quantificada com um nível aceitável de precisão e exatidão.

E sabendo também que o cálculo do LOD e LOQ se baseiam nos desvios padrões dos resultados, na inclinação curvas de calibração e na quantidade de amostras por análise, levando em conta que as curvas de calibração tiveram um baixo R² e que as concentrações encontradas

derivam dessas curvas, é assim entendível o não atingimento desses parâmetros resultando em um nível inaceitável de precisão e exatidão.

Tabela 8 – Comparação entre concentrações e parâmetros de exatidão.

Método	Elemento	Concentração média (mg/kg)				
		Cu (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Ni (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)
Digestão ácida	Amostra 1	2,81	0,44	1,09	0,28	0,051
tradicional	Amostra 2	2,89	0,45	1,13	0,29	0,053
Digestão	Amostra 1	5,57	1,01	2,52	0,50	0,079
básica	Amostra 2	5,70	1,01	2,54	0,50	0,079
Digestão ácida	Amostra 1	5,89	0,92	2,3	0,58	0,0089
assistida por ultrassom	Amostra 2	6,02	0,93	2,3	0,58	0,0079
	LOD	21,4	19,1	23,5	13,2	24,2
	LOQ	64,7	57,8	71,3	40,1	73,3
	Limite (mg kg⁻¹)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Autoria própria.

É possível analisar também que os valores para o LOQ dos elementos é maior que todos os limites estabelecidos pelas legislações, invalidando novamente a confiabilidade do método, pois se existe uma legislação que limita para o elemento Cd, por exemplo, 0,10 mg kg⁻¹ de café, é incoerente que um método para a averiguação dessa tolerância exija um limite de quantificação 733 vezes maior que a própria legislação.

5 CONCLUSÃO

Para todos os elementos obtivemos concentrações menores que os limites de detecção calculados, e assim consequentemente menores que o limite de quantificação também, o que remete a uma baixa confiabilidade do método, pois levando em conta que as concentrações determinadas são menores que o próprio limite de detecção, não conseguimos afirmar com certeza se os valores determinados são realmente provenientes do elemento em questão, ou provenientes de interferências e ruídos do aparelho.

Um dos motivos para que o coeficiente de determinação das análises esteja abaixo do esperado foi devido a problemas técnicos e não foi possível repetir o preparo dos padrões nem as análises em busca de um resultado mais satisfatório devido a pandemia do Covid-19.

Dessa forma, é possível concluir que os pré-tratamentos de digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica possuíram resultados satisfatórios na pesquisa, pelo seu desempenho em extrair os elementos das amostras, por requererem um menor tempo de extração e também por utilizarem menor quantidade de amostra e reagentes gerando assim menos gastos e resíduos (Tabela 5). Porém, não podem ser classificados como métodos confiáveis até então, pelos parâmetros de exatidão apresentados, pela não possibilidade de repetição das análises e também pela falta de oportunidade da aplicação desses métodos na análise de uma amostra certificada, para que tivéssemos um resultado padrão para comparação.

6 REFERÊNCIAS

AHMAD, M. S., ASHRAF, M. **Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. Review of Environmental Contamination and Toxicology**, 214, 125–167, 2011.

ALTHUIS M. D., JORDAN N. E., LUDINGTON E. A., WITTES J. T., **Glucose and insulin responses to dietary chromium supplements: a meta-analysis**. *Am J Clin Nutr* 2002;76:148-55.

ANGERER, J.; ANGERER, J.; SCHALLER, K. H. (eds.), *Analysis of Hazardous Substances in Biological Materials*, Vol. 2, VCH, Weinheim, 85-96, 1988

ARRUDA, A.C.; MINIM, V.P.R.; FERREIRA, M.A.M.; MINIM, L.A.; SILVA, M.N.; SOARES, C.F. Justificativas e motivações do consumo e não consumo de café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p. 754-763, 2009.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **ATSDR's Substance Priority List**. U.S. Department of Health and Human Services, 2017. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/spl/>> Acesso em: 18 de setembro de 2019.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Copper**. U.S. Department of Health and Human Services, 2004. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>> Acesso em: 18 de setembro de 2019.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Nickel**. U.S. Department of Health and Human Services, 2005. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf>> Acesso em: 18 de setembro de 2019.

AWAD, T.S.; MOHARRAM, H.A.; SHALTOU, O.E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M.M. **Food Res. Int.** 48 (2012) 410.

BEATY, R. D.; KERBER, J. D. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*. 2 ed. **The Perkin-Elmer Corporation**, Norwalk, CT, U.S.A, 1993.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **RDC nº 42**, de 29 de agosto de 2013, que dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Brasília: ANVISA, 2013. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0042_29_08_2013.pdf/c5a17d2d-a415-4330-90db-66b3f35d9fbd> Acessado em: 20 de setembro de 2019.

BRASIL. **Decreto no 55871**, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto no 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto no 691, de 13 de março de 1962. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 09 de abril, 1965. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/DECRETO%2BN%25C2%25BA%2B55.871%252C%2BDE%2B26%2BDE%2BMAR%25C3%2587O%2BDE%2B1965.pdf/59b8704c-52f4-481d-8baa-ac6edadf6490>> Acessado em: 18 de setembro de 2019.

BRASIL. Contaminantes Químicos – Chumbo. **Ministério da Saúde**, de 25 de agosto de 2017. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/vigilancia-em-saude/vigilancia-ambiental/vigipeq/contaminantes-quimicos/chumbo>> Acessado em: 13 de setembro de 2019.

CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. R.; CHALFOUN, S. M.; BORTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E. S. G. Relação entre a composição físico-química dos grãos de café beneficiado e a qualidade da bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-445, mar. 1994.

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.M.; KENTISH S.; ASHOKKUMAR, M. *Food Rev. Int.* 29 (2013) 67.

CRAVOTTO, G.; BINELLO, A.; ORIO, L. *Agro Food Ind. Hi-Tech* 22 (2011) 57.

CHEREMISINOFF, N. P. (Ed.). **Polymer Characterization**, William Andrew Publishing, p.43-81, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-081551403-9.50006-6>> Acesso em: 18 de outubro de 2019.

FERNÁNDEZ, B.; LOBO, L.; PEREIRO, R. *Atomic Absorption Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation and Capabilities. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and*

Chemical Engineering, Elsevier, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14116-2>> Acesso em: 18 de outubro de 2019.

FERREIRA, S. L.C., ANDRADE, J B., KORNA ,M. G. A., PEREIRA, M. G., LEMOS, V. A., SANTOS, W. N.L., RODRIGUES, F. M., SOUZA, A. S., FERREIRA, H. S., SILVA, E. G.P., Review of Procedures Involving Separation and Preconcentration for the Determination of Cadmium Using Spectrometric Techniques. **Journal of Hazardous Materials** 145 (2007) 358–367

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT**, [S.l.], v. 38, p. 709-715, Aug. 2004. Acessado em 03 de outubro de 2019.

FRAGA, C. C. Resenha História do Café no Brasil. São Paulo, 1963. Disponível em: <<ftp://ftp.sp.gov.br/ftpiea/rea/1963/asp1-63.pdf>> Acessado em: 17 de setembro de 2019

GONZALEZ, K. R. Toxicologia do Níquel. Revista Intertox de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade, v. 9, n. 2, p. 30-54, jun. 2016.

HARBERS, L. H.; KREITNER, G. L.; DAVIS, G. V.; RASMUSSEN, M. A.; CORAH, L. R. Ruminant Digestion of Ammonium Hydroxide Treated Wheat Straw Observed by Scanning Electron Microscopy. **Journal of Animal Science**, Volume 54, Issue 6, June 1982, Pages 1309–1319. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas1982.5461309x>> Acessado em: 25 de outubro de 2019.

HARTWIG, A.; JAHNKE, G. Chapter 10 - Toxic Metals and Metalloids in Foods. In: SCHRENK, D.; CARTUS, A. **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Chemical Contaminants and Residues in Food (Second Edition)**, Woodhead Publishing, p.209-222, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100674-0.00010-2>> Acesso em: 18 de outubro de 2019.

HERNÁNDEZ-CARABALLO, E. A., BURGUERA M., BURGUERA J. L. Determination of cadmium in urine specimens by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a fast atomization program. **Talanta** 63 (2004) 419–424

HILL, S. J.; FISHER, A. S. Atomic Absorption, Methods and Instrumentation. In: LINDON, J. C.; TRANTER, G. E.; KOPPENAAL, D. W. (Ed.) **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)**, Academic Press, p.37-43, 2017.

J.D, Lee; *Química Inorgânica não tão Concisa*. J D ISBN: Edgard Blücher. 1a ed. 1999.

KAS, K., DAS, S., DHUNDASI, S. Nickel, its adverse health effects and oxidative stress. **Indian Journal of Medical Research**, 128, 412–425, 2008.

LEFAVIR, G., ANDERSON R. A., KEITH R.E., WILSON G. D., MCMILLAN J. L., STONE M. H. Efficacy of chromium supplementation in athletes: emphasis on anabolism. *Int J Sport Nutr* 1992; 2:111-22.

MAARSE, H.; VISSCHER, C. A. Volatile compounds in foods: quantitative and qualitative data. 7. ed. The Netherlands: Zist, 1996.

MANZOORI, J. L.; SOROURADDIN, M. H.; SHEMIRAN, F. *Anal. Lett.* 29(11) (1996) 2007.

MELLONI, R.; BELLEZE, G.; PINTO, A. M. S.; DIAS, L.B.P.; SILVE, E.M.; MELLONI, E.G.P.; ALVARENGA, M.I.N.; ALCÂNTARA, E.N. Métodos de controle de plantas daninhas e seus impactos na qualidade microbiana de solo sob cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n.1, p. 66-75, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832013000100007> Acessado em: 23 de setembro de 2019.

MOREIRA, F. R., MOREIRA, J. C., A Importância da Análise de Especificação do Chumbo em Plasma para a Avaliação dos Riscos à Saúde. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 2, 251-260, 2004

OGA, S. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu, 1996.

OGA, S. Fundamentos de toxicologia. 2 ed. 474p., São Paulo: Atheneu, 2003

OLESZCZUK, N. Desenvolvimento de métodos analíticos de rotina para análise de grãos de café verde utilizando a amostragem sólida por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803224-4.00099-6>> Acesso em: 28 de outubro de 2019.

OLIVEIRA, M. F. Efeito da exposição crônica ao níquel nos testículos de ratos Wistar adultos. 2010. 67 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ORLANDO, R. M.; CORDEIRO, D. D.; MATHIAS, A. E. B.; REZENDE, K. R.; GIL, E.S. Pré-tratamento de Amostras. *Vita et Sanitas*, v3, n. 1, p. 122-139, 2009.

PATINHA, C.; ARMIENTA, A.; ARGYRAKI, A.; DURÃES, N. Chapter 6 - Inorganic Pollutants in Soils. In: DUARTE, A. C.; CACHADA, A.; ROCHA-SANTOS, T. (Ed.). **Soil Pollution**, Academic Press, p.127-159, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-849873-6.00006-6>> Acesso em: 28 de setembro de 2019.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 84-99, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>> Acesso em: 28 de outubro de 2019.

RUTKOWSKA, M.; NAMIEŚNIK, J.; KONIECZKA, P. Chapter 10 - Ultrasound-Assisted Extraction. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. (Ed.). **The Application of Green Solvents in Separation Processes**, Elsevier, p. 301-324, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805297-6.00010-3>> Acesso em: 18 de outubro de 2019.

SALOMÃO, R. **Revista Globo Rural**, São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/Cafe/noticia/2019/07/brasil-bateu-recorde-com-exportacao-de-cafe-da-safra-20182019.html>> Acessado em: 20 de setembro de 2019.

SCHAUMLÖFFEL, D. Nickel species: Analysis and toxic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26, 1–6. doi:10.1016/j.jtemb.2012.01.002, 2012.

SHARMA, S., SHARMA, S., SINGH, P. K., SWAMI, R. C., & SHARMA, K. P. (2009). Exploring fish bioassay of textile dye wastewaters and their selected constituents in terms of mortality and erythrocyte disorders. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83, 29–34. doi:10.1007/s00128-009-9711-y

SILVA, D. C. C. Determinação de elementos potencialmente tóxicos em amostras de solo por extração assistida por ultrassom e espectrometria de absorção atômica. Ponta Grossa, 2018.

SKOOG, A. D.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, R. S. **Fundamentos de Química Analítica**. Editora Thomson, São Paulo, 2006.

TADEO, J. L.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C., ALBERO, B.; GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I. Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. **Journal of Chromatography A**, v.1217, n.16, p.2415-2440, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.066>> Acesso em: 03 de setembro de 2019.

TAVARES, T. M.; CARVALHO, F. M. Avaliação da exposição de populações humanas a metais pesados no ambiente: exemplos do Reconcavo Baiano. *Química Nova*, v. 15, n. 2, pp. 147-154, 1992.

USEPA. Method 3050B: Acid digestion of sediments, sludges, and soils. 1996.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. **ISRN Ecology**, v.2011, 20p., 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.5402/2011/402647>> Acesso em: 18 de outubro de 2019

Who. World Health Organization. Cadmium. Geneva, 1992.