

Determinação de elementos por espectrometria de absorção atômica em amostras de café

Determination of elements by atomic absorption spectrometry on coffee samples

RESUMO

Utilização e comparação de diferentes procedimentos de preparo de amostra, como a digestão básica, digestão ácida tradicional e digestão assistida por ultrassom para extração e subsequente determinação de elementos potencialmente tóxicos, como Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Chumbo (Pb) em amostras de café torrado e moído por espectrometria de absorção atômica (FAAS). Os resultados obtidos demonstram que os três métodos de preparo foram eficientes na digestão das amostras, as análises dos elementos preparados através da digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica apresentaram resultados próximos e dos cinco elementos analisados, dois permaneceram dentro dos limites nos três métodos analisados.

PALAVRAS-CHAVE: Café; elementos potencialmente tóxicos; preparo de amostras.

ABSTRACT

Use and compare of different sample preparation procedures, such as basic digestion, traditional acid digestion and ultrasound-assisted digestion for extraction and subsequent determination of potentially toxic elements, such as Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Copper (Cu), Nickel (Ni) and Lead (Pb) in samples of roasted and ground coffee by atomic absorption spectrometry (FAAS). The results obtained show that the three methods of preparation were efficient in the digestion of the samples, the analysis of the elements prepared through acid digestion assisted by ultrasound and basic digestion showed similar results and of the five elements analyzed, two remained within the limits in the three methods analyzed.

KEYWORDS: Coffee; potentially toxic elements; sample preparation.

Julia da Silva Siega

juliasiega@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Simone Delezuk Inglez

simoneinglez@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

Michel Zampieri Fidelis

michelmzff@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Provindo da agricultura, o café, fruta que da origem a uma bebida consumida em diversas partes do mundo, 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, 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 absorve-los e armazena-los durante o seu crescimento. Segundo Patinha et. al (2018) 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.

Os principais elementos potencialmente tóxicos presentes no café são Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Cádmiio (Cd), Cromo (Cr), Níquel (Ni) e Chumbo (Pb), sendo que, este ultimo, 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, 2017).

A determinação desses elementos no café se deve à importância de assegurar a não extrapolação da quantidade máxima permitida desses metais em alimentos. Alguns desses elementos possuem uma tolerância tão baixa, que quando extrapolada pode causar danos irreparáveis a quem o consome, e até mesmo a morte (BARRA et al., 2000).

A legislação brasileira designa limites máximos de tolerância de diversos elementos químicos para o café torrado em grão e pó, de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC no 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 mg kg⁻¹ e 0,50 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 e 5 mg kg⁻¹ para o níquel em alimentos de forma geral, 0,10 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.

Para a determinação de metais pesados em amostras se faz necessário um pré-tratamento, os métodos mais comuns são a calcinação como via seca, digestão ácida clássica, digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica, como vias úmidas. Picó (2013) afirma que, 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.

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

A digestão ácida clássica, método oficial apresentado pelo *Method 3050D*, é o processo mais antigo e o mais utilizado na preparação de amostras,

proporcionando resultados tanto para materiais orgânicos como inorgânicos, auxiliando para a recuperação do analito da matriz da amostra como também contribuindo para a redução ou eliminação de interferências (USEPA, 1996). Além disso, proporciona o processamento de uma grande quantidade de amostras, por meio de um sistema de aquecimento simples, como em bloco digestor, segundo Matusiewicz (2003).

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.

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 *micro-streaming*. 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 et al., 2011). Essa técnica está sendo reconhecida como uma eficiente forma de extração, que reduz drasticamente o tempo de preparo da amostra, além de proporcionar um aumento de rendimento e melhorar qualidade da extração (AWAD et al., 2012).

Deste modo, este trabalho propõe a comparação de três métodos de preparo de amostra (digestão básica, digestão ácida tradicional e digestão ácida assistida por ultrassom) para a determinação dos elementos cobre (Cu), cádmio (Cd), cromo (Cr), níquel (Ni) e chumbo (Pb) por espectrometria de absorção atômica.

MATERIAIS E MÉTODOS

INSTRUMENTAÇÃO

Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica com grau de precisão 0.0001g (Mark 205A, BEL). A centrifugação das amostras foi realizada em centrífuga (DM0412S, SCIOLOGEX). As medições dos elementos foram realizadas no espectrômetro de absorção atômica com atomização em chama (AAAnalyst 700, PERKIN ELMER-SCIEX, Canada)/ (AA-6200 SHIMADZU) equipado com lâmpada de cátodo oco com os comprimentos de onda, fenda espectral e fluxos de ar acetileno descritos no quadro abaixo para cada elemento.

Quadro 1 - Comprimentos de onda, fenda espectral e fluxo de ar-acetileno.

Elemento	Cd	Cu	Cr	Ni	Pb
Comprimento de onda (nm)	228.8	324.8	357.9	232.0	283.3
Fenda espectral (nm)	0.7	0.7	0.7	0.2	0.7
Fluxo de ar-acetileno (L min ⁻¹)	2.0	2.0	2.5	2.0	2.0

Fonte: Autoria Própria (2020).

REAGENTES E AMOSTRAS

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico. Água ultrapura com resistividade de 18.1 MΩ cm (MS2000, GEHAKA) foi utilizada para o preparo das amostras e das soluções. Ácido nítrico suprapuro 65% (m m⁻¹) (HNO₃) (MERCK, Alemanha), solução de TMAH 25% (m v⁻¹) em metanol (DINÂMICA, Brasil), solução de ácido clorídrico (HCl) 37% ACS e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 65% foram utilizados para a preparação das amostras. Para o preparo dos padrões foram utilizadas soluções padrões 1000 (mg L⁻¹) dos elementos a serem analisados da marca Specsol, Brasil com registro de rastreabilidade da NIST. Duas amostras obtidas em supermercados localizados na cidade de Ponta Grossa – PR, Brasil foram analisadas.

DIGESTÃO ÁCIDA CLÁSSICA

Alíquotas de 3 gramas de ambas as amostras foram pesadas diretamente em tubos de ensaio. Posteriormente foi adicionado 10 mL de HNO₃ 30% (v v⁻¹) e 5 mL de H₂O₂ 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 foram mantidas por 1 hora e 30 minutos. Em seguida, foram avolumadas para 40 mL com água ultrapura, filtradas para frascos de polipropileno, e por fim as concentrações determinadas por FAAS.

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. O próximo passo foi avolumar as amostras para 30 mL com água ultrapura, filtrar para novos frascos de polipropileno, e por fim as concentrações determinadas por FAAS.

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 em um banho à 95°C por 5 minutos. Avolumaram-se as amostras para 30 mL seguida de filtragem para novos tubos de polipropileno. Finalmente, as concentrações determinadas por FAAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DIGESTÃO ÁCIDA CLÁSSICA

As análises foram realizadas e os resultados obtidos pelo tratamento da amostra via digestão ácida clássica se encontram na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados obtidos das análises em material preparado via digestão ácida clássica.

Elemento	Concentração média (mg kg ⁻¹)				
	Cu	Cr	Ni	Pb	Cd
Amostra 1	2,81	0,44	1,09	0,28	5,14
Amostra 2	2,89	0,45	1,13	0,29	5,34
Limite (mg kg-1)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Aatoria Própria (2020).

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

DIGESTÃO ÁCIDA ASSISTIDA POR ULTRASSOM

No preparo das amostras via digestão ácida assistida por ultrassom, Tabela 2, foi possível perceber uma grande diferença quando comparado aos resultados apresentados anteriormente, no preparo clássico.

Tabela 2 - 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	5,57	1,01	2,52	0,50	7,88
Amostra 2	5,70	1,01	2,54	0,50	7,93
Limite (mg kg-1)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Aatoria Própria (2020).

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 microbolhas, 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 clássico, também se mantiveram via tratamento assistido por ultrassom.

DIGESTÃO BÁSICA

Com relação aos resultados das amostras tratadas via digestão básica, Tabela 3, eles foram muito próximos aos resultados das amostras assistidas por ultrassom, com exceção do Cd que obteve um aumento significativo na sua concentração.

Tabela 3 - 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	10,65
Amostra 2	5,39	0,85	2,12	0,54	10,00
Limite (mg kg⁻¹)	30	0,10	5	0,50	0,10

Fonte: Autoria Própria (2020).

O TMAH sendo classificado como uma base forte, possui alta eficiência na recuperação do analito presente na matriz da amostra (ORLANDO et al., 2019), e como um bom extrator contribuiu para os resultados presentes na Tabela 3.

CONCLUSÕES

Foi verificado que todos os métodos testados foram eficientes na digestão das amostras, os elementos Cu e Ni permaneceram abaixo do limite estabelecido pela legislação nos três métodos realizados. Observou-se também um resultado parecido para o chumbo, que teve o limite extrapolado somente no tratamento via digestão básica, porém analisando o desvio padrão desse elemento, observamos que o desvio padrão (σ) da Amostra 1 teve um resultado que sugere a permanência desse elemento dentro do limite.

Tabela 4 - Resultado e desvio padrão do elemento chumbo.

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

Fonte: Autoria Própria (2020).

O menor limite estabelecido pela legislação é referente aos elementos Cr e Cd, ambos obtiveram resultados extrapolando esse limite em todos os métodos de tratamento das amostras. O cádmio foi o elemento em que se observou a pior curva de calibração, com os menores coeficientes de determinação, contestando assim o resultado da análise. Já com relação ao Cromo, questiona-se a possibilidade de contaminação dos tubos de polipropileno pela solução padrão desse mesmo elemento.

Uma possível razão para essa diferença entre os resultados do tratamento via digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica comparados a digestão clássica é com relação ao procedimento de pré-tratamento das amostras. Na digestão ácida clássica, 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 numa menor concentração durante a leitura via FAAS.

As curvas de calibração dos elementos apresentaram R^2 variando de 0,58 até 0,96. E para que uma calibração seja considerada confiável, o R^2 deve ser no mínimo 0,98. Um dos motivos para que o coeficiente de determinação das análises estar 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 métodos digestão ácida assistida por ultrassom e digestão básica possuíram resultados satisfatórios na pesquisa, porém não podem ser classificados como métodos confiáveis até então, pela não aplicação desses métodos na análise de uma amostra certificada.

REFERÊNCIAS

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 set. 2019.

AWAD, T.S.; MOHARRAM, H.A.; SHALTOUT, O.E.; ASKER, D.; YOUSSEF, M.M. **Food Res. Int.**, v. 48, p. 410, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004> . Acesso em: 24 out. 2019.

BARRA, C. M.; ABRÃO, J. J.; SANTELLI, R. E.; GAURDIA, M. **Especiação de Arsênio – Uma revisão**. Química Nova, v. 23, n. 1, p. 58 – 70, 2000. Disponível em: [http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2000/vol23n1/v23_n1_%20\(11\).pdf](http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2000/vol23n1/v23_n1_%20(11).pdf). Acesso em: 18 set. 2019.

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. Acesso em: 20 set. 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%25C%25BA%2B55.871%25C%2BDE%2B26%2BDE%2BMAR%25C3%2587O%2BDE%2B1965.pdf/59b8704c-52f4-481d-8baa-ac6edadf6490>. Acesso em: 18 set. 2019.

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

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

HARBERS, L. H.; KREITNER, G. L.; DAVIS, G. V.; RASMUSSEN, M. A.; CORAH, L. R. **Ruminal Digestion of Ammonium Hydroxide Treated Wheat Straw Observed by Scanning Electron Microscopy.** Journal of Animal Science, v. 54, n. 6, p. 1309 – 1319, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas1982.5461309x>. Acesso em: 25 out. 2019.

MATUSIEWICZ, Henry. **Wet digestion methods.** In: OH, Jeung. Comprehensive Analytical Chemistry, v. 4, p.193-233, 2003.

ORLANDO, R. M.; CORDEIRO, D. D.; MATHIAS, A. E. B.; REZENDE, K. R.; GIL, E.S. **Pré tratamento de Amostras.** Vita et Sanitas, v. 3, 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 set. 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 out. 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 out. 2019.

TADEO, J. L.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C., ALBERO, B.; GARCÍA-VALCÁRCCEL, 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 set. 2019.

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