



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

GIOVANNA CARNEIRO COSTA

**EMPREGO DE SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO
NATURAL (NADES) NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO
VERDE PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR EM
AMOSTRAS DE CAFÉ SOLÚVEL**

Salvador
2025

GIOVANNA CARNEIRO COSTA

**EMPREGO DE SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO
NATURAL (NADES) NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO
VERDE PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR EM
AMOSTRAS DE CAFÉ SOLÚVEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de Mestra em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Antonio da Silva Cunha

Salvador
2025



TERMO DE APROVAÇÃO

GIOVANNA CARNEIRO COSTA

“EMPREGO DE SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO NATURAL (NADES) NO DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO VERDE PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR EM AMOSTRAS DE CAFÉ SOLÚVEL”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Francisco Antonio da Silva Cunha
Doutorado em Química, Universidade Federal da Paraíba, UFPB
Universidade Federal da Bahia



Documento assinado digitalmente
FRANCISCO ANTONIO DA SILVA CUNHA
Data: 22/08/2025 16:35:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a Lícia Passos dos Santos Cruz
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia, UFBA
Universidade Federal da Bahia



Documento assinado digitalmente
LICIA PASSOS DOS SANTOS CRUZ
Data: 23/08/2025 13:59:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Mário Marques da Silva Junior
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia, UFBA
Universidade Federal do Sul da Bahia



Documento assinado digitalmente
MARIO MARQUES DA SILVA JUNIOR
Data: 23/08/2025 15:19:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Salvador, 22 de agosto de 2025.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de
Ciências e Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI – UFBA.

C837 Costa, Giovanna Carneiro

Emprego de solvente eutético profundo natural (NADES)
no desenvolvimento de método verde para determinação
elementar em amostras de café solúvel/ Giovanna Carneiro
Costa. – Salvador, 2025.

95 f.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Antonio da Silva Cunha

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Química, 2025.

1. Química analítica verde. 2. NADES. 3. Extração. 4. Café
solúvel. I. Cunha, Francisco Antonio da Silva. II. Universidade
Federal da Bahia. Instituto de Química. III. Título.

CDU: 543.061

Dedico este trabalho a minha afilhada Mariana, que desperta minha criança interior e me relembra que a curiosidade e imaginação compõem a essência de todo cientista, e que o amor cura os tempos difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder todas as bênçãos, força e sabedoria para conduzir minha jornada.

À minha família, por estar sempre ao meu lado, oferecendo apoio e carinho e me encorajando a seguir em busca dos meus sonhos.

À minha mãe, Ana Paula, com quem eu sempre posso contar, com sua bondade, cuidado e amor.

Aos meus avós, Teresinha e Paulo Fernando, por todo o amor, generosidade e por sempre me proporcionarem o melhor.

Ao meu namorado, Marcos Levi, meu amor e companheiro de vida e maior incentivador, com quem eu compartilho todos os meus sonhos.

À minha afilhada, Mariana, minha dindinha que tanto amo! Você é muito inteligente, talentosa e dedicada, e representa alegria, doçura e bondade. Você é luz!

À minha priminha, Juju, tão divertida, inteligente e cheia de energia. Você é uma graça!

Aos meus amigos, pelas felicidades e lágrimas compartilhadas, com um carinho especial para Gabi, Delmir, Nanda, Maíra, Fernandinha e Xará.

Ao meu orientador, Francisco Antonio da Silva Cunha, por todos os conselhos valiosos e ajuda fornecida nesse período.

Aos meus queridos professores de graduação e de pós-graduação, especialmente Gisele Baptista Canuto, Rodolfo de Melo, Leonardo Sena Gomes, Daniele Muniz, Maria das Graças Korn, Maria de Lourdes Botelho e Adelaide Viveiros, pelos ensinamentos compartilhados, que foram essenciais para a minha formação.

A todos os professores que passaram por minha vida, vocês foram essenciais para as minhas conquistas. Agradeço por cada ensinamento, orientação e inspiração ao longo dessa jornada. Vocês contribuíram não apenas para meu crescimento profissional, mas também pessoal.

Aos meus colegas de faculdade e membros do GRPQQ, com quem compartilhei vivências e momentos significativos de crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Sérgio Ferreira, pelas contribuições e estrutura fornecida para realização deste trabalho.

Aos laboratórios e institutos parceiros, especialmente o LABCAT, ATLAß, LABAREMN e INCT, por possibilitarem o acesso a equipamentos fundamentais para o andamento da minha pesquisa.

À EMBRAPA, pelo fornecimento do material de referência certificado, contribuindo para o desenvolvimento da metodologia proposta neste trabalho.

Às agências de fomento, CAPES, CNPq, e FAPESB, pelo financiamento das bolsas de pesquisa e de projetos de pesquisa, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

COSTA, Giovanna C. **Emprego de solvente eutético profundo natural (NADES) no desenvolvimento de método verde para determinação elementar em amostras de café solúvel**. Orientador: Francisco Antonio da Silva Cunha. 2025. 95 p. il. Dissertação – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2025.

RESUMO

A contaminação de grãos de café, utilizados na produção do café solúvel, por elementos potencialmente tóxicos pode representar risco à saúde humana, tornando necessário seu monitoramento. Os solventes eutéticos profundos naturais (NADESs) representam uma alternativa sustentável para aplicação no preparo de amostras de café visando à determinação elementar, em virtude de sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e simples preparo. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método de extração assistida por ultrassom empregando solvente eutético profundo natural (NADES-UAE) para determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel, por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). As condições experimentais do preparo do NADES e do método NADES-UAE foram otimizadas e a extração foi realizada com 0,3 g de café, 5,0 mL de NADES e 35 minutos de sonicação. O método apresentou limites de detecção de 0,26, 0,55 e 3,38 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Zn, Mn e Fe, respectivamente. A exatidão do método foi avaliada utilizando um material de referência certificado de café verde, obtendo-se percentuais de concordância entre 92,4% e 112,3%. Testes de adição e recuperação foram realizados em amostras de café solúvel e os percentuais de recuperação variaram de 86 a 125%. Ensaio de repetibilidade e precisão intermediária foram realizados, obtendo-se desvios-padrão relativos variando de 3,0 % (Mn) a 5,7 % (Fe) e de 4,4% (Fe) a 10,2 % (Zn), respectivamente, indicando boa precisão do método. O método proposto foi efetivamente aplicado a dez amostras de café solúvel, que apresentaram concentrações variando de 2,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Mn) a 60,44 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Fe). O método desenvolvido apresenta-se como uma alternativa simples, rápida e sustentável para o preparo de amostras de café solúvel, alinhada aos princípios da química analítica verde (GAC) e do preparo de amostras verde (GSP), com pontuações de 0,71 e 0,75 nas métricas AGREE e AGREEprep, respectivamente.

Palavras-chave: café solúvel, elementos potencialmente tóxicos, NADES, química analítica verde, métricas verdes.

COSTA, Giovanna C. **Use of natural deep eutectic solvent (NADES) in the development of a green method for elemental determination in instant coffee samples.** Advisor: Francisco Antonio da Silva Cunha. 2025. 95 p. ill. Dissertation – Chemistry Institute, Federal University of Bahia, Salvador, 2025.

ABSTRACT

The contamination of coffee beans, used in the production of instant coffee, with potentially toxic elements may pose risks to human health, making their monitoring necessary. Natural deep eutectic solvents (NADESs) represent a sustainable alternative for application in coffee sample preparation with the purpose of elemental determination, due to their low toxicity, biodegradability, and simple preparation. In this context, the present work aimed to develop an ultrasound-assisted extraction method using a natural deep eutectic solvent (NADES-UAE) for the determination of Fe, Mn, and Zn in instant coffee samples by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The experimental conditions for both NADES preparation and the NADES-UAE method were optimized, and the extraction was carried out using 0.3 g of coffee, 5.0 mL of NADES, and 35 minutes of sonication. The method achieved limits of detection of 0.26, 0.55, and 3.38 $\mu\text{g g}^{-1}$ for Zn, Mn, and Fe, respectively. The accuracy of the method was evaluated using a certified reference material of green coffee, yielding agreement between 92.4% and 112.3%. Spike and recovery tests were carried out on instant coffee samples, and the recovery values ranged from 86% to 125%. Repeatability and intermediate precision tests were performed, yielding relative standard deviations ranging from 3.0% (Mn) to 5.7% (Fe), and from 4.4% (Fe) to 10.2% (Zn), respectively, indicating good precision of the method. The proposed method was effectively applied to ten instant coffee samples, which exhibited concentrations ranging from 2.14 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Mn) to 60.44 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Fe). The developed method represents a simple, rapid, and sustainable alternative for the preparation of instant coffee samples, aligned with the principles of green analytical chemistry (GAC) and green sample preparation (GSP), achieving AGREE and AGREEprep scores of 0.71 and 0.75, respectively.

Keywords: instant coffee, potentially toxic elements, NADES, green analytical chemistry, green metrics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo de café por região do Brasil no ano de 2024.	18
Figura 2 - Número de trabalhos que empregam técnicas espectrométricas para análise elementar no café, entre os anos de 2015 e 2025 (Web of Science, 22 jul. 2025).....	30
Figura 3 - Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial 2^4 aplicado para otimização do preparo do NADES AC-AM	44
Figura 4 - (A) Gráficos de superfície de resposta e (B) de contorno obtidos no planejamento Box Behken para otimização do preparo do NADES AC-AM.....	48
Figura 5 - Espectro de infravermelho do NADES e de seus reagentes individuais (ácido cítrico e ácido málico)	50
Figura 6 - Curvas obtidas através da Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Derivativa (DTG): (A,B) comparação entre o NADES produzido e seus componentes individuais; (C,D) comparação entre o NADES produzido (NADES 1) e o NADES produzido de acordo com o estabelecido na literatura (NADES 2)	52
Figura 7 - (A) Espectros de RMN de ^1H do NADES produzido e de seus precursores (ácido cítrico e ácido málico); (B) Espectros de ^1H RMN sobrepostos dos NADESs produzidos: NADES 1 e o NADES descrito na literatura (NADES 2).....	54
Figura 8 - Gráfico de Pareto obtido através da aplicação do planejamento fatorial completo 2^2 para otimização do método de extração NADES-UAE	64
Figura 9 - Avaliação do método proposto utilizando as métricas verdes (A) AGREE e (B) AGREEprep	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos de preparo de amostras de café visando à determinação elementar por técnicas espectrométricas	23
Tabela 2 - Planejamento fatorial completo 2^4 para otimização do preparo do solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água (NADES AC-AM)	43
Tabela 3 - Análise de Varância (ANOVA) do planejamento fatorial 2^4 aplicado para otimização do preparo do NADES AC-AM	45
Tabela 4 - Planejamento Box-Behnken aplicado na otimização do preparo do NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água (NADES AC-AM)	47
Tabela 5 - Valores de viscosidade e densidade do NADES AC-AM, em comparação a valores reportados na literatura	49
Tabela 6 - Deslocamentos químicos provenientes do espectro de RMN de ^1H do ácido cítrico e do ácido málico	55
Tabela 7 - Planejamento fatorial completo 2^2 para otimização do método NADES-UAE	63
Tabela 8 - Performance analítica do método NADES-UAE aplicado para determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel por F AAS.	65
Tabela 9 - Estudo do efeito da presença do NADES na resposta analítica	65
Tabela 10 - Avaliação da exatidão do método proposto utilizando material de referência certificado de café verde (CRM AGRO C1007a)	67
Tabela 11 - Testes de adição e recuperação para avaliação da exatidão do método proposto	68
Tabela 12 - Concentrações de Fe, Mn e Zn (média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$; $n = 3$) encontradas em amostras de café solúvel após aplicação do método NADES-UAE proposto, em comparação com as concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) estabelecidas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) para amostras de café solúvel.	69
Tabela 13 - IDR de micronutrientes e contribuição das amostras de café solúvel	71
Tabela 14 - Comparação do método desenvolvido com métodos de extração descritos na literatura para determinação elementar em amostras de café	73
Tabela 15 - Avaliação do grau de sustentabilidade do método NADES-UAE proposto utilizando as métricas AGREE e AGREEprep, em comparação a métodos de extração e de digestão descritos na literatura para a determinação elementar em amostras de café	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAS:** Espectrometria de absorção atômica (do inglês: Atomic absorption spectrometry).
- ABIC:** Associação Brasileira da Indústria de Café.
- AGREE:** Métrica Analítica Verde (do inglês: Analytical Greenness Metric).
- AGREEprep:** Métrica Analítica Verde de preparo de amostras (do inglês: Analytical sample preparation Greenness Metric).
- ANOVA:** Análise de Variância (do inglês: Analysis of variance).
- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CRM:** Material de referência certificado (do inglês: Certified reference material).
- CRM AGRO C1007a:** Material de referência certificado de café verde produzido pela EMBRAPA.
- DES:** Solvente eutético profundo (do inglês: Deep eutectic solvent).
- DES-LPME:** Microextração em fase líquida com solvente eutético profundo (do inglês: Deep eutectic solvent-based liquid phase microextraction).
- DES-UAE:** Extração assistida por ultrassom com solvente eutético profundo (do inglês: Deep eutectic solvent based-ultrasound assisted extraction).
- DMA:** Análise direta de mercúrio (do inglês: Direct mercury analyzer).
- EDXRF:** Fluorescência de raios-X por energia dispersiva (do inglês: Energy dispersive X-ray fluorescence).
- EMBRAPA:** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- ETR:** Elemento terra-rara
- F AAS:** Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês: flame atomic absorption spectrometry).
- FTIR:** Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês: Fourier transform infrared spectroscopy).
- GAC:** Química analítica verde (do inglês: Green analytical chemistry).
- GF AAS:** Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês: graphite furnace atomic absorption spectrometry).
- GSP:** Preparo de amostras verde (do inglês: Green sample preparation).
- HBA:** Aceptor de ligações de hidrogênio (do inglês: Hydrogen bond acceptor).
- HBD:** Doador de ligação de hidrogênio (do inglês: Hydrogen bond donator).

HDES: Solvente eutético profundo hidrofóbico (do inglês: Hydrophobic deep eutectic solvent)

HR-CS AAS: Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução (do inglês: High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry).

HR-ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado de alta resolução (do inglês: High resolution inductively coupled plasma mass spectrometry).

IC-DA: Análise discriminante por componentes independentes (do inglês: Independent components-discriminant analysis).

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry).

ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês: Inductively coupled plasma mass spectrometry).

IDR: Ingestão diária recomendada.

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia.

LOD: Limite de detecção (do inglês: Limit of detection).

LOQ: Limite de quantificação (do inglês: Limit of quantification).

MAE: Extração assistida por micro-ondas (do inglês: Microwave-assisted extraction).

MAD: Digestão assistida por micro-ondas (do inglês: Microwave-assisted digestion)

MAPA: Ministério da Agricultura e Pecuária

NADES: Solvente eutético profundo natural (do inglês: Natural deep eutectic solvent).

NADES AC-AM: Solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água (do inglês: Natural deep eutectic solvent composed by citric acid, malic acid and water).

NADES-UAE: Extração assistida por ultrassom com solvente eutético profundo natural (do inglês: Natural deep eutectic solvent based-ultrasound assisted extraction).

PC: Ponto central.

RM: Resposta múltipla.

RMN de ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1.

RSD: Desvio-padrão relativo (do inglês: Relative standard deviation).

TBCA: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

TGA: Análise termogravimétrica (do inglês: Thermogravimetric analysis).

UAE: Extração assistida por ultrassom (do inglês: Ultrasound-assisted extraction).

US: Ultrassom.

VA-HDES-DLPME: Microextração em fase líquida dispersiva assistida por vórtex com solvente eutético profundo hidrofóbico (do inglês: Vortex-assisted hydrophobic deep eutectic solvent-based dispersive liquid phase microextraction).

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA: A QUÍMICA ANALÍTICA VERDE E O PREPARO DE AMOSTRAS DE CAFÉ PARA ANÁLISE POR TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS.....	17
1.1. CAFÉ	18
1.2. MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS DE CAFÉ PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO ELEMENTAR POR TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS.....	21
1.3. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMAS (F AAS)	29
1.4. QUÍMICA ANALÍTICA VERDE E O EMPREGO DE SOLVENTES EUTÉTICOS NATURAIS PROFUNDOS (NADESs).....	31
CAPÍTULO II: OBJETIVOS.....	35
2.1. OBJETIVO GERAL	36
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
CAPÍTULO III: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE SOLVENTE EUTÉTICO PROFUNDO NATURAL (NADES) COMPOSTO POR ÁCIDO CÍTRICO, ÁCIDO MÁLICO E ÁGUA.....	37
3.1. INTRODUÇÃO.....	38
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.2.1. Reagentes e soluções	40
3.2.2. Instrumentação.....	41
3.2.3. Estratégia de otimização do preparo do NADES	41
3.2.4. Preparo do NADES	42
3.2.5. Caracterização do NADES	42
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.3.1. Otimização multivariada das condições experimentais	43
3.3.1.1. Planejamento fatorial completo 2 ⁴	43
3.3.1.2. Planejamento Box-Behnken	46
3.3.2. Caracterização do NADES	48
3.3.2.1. Viscosidade e densidade.....	48
3.3.2.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	50

3.3.2.3. Análise Termogravimétrica (TGA).....	51
3.3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹ H	53
3.4. CONCLUSÃO	56
CAPÍTULO IV: MÉTODO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM EMPREGANDO NADES PARA DETERMINAÇÃO DE Fe, Mn E Zn EM AMOSTRAS DE CAFÉ SOLÚVEL POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA (F AAS).....	57
4.1. INTRODUÇÃO.....	58
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	61
4.2.1. Reagentes, soluções e amostras	61
4.2.2. Instrumentação.....	61
4.2.3. Otimização do método de extração NADES-UAE.....	62
4.2.4. Método de extração assistida por ultrassom empregando NADES	62
4.2.5. Validação do método	62
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.3.1. Determinação das condições experimentais do método NADES-UAE ..	63
4.3.2. Parâmetros de desempenho.....	64
4.3.3. Aplicação nas amostras de café solúvel.....	68
4.3.4. Contribuição do consumo de café solúvel para ingestão diária recomendada	70
4.3.5. Comparação entre métodos de extração visando à determinação elementar em amostras de café	722
4.4. MÉTRICAS VERDES	74
4.5. CONCLUSÃO	77
CAPÍTULO V: CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS	82
APÊNDICE A – Publicação de artigo científico	95

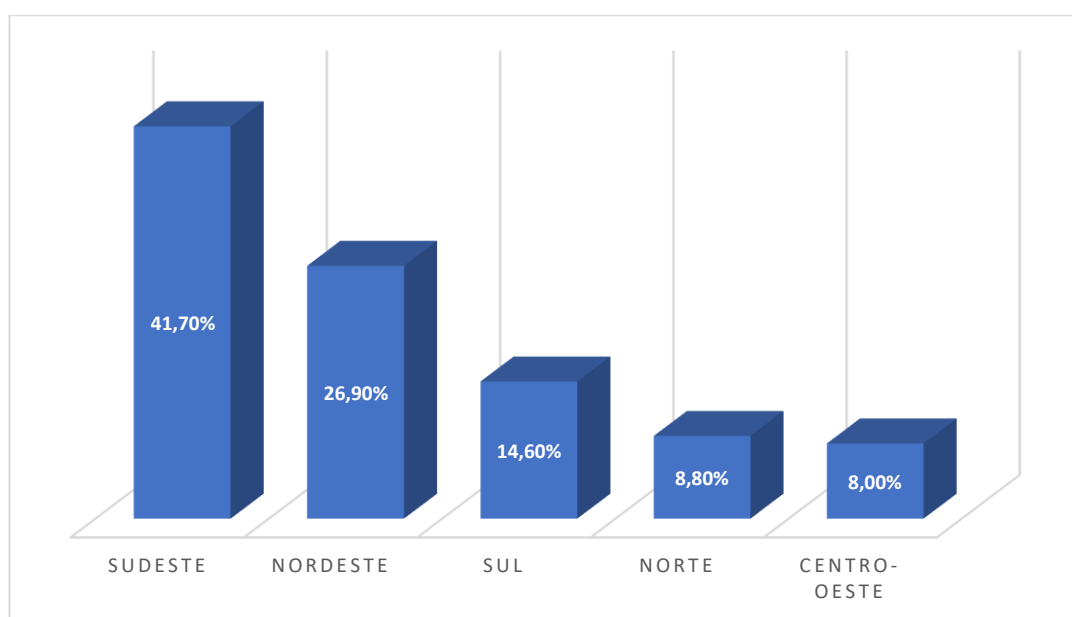
**CAPÍTULO I - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA: A QUÍMICA ANALÍTICA VERDE
E O PREPARO DE AMOSTRAS DE CAFÉ PARA ANÁLISE POR TÉCNICAS
ESPECTROMÉTRICAS**

1.1. CAFÉ

O café é um produto amplamente consumido no mundo, em especial no Brasil, sendo facilmente encontrado em mercados locais e cafeterias, seja na forma de café moído, café em grãos, café solúvel ou em cápsulas (Tavares; Mourad, 2020; Freitas *et al.*, 2024; Weinberger *et al.*, 2024). O café solúvel, em específico, ganhou popularidade após seu crescimento no mercado asiático e do Oriente Médio, destacando-se por ser uma opção energética e de fácil preparo (Pohl *et al.*, 2018).

Segundo dados do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), o Brasil é o maior produtor de café do mundo, representando cerca de 34% da produção global na safra 2023/24 (171,4 milhões de sacas de 60 kg) (BRASIL, 2024). Ainda, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), o país é o segundo maior consumidor de café do mundo, registrando um aumento no consumo desse produto de 1,11% no ano de 2024, quando comparado ao ano anterior. No mesmo ano, foram consumidas cerca de 21,916 milhões de sacas (ABIC, 2024). A Figura 1 representa o consumo de café no país, distribuído por região, no ano de 2024, de acordo com os dados divulgados pela ABIC, sendo possível observar que as regiões Sudeste e Nordeste são as que mais consomem café no país.

Figura 1 – Consumo de café por região do Brasil no ano de 2024.



Fonte: elaborado pela autora.

As principais espécies de café comercializadas são *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. No Brasil, as variedades de *C. canephora* cultivadas correspondem aos tipos Robusta e Conilon. Tradicionalmente, *C. arabica* é a espécie mais cultivada e é reconhecida por apresentar maior qualidade em comparação ao *C. canephora*, por apresentar uma maior complexidade sensorial (Baqueta *et al.*, 2024; Mollakhalili-Meybodi *et al.*, 2024). O café Robusta apresenta maiores teores de cafeína e ácidos clorogênicos, conferindo-o um sabor mais adstringente e menos aromático. Por isso, essa variedade de café é escolhida para a produção do café solúvel, além do fator de apresentar um maior teor de sólidos solúveis (Bastian *et al.*, 2021; Freitas *et al.*, 2024).

O café é amplamente consumido e apreciado por seu sabor e aroma agradáveis, além de atrativo por seu efeito estimulante, dado pela cafeína presente, que atua no sistema nervoso central (Grise *et al.*, 2025). Outros efeitos positivos do consumo do café incluem o aumento da concentração, a redução da fadiga e melhora do humor. O café também pode ser benéfico por apresentar compostos como polifenóis e diterpenos, que apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Freitas *et al.*, 2024; Janda *et al.*, 2020; Savić *et al.*, 2024).

Ainda, estudos têm apontado que a ingestão habitual de café, em quantidade moderada (cerca de duas a quatro xícaras diárias), pode estar relacionada a um menor risco de depressão e do desenvolvimento de câncer colorretal, danos hepáticos, cirrose, além de doenças crônicas e neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson, diabetes mellitus tipo 2, obesidade e hipertensão (Albals *et al.*, 2021; Debastiani *et al.*, 2019).

O café é composto por uma vasta gama de compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo polifenóis, alcaloides, ácidos clorogênicos, aminoácidos, lipídeos, vitaminas e minerais, abrangendo macro e micronutrientes (Junior, Furlong e Carapelli, 2024). No entanto, sua composição mineral pode ser influenciada por diversos fatores como clima, composição do solo, e condições de cultivo e armazenamento (Debastiani *et al.*, 2019; Olechno *et al.*, 2021; Voica *et al.*, 2016), bem como pela origem geográfica e pela espécie de café (Baqueta *et al.*, 2024).

Alterações na concentração e no tipo de minerais presentes podem influenciar de forma direta a qualidade final do café produzido (Almeida *et al.*, 2020). Um exemplo disso são os cafés que são cultivados em regiões de clima mais frio, que geralmente apresentam perfil sensorial mais doce, aromático e sabor marcante. Esse efeito está associado a um desenvolvimento e amadurecimento mais lento dos frutos nessas condições, o que favorece o aumento da concentração de substâncias químicas que realçam características como aroma e sabor (Simmer *et al.*, 2022).

A composição química do café influencia diretamente sua qualidade sensorial. Compostos fenólicos, por exemplo, estão associados ao amargor da bebida, enquanto açúcares e aminoácidos participam de reações de caramelização durante a torra do grão do café, afetando o aroma e sabor. O fator genético, ou seja, a espécie do café, também impacta sua composição nutricional. Além disso, diversos fatores pós-colheita podem provocar alterações químicas nos grãos, como os métodos de fermentação, secagem e armazenamento, bem como os mecanismos de preparo desse café, por exemplo se será filtrado ou prensado (Febrianto; Zhu, 2023). O grau de torra também pode ser considerado um fator que impacta no sabor, cor e aroma do café, com potencial para desenvolver uma ampla variedade de características sensoriais, que vão desde notas frutadas até sabores de chocolate e caramelo (Freitas *et al.*, 2024).

Nesse contexto, observa-se que a química desempenha um papel essencial na definição do perfil sensorial do café, uma vez que, desde a maturação do grão até as etapas de pós-colheita e preparo, ocorrem diversas reações químicas responsáveis pela formação dos compostos que conferem os aromas e sabores desejados. Esses processos resultam em uma bebida de alta qualidade, amplamente apreciada em todo o mundo (Freitas *et al.*, 2024).

Apesar de muitos nutrientes presentes no café se apresentarem como essenciais para o funcionamento adequado do organismo humano, desempenhando funções metabólicas e exibindo propriedades antioxidantes, em excesso, tais elementos podem apresentar toxicidade e causar consequências à saúde humana (Mollakhalili-Meybodi *et al.*, 2024; Savić *et al.*, 2024).

A exemplo do ferro, que é essencial para o transporte de oxigênio e metabolismo energético, sendo cofator de diversas enzimas, mas que, quando presente em elevadas concentrações, pode afetar o sistema cardiovascular e causar danos ao fígado. O zinco, por sua vez, atua na ativação de diversas enzimas e na manutenção do chamado equilíbrio redox celular, e seu excesso pode causar problemas gastrointestinais e afetar tanto o sistema imunológico quanto a absorção de cobre no organismo, que é essencial para a formação de glóbulos vermelhos (Olechno *et al.*, 2021; -Ul-Haq *et al.*, 2021).

Outro elemento potencialmente tóxico é o manganês, que, apesar de fundamental para metabolizar proteínas, carboidratos e lipídeos e ativar importantes enzimas relacionadas ao funcionamento celular, em quantidades excessivas no organismo pode promover a geração de espécies reativas de oxigênio e metabólitos tóxicos, e comprometer a atividade mitocondrial e a produção de energia celular (Olechno *et al.*, 2021).

Estes elementos potencialmente tóxicos estão presentes nas plantas e animais majoritariamente devido às contaminações no ar, água e solo, resultantes de causas naturais, como atividades vulcânicas e erosão, ou de ações antrópicas, como poluição ambiental,

mineração e uso de fertilizantes. Tais elementos apresentam potencial de bioacumulação em organismos vivos, o que eleva os riscos à saúde humana e os impactos ambientais. No caso dos grãos de café, a contaminação pode ocorrer não apenas durante o cultivo, mas também ao longo dos processos de moagem e armazenamento (Kargarghomsheh *et al.*, 2024; Mollakhalili-Meybodi *et al.*, 2024). Nesse contexto, a avaliação do teor de espécies inorgânicas no café torna-se essencial para assegurar tanto a qualidade do produto quanto a segurança de seu consumo.

1.2. MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS DE CAFÉ PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO ELEMENTAR POR TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS

As diferentes estratégias de preparo de amostras de café fundamentam-se, majoritariamente, em métodos de decomposição por via úmida (Albals *et al.*, 2021; Amorim Filho *et al.*, 2007; Anissa *et al.*, 2023; Baqueta *et al.*, 2024; Grassino *et al.*, 2024; Oliveira *et al.*, 2015; Pohl *et al.*, 2014, 2022; Senila *et al.*, 2025; Stelmach *et al.*, 2015; Szymczycha-Madeja *et al.*, 2014; Şemen *et al.*, 2017; Voica *et al.*, 2016). Os métodos de decomposição por via úmida empregam ácidos inorgânicos, em associação a agentes oxidantes auxiliares como o peróxido de hidrogênio, sob condições controladas de alta temperatura e/ou pressão (Bizzi *et al.*, 2017). Esse aquecimento pode ser condutivo (em bloco digestor ou placa de aquecimento) ou combinado ao uso de energia radiante, como a radiação micro-ondas, infravermelha ou ultravioleta (Jofre *et al.*, 2023; Mohammed *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2024; Oliveira *et al.*, 2018).

Nas análises por técnicas espectrométricas, em geral, é necessário que a amostra esteja na forma de solução aquosa e livre de possíveis interferentes provenientes de sua matriz orgânica. Por isso, a etapa de decomposição prévia da amostra é essencial, pois contribui para uma maior exatidão e sensibilidade dos resultados obtidos, ao garantir que os analitos de interesse estejam completamente solubilizados e disponíveis para serem determinados através da técnica analítica selecionada (Adolfo *et al.*, 2020).

Apesar de sua eficácia, os métodos de decomposição por via úmida, especialmente aqueles conduzidos em sistemas abertos, apresentam maior suscetibilidade à contaminação e a perdas por volatilização, e requerem um maior gasto de reagente e maior tempo de análise (Silva *et al.*, 2016).

A Tabela 1 ilustra os diferentes métodos empregados que vêm sendo empregados nos últimos 10 anos no preparo de amostras de café, visando à determinação elementar por técnicas espectrométricas, destacando-se a prevalência dos métodos de decomposição por via úmida.

Para avaliação da composição elementar em amostras de café moído, Senila *et al.* (2025) empregaram um método de digestão assistida por micro-ondas, utilizando 6 ML de HNO₃ 60% e 2 ML de H₂O₂ 30%, em um programa de quatro etapas, com temperatura máxima de 220 °C e tempo total de 45 minutos, para posterior determinação de macronutrientes e elementos-traço por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS). No caso das amostras de infusão de café, a digestão é feita utilizando uma placa de aquecimento, durante 2 horas sob refluxo. Os percentuais de recuperação encontrados foram entre 87% e 106%, indicando boa performance do método. Foi realizada uma avaliação de risco com base nas concentrações de elementos potencialmente tóxicos nas infusões de café, que indicou ausência de risco à saúde para os consumidores. Os autores ainda destacam que, embora a contribuição dessas infusões para a ingestão diária recomendada de elementos essenciais seja baixa, seu consumo regular pode constituir uma fonte nutricional suplementar de relevância.

Grassino *et al.* (2024) propuseram um método de digestão assistida por micro-ondas, que utiliza 6 ML de HNO₃ 65% e 0,1 ML de HF 48%, para posterior determinação de 29 elementos em amostras de café moído e de resíduos de café, incluindo a borra, por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado de alta resolução (HR-ICP-MS). Os limites de detecção (LOD) variaram entre 0,001 e 5 mg kg⁻¹, permitindo a determinação de elementos em níveis traço e ultra-traço. A borra de café apresentou menor potencial como fonte mineral, mas destacou-se pelo teor relativamente elevado de sódio. Considerando-se que os teores de elementos essenciais foram superiores nas amostras de café torrado em comparação às de café verde, conclui-se que o processo de torrefação exerce influência significativa sobre a composição mineral do café.

Baqueta *et al.* (2024) apresentaram uma alternativa, ao empregar uma solução de ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio para digerir amostras de café moído utilizando um bloco digestor, durante 4 horas. Sete elementos essenciais (Fe, Ca, Zn, Mg, Mn, Cu e K) foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Os autores realizaram a discriminação das amostras de cafés de diferentes origens geográficas e espécies a partir de sua composição elementar, empregando a análise discriminante por componentes independentes (IC-DA).

Tabela 1 – Métodos de preparo de amostras de café visando à determinação elementar por técnicas espectrométricas

Amostra	Analitos	Preparo de amostra	Reagentes	Técnica	Referência
Café moído e em cápsulas	Ca, Mg, Na, K, Fe e Mn	Extração com água utilizando máquina de café expresso	Água ultrapura para preparo do café expresso	HR-CS AAS	Oliveira <i>et al.</i> (2015)
Café verde moído e infusão de café	Ca, Cu, Fe, Mg e Mn	Digestão com placa de aquecimento e extração com água quente por infusão e utilizando cafeteira elétrica	HNO ₃ 65% (m m ⁻¹) e H ₂ O ₂ 30% (m m ⁻¹); água bidestilada a 90 °C (para infusão de café)	HR-CS F AAS	Stelmach <i>et al.</i> (2015)
Café moído e café solúvel	Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn, Fe, Ca, K, Mg e Na	Extração assistida por ultrassom	Solução de água régia, HNO ₃ ou HCl 1 mol L ⁻¹	ICP OES e F AAS	Szymczycha-Madeja <i>et al.</i> (2015)
Café em grãos	Al, Ca, Fe, Mg, Na, K, P, S, B, Cu, Mn, Ni, Rb, Sr, Zn, Be, Bi, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Ga, Ge, Hf, Ho, Ir, La, Li, Mo, Nd, Nb, Sc, Se, Ag, U, V, Y, Zr, As, Cd, In, Hg, Sn e Tl	Digestão assistida por micro-ondas e análise direta (DMA)	HNO ₃ 70% e H ₂ O ₂ 30%	ICP OES, ICP-MS e DMA	Habte <i>et al.</i> (2016)
Infusão de café	Ni, Cu, e Zn	Microextração em fase sólida dispersiva (DMSPE)	Solução de 8-Hidroxiquinolina 1% (m v ⁻¹), suspensão de grafeno 500 µg ml ⁻¹ , e soluções de HNO ₃ e NH ₃ H ₂ O 0,1 mol L ⁻¹	EDXRF	Pytlakowska (2016)
Café moído e café solúvel	Mg, Ca, K, Na, Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Cr, Al, Cd, As, Hg e Pb	Digestão assistida por micro-ondas	HNO ₃ 60% e HF 40%	ICP-MS	Voica <i>et al.</i> (2016)

Continuação (Tabela 1)

Café verde moído e infusão de café	Li, Be, B, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg, Pb, Bi, Th e U	Digestão assistida por micro-ondas e extração com água quente por infusão	HNO ₃ 65% (v v ⁻¹) e H ₂ O ₂ 30% (v v ⁻¹); água ultrapura fervida (para infusão de café)	ICP-MS	Şemen <i>et al.</i> (2017)
Café em grãos moído	Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn	Extração assistida por ultrassom	Soluções de HNO ₃ 0,6 mol L ⁻¹ e HCl 11,9 mol L ⁻¹	ICP OES	De Gois <i>et al.</i> (2018)
Infusão de café moído e café solúvel	Al, Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Sr e Zn	Acidificação de infusões de café	Solução de HNO ₃ 1,3 mol L ⁻¹ (acidez final)	ICP OES	Pohl <i>et al.</i> (2018)
Café verde em grãos e infusão de café	Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Sr e Zn	Digestão assistida por micro-ondas e extração com água quente por infusão	HNO ₃ 69% e H ₂ O ₂ 30%; água ultrapura a 95 °C (para infusão de café)	ICP OES	Árvay <i>et al.</i> (2019)
Bebidas prontas de café	Sn	Análise direta	-	EDXRF	Lerner <i>et al.</i> (2019)
Café moído	Cd, Pb, Fe e Mn	Análise direta	-	EDXRF	Almeida <i>et al.</i> (2020)
Café moído e infusão de café	Mg e P	Digestão assistida por micro-ondas e extração com água quente por infusão	Ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio (29 %); água ultrapura a 90 °C (para infusão de café)	F AAS	Junior <i>et al.</i> (2020)
Café em grãos	K, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Al, Cu, Ba, Cr, Co, Cd, Sr, Pb, Ni, V, U, Ga, Ag, Li, In, Bi	Digestão assistida por micro-ondas	HNO ₃ 65% (m/m) e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	ICP-MS	Albals <i>et al.</i> (2021)
Café moído	Ca, Fe e Zn	Amostragem por suspensão	Triton X-100 5 % (v v ⁻¹), HNO ₃ concentrado e solução de HCl 1 mol L ⁻¹	F AAS	Trindade <i>et al.</i> (2021)

Continuação (Tabela 1)

Infusão de café	Ba, Cu, Fe, Mn, Na, Sr, Zn, Ca, Mg e K	Digestão em bloco digestor e extração assistida por ultrassom	HNO ₃ 65% (m m ⁻¹) e H ₂ O ₂ 30% (m m ⁻¹); solução de HNO ₃ 1,8 mol L ⁻¹ (para o método UAE)	ICP OES	Pohl <i>et al.</i> (2022)
Café solúvel, café em grãos e café moído	Ni, Cr, Pb, Zn, Cu, Co, Cd, As, Mn e Al	Digestão assistida por micro-ondas	HNO ₃ 65% e KOH 5%	ICP-MS	Anissa <i>et al.</i> (2023)
Café solúvel, bebidas à base de café solúvel e substitutos de café	Cd e Pb	Incineração a seco em mufla	H ₂ O ₂ 30 % e solução de HNO ₃ 1 mol L ⁻¹	ICP OES	Winiarska-Mieczan <i>et al.</i> (2023)
Café moído, café solúvel e café em cápsulas	K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu, B, Zn, Sr, Ba, Al, Ni, Sn, Co, Cr, Ag, Se, V, Pb, As, Li, Cd, Hg e Be	Digestão assistida por micro-ondas	HNO ₃ 67–70% (v v ⁻¹) e H ₂ O ₂ 30% (m m ⁻¹)	ICP OES e ICP-MS	Savić <i>et al.</i> (2024)
Café moído	Fe, Ca, Zn, Mg, Mn, Cu e K	Digestão em bloco digestor	HNO ₃ diluído e H ₂ O ₂ 30 % (v v ⁻¹)	F AAS	Baqueta <i>et al.</i> (2024)
Café verde, café moído e resíduos de café	Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, U, V e Zn	Digestão assistida por micro-ondas	HNO ₃ 65% e HF 48%	HR-ICP-MS	Grassino <i>et al.</i> (2024)
Café em pó orgânico e convencional	Cu e Zn	Digestão assistida por micro-ondas	Ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio (29 %)	F AAS	Junior, Furlong e Carapelli (2024)
Café moído, café solúvel e bebidas prontas de café	As, Cd, Cr, Al, Pb, Co, Ni, Fe, Mn e Zn	Digestão assistida por micro-ondas	Solução de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico (1:9, v v ⁻¹)	ICP OES	Kargarghomsheh <i>et al.</i> (2024)
Café em pó	K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb e Sr	Análise direta	-	EDXRF	Weinberger <i>et al.</i> (2024)

Conclusão (Tabela 1)

Café moído, café solúvel e substitutos de café	La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb e Lu	Extração assistida por ultrassom	Solução de HNO ₃ 1 mol L ⁻¹	ICP-MS	Savić <i>et al.</i> (2025)
Café moído e infusão de café	Na, Mg, K, Ca, P, S, Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Ni, Cd e Pb	Digestão assistida por micro-ondas e digestão com placa de aquecimento	HNO ₃ 60% e H ₂ O ₂ 30%	ICP-MS e GF AAS	Senila <i>et al.</i> (2025)

Fonte: elaborado pela autora.

Savić *et al.* (2024) descreveram um procedimento de digestão assistida por micro-ondas que utiliza 4 mL de HNO_3 67-70% e 1 mL de H_2O_2 30%, em um tempo total de análise de 35 minutos. Foi possível determinar 25 elementos em amostras de café moído e café solúvel por ICP OES e ICP-MS. Os autores encontraram um teor elevado de sódio nas amostras de café solúvel, em concordância com outros trabalhos da literatura. Apesar da avaliação de risco ter indicado um risco negligenciável à saúde humana, os autores alertam que o consumo excessivo de café pode expor o indivíduo não somente a elementos potencialmente tóxicos, mas também a outros contaminantes presentes, como resíduos de pesticidas, acrilamida, compostos orgânicos voláteis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, e micotoxinas, podendo causar alguns efeitos adversos à saúde.

O método proposto por Anissa *et al.* (2023) emprega 5 mL de ácido nítrico concentrado e 1 mL de hidróxido de potássio a 5 % em uma digestão assistida por micro-ondas, para posterior determinação de Ni, Cr, Zn, Co, Cu, Mn e Al em amostras de café moído, café em grãos e café solúvel por ICP-MS. Os percentuais de recuperação para os elementos-traço foram entre 97 % e 102 %, indicando boa exatidão do método. A comparação entre as diferentes amostras de café indicou que os cafés moídos embalados na forma de cápsula exibiram concentrações mais elevadas de elementos-traço do que os grãos comercializados a granel, o que pode indicar que a contaminação provavelmente ocorre durante as etapas de moagem e empacotamento.

Albals *et al.* (2021) também desenvolveram um método de digestão assistida por micro-ondas, porém utilizando 6 mL de ácido nítrico concentrado e 2 mL de peróxido de hidrogênio 30%. O programa de aquecimento inclui 3 etapas, sendo o tempo total de aproximadamente 1 h e 5 minutos. Posteriormente, foram determinados 22 elementos em amostras de grãos de café verde e café torrado por ICP-MS. Os resultados indicaram uma diferença significativa entre os níveis de Cr, Co e Zn encontrados nos grãos de café verde e torrado.

É possível observar que a maior parte dos trabalhos referenciados acima propõem métodos de digestão assistida por micro-ondas, que minimizam interferências provenientes da matriz orgânica e, por serem conduzidos em sistema fechado, diminuem o risco de contaminação das amostras e de perdas de analitos voláteis (Kargarghomsheh *et al.*, 2024).

Os métodos propostos demonstram boa eficiência e desempenho analítico satisfatório, no entanto fazem uso de volumes relativamente elevados de reagentes tóxicos e demandam tempos de digestão que variam de 35 minutos a 4 horas, o que implica em um consumo de energia considerável. Nesse sentido, essas metodologias acabam gerando resíduos de difícil descarte, aumentam a exposição do operador a substâncias perigosas e contribuem para a poluição do meio ambiente, configurando um impacto ambiental relevante.

Buscando um menor consumo de reagentes e tempo de análise, métodos alternativos vêm sendo empregados, tais como métodos de extração assistida por ultrassom empregando ácidos inorgânicos diluídos. Esse tipo de método contribui para um preparo de amostras mais simples e seguro, além de envolver um menor custo (Savić *et al.*, 2024).

De Gois *et al.* (2018) desenvolveram um método que utiliza 2 mL de ácido nítrico diluído ($0,6 \text{ mol L}^{-1}$) e 0,2 mL de ácido clorídrico $11,9 \text{ mol L}^{-1}$, submetendo as amostras de café moído ao banho ultrassônico por 15 minutos, para posterior determinação de Ba, Cu, Fe, Mn, Sr, Zn, Mg, Ca, P e K por ICP OES. Os autores destacam como vantagem do método o uso de ácido diluído, que não interfere no sistema de introdução de amostras do espectrômetro de emissão óptica nem na eficiência da nebulização.

Por outro lado, o método proposto por Szymczycha-Madeja *et al.* (2015) emprega solução de água régia 1 mol L^{-1} para realizar um procedimento de extração assistida por ultrassom para posterior determinação de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn por ICP OES e de Fe, Ca, K, Mg e Na por F AAS. As amostras de café moído e café solúvel foram sonicadas a 60°C por 30 min. O método apresentou uma adequada performance analítica, com desvios-padrão relativos (RSD) variando de 1,1 a 8,3 % e percentuais de recuperação entre 83,6 e 109 %, indicando boa exatidão e precisão do método proposto.

Pohl *et al.* (2022) compararam um método de digestão convencional com um método simplificado de extração assistida por ultrassom para determinação multielementar em amostras de infusão de café por ICP OES. O método simplificado desenvolvido apresenta-se como uma alternativa rápida, envolvendo apenas a diluição das amostras com uma solução de HNO_3 $1,8 \text{ mol L}^{-1}$, e sonicação por 8 minutos à temperatura ambiente. O método demonstrou ser preciso e confiável, com baixos limites de detecção, de 0,1 a 5 ng g^{-1} , para determinação de Ba, Cu, Fe, Mn, Na, Sr e Zn. Trata-se de uma abordagem sustentável que demanda um menor tempo de análise e elimina a necessidade de aquecimento em altas temperaturas e do uso de reagentes concentrados.

Savić e colaboradores (2025) também avaliaram o uso de uma solução diluída de HNO_3 (1 mol L^{-1}) como extrator em um procedimento de extração assistida por ultrassom. As amostras foram sonicadas por 15 minutos a 80°C , em seguida centrifugadas, e os sobrenadantes coletados para posterior determinação de 14 elementos terras-raras (ETRs) por ICP-MS. Os percentuais de recuperação variaram de 80,1% a 112% e os desvios-padrão relativos encontrados foram inferiores a 14%, atestando a boa exatidão e precisão do método. O método também atingiu baixos limites de detecção, variando de $0,2 \text{ ng kg}^{-1}$ (Yb) a $0,16 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ (Nd).

Também foram calculados os índices de risco dos ETRs presentes nas amostras de café analisadas, os quais indicaram um risco à saúde negligenciável para os consumidores.

Ainda no contexto de desenvolvimento de metodologias alternativas, é possível aplicar a estratégia de amostragem por suspensão (Trindade *et al.*, 2021), no caso de uma análise direta de café. Apesar de prática e eficiente, essa estratégia apresenta como principais limitações a dificuldade em manter a homogeneidade da suspensão, o que compromete a representatividade da amostra, a diminuição da sensibilidade, e a dificuldade na introdução da suspensão em alguns tipos de atomizadores, em virtude de possíveis interferências causadas pela presença de partículas sólidas (Cerqueira *et al.*, 2023).

Além disso, pode-se empregar técnicas como análise direta de mercúrio (DMA) (Habte *et al.*, 2016) e fluorescência de raios-X por energia dispersiva (EDXRF) (Almeida *et al.*, 2020; Frinhani *et al.* 2025; Lerner *et al.*, 2019; Pytlakowska, 2016; Weinberger *et al.*, 2024).

Para análises por EDXRF, utilizam-se predominantemente amostras sólidas (em pó), as quais são convencionalmente prensadas e posteriormente analisadas na forma de pastilha ou depositadas sobre um suporte de filme de polipropileno. Porém as maiores problemáticas neste tipo de análise são as dificuldades de calibração e de homogeneização das amostras sólidas, e o efeito de matriz, que pode se fazer presente em amostras orgânicas que não foram previamente tratadas e afetar as determinações (Carvalho *et al.*, 2022; Guimarães *et al.*, 2022).

1.3. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMAS (F AAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS) fundamenta-se na absorção de radiação eletromagnética por átomos gasosos no estado fundamental. Quando se utiliza uma chama como atomizador, é chamada de espectrometria de absorção atômica com chama. Uma chama muito utilizada é a de ar-acetileno, que contém uma proporção relativamente elevada de oxidante em relação ao combustível (chama azul), porém alguns estudos podem incluir o uso de chamas mais quentes, como óxido nitroso-acetileno, que evita a formação de óxidos de elementos refratários. Durante o processo de nebulização, a amostra líquida é convertida em aerossol e as microgotículas geradas, contendo o analito dissolvido, são então transportadas até a chama, onde passam pelo processo de atomização, no qual formam-se os átomos livres gasosos no estado fundamental (Holler; Skoog; Crouch, 2013).

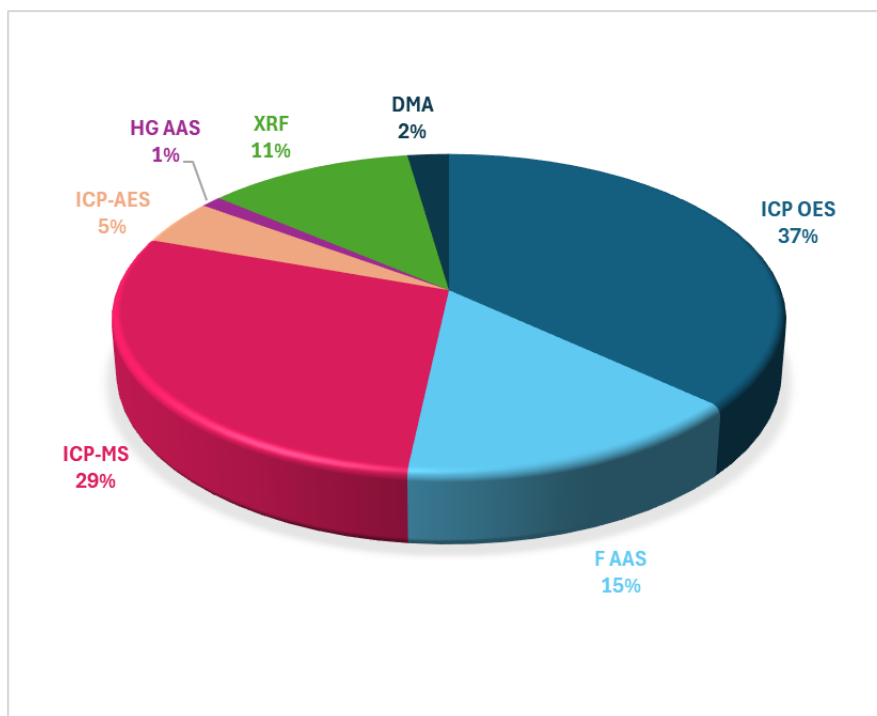
Esta técnica é muito empregada para a análise de diversas matrizes, incluindo alimentos, apresentando adequada sensibilidade para as determinações. Ela exibe como vantagens um relativamente baixo custo de aquisição, manutenção e operação, além de permitir uma análise

a nível traço com maior simplicidade e rapidez (Ayyıldız *et al.*, 2024; Ferreira *et al.*, 2018^a; Smichowski; Londonio, 2018).

Ademais, a técnica é considerada como menos suscetível a interferências espectrais se comparada a outras como o ICP OES (Atakol *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2024). No entanto, uma etapa anterior de pré-tratamento das amostras geralmente se faz necessária para minimizar o efeito de matriz e aumentar a sensibilidade da técnica, que é diretamente afetada pela baixa eficiência de nebulização e pelo reduzido tempo de residência dos átomos livres no caminho óptico. Esta etapa prévia permite a extração dos analitos de interesse da matriz da amostra (Andruch *et al.*, 2022; Tekin *et al.*, 2020).

Realizando-se um levantamento bibliográfico na base de dados Web of Science, nos anos de 2015-2025 (palavras-chave: “coffee”, “metal*”, “spectrometric technique”), 15 % dos trabalhos que visam à determinação multielementar no café empregam F AAS, conforme pode ser observado na figura abaixo (Figura 2). Nesse sentido, é possível notar que esta é uma das técnicas mais utilizadas em análises de rotina, possivelmente em virtude da facilidade operacional, menor custo e menor tempo de análise.

Figura 2 – Número de trabalhos que empregam técnicas espectrométricas para análise elementar no café, entre os anos de 2015 e 2025 (Web of Science, 22 jul. 2025)



Fonte: elaborado pela autora.

1.4. QUÍMICA ANALÍTICA VERDE E O EMPREGO DE SOLVENTES EUTÉTICOS NATURAIS PROFUNDOS (NADESSs)

A química analítica verde (GAC) surgiu como uma estratégia para minimizar os impactos ambientais provenientes das atividades analíticas, além de visar a promoção da segurança e saúde humana. Ela busca tornar os processos mais limpos e seguros, ao defender um pré-tratamento mínimo da amostra e um menor gasto de reagentes e de energia (Gałuszka *et al.*, 2013; López-Lorente *et al.*, 2022; Yin *et al.*, 2024).

No desenvolvimento de métodos sustentáveis que não envolvem uma análise direta, surge a necessidade da substituição de solventes tóxicos por aqueles ambientalmente seguros (Aly e Górecki, 2020). Nesse contexto, surgem os solventes eutéticos profundos (DESSs) como uma alternativa promissora (Bragagnolo *et al.*, 2024).

Esses solventes são formados por uma mistura de dois ou mais componentes, a determinadas proporções, sendo um deles um aceptor de ligação de hidrogênio (HBA), como os sais quaternários de amônio, e o outro um doador de ligação de hidrogênio (HBD), resultando na formação de um sistema eutético. Os DESSs exibem ponto de fusão mais baixo que dos seus componentes individuais, apresentando-se na forma líquida a temperaturas mais baixas. Esse comportamento é atribuído à formação de ligações de hidrogênio entre os sais e as moléculas neutras que compõem sua estrutura, promovendo uma maior deslocalização de cargas e reduzindo a tendência à cristalização (Dai *et al.*, 2013^a; Santos *et al.*, 2022).

Ademais, as interações intermoleculares entre o HBA e o HBD ocasionam um aumento de entropia do sistema, ou seja, ele se torna energeticamente mais favorável a permanecer na fase líquida em temperaturas mais baixas, o que também justifica a depressão do ponto de fusão em um solvente eutético profundo (Lai *et al.*, 2023). Contudo, devido à presença de componentes sintéticos e, em muitos casos, tóxicos, os DESSs apresentam uso limitado em aplicações farmacêuticas e alimentícias (Fernandez *et al.*, 2018).

Quando os componentes de um DES são derivados de metabólitos primários naturais, como ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos, ureia ou derivados de colina, este pode ser denominado solvente eutético profundo natural (NADES). Tais compostos fazem parte do metabolismo natural das plantas e estão presentes em células eucarióticas (Cannavacciuolo *et al.*, 2023). Compostos orgânicos como álcoois, aminas e/ou ácidos carboxílicos podem atuar tanto como um HBD quanto HBA, o que viabiliza diversas combinações possíveis (Fernandez *et al.*, 2018).

Esses solventes são líquidos altamente estruturados, caracterizados pela presença de fortes interações intermoleculares entre seus constituintes (predominantemente ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals), configurando-se o que se considera por ser um meio alternativo à água e aos lipídios nos sistemas biológicos (Espino *et al.*, 2016).

Os NADESs apresentam propriedades físico-químicas atrativas, como baixa volatilidade e inflamabilidade, polaridade e viscosidade ajustáveis, estabilidade térmica, e elevada capacidade de solubilização de compostos polares e apolares. Além disso, destacam-se por sua biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e preparo simplificado, características que estão em consonância com os princípios da GAC (Ferreira *et al.*, 2022).

Devido à sua capacidade de atuar como agentes de estabilização, juntamente com suas propriedades como solventes, os NADESs apresentam potencial para uso na etapa de preparo de amostras, especialmente em processos de extração (Bragagnolo *et al.*, 2024). Nessas aplicações, diferentes métricas verdes podem ser utilizadas como ferramentas de avaliação do método analítico, possibilitando mensurar o grau de sustentabilidade da metodologia empregada (Pena-Pereira *et al.*, 2020).

A aplicação de NADES ou DES na extração de analitos inorgânicos em amostras de alimentos ainda é uma área em crescimento e permanece pouco explorada na literatura científica, sendo encontrados apenas 24 estudos publicados nos últimos 5 anos (Ali *et al.*, 2020; Altunay *et al.*, 2020; 2022; 2024; Altunay e Tuzen, 2021; Botella *et al.*, 2024; Elahi *et al.*, 2022; Elik *et al.*, 2022; Hanifar *et al.*, 2023; Kandhro *et al.*, 2023; Lemos *et al.*, 2022; Mafakheri *et al.*, 2024; Moreira *et al.*, 2020; Ragheb *et al.*, 2021; Rouhi *et al.*, 2023; Santana *et al.*, 2020; Shamsipur *et al.*, 2022; Sihlahla *et al.*, 2023; Sorouraddin *et al.*, 2020; Tavakoli *et al.*, 2021; Tekin *et al.*, 2020; Torabi *et al.*, 2021; Ul Haq *et al.*, 2021; Unar *et al.*, 2024). Além disso, tais métodos propostos frequentemente requerem etapas adicionais, como a pré-digestão da amostra ou o uso de reagentes auxiliares, incluindo agentes complexantes e emulsificantes, o que compromete os princípios de uma abordagem verdadeiramente sustentável ao longo de todo o processo analítico.

Dentre os exemplos citados, Botella *et al.* (2024) propuseram a aplicação de um NADES hidrofóbico composto por timol e ácido decanoico, na proporção 1:2, em um procedimento de microextração líquido-líquido assistida por vórtex, que envolve a solidificação da fase contendo o NADES, para posterior determinação de espécies de Se em amostras de sementes oleaginosas, como castanhas e amêndoas, por ICP-MS. Neste caso, foi utilizado o ácido pirrolidina ditiocarbamato de amônio como agente complexante, e alcançou-se uma eficiência de extração de 99,6%. Mafakheri *et al.* (2024) também empregaram um NADES hidrofóbico,

composto por L-mentol e ácido salicílico, para a extração de arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio em diversas amostras de alimentos, com subsequente determinação por GF AAS.

No caso específico de amostras de café, apenas dois estudos foram encontrados na literatura que empregam solventes eutéticos profundos no desenvolvimento de métodos de extração visando à determinação elementar. O primeiro, conduzido por Elik e Altunay (2024), utilizou um solvente eutético profundo hidrofóbico (HDES) composto por ácido fenilacético e dimetilglicina (1:1) no desenvolvimento de um método de microextração em fase líquida dispersiva assistida por vórtex (VA-HDES-DLPME). Essa abordagem permitiu a separação e extração simultânea de íons metálicos essenciais (Fe (II), Mn (II) e Zn (II)) e tóxicos (Cd (II) e Pb (II)) em amostras de café, com posterior determinação por FAAS. As amostras foram previamente digeridas em forno de micro-ondas e então submetidas ao método VA-HDES-DLPME, que utiliza diclorometano como solvente dispersor. Os resultados demonstraram boa precisão do método, com $RSD \leq 2\%$ para os analitos determinados, e apresentou vantagens como menor custo e tempo de análise, uma vez que não foram necessárias etapas adicionais como aquecimento ou centrifugação.

No segundo estudo, Tışlı *et al.* (2020) empregaram um DES formado por cloreto de colina e fenol (1:2) como solvente extrator em uma microextração em fase líquida, associado ao uso do ligante 3-[[2-hydroxyphenyl]imino]-methyl]-2-naphthalenol e do tetrahidrofurano como agente emulsificante, permitindo a pré-concentração de manganês e sua posterior determinação por F AAS em amostras de café e águas residuais. O método proposto demonstrou ser uma alternativa rápida e sensível para a determinação de manganês nesse tipo de amostra, resultando em um aumento de 92,9 vezes no poder de detecção em comparação com a análise convencional por F AAS.

Entretanto, ambos os estudos fazem uso de reagentes auxiliares tóxicos ou com potenciais riscos à saúde humana e/ou animal, como o diclorometano (Jin *et al.*, 2022) e o tetrahidrofurano (Azu, 2024; Yao *et al.*, 2010). Além disso, utilizam solventes eutéticos profundos em vez de solventes eutéticos naturais profundos, os quais são considerados mais vantajosos por sua origem natural e por apresentarem menor toxicidade, e características como biodegradabilidade e biocompatibilidade, além de possuírem preparo mais simples e rápido (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2017; Santana *et al.*, 2019b). Essas características tornam os NADESs especialmente promissores para aplicações em amostras de alimentos.

Diante desse contexto, o presente trabalho propõe o uso de um solvente eutético profundo natural, composto por ácido cítrico, ácido málico e água (63,8% m m⁻¹), para o desenvolvimento de um método verde de extração assistida por ultrassom para determinação

elementar em amostras de café solúvel, empregando F AAS. O terceiro capítulo deste trabalho detalha o preparo e a caracterização do NADES, destacando suas propriedades e adequação para aplicações analíticas. Posteriormente, no quarto capítulo, apresenta-se a aplicação desse solvente no desenvolvimento do método de extração assistida por ultrassom (NADES-UAE). Todas as variáveis envolvidas no preparo do NADES e no procedimento de extração foram estudadas por meio de estratégias de otimização multivariada, com o objetivo de maximizar a eficiência analítica com um número reduzido de experimentos e menor consumo de reagentes e de energia. Por fim, a metodologia desenvolvida foi aplicada na análise de amostras de café solúvel e o seu grau de sustentabilidade foi avaliado pelas métricas verdes AGREE e AGREEprep.

CAPÍTULO II: OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método verde de extração assistida por ultrassom empregando um solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água para determinação elementar em amostras de café solúvel por espectrometria de absorção atômica com chama.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar o NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água;
- Caracterizar o NADES empregando técnicas como FTIR, RMN de ^1H e TGA e por medidas de viscosidade e densidade;
- Otimizar o preparo do NADES e o método de extração utilizando NADES, empregando planejamento fatorial e planejamento Box-Behnken;
- Validar a metodologia proposta, avaliando-se os seguintes parâmetros de desempenho: linearidade, faixa linear de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão;
- Avaliar se a presença do NADES influencia a linearidade do método para a determinação dos analitos de interesse;
- Determinar Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel por F AAS;
- Avaliar a contribuição do consumo de café solúvel para a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Fe, Mn e Zn;
- Verificar a conformidade do método desenvolvido com os princípios da química analítica verde (GAC) e do preparo de amostras verde (GSP), empregando as métricas AGREE e AGREEprep.

**CAPÍTULO III: PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE SOLVENTE EUTÉTICO
PROFUNDO NATURAL (NADES) COMPOSTO POR ÁCIDO CÍTRICO, ÁCIDO
MÁLICO E ÁGUA**

3.1. INTRODUÇÃO

No contexto atual de química analítica verde, tem-se buscado o desenvolvimento de metodologias mais sustentáveis, mantendo-se uma adequada performance analítica. Nesse cenário, surgem os solventes eutéticos naturais profundos como uma nova classe de solventes verdes, sendo considerados uma potencial alternativa aos convencionais solventes orgânicos utilizados em processos de extração e de síntese, tornando os processos mais seguros e reduzindo custos e tempo de análise (Canales *et al.*, 2021).

Diferentes composições de NADESs vêm sendo estudadas a partir de constituintes abundantes nos organismos vivos, a exemplo do ácido cítrico e ácido málico (Dai *et al.*, 2013b). NADESs formulados a partir de combinações entre ácido cítrico, ácido málico e água já foram aplicados no desenvolvimento de métodos de extração para determinação elementar em amostras de tecidos vegetais e biológicos (Santana *et al.*, 2019a; 2020), porém ainda não foram explorados em amostras de alimentos.

Santana *et al.* (2019a) utilizaram NADESs obtidos a partir de diferentes combinações entre ácido cítrico, ácido málico e xilitol em um procedimento de extração assistida por ultrassom para posterior determinação multielementar em amostras vegetais por ICP OES e ICP-MS. Os resultados indicaram que os NADESs estudados proporcionaram extração eficiente de As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn de tecidos vegetais analisados, com percentuais de recuperação entre 80 e 120%.

Além de desempenharem funções metabólicas nas células dos organismos, tais componentes são utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. O ácido cítrico, por exemplo, é utilizado na indústria de alimentos como conservante, regulador de acidez, emulsificante, realçador de sabor e aroma, e, na indústria farmacêutica, como anticoagulante, estabilizante e agente flavorizante (Książek, 2024). Enquanto o ácido málico pode ser aplicado como acidulante, aromatizante e estabilizante, além de ser empregado como agente tamponante e quelante em produtos de cuidado pessoal e de limpeza (Kövilein *et al.*, 2020).

Diversos métodos de preparo de NADES têm sido descritos na literatura, dentre eles o método de agitação e aquecimento, de evaporação à vácuo, de liofilização, o método assistido por ultrassom e o método assistido por micro-ondas, sendo que a diferença central entre eles reside no tempo de preparo (Cannavacciuolo *et al.*, 2023). Tais métodos foram desenvolvidos de modo a assegurar a reprodutibilidade no preparo dos solventes eutéticos profundos e a manutenção de suas propriedades (Farooq *et al.*, 2020).

O método de agitação e aquecimento consiste na mistura de dois ou mais componentes, em proporções adequadas, até a formação de uma solução límpida. Esse processo pode ser feito em uma placa de aquecimento com agitação magnética, geralmente envolvendo um aquecimento entre 50 e 80 °C, durante um período ajustável, a depender ponto de fusão e estabilidade dos reagentes. Enquanto o método de liofilização consiste no congelamento da solução aquosa a temperaturas muito baixas (77 K ou 253 K), e posterior liofilização, resultando em uma solução límpida e viscosa. No método de evaporação à vácuo, os componentes dissolvidos em água são rotoevaporados a 50 °C, e, em seguida, são colocados em um dessecador até atingir peso constante. Essas últimas duas abordagens são apropriadas para compostos termicamente sensíveis, pois utilizam temperaturas mais brandas (Cannavacciuolo *et al.*, 2023; Farooq *et al.*, 2020).

Também é possível aplicar o método assistido por ultrassom ou por radiação micro-ondas. Neste último caso, a radiação micro-ondas é irradiada sob a mistura durante 20 segundos a 1 min, e a sua interação causa rotação de dipolo que promove colisões entre as moléculas do HBD e do HBA, resultando no aquecimento dielétrico que diminui o tempo de síntese. Essa opção destaca-se por ser mais opção mais rápida e econômica, sendo associada a um menor gasto de energia (Gomez *et al.*, 2018). No caso do ultrassom, ele baseia-se no fenômeno da cavitação, no qual as ondas sonoras criam pequenas bolhas, que crescem e implodem rapidamente, aumentando a pressão interna e liberando muita energia, o que facilita a interação entre os componentes da mistura eutética (Santana *et al.*, 2019b).

Apesar da elevada eficiência e rapidez dos métodos assistidos por micro-ondas e ultrassom, o método de agitação e aquecimento é o mais convencionalmente empregado, em virtude de suas vantagens como simplicidade e capacidade de produzir maiores volumes de solvente, além de ser mais econômico (Cannavacciuolo *et al.*, 2023).

Em resumo, conclui-se que a escolha do método de preparo de um NADES depende tanto das propriedades intrínsecas de seus constituintes quanto da aplicação pretendida. Os métodos convencionais baseados em aquecimento são particularmente indicados para substâncias com boa estabilidade térmica em temperaturas moderadas. Em contrapartida, o método assistido por micro-ondas destaca-se por sua eficiência, sobretudo pela redução do tempo de preparo e do consumo energético. No entanto, a aplicação desta abordagem requer a otimização cuidadosa das condições experimentais, pois o fornecimento excessivo de energia por períodos prolongados pode favorecer reações secundárias, resultando em produtos indesejados ou na degradação do solvente obtido. Independentemente do método adotado, o NADES resultante pode apresentar propriedades físico-químicas vantajosas, como baixa

volatilidade e inflamabilidade, tornando-o promissor para aplicações em processos de separação e extração de compostos orgânicos e inorgânicos (Freitas *et al.*, 2024).

A eficiência da aplicação do NADES em processos de extração pode ser influenciada por outra propriedade físico-química do solvente, a viscosidade. Quando muito elevada, ela pode dificultar a difusão dos solutos no meio do solvente, restringindo a mobilidade dos analitos e, consequentemente, reduzindo a eficiência da solubilização e da transferência de massa durante o processo de extração (Dai *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2022). Essa elevada viscosidade do NADES está associada à formação de fortes interações intermoleculares, especialmente ligações de hidrogênio, entre os constituintes do solvente, ocasionando uma elevada organização estrutural (Lai *et al.*, 2023).

Para contornar essa limitação, é comum a aplicação de forças físicas externas durante o preparo do NADES, como radiação micro-ondas ou agitação em alta temperatura, que promovem a aceleração do processo de dissolução. Outra estratégia amplamente utilizada consiste na adição de água como um terceiro componente, seja como constituinte integral do NADES ou como diluente, se adicionado após o preparo, uma vez que sua presença enfraquece as ligações de hidrogênio, aumentando a mobilidade das moléculas do solvente, e, assim, diminuindo a viscosidade do líquido (Santos *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2022; Lai *et al.*, 2023).

Nesse capítulo, serão empregadas estratégias quimiométricas para otimizar o preparo de um NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água, de modo a obter um solvente pouco viscoso, que posteriormente será aplicado no desenvolvimento de um método verde de extração. O NADES será preparado através do método de agitação e aquecimento e posteriormente caracterizado utilizando técnicas como Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , bem como por meio de Análise Termogravimétrica (TGA), e por medidas de viscosidade e densidade.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. Reagentes e soluções

Todas as vidrarias e materiais utilizados nos experimentos foram previamente limpos e descontaminados em banho ácido (solução de HNO_3 10% v v⁻¹) por no mínimo 24 h, seguidos de lavagem com água ultrapura. Todos os reagentes empregados são de grau analítico. A água de alta pureza utilizada foi obtida em sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). O NADES foi preparado empregando ácido cítrico (99% de pureza, P.A. – ACS,

Dinâmica, Indaiatuba, SP, Brasil), ácido DL-málico (99% de pureza, P.A., Synth, Diadema, SP, Brasil) e água ultrapura.

3.2.2. Instrumentação

Uma placa de aquecimento com agitação magnética a 200 rpm (IKA, C-MAG HS 7, Staufen, Alemanha) foi utilizada para o preparo do NADES.

Um viscosímetro cinemático automático (Anton Paar, modelo SVM 3000, Graz, Áustria), calibrado com água a 25 °C, foi empregado para as medidas de viscosidade e densidade do NADES.

Os espectros de infravermelho do NADES e de seus precursores foram obtidos na faixa de 4000–400 cm^{-1} , utilizando um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (PerkinElmer, Spectrum 400, EUA). Para o NADES, foi empregada a técnica de Reflectância Total Atenuada (ATR), enquanto para os reagentes de partida foram feitas pastilhas de brometo de potássio (KBr). A resolução espectral foi de 4 cm^{-1} , com uma média de 20 varreduras.

Os espectros de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) do solvente e dos reagentes iniciais foram obtidos a 25 °C em um espectrômetro Varian Unity INOVA 500 (Agilent Technologies, CA, EUA), operando a 11,7 Tesla e 500 MHz para ^1H . As amostras foram dissolvidas em D_2O e transferidas para tubos de RMN, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência de deslocamento químico (δ 0,0). Foram coletados 32.768 pontos de dados em uma janela espectral de 10.496 Hz, utilizando uma sequência de pulso com pré-saturação. Os espectros foram processados por transformada de Fourier, com correção manual de fase e da linha de base.

As análises termogravimétricas do solvente e dos reagentes iniciais foram realizadas empregando um analisador térmico (Shimadzu, DTG-60H, Kyoto, Japão). Aproximadamente 10 mg de cada amostra foram aquecidas sob fluxo de N_2 ($< 50 \text{ mL min}^{-1}$), de 30 °C a 500 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} .

3.2.3. Estratégia de otimização do preparo do NADES

A etapa de otimização do preparo do NADES foi conduzida em duas etapas. Na etapa inicial, foi aplicado um planejamento fatorial completo de dois níveis (2^4), a fim de investigar a significância das variáveis envolvidas no preparo do solvente eutético (massa de ácido cítrico, massa de ácido málico, volume de água e tempo de preparo). A resposta avaliada no

planejamento foi o inverso da viscosidade (viscosidade⁻¹), uma vez que se teve como objetivo a obtenção de um solvente com baixa viscosidade. O domínio experimental das variáveis estudadas variou de 4,0 a 8,0 g para massa de ácido cítrico, de 3,0 a 6,0 g para massa de ácido málico, de 4,0 a 8,0 para volume de água e de 1,0 a 2,0 h para o tempo de preparo. Foi utilizada uma temperatura em torno de 50 °C durante o preparo. Foram realizados dezesseis experimentos e quatro replicatas do ponto central, para o cálculo da variância.

Na segunda etapa, foi executado o planejamento Box-Behnken para definir as melhores condições experimentais com base nas variáveis significativas identificadas na primeira etapa. A resposta avaliada nesse planejamento também foi o inverso da viscosidade. O modelo quadrático resultante foi avaliado estatisticamente por meio da Análise de Variância (ANOVA).

Todos os dados obtidos nos experimentos foram processados e interpretados utilizando o software Statistica®, versão 7.0 para Windows (StatSoft Inc., 2004).

3.2.4. Preparo do NADES

O NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água foi preparado a partir da melhor condição experimental definida após aplicação do planejamento Box Behnken e empregando o método de agitação e aquecimento descrito na literatura por Dai *et al.* (2013b). Os componentes do NADES foram misturados em um béquer tampado e submetidos a aquecimento em banho-maria em torno de 50 °C, por 1,5 horas, sob agitação magnética contínua a 200 rpm. O método destaca-se por sua simplicidade e rapidez no preparo.

O solvente resultante apresentou-se como uma solução límpida, sendo posteriormente caracterizado e armazenado em dessecador, à temperatura ambiente, até sua utilização nas próximas etapas deste trabalho. Verificou-se que o solvente manteve sua estabilidade por até sete dias. Além disso, é válido destacar que a quantidade de NADES produzida pode ser ampliada de acordo com a necessidade, desde que a proporção entre os constituintes seja mantida.

3.2.5. Caracterização do NADES

O NADES foi caracterizado através de medidas de viscosidade e densidade, e utilizando técnicas como Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e Análise Termogravimétrica (TGA).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Otimização multivariada das condições experimentais

3.3.1.1. Planejamento fatorial completo 2^4

O planejamento fatorial completo 2^4 foi aplicado para avaliar a significância de quatro variáveis relacionadas ao preparo do NADES e de suas interações: massa de ácido cítrico, massa de ácido málico, volume de água e o tempo de preparo. O domínio experimental das variáveis estudadas e as respostas obtidas para esse planejamento (viscosidade⁻¹) foram apresentados na Tabela 2.

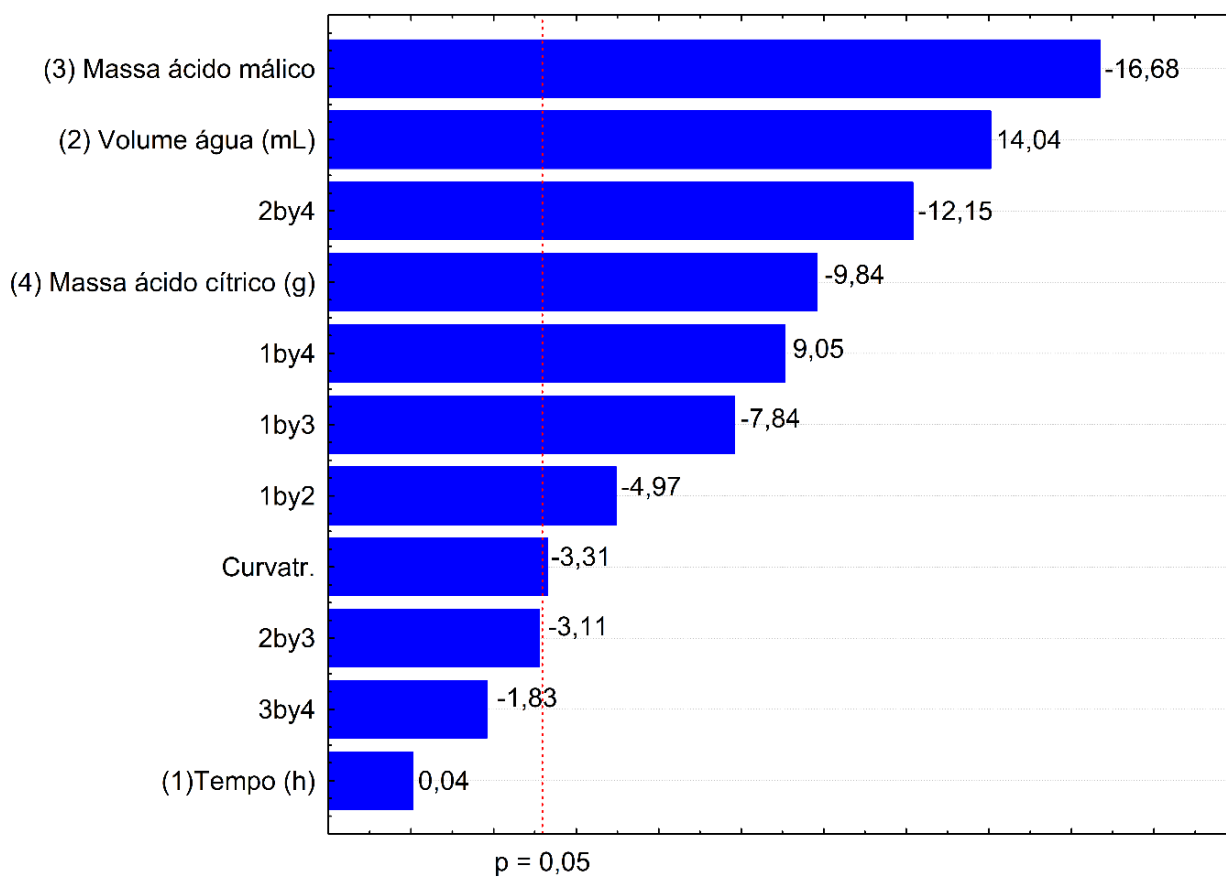
Tabela 2 - Planejamento fatorial completo 2^4 para otimização do preparo do solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água (NADES AC-AM)

Experimento	Fatores				Resposta
	Massa de ácido cítrico (g)	Massa de ácido málico (g)	Volume de água (mL)	Tempo (h)	Viscosidade ⁻¹ (mPa.s) ⁻¹
1	4 (-)	3 (-)	4 (-)	1 (-)	0,0511
2	4 (-)	3 (-)	4 (-)	2 (+)	0,0144
3	4 (-)	3 (-)	8 (+)	1 (-)	0,0895
4	4 (-)	3 (-)	8 (+)	2 (+)	0,1136
5	4 (-)	6 (+)	4 (-)	1 (-)	0,0270
6	4 (-)	6 (+)	4 (-)	2 (+)	0,0234
7	4 (-)	6 (+)	8 (+)	1 (-)	0,0792
8	4 (-)	6 (+)	8 (+)	2 (+)	0,0284
9	8 (+)	3 (-)	4 (-)	1 (-)	0,0156
10	8 (+)	3 (-)	4 (-)	2 (+)	0,0940
11	8 (+)	3 (-)	8 (+)	1 (-)	0,0533
12	8 (+)	3 (-)	8 (+)	2 (+)	0,0462
13	8 (+)	6 (+)	4 (-)	1 (-)	0,0122
14	8 (+)	6 (+)	4 (-)	2 (+)	0,0114
15	8 (+)	6 (+)	8 (+)	1 (-)	0,0252
16	8 (+)	6 (+)	8 (+)	2 (+)	0,0224
17	6 (0)	4,5 (0)	6 (0)	1,5 (0)	0,0340
18	6 (0)	4,5 (0)	6 (0)	1,5 (0)	0,0423
19	6 (0)	4,5 (0)	6 (0)	1,5 (0)	0,0379
20	6 (0)	4,5 (0)	6 (0)	1,5 (0)	0,0350

Fonte: elaborado pela autora.

Como indica o gráfico de Pareto (Figura 3) e a análise de variância (ANOVA) (Tabela 3), todas as variáveis são significativas ($p < 0,05$) a 95% de confiança, exceto o tempo de preparo.

Figura 3 - Gráfico de Pareto obtido do planejamento fatorial 2^4 aplicado para otimização do preparo do NADES AC-AM



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 3 - Análise de Varência (ANOVA) do planejamento fatorial 2⁴ aplicado para otimização do preparo do NADES AC-AM

Fator	SS	df	MS	F	p
Curvatura	0,000152	1	0,000152	10,9429	0,045460
(1) Tempo (h)	0,000000	1	0,000000	0,0018	0,968621
(2) Volume água (mL)	0,002729	1	0,002729	197,1244	0,000783
(3) Massa ácido málico (g)	0,003854	1	0,003854	278,3803	0,000469
(4) Massa ácido cítrico (g)	0,001340	1	0,001340	96,7465	0,002234
1 by 2	0,000342	1	0,000342	24,6699	0,015675
1 by 3	0,000851	1	0,000851	61,4322	0,004325
1 by 4	0,001135	1	0,001135	81,9879	0,002845
2 by 3	0,000134	1	0,000134	9,6485	0,053038
2 by 4	0,002045	1	0,002045	147,6727	0,001200
3 by 4	0,000046	1	0,000046	3,3445	0,164868
Falta de ajuste	0,003862	5	0,000772	55,7843	0,003691
Erro puro	0,000042	3	0,000014		
SS total	0,016530	19			

Fonte: elaborado pela autora.

É possível observar que as massas dos reagentes iniciais exercem um efeito negativo sobre a resposta avaliada (inverso da viscosidade). Isso indica que menores quantidades de ácido cítrico e de ácido málico resultam em uma maior resposta e, conseqüentemente, em uma menor viscosidade do solvente, que é o objetivo pretendido. Por outro lado, o volume de água apresenta efeito positivo sobre a resposta, sugerindo que, à medida em que esse fator se aproxima do nível superior do domínio experimental, a resposta aumenta, ou seja, é menor a viscosidade desse solvente. Dessa maneira, para preparar um NADES menos viscoso devem ser priorizadas condições experimentais que envolvam menores quantidades de ácido cítrico e ácido málico e maior volume de água, dentro do domínio experimental estudado.

Por meio da observação do aspecto visual de cada experimento, verificou-se que o tempo de 1 h não foi suficiente para que ocorresse a solubilização de todo o sólido presente na solução e que somente a partir de 1,5 h isso ocorreu. Além disso, conforme mostrado na Tabela 2, quando comparadas as respostas dos experimentos 3 e 4 (que utilizam uma massa reduzida de reagentes e um maior volume de água), o experimento 3, que envolve apenas 1 h de preparo, apresentou uma menor resposta, ou seja, corresponde a uma solução mais viscosa.

Apesar das interações entre a variável tempo e as demais serem significativas, com base nas observações descritas anteriormente, fixou-se o tempo de 1 hora e meia como suficiente para obter uma solução de NADES límpida e menos viscosa.

Após essa análise preliminar, o domínio experimental das variáveis significativas foi redefinido para possibilitar a aplicação de uma metodologia de superfície de resposta, o planejamento Box-Behnken, na etapa seguinte, com o intuito de identificar as condições ótimas para o preparo do NADES.

3.3.1.2. Planejamento Box-Behnken

Para a definição das condições ótimas de preparo do NADES, foi aplicado o planejamento Box-Behnken, avaliando-se os fatores massa de ácido cítrico – AC (3,0 – 6,0 g), massa de ácido málico – AM (2,0 – 5,0 g) e volume de água – VA (4,0 – 8,0 mL). As respostas obtidas para cada experimento foram apresentadas na Tabela 4. A validação do modelo quadrático foi realizada por meio da ANOVA, a um nível de confiança de 95 %, confirmando a adequação do ajuste do modelo ($p = 0,35 > 0,05$).

Segue abaixo o modelo quadrático obtido, apresentado em valores reais:

$$\text{Resposta (viscosidade}^{-1}\text{)} = 0,0916 - 0,0811(\text{AC}) - 0,0084(\text{AC})^2 - 0,0459(\text{AM}) - 0,0045(\text{AM})^2 + 0,1241(\text{VA}) - 0,0070(\text{VA})^2 + 0,0209(\text{AC})(\text{AM}) - 0,0472(\text{AC})(\text{VA}) - 0,0400(\text{AM})(\text{VA})$$

(Equação 1)

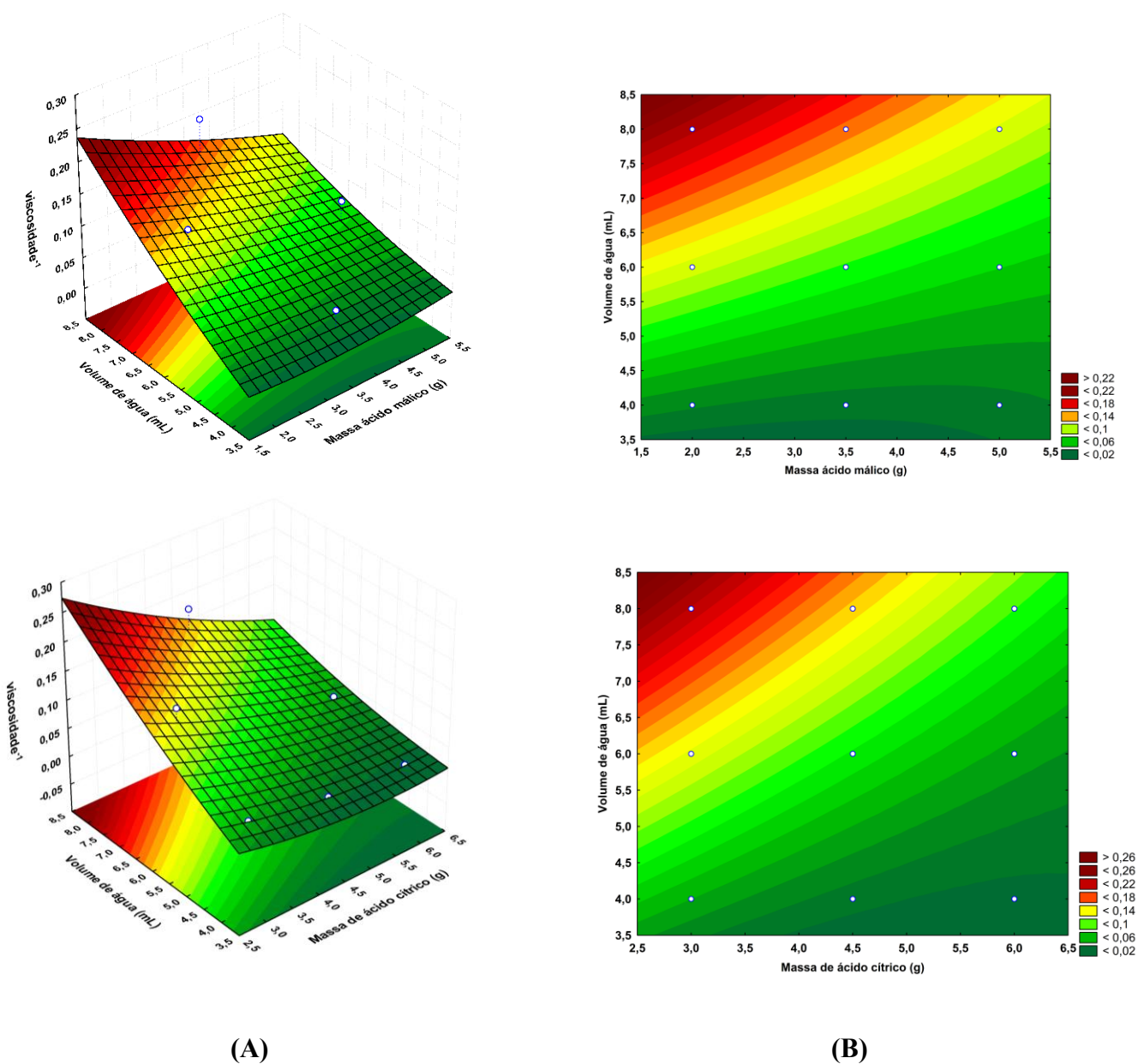
A superfície descrita pela equação acima é caracterizada como um ponto de sela. Dessa forma, deve-se proceder a inspeção visual das superfícies de contorno obtidas (Figura 4), para obtenção da região ótima (Cerqueira *et al.*, 2025). Assim, foram estabelecidas como melhores condições experimentais para o preparo do NADES as seguintes proporções: 3,0 g de ácido cítrico, 2,0 g de ácido málico e 8,0 mL de água, mantendo-se o tempo de preparo fixo em 1,5 h. Essa proporção (1:1:33) resulta em um percentual de água de 63,8 % m m⁻¹.

Tabela 4 - Planejamento Box-Behnken aplicado na otimização do preparo do NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água (NADES AC-AM)

Experimento	Fatores			Resposta
	Massa de ácido cítrico (g)	Massa de ácido málico (g)	Volume de água (mL)	Viscosidade ⁻¹ (mPa.s) ⁻¹
1	4,5 (0)	2 (-)	4 (-)	0,0290
2	4,5 (0)	2 (-)	8 (+)	0,1986
3	4,5 (0)	5 (+)	4 (-)	0,0211
4	4,5 (0)	5 (+)	8 (+)	0,1108
5	3 (-)	3,5 (0)	4 (-)	0,0542
6	3 (-)	3,5 (0)	8 (+)	0,2145
7	6 (+)	3,5 (0)	4 (-)	0,0204
8	6 (+)	3,5 (0)	8 (+)	0,0862
9	3 (-)	2 (-)	6 (0)	0,1634
10	3 (-)	5 (+)	6 (0)	0,1004
11	6 (+)	2 (-)	6 (0)	0,0612
12	6 (+)	5 (+)	6 (0)	0,0400
13	4,5 (0)	3,5 (0)	6 (0)	0,0737
14	4,5 (0)	3,5 (0)	6 (0)	0,0776
15	4,5 (0)	3,5 (0)	6 (0)	0,0837

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 4 - (A) Gráficos de superfície de resposta e (B) de contorno obtidos no planejamento Box Behken para otimização do preparo do NADES AC-AM



Fonte: elaborado pela autora.

3.3.2. Caracterização do NADES

3.3.2.1. Viscosidade e densidade

Neste trabalho, foram preparados dois NADESs compostos por ácido cítrico, ácido málico e água. O primeiro (NADES 1) foi preparado a partir da proporção previamente otimizada neste trabalho (1:1:33), enquanto o segundo (NADES 2) foi obtido utilizando uma

razão molar descrita na literatura, de 1:1:10 (Dai *et al.*, 2013b; Santana *et al.*, 2019b). Ambos se apresentaram como líquidos homogêneos e estáveis à temperatura ambiente, sem a presença de precipitados visíveis.

Um aspecto relevante do processo de preparo de uma NADES a base de água é a forma de incorporação da água. Quando adicionada antes do preparo, a água integra a superestrutura do NADES, participando efetivamente das interações intermoleculares. Essa foi a forma de incorporação escolhida neste trabalho. Em contrapartida, a adição de água após o preparo representa apenas uma diluição, não interagindo fortemente com os outros componentes por meio de ligações de hidrogênio (Lorenzetti *et al.*, 2022).

As propriedades físico-químicas dos NADESs produzidos, incluindo densidade e viscosidade, foram avaliadas e estão apresentadas na Tabela 5, para fins de comparação. O NADES 1 exibiu valores mais baixos de densidade e viscosidade em comparação ao NADES 2 e aos demais relatados anteriormente na literatura (Santana *et al.*, 2019b; 2020), para o mesmo método de preparo. Esse menor valor de viscosidade apresentado pelo NADES 1 pode implicar em uma aplicação mais vantajosa, uma vez que solventes menos viscosos aumentam a eficiência do processo de extração, ao promover maior difusividade e favorecer a mobilidade molecular (Huang *et al.*, 2017).

Por outro lado, o NADES 2, de proporção molar 1:1:10, apresentou um valor de viscosidade muito elevado, se comparado aos demais, o que poderia afetar a sua eficiência de extração em aplicações futuras.

Tabela 5 - Valores de viscosidade e densidade do NADES AC-AM, em comparação a valores reportados na literatura

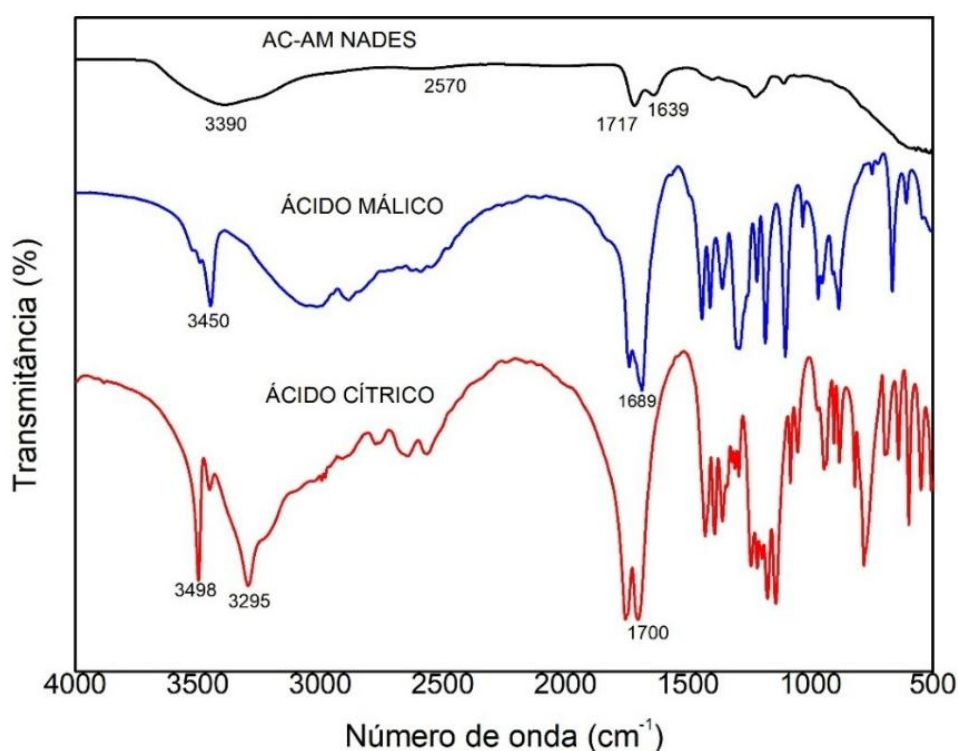
NADES	Densidade (g mL ⁻¹)	Viscosidade (mPa s)	Temperatura (°C)	Referência
1	1,177 ± 0,002	3,21 ± 0,06	25	Este trabalho
2	1,3282 ± 0,0003	28,89 ± 0,02	25	Este trabalho (mesma proporção do 3)
3	1,3260 ± 0,0002	9,24 ± 0,06	24	Santana <i>et al.</i> , 2019b
4	1,30 ± 0,02	7,92 ± 0,03	25	Santana <i>et al.</i> , 2020

Fonte: elaborado pela autora.

3.3.2.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 5 apresenta os espectros de infravermelho obtidos para o NADES e para cada um de seus componentes individuais, o ácido málico e o ácido cítrico, evidenciando as principais bandas de absorção relacionadas aos respectivos grupos funcionais presentes em suas estruturas. Por exemplo, tanto o ácido málico quanto o ácido cítrico contêm grupos carboxílicos e hidroxilas. No caso do ácido málico, observa-se uma banda em 3450 cm^{-1} atribuída ao estiramento vibracional do grupo -OH , além de outra banda em 1689 cm^{-1} relacionada ao estiramento vibracional da carbonila (C=O). De modo análogo, o ácido cítrico exibe uma banda próxima de 1700 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da carbonila do grupo carboxílico, e uma banda em 3498 cm^{-1} , correspondente ao estiramento dos grupos hidroxila livres (Mohd Fuad e Mohd Nadzir, 2022).

Figura 5 - Espectro de infravermelho do NADES e de seus reagentes individuais (ácido cítrico e ácido málico)



Fonte: elaborado pela autora.

Ao se analisar o espectro do NADES obtido a partir desses ácidos, constata-se a preservação dos grupos funcionais mencionados, com pequenos deslocamentos, o que evidencia a ocorrência de interações moleculares entre os componentes do solvente eutético.

Um exemplo da presença dessas interações é a banda larga entre 3330 e 3500 cm^{-1} , característica do estiramento do grupo OH , a qual pode ser atribuída à presença de água e à formação de ligações de hidrogênio entre espécies hidroxiladas (Airouyuwa *et al.*, 2023).

Neste caso, ocorreu um deslocamento da banda de estiramento OH para 3390 cm^{-1} , quando comparado aos valores observados nos ácidos precursores, o que evidencia a ocorrência de ligações de hidrogênio entre os componentes do sistema. Outra evidência é o deslocamento da banda de estiramento da carbonila para 1717 cm^{-1} (Costa *et al.*, 2022; Mohd Fuad; Mohd Nadzir, 2022).

Esse comportamento espectral é consistente com resultados descritos por Santana *et al.* (2019a), que observaram um deslocamento da banda carbonílica de 1680 cm^{-1} para 1710 cm^{-1} para um NADES sintetizado com a mesma composição, porém com proporções distintas entre os precursores. Esse deslocamento para números de onda mais altos pode ser atribuído ao aumento na densidade eletrônica ao redor do oxigênio carbonílico, indicativo da formação de ligações de hidrogênio. Os autores também detectaram uma banda em 1630 cm^{-1} , associada à deformação angular das hidroxilas presentes nas moléculas de água que fazem parte da estrutura do sistema eutético. Tal banda também pode ser identificada em 1639 cm^{-1} na Figura 5.

Por fim, o deslocamento para menores números de onda da banda de estiramento do OH carboxílico, na faixa de 2570–2000 cm^{-1} , constitui evidência adicional de formação de ligações de hidrogênio entre os constituintes do NADES (Dai *et al.*, 2015).

3.3.2.3. Análise Termogravimétrica (TGA)

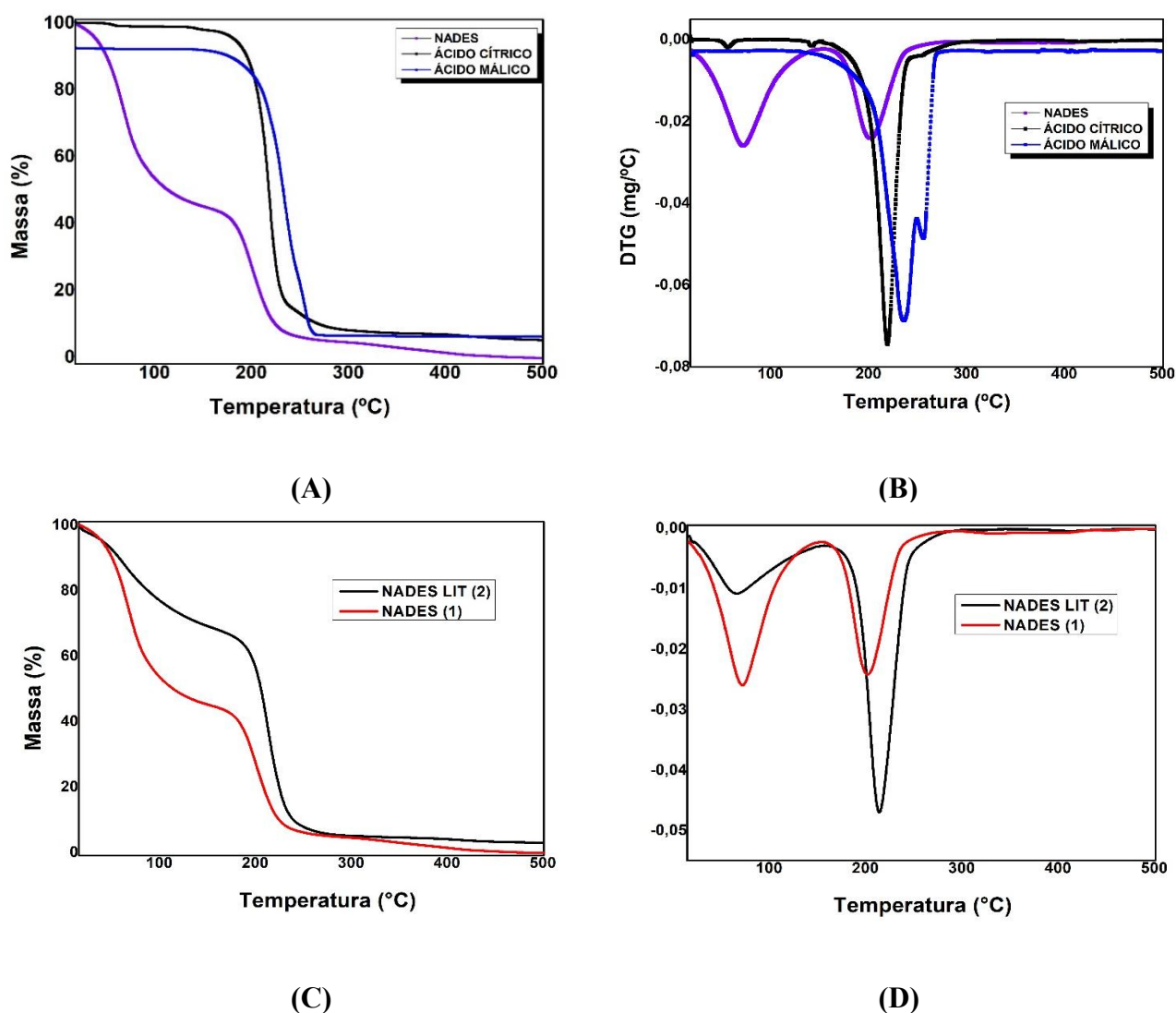
A caracterização do NADES produzido também se sucedeu através da realização da Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Derivativa (DTG), conforme gráficos apresentados na Figura 6, que permitiram a avaliação da estabilidade térmica do NADES que foi produzido e seu perfil de degradação. Esta é uma importante informação para uma potencial aplicação do NADES em processos que envolvam temperaturas elevadas, como a extração assistida por micro-ondas (Santana *et al.*, 2019a).

As Figuras 6A e 6B constituem-se um comparativo entre as curvas de TG e DTG do NADES e de seus componentes individuais. Enquanto as Figuras 6C e 6D apresentam uma comparação entre as curvas de TG e DTG do NADES produzido neste trabalho (NADES 1) e do NADES produzido nas proporções estabelecidas na literatura (NADES 2) (Santana *et al.*, 2019a). A TG mostra a perda de massa de uma amostra em função de uma determinada variação

de temperatura, enquanto a DTG indica a taxa de variação de massa em função da temperatura, evidenciando de forma mais clara as etapas de degradação daquela amostra.

Com base na Figura 6A, foi possível identificar uma perda de massa inicial significativa, de aproximadamente 60 %, em torno de 100 °C, atribuída à evaporação da água que estava incorporada na estrutura do NADES (Guimarães, T. *et al.*, 2022). No segundo estágio de degradação, que ocorreu entre 180 °C e 300 °C, verificou-se a decomposição térmica do sistema eutético, resultando em uma perda adicional de cerca de 40 %, fenômeno associado à degradação simultânea do ácido málico e do ácido cítrico.

Figura 6 - Curvas obtidas através da Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Derivativa (DTG): (A,B) comparação entre o NADES produzido e seus componentes individuais; (C,D) comparação entre o NADES produzido (NADES 1) e o NADES produzido de acordo com o estabelecido na literatura (NADES 2)



Fonte: elaborado pela autora.

A curva de DTG do NADES AC-AM (Figura 6B) revelou uma temperatura de pico de decomposição (T_{PEAK}) de 202 °C, que corresponde à temperatura na qual ocorre máxima taxa de degradação (Škulcová *et al.*, 2019). O perfil de degradação da mistura eutética indica uma estabilidade térmica inferior à de seus precursores isolados, uma vez que os ácidos cítrico e málico apresentam picos de decomposição em temperaturas mais elevadas, próximas a 220 °C e 237 °C, respectivamente. Esses resultados corroboram os valores já descritos na literatura, que relatam temperaturas de decomposição de 228 °C para o ácido cítrico e 256 °C para o ácido málico, em um estudo comparativo entre NADES produzidos a partir de ácido cítrico e ácido málico, ácido cítrico e xilitol, e ácido málico e xilitol (Santana *et al.*, 2019a).

Dessa maneira, é possível concluir que o termograma obtido para o NADES produzido neste trabalho não evidenciou transições correspondentes aos pontos de fusão dos componentes individuais. Ao invés disso, exibiu um perfil térmico único, característico de sistemas eutéticos, evidenciando a ocorrência de interações intermoleculares entre os componentes e confirmando a estabilidade estrutural desse solvente (Savi *et al.*, 2019).

Uma outra análise foi realizada, comparando o NADES 1 com um segundo solvente eutético, de proporção estabelecida na literatura, o NADES 2. A figura 6D revela um pico de decomposição em torno de 215 °C para o NADES 2, valor de acordo com a temperatura de decomposição de 219 °C reportada por Santana *et al.* (2019a).

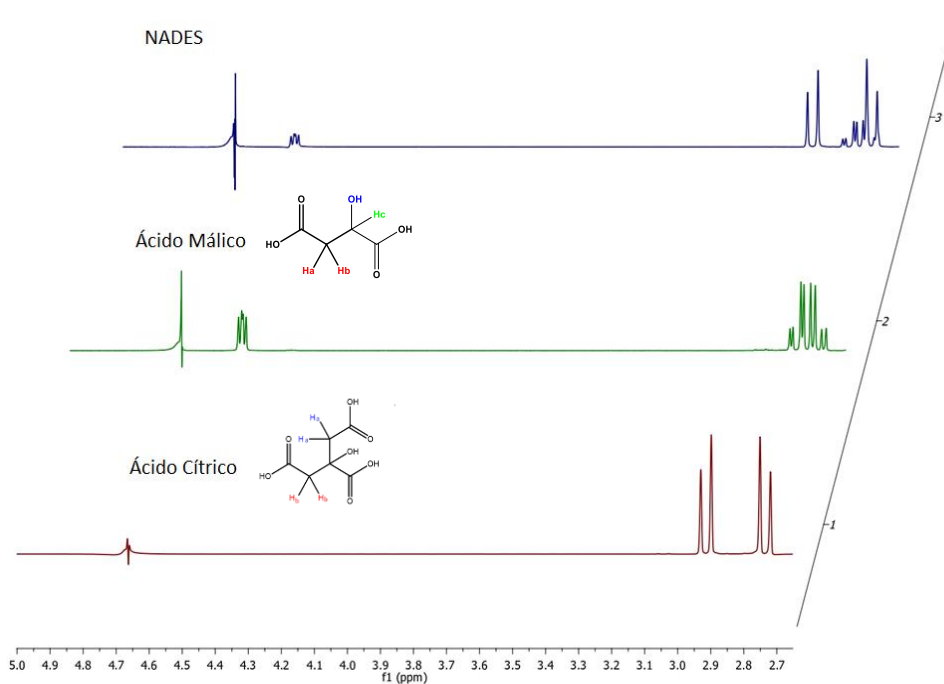
3.3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H

A técnica de RMN de ^1H foi aplicada tanto ao NADES produzido quanto aos seus precursores isolados (ácido cítrico e ácido málico), com o objetivo de investigar eventuais alterações estruturais resultantes da formação do sistema eutético. A forma como os espectros de RMN de ^1H são apresentados Figura 7A facilita a visualização das possíveis mudanças nos deslocamentos químicos dos precursores, decorrentes das interações estabelecidas entre eles durante a formação do NADES. De maneira complementar, a Tabela 6 reúne os valores de deslocamento químico correspondentes a cada hidrogênio presente nas moléculas dos ácidos cítrico e málico, os quais também podem ser identificados no espectro do NADES, embora ligeiramente deslocados.

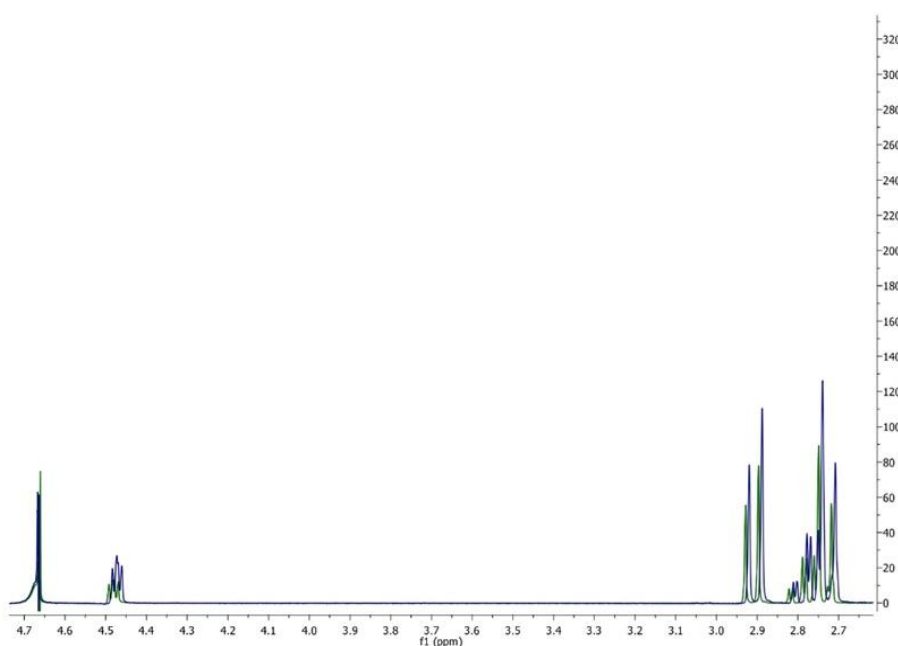
No espectro de RMN de ^1H do NADES, os sinais atribuídos aos hidrogênios do grupo $-\text{CH}_2$ do ácido cítrico são observados na faixa de 2,90 a 2,93 ppm. Já os sinais em 4,47–4,49 ppm e 2,72–2,82 ppm correspondem aos hidrogênios do grupo $-\text{CH}_2$ do ácido málico, sendo que o sinal mais deslocado (4,47–4,49 ppm) corresponde ao grupo metileno diretamente ligado

à hidroxila. O sinal em 4,66 ppm foi atribuído à água deuterada (D_2O), utilizada como solvente para a aquisição dos espectros. O espectro do NADES apresentou pequenas variações nos sinais em relação aos espectros dos precursores, possivelmente em virtude de interações intermoleculares formadas entre os constituintes durante a formação do solvente eutético (Teslić *et al.*, 2022).

Figura 7 - (A) Espectros de RMN de 1H do NADES produzido e de seus precursores (ácido cítrico e ácido málico); (B) Espectros de 1H RMN sobrepostos dos NADESs produzidos: NADES 1 e o NADES descrito na literatura (NADES 2)



(A)



(B)

Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos provenientes do espectro de RMN de ^1H do ácido cítrico e do ácido málico

Componente	Hidrogênio	Deslocamento químico (ppm)	Multiplicidade/Constante de acoplamento, J (Hz)
Ácido cítrico	Hb	2,91	d (16)
	Ha	2,74	d (16)
Ácido málico	Hc	4,48	dd (4,5/7)
	Hb	2,80	dd (4,5/16,5)
	Ha	2,74	dd (7/16,5)

Fonte: elaborado pela autora.

Adicionalmente, foi realizada uma comparação entre o NADES produzido neste trabalho (NADES 1) e o NADES previamente descrito na literatura, porém com razão molar distinta (NADES 2), conforme mostrado nos espectros sobrepostos na Figura 7B. A análise revelou que a diferença no teor de água não provocou alterações significativas na estrutura do solvente, uma vez que os espectros apresentaram elevada similaridade, sendo preservados os deslocamentos químicos característicos de cada precursor.

Enquanto grande parte dos estudos que utilizam NADES não detalha a caracterização do solvente (Altunay *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2024; Shishov *et al.*, 2022) ou se restringe a caracterizá-lo apenas por meio da técnica de FTIR (Botella *et al.*, 2024; Costa *et al.*, 2022; Moreira *et al.*, 2020; Sotouneh *et al.*, 2023), neste trabalho buscou-se uma abordagem mais completa. Para isso, foram utilizadas diferentes técnicas de caracterização, como FTIR, TGA e RMN de ^1H , que, em conjunto, permitiram não apenas identificar os grupos funcionais presentes, mas também avaliar a estabilidade térmica do solvente e confirmar a formação de interações intermoleculares entre os seus constituintes.

Santana *et al.* (2019b), por exemplo, que também utilizaram NADESs à base de ácido cítrico e ácido málico, somente aplicaram as técnicas de FTIR e TGA na etapa de caracterização. Nesse sentido, é possível observar que o NADES produzido neste trabalho foi caracterizado de maneira completa, e os resultados obtidos evidenciam a ocorrência de interações intermoleculares entre seus componentes, confirmando a formação do solvente eutético profundo.

3.4. CONCLUSÃO

O solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água foi caracterizado por meio de diversas técnicas, como FTIR, RMN de ^1H e TGA, além de medidas de viscosidade e densidade. Com a caracterização, confirmou-se a formação do NADES e a presença de interações intermoleculares entre os seus componentes.

O método de agitação e aquecimento adotado para o preparo do NADES mostrou-se simples, rápido e eficaz para obtenção de um solvente pouco viscoso. Além disso, o método permite a produção de maiores volumes de solvente, desde que mantidas as proporções previamente estabelecidas.

As melhores condições experimentais para o preparo foram determinadas por meio da aplicação do planejamento fatorial, seguido do planejamento Box-Behnken, considerando as variáveis significativas para o processo. A otimização multivariada possibilitou a avaliação dos efeitos dos fatores envolvidos e das interações entre eles, permitindo a obtenção de melhores respostas, ou seja, uma menor viscosidade. Essa estratégia proporciona uma diminuição no número de experimentos a serem executados, representando uma economia de tempo e de reagentes.

O NADES preparado apresenta grande potencial para aplicação em processos de extração, especialmente devido ao seu caráter sustentável e à capacidade de substituir solventes tóxicos convencionalmente empregados, contribuindo para o desenvolvimento de metodologias mais verdes. Além disso, sua baixa viscosidade favorece a obtenção de uma maior eficiência de extração. Esta aplicação será discutida no capítulo seguinte.

**CAPÍTULO IV: MÉTODO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM
EMPREGANDO NADES PARA DETERMINAÇÃO DE Fe, Mn E Zn EM
AMOSTRAS DE CAFÉ SOLÚVEL POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA COM CHAMA (F AAS)**

4.1. INTRODUÇÃO

O café solúvel e as misturas instantâneas de café destacam-se por sua praticidade e rapidez no preparo, o que contribui para sua popularidade, apesar de muitas vezes serem considerados uma opção mais artificial e calórica. Ademais, em comparação ao café moído, apresenta maior teor de cafeína, polifenóis e minerais, devido ao seu processo de fabricação e processamento (Winiarska-Mieczan *et al.*, 2023).

Nas plantações de café, elementos potencialmente tóxicos podem ser absorvidos pelas sementes a partir do solo, da água ou do ar, em decorrência de contaminações associadas à poluição ambiental e a atividades industriais (Mollakhalili-Meybodi *et al.*, 2024). Devido à sua elevada estabilidade, estes elementos persistem no ambiente por longos períodos, favorecendo sua incorporação nas cadeias alimentares e posterior bioacumulação, configurando-se um risco significativo de contaminação e ameaça à saúde humana (Rahimi *et al.*, 2024).

Adicionalmente, os grãos de café podem ser contaminados em diferentes etapas do pós-colheita, como durante o processamento, o armazenamento, o contato com superfícies e recipientes, bem como pela adição de ingredientes durante a preparação de bebidas à base de café, como leite e açúcar (Kargarghomsheh *et al.*, 2024). Diante disso, torna-se essencial avaliar o teor dessas espécies no café, a fim de garantir a sua qualidade nutricional e a segurança do consumidor.

A determinação de elementos potencialmente tóxicos em amostras de alimentos pode ser feita empregando diversas técnicas espectrométricas. A espectrometria de absorção atômica com chama destaca-se por sua simplicidade, rapidez e por ser economicamente viável para a determinação de elementos a nível traço. Contudo, esse tipo de análise requer uma etapa prévia de pré-tratamento das amostras, a fim de minimizar o efeito de matriz e aumentar a sensibilidade da técnica (Elik *et al.*, 2021; Tekin *et al.*, 2020).

A maioria dos estudos presentes na literatura que visam à determinação elementar em amostras de café solúvel utilizam ácidos inorgânicos (concentrados ou diluídos), que são tóxicos, e demandam um maior tempo de análise e um maior consumo de energia (Anissa *et al.*, 2023; Kargarghomsheh *et al.*, 2024; Winiarska-Mieczan *et al.*, 2023; Savić *et al.*, 2024, 2025; Szymczycha-Madeja *et al.*, 2015; Voica *et al.*, 2016). No contexto de aplicação de solventes mais verdes na Química Analítica, visando à redução dos impactos ambientais e da geração de resíduos, destacam-se os solventes eutéticos naturais profundos. Eles constituem uma subclasse dos solventes eutéticos profundos, superando-os no quesito toxicidade e

biodegradabilidade, uma vez que, nos DESs convencionais, ao menos um dos componentes é sintético (Freitas, D. *et al.*, 2024).

A utilização dos NADESs no desenvolvimento de metodologias analíticas visando à determinação elementar, em substituição aos convencionais métodos de digestão empregando ácidos inorgânicos, contribui para um processo mais sustentável, por serem formados por compostos de origem natural, biodegradáveis, biocompatíveis, e de baixa toxicidade, e por apresentarem um simples preparo, contribuindo para um menor tempo de análise e menor gasto de energia (Santana *et al.*, 2019a; Santos *et al.*, 2022). Ademais, os métodos de extração empregando NADES não envolvem aquecimento a altas temperaturas, nesse sentido reduz-se a suscetibilidade a contaminações e perdas por volatilização dos analitos de interesse (Lan *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2016). Apesar de suas vantagens, a aplicação de NADES na extração de elementos inorgânicos ainda é pouco investigada (Brito *et al.*, 2025; Ji *et al.*, 2021; Moreira *et al.*, 2020).

O emprego de DES/NADESs hidrofílicos, contendo ácidos carboxílicos como precursores, tem se mostrado particularmente eficaz na extração de metais, devido à afinidade desses solventes pelas formas catiônicas dos analitos, resultando na formação de complexos estáveis (Shishov *et al.*, 2022). No contexto de análises que empregam técnicas espectrométricas de absorção atômica, como F AAS, utilizar DES/NADESs no preparo de amostras promove a extração eficiente de metais, o que contribui para o aumento da sensibilidade da técnica e uma menor interferência da matriz. Esses fatores, aliados às propriedades atrativas e versatilidade desses solventes, tornam os NADESs uma alternativa sustentável e eficiente frente aos métodos convencionais de preparo de amostras de café para posterior determinação elementar por técnicas espectrométricas de absorção atômica (Andruch *et al.*, 2022).

Dentre as técnicas de extração que podem ser associadas ao uso de DES, destacam-se os métodos de extração assistida por ultrassom (UAE) e por micro-ondas (MAE), os quais permitem obter uma adequada performance analítica, ao mesmo tempo em que promovem processos mais sustentáveis (Ferreira *et al.*, 2022). A extração assistida por ultrassom com solventes eutéticos profundos (DESs-UAE) combina, de forma sinérgica, as propriedades do solvente eutético e os efeitos físicos provocados pelas ondas ultrassônicas, potencializando a eficiência de extração de diversos compostos, ao facilitar a difusão destes para o meio extrator. De modo complementar, essa abordagem contribui para a minimização do consumo energético e dos impactos ambientais (Meng *et al.*, 2025).

O uso do ultrassom (US) promove uma maior interação entre os constituintes da amostra e o meio extrator, ao permitir uma maior penetração do solvente na matriz, facilitando a transferência dos analitos da matriz orgânica para a fase aquosa. A aplicação das ondas ultrassônicas gera o fenômeno da cavitação e vibrações mecânicas, resultando em ciclos de compressão e descompressão das moléculas que compõem o meio, que levam à formação de bolhas de gases dissolvidos no líquido, as quais crescem e posteriormente colapsam. A implosão das bolhas de cavitação pode provocar a formação de pontos localizados com condições extremas de temperatura (próxima a 5000 K) e de pressão (até 1000 atm), gerando microjatos direcionados a amostra, o que rompe paredes celulares e reduz o tamanho das partículas, aumentando a porosidade e acelerando o transporte dos analitos de interesse para o meio extrator (Jofre *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2022).

Diferentes graus de rompimento podem ser atingidos a partir do uso das ondas ultrassônicas. É possível que seja induzida apenas uma remoção de partículas ou estruturas superficiais (erosão), que se criem poros (sonoporação), ou, até mesmo, que se formem fraturas profundas no material bruto (fragmentação). Esses são os processos que facilitam a penetração do solvente nas estruturas internas da amostra, favorecendo a liberação dos analitos de interesse. Ademais, a propagação das ondas ultrassônicas gera forças de cisalhamento e turbulência, que potencializam as colisões interpartículas e favorecem a transferência de massa entre a amostra e o solvente extrator (Khadhraoui *et al.*, 2021).

Essa metodologia alinha-se aos princípios da química analítica verde e se apresenta como promissora para a determinação de analitos orgânicos e inorgânicos, na medida em que permite uma extração mais rápida dos analitos de interesse, com elevada reprodutibilidade e segurança ao operador e ao meio ambiente, envolvendo um menor consumo de solventes e de energia. Um ponto importante no desenvolvimento de métodos verdes é avaliar o grau em que o procedimento proposto é ambientalmente seguro. Nesse sentido, diversas métricas verdes podem ser aplicadas para quantificar esse grau de sustentabilidade e comparar as características entre os diferentes métodos analíticos (Ferreira *et al.*, 2022).

Nesse capítulo, será desenvolvido um método de extração assistida por ultrassom empregando um NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água, para posterior determinação de Fe, Mn e Zn por F AAS. Um material de referência certificado de café verde (EMBRAPA, CRM-AGRO C1007a) foi empregado para atestar a exatidão do método proposto e contribuir para assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos. O grau de sustentabilidade do método proposto foi avaliado por meio das métricas verdes AGREE e AGREEprep.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Reagentes, soluções e amostras

Todas as vidrarias e materiais utilizados nos experimentos foram previamente limpos e descontaminados em banho ácido (solução de HNO_3 10% v v⁻¹) por no mínimo 24 h, seguidos de lavagem com água ultrapura. Todos os reagentes empregados são de grau analítico. A água de alta pureza empregada, com resistividade de 18,2 M Ω cm, foi obtida de um sistema de purificação Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Solução padrão multielementar com concentração de 50 mg L⁻¹ para Fe e 25 mg L⁻¹ para Mn, e solução padrão de 10 mg L⁻¹ de Zn foram preparadas a partir de diluições sucessivas de soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ de cada elemento com água ultrapura. As curvas de calibração para a análise dos extraídos foram preparadas em meio de HNO_3 2 mol L⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Dez amostras de café, incluindo café solúvel tradicional, descafeinado e cappuccino, foram adquiridas de supermercados locais na cidade de Salvador, Brasil, em maio de 2024. De acordo com as informações dos rótulos, as amostras de café solúvel eram compostas por café 100% puro ou descafeinado. A amostra de cappuccino apresentava uma formulação mais complexa, contendo sacarose, leite em pó, maltodextrina, café solúvel, cacau em pó, canela em pó, composto lácteo com gordura vegetal e aditivos.

4.2.2. Instrumentação

Para a extração dos analitos de interesse das amostras de café foi empregado um banho ultrassônico com frequência de 40 kHz (Eco-Sonics, modelo Q3.8/40 A, Indaiatuba, SP, Brasil) e uma bomba a vácuo para filtração das amostras (Gast Manufacturing, modelo DOA-P504-BN, MI, EUA). Uma balança analítica digital (Shimadzu, modelo ATX224, Kyoto, Japão) foi utilizada durante a pesagem das amostras.

Os analitos foram determinados usando um espectrômetro de absorção atômica com chama equipado com modo sequencial rápido (Agilent Technologies, modelo 240FS AA, CA, EUA), e operando com chama ar-acetileno com vazões de 13,5 L min⁻¹ e 2,0 L min⁻¹. Uma lâmpada de deutério foi utilizada para correção de radiação de fundo. As concentrações dos analitos foram medidas nos seguintes comprimentos de onda e correntes das lâmpadas de cátodo oco: 248,3 nm e 10,0 mA, para Fe; 279,5 nm e 10,0 mA, para Mn; 213,9 nm e 10,0 mA, para Zn.

4.2.3. Otimização do método de extração NADES-UAE

Uma avaliação preliminar dos fatores que afetam o método de extração assistida por ultrassom empregando NADES foi feita utilizando um planejamento fatorial completo de dois níveis (2²). Os fatores avaliados foram o volume de NADES (5 – 8 mL) e o tempo de sonicação (35 – 55 min). Um total de 6 experimentos foram realizados, incluindo duas réplicas do ponto central. A resposta múltipla (RM) foi utilizada como resposta deste planejamento (Ferreira *et al.*, 2018b), sendo calculada a partir da normalização dos valores de absorbância obtidos para Fe, Mn e Zn, de forma que cada um assumisse valores entre 0 e 1, e posteriormente somados, conforme indicado na Equação 2:

$$RM = \frac{Abs\ Fe}{Abs_{m\acute{a}x}\ Fe} + \frac{Abs\ Mn}{Abs_{m\acute{a}x}\ Mn} + \frac{Abs\ Zn}{Abs_{m\acute{a}x}\ Zn} ; \quad (\text{Equação 2})$$

na qual Abs é a absorbância obtida para cada elemento em um determinado experimento, e Abs_{máx} é a absorbância máxima observada para esse elemento em todos os experimentos.

Todos os dados experimentais foram analisados utilizando o software Statistica®, versão 7.0 para Windows (StatSoft Inc., 2004).

4.2.4. Método de extração assistida por ultrassom empregando NADES

Foram adicionados em um tubo fálcon de 50 mL cerca de 300 mg de amostra de café solúvel e 5,0 mL do NADES, que foi previamente preparado e caracterizado de acordo com o estabelecido no terceiro capítulo deste trabalho. As misturas foram então submetidas à sonicação por 35 minutos, a uma frequência de 40 kHz. Após a extração, as amostras foram diluídas duas vezes com água ultrapura e filtradas à vácuo antes da análise por F AAS. Todas as extrações foram realizadas em triplicata para garantir a reprodutibilidade.

4.2.5. Validação do método

O método foi validado segundo as recomendações do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), com a avaliação dos seguintes parâmetros de desempenho: limites de detecção e quantificação do método, linearidade e faixa linear de trabalho, precisão e exatidão (INMETRO, 2020). Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram obtidos a partir do desvio padrão e média resultante da análise de 10 brancos metodológicos. A exatidão do método foi avaliada por meio da análise de um material de

referência certificado de café verde (CRM-AGRO C1007a), e a precisão do método foi estimada através do cálculo do desvio-padrão relativo de réplicas de uma amostra de café solúvel (amostra B) obtidas no mesmo dia (repetibilidade) e ao longo de quatro dias consecutivos (precisão intermediária).

Por fim, para avaliar se a presença do NADES afeta a linearidade do método na determinação dos analitos de interesse, foi estabelecida uma razão entre os coeficientes angulares da curva de calibração preparada em meio ácido e da curva de calibração preparada em meio contendo NADES (Melo *et al.*, 2020).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Determinação das condições experimentais do método NADES-UAE

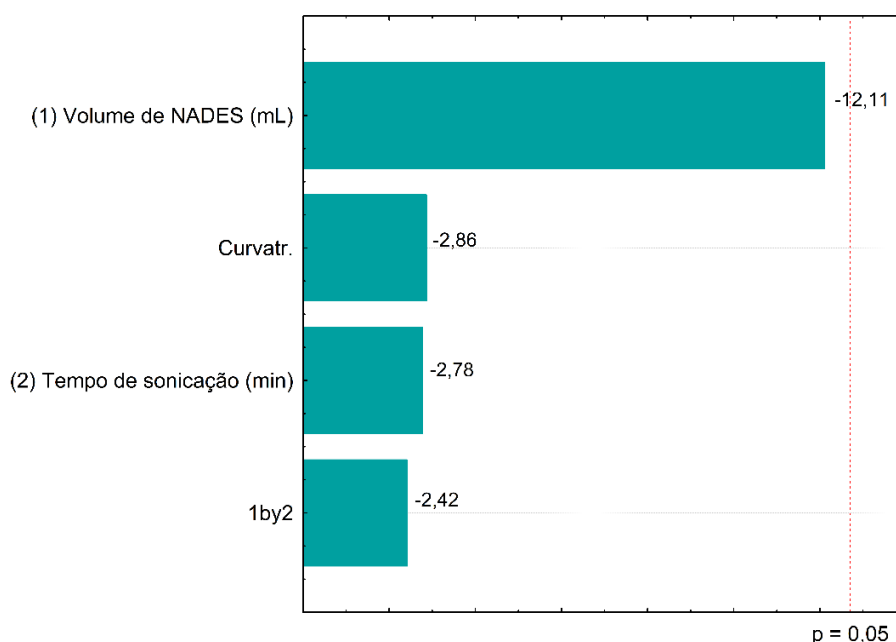
Um planejamento fatorial completo 2^2 foi aplicado para otimização do método de extração assistida por ultrassom empregando NADES. O domínio experimental das variáveis estudadas e as respostas múltiplas obtidas para cada experimento foram apresentados na Tabela 7. Uma quantidade fixa de 300 mg de café solúvel foi utilizada em todos os experimentos na etapa de otimização.

Tabela 7 - Planejamento fatorial completo 2^2 para otimização do método NADES-UAE

Experimento	Fatores		Sinais analíticos			Resposta múltipla
	Volume de NADES (mL)	Tempo de sonicação (min)	Abs Fe	Abs Mn	Abs Zn	
1	5 (-)	35 (-)	0,017	0,035	0,012	2,86
2	5 (-)	55 (+)	0,017	0,037	0,011	2,83
3	8 (+)	35 (-)	0,011	0,025	0,013	2,30
4	8 (+)	55 (+)	0,012	0,025	0,008	2,00
5	6,5 (0)	45 (0)	0,014	0,029	0,009	2,31
6	6,5 (0)	45 (0)	0,015	0,029	0,010	2,39

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 8 - Gráfico de Pareto obtido através da aplicação do planejamento fatorial completo 2^2 para otimização do método de extração NADES-UAE



Fonte: elaborado pela autora.

Com base no gráfico de Pareto apresentado na Figura 8, nenhuma das variáveis estudadas nem a interação entre elas foi significativa, a um nível de confiança de 95%. Isso indica que qualquer uma das condições experimentais pode ser selecionada, dentro do domínio experimental avaliado. Além disso, ambas as variáveis apresentaram efeito negativo, o que implica que, quando as variáveis se aproximam do nível inferior do domínio experimental estudado, há um aumento das respostas obtidas.

Nesse sentido, as condições experimentais selecionadas foram: 5,0 mL de NADES e 35 minutos de sonicação. Essas condições possibilitaram a redução do consumo de solvente e do tempo de extração, além de proporcionar maior rendimento analítico e resposta adequada para a determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel.

4.3.2. Parâmetros de desempenho

A performance analítica do método proposto foi avaliada nas melhores condições experimentais definidas na etapa de otimização. Um resumo de todos os parâmetros de desempenho avaliados encontra-se apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Performance analítica do método NADES-UAE aplicado para determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel por F AAS.

Analito	Coeficiente de determinação (R^2)	Faixa linear de trabalho (mg L^{-1})	$F_{\text{calculado}}$ para a regressão/ANOVA	Repetibilidade (n=12)	Precisão intermediária (n=24)	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$) *	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$) *
				RSD (%)	RSD (%)		
Fe	0,9994	[0,31 – 2,0]	$1,25 \times 10^4$	5,7	4,4	3,38	10,24
Mn	0,9995	[0,050 – 1,5]	$1,65 \times 10^4$	3,0	4,8	0,55	1,67
Zn	0,9995	[0,02 – 0,8]	$1,49 \times 10^4$	4,8	10,2	0,27	0,81

*Considerando uma massa de amostra de 0,3 g e um volume final de 10 mL.

Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 9 - Estudo do efeito da presença do NADES na resposta analítica

Analito	Coeficiente angular em meio ácido (a)	Coeficiente angular em meio do NADES (n)	Razão (a/n)
Fe (248,3 nm)	0,0376	0,0405	0,93
Mn (279,5 nm)	0,1111	0,1114	1,00
Zn (213,9 nm)	0,1948	0,2155	0,90

Fonte: elaborado pela autora.

O limite de detecção foi definido como três vezes o desvio-padrão de dez medições do branco metodológico dividido pela inclinação da curva de calibração ($LOD = 3,3\sigma/b$), enquanto o limite de quantificação foi calculado como dez vezes o desvio-padrão dividido pelo coeficiente angular da curva ($LOQ = 10\sigma/b$). Foram obtidos valores de LOD de $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,55 \mu\text{g g}^{-1}$ e $3,38 \mu\text{g g}^{-1}$, e valores de LOQ de $0,81 \mu\text{g g}^{-1}$, $1,67 \mu\text{g g}^{-1}$ e $10,24 \mu\text{g g}^{-1}$, para Zn, Mn e Fe, respectivamente. Com base nos valores apresentados, demonstrou-se que o método apresenta sensibilidade adequada para a detecção e quantificação dos analitos de interesse em amostras de café solúvel.

A linearidade do método foi atestada com base nos coeficientes de determinação (R^2) de cada analito, que apresentaram valores aceitáveis, acima de 0,999, e com base na análise de regressão linear das curvas de calibração externa para cada analito, sendo que os resultados obtidos foram testados através da ANOVA. Conforme apresentado na Tabela 8, todos os modelos de regressão apresentaram valores de F calculado elevados, confirmando uma relação linear robusta e estatisticamente significativa entre as concentrações dos analitos e os sinais de absorbância. As curvas de calibração foram construídas em meio ácido (HNO_3 2 mol L^{-1}), abrangendo as faixas lineares de trabalho de $0,31$ a $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Fe, $0,050$ a $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ para Mn e $0,02$ a $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ para Zn.

Além disso, foi avaliado o possível efeito da presença do NADES na linearidade do método, por meio da comparação entre os coeficientes angulares das curvas de calibração de Fe, Mn e Zn construídas em meio ácido padrão e em meio NADES. Conforme apresentado na Tabela 9, as razões entre as inclinações estão dentro do intervalo adequado de $0,90$ a $1,10$ (Melo *et al.*, 2020), indicando que não houve interferência significativa da presença do NADES nos sinais analíticos obtidos por F AAS. Dessa forma, não foi necessário utilizar o mesmo meio dos extratos (meio NADES) para a calibração.

A precisão foi avaliada por meio de ensaios de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi avaliada com base em 12 réplicas de uma amostra real (amostra B) realizadas no mesmo dia, resultando em valores de desvio-padrão relativo (RSD) que variaram de $3,0 \%$ (Mn) a $5,7 \%$ (Fe). A precisão intermediária foi determinada a partir de 24 medições ($n = 6$) conduzidas ao longo de quatro dias consecutivos, obtendo-se RSD entre $4,4\%$ (Fe) e $10,2 \%$ (Zn). De acordo com o estabelecido pelo INMETRO (2020) para os ensaios de repetibilidade, foram encontrados resultados satisfatórios para os níveis de concentração estudados, considerando que os valores de RSD estavam abaixo de $7,3\%$. A avaliação da precisão intermediária foi realizada por meio da ANOVA e não foi encontrada diferença significativa entre os grupos ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico.}}: 1,8 < 3,1$), a 95% de confiança.

A exatidão do método foi verificada por meio da análise de um material de referência certificado de café verde (CRM AGRO C1007a). Conforme apresentado na Tabela 10, os percentuais de concordância variaram entre $92,4 \pm 8,8$ % (Fe) e $112,3 \pm 3,7$ % (Zn), valores considerados adequados segundo os critérios estabelecidos pelo INMETRO (2020).

Adicionalmente, foram realizados testes de adição e recuperação com três amostras distintas, em três níveis de concentração, de acordo com o apresentado na Tabela 11. Os percentuais de recuperação foram calculados a partir da Equação 3, na qual $C_{\text{encontrada}}$ é a concentração encontrada na amostra com adição de analito, C_{amostra} é a concentração encontrada na amostra sem adição de analito e $C_{\text{adicionada}}$ é a concentração do analito que foi adicionada. As recuperações variaram de 86 a 108 % para Fe, de 87 a 119 % para Mn, e de 104 a 125 % para Zn, sendo consideradas satisfatórias (Souza *et al.*, 2025). Esses resultados evidenciam a eficiência do método desenvolvido neste estudo.

$$R(\%) = \frac{(C_{\text{encontrada}} - C_{\text{amostra}})}{C_{\text{adicionada}}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Tabela 10 - Avaliação da exatidão do método proposto utilizando material de referência certificado de café verde (CRM AGRO C1007a)

Analito	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	Concordância ± desvio- padrão (%)
Fe	$44,1 \pm 4,0$	$40,8 \pm 3,9$	$92,4 \pm 8,8$
Mn	$17,7 \pm 1,0$	$19,7 \pm 0,3$	$111,3 \pm 1,8$
Zn	$7,20 \pm 0,77$	$8,09 \pm 0,27$	$112,3 \pm 3,7$

*Valor médio ± incerteza ($p=0,05$; $n=3$). No caso do valor certificado, para informar a magnitude da incerteza associada à média foi adotada a incerteza expandida, mas, para o método proposto, adotou-se o desvio padrão.

Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 11 - Testes de adição e recuperação para avaliação da exatidão do método proposto

Amostra	Analito	Nível de concentração (mg L ⁻¹)	Recuperação média (%)
A	Fe	0,5	94
		1,0	97
		1,5	108
	Mn	0,2	115
		0,4	103
		0,9	108
	Zn	0,1	104
		0,4	110
		0,75	111
B	Fe	0,5	95
		1,0	100
		1,5	102
	Mn	0,2	87
		0,4	119
		0,9	113
	Zn	0,1	106
		0,4	110
		0,75	111
C	Fe	0,5	90
		1,0	89
		1,5	86
	Mn	0,2	101
		0,4	104
		0,9	92
	Zn	0,1	118
		0,4	125
		0,75	122

Fonte: elaborado pela autora.

4.3.3. Aplicação nas amostras de café solúvel

Os teores de Fe, Mn e Zn foram determinados em dez amostras de café solúvel, incluindo uma amostra de cappucino (amostra E) e uma amostra de café solúvel descafeinado, após aplicação do método NADES-UAE proposto, conforme apresentado na Tabela 12. Dentre todos os analitos, Fe apresentou as maiores concentrações, variando de 17,78 $\mu\text{g g}^{-1}$ (amostra A) a 60,44 $\mu\text{g g}^{-1}$ (amostra G). Em contrapartida, a amostra E apresentou níveis de Fe abaixo do LOQ do método proposto.

Resultados similares foram encontrados por Szymczycha-Madeja *et al.* (2015), após aplicação de um método de extração assistida por ultrassom empregando água régia em amostras de café instantâneo da Polônia, que apresentaram teores de Fe entre 18,6 e 62,8 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 12 - Concentrações de Fe, Mn e Zn (média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$; $n = 3$) encontradas em amostras de café solúvel após aplicação do método NADES-UAE proposto, em comparação com as concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) estabelecidas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) para amostras de café solúvel.

Amostra	Fe	Mn	Zn
A	17,78 \pm 0,44	15,49 \pm 0,53	4,56 \pm 0,89
B**	27,43 \pm 0,61	24,67 \pm 0,72	6,67 \pm 0,73
C	37,40 \pm 2,15	15,94 \pm 0,31	4,74 \pm 0,08
D	32,00 \pm 0,44	20,23 \pm 0,97	6,59 \pm 0,57
E	< 10,24	2,14 \pm 0,13*	16,06 \pm 0,41
F	44,04 \pm 2,57	23,91 \pm 0,68	6,16 \pm 0,08
G	60,44 \pm 2,01	27,84 \pm 0,29	5,35 \pm 0,52
H	42,93 \pm 4,25*	12,91 \pm 0,27	3,49 \pm 0,23
I	26,75 \pm 4,96*	11,12 \pm 0,44	2,47 \pm 0,24
J	36,75 \pm 4,45*	17,30 \pm 0,13	2,96 \pm 0,33
TBCA	44,1	17,1	3,5

* $n=2$; ** $n=6$; amostra E – cappuccino; amostra F – café solúvel descafeinado; amostras A-D e G-J – café solúvel tradicional.

Fonte: elaborado pela autora.

Essa variabilidade no teor de Fe observada entre as amostras é consistente com os resultados relatados por Oliveira *et al.* (2012), que analisaram amostras de café solúvel e encontraram concentrações de Fe variando de 18,5 a 108,1 $\mu\text{g g}^{-1}$. Isso também foi notado por De Gois *et al.* (2018), que encontraram teores de Fe que variaram de 17 a 44 $\mu\text{g g}^{-1}$. Segundo esses autores, tais variações podem ser atribuídas às diferenças nas práticas agrícolas, composição do solo e condições climáticas.

Os menores teores encontrados nas amostras de café solúvel analisadas neste trabalho foram de Zn, que variaram de 2,47 a 16,06 $\mu\text{g g}^{-1}$. As concentrações de Mn variaram de 2,14 a 27,84 $\mu\text{g g}^{-1}$. As concentrações encontradas para esses analitos são comparáveis aos valores descritos por Savić *et al.* (2024), os quais variaram de 6,15 a 32,8 mg kg^{-1} para Mn, e de 1,41 a 3,65 mg kg^{-1} para Zn, em amostras de café solúvel adquiridas em mercados locais da Sérvia.

Assim como neste estudo, Anissa *et al.* (2023) encontraram o Mn como o segundo metal mais abundante nas amostras de café vendidas na Argélia, apresentando um teor médio de 16,27 mg kg⁻¹.

Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com os relatados por Pohl *et al.* (2018) para amostras de café solúvel da Polônia, ambos os resultados indicaram Fe e Mn como os micronutrientes predominantes, reforçando a ideia de que o café solúvel é uma boa fonte nutricional desses elementos essenciais. Os níveis de Zn encontrados neste trabalho também são comparáveis aos relatados pelos autores, que apresentaram um teor médio de $0,100 \pm 0,046$ mg L⁻¹.

Além disso, os autores observaram diferenças nas concentrações totais e nos padrões de fracionamento químico dos metais presentes no café solúvel e no café moído, atribuídas às distintas formas de processamento, que ocasionam variações na composição dos compostos orgânicos presentes. Tais compostos interagem com os íons dos elementos estudados, formando complexos organometálicos com diferentes propriedades físico-químicas (Pohl *et al.*, 2018).

Os teores de Fe, Mn e Zn encontrados nas amostras de café solúvel também foram comparados aos valores reportados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (2023), sendo apresentados na Tabela 12. A maior parte das amostras apresentou níveis de Fe inferiores ao valor indicado na TBCA e teores de Zn superiores ao valor de referência. As amostras E e F foram excluídas dessa comparação, pois não correspondem a amostras de café solúvel tradicional, mas sim de cappuccino e café descafeinado, respectivamente.

Um teste t-Student foi aplicado a um nível de confiança de 95%, indicando que os teores de Zn encontrados nas amostras A, H e J, não apresentam diferença significativa em relação ao teor reportado na TBCA, uma vez que os valores de $t_{\text{calculado}}$ são inferiores ao valor crítico (4,30; g.l. = 2). O mesmo ocorre para as amostras H, I e J em relação aos teores de Fe que foram comparados. Por fim, somente a amostra J apresentou um teor de Mn que não difere significativamente do valor de referência reportado na TBCA. Dessa forma, pode-se concluir que apenas a amostra J apresentou as concentrações dos três analitos determinados (Fe, Mn e Zn) estatisticamente equivalentes aos valores de referência descritos na TBCA.

4.3.4. Contribuição do consumo de café solúvel para ingestão diária recomendada

O consumo diário médio de café no mundo é de cerca de 3 xícaras de 150 mL, totalizando 450 mL. Considerando que no preparo de 1 L de café utiliza-se aproximadamente 100 g de pó de café, por dia consome-se cerca de 45 g de café, no qual apenas 30% das espécies

orgânicas encontram-se solubilizadas (De Gois *et al.*, 2018). Considerando essa mesma porcentagem para as espécies inorgânicas presentes nas amostras de café solúvel analisadas (média dos teores de cada analito), tem-se um consumo diário de cerca de 0,49 mg de Fe, 0,23 mg de Mn, e 0,08 mg de Zn.

Com base nesse consumo diário, foi realizada uma avaliação da sua contribuição, em %, para a ingestão diária recomendada de Fe, Mn e Zn, conforme apresentado na Tabela 13. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Ingestão Diária Recomendada (IDR) corresponde à quantidade de proteínas, vitaminas e minerais que deve ser ingerida diariamente com o objetivo de suprir as necessidades nutricionais da maioria dos indivíduos saudáveis de uma determinada população (Brasil, 2005). Considerando um IDR de 14 mg para Fe, 2,3 mg para Mn e 7 mg para Zn, para adultos de 70 kg (Brasil, 2005), o consumo diário dessas amostras de café solúvel analisadas contribui para cerca de 3,5 %, 10% e 1,1% do IDR, respectivamente.

Considerando os resultados apresentados na Tabela 13, foi observado que, de modo geral, a contribuição do teor destes elementos essenciais na ingestão diária recomendada é muito baixa, sendo que a menor delas foi apresentada pelo zinco, de 1,1%. Manganês foi o elemento que apresentou a maior contribuição diária (10%), por ser de menor IDR, de acordo com a ANVISA (Brasil, 2005). Nesse sentido, considera-se que o consumo habitual de café solúvel pode representar uma fonte nutricional complementar relevante.

Tabela 13 - IDR de micronutrientes e contribuição das amostras de café solúvel

Elemento	IDR para adultos (mg) *	Contribuição (% m m⁻¹) **
Fe	14	3,5
Mn	2,3	10
Zn	7	1,1

*ANVISA ** Porção diária de 45 g, sendo 30% dos analitos solubilizados.

Fonte: elaborado pela autora.

4.3.5. Comparação entre métodos de extração visando à determinação elementar em amostras de café

A Tabela 14 apresenta uma análise comparativa entre o método NADES-UAE desenvolvido neste trabalho e outras metodologias de extração descritas na literatura para a determinação de elementos inorgânicos em amostras de café. Os resultados indicam que o método proposto apresenta desempenho analítico adequado, com valores de RSD e LOD comparáveis aos obtidos por métodos previamente estabelecidos, o que evidencia sua precisão, sensibilidade e confiabilidade. Diferentemente dos outros métodos, essa abordagem não faz uso de reagentes tóxicos, utilizando como solvente extrator um NADES, que é biodegradável, biocompatível e de preparo simples.

Em uma comparação direta com os métodos apresentados na Tabela 14, especialmente os que utilizam ácidos inorgânicos diluídos (De Gois *et al.*, 2018; Szymczycha-Madeja *et al.*, 2015), o método NADES-UAE substitui o uso de reagentes tóxicos por uma alternativa sustentável e mais segura, além de demandar um menor gasto de solvente, e consequentemente, gerar menos resíduo, quando comparado ao método desenvolvido por Szymczycha-Madeja *et al.* (2015). Já em comparação com os métodos baseados em DES/HDES (Elik e Altunay, 2024; Tışlı *et al.*, 2020), embora estes apresentem limites de detecção mais baixos, eles envolvem o uso de solventes auxiliares tóxicos, como diclorometano e tetrahidrofurano, enquanto o método desenvolvido neste trabalho somente emprega o NADES, que apresenta origem natural e baixa toxicidade.

Outro diferencial relevante é a simplicidade e rapidez do método NADES-UAE, uma vez que a extração dos analitos de interesse ocorre em apenas 35 minutos, sem necessidade de etapas adicionais além da filtração das amostras, ou do uso de solventes auxiliares. Assim, o método desenvolvido se configura como uma alternativa promissora, alinhada aos princípios da química analítica verde, possibilitando uma extração rápida e eficiente de constituintes inorgânicos em amostras de café, com potencial de aplicação em diferentes matrizes e em análises de rotina em laboratórios de controle de qualidade, podendo abranger diversos setores industriais, incluindo a indústria alimentícia e farmacêutica.

Tabela 14 - Comparação do método desenvolvido com métodos de extração descritos na literatura para determinação elementar em amostras de café

Método de extração	Amostra	Analitos	Solvente extrator		Solvente auxiliar	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	RSD (%)	Referência
			Tipo	Volume (mL)				
NADES-UAE	Café solúvel	Fe, Mn e Zn	NADES AC-AM	5,0	-	0,26 (Zn) a 3,38 (Fe)	3,0 a 5,7	Este trabalho
VA-HDES-DLPME	Café em pó	Fe, Mn, Zn, Cd, e Pb	[PhHAc] [DMG] HDES	1,25	Serina e diclorometano	10^{-5} (Fe) a 0,00027 (Mn)	1,3 a 2,0	Elik e Altunay, 2024
DES-LPME	Café em grãos e águas residuais	Mn	[ChCl][phenol] DES	0,5	HPhAN e THF	0,52*	2,7	Tıslı <i>et al.</i> , 2020
UAE	Café em grãos moído	Ba, Cu, Fe, Mn, Zn, Sr, Ca, K, Mg, e P	HNO ₃ 0,6 mol L ⁻¹	2,0	HCl 11,9 mol L ⁻¹	0,1 (Mn) a 300 (K)	-	De Gois <i>et al.</i> , 2018
UAE	Café moído e café solúvel	Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn, Fe, Ca, K, Mg, e Na	Solução de água régia 1,0 mol L ⁻¹	Aprox. 20 mL	-	0,091 (Sr) a 41 (Fe)*	1,1 a 8,3	Szymczycha-Madeja <i>et al.</i> , 2015

NADES-UAE - extração assistida por ultrassom com solvente eutético profundo natural; VA-HDES-DLPME - microextração em fase líquida dispersiva assistida por vórtex com solvente eutético profundo hidrofóbico; DES-LPME - microextração em fase líquida com solvente eutético profundo; UAE - extração assistida por ultrassom; NADES AC-AM – solvente eutético profundo natural composto por ácido málico e ácido cítrico; [PhHAc][DMG] HDES - solvente eutético profundo hidrofóbico composto por ácido fenilacético e dimetilglicina; [ChCl][phenol] DES - solvente eutético profundo composto por cloreto de colina e fenol; HPhAN - 3-[[2-hidroxifenil]imino]-metil-2-naftalenol; THF – tetrahidrofurano; RSD – desvio padrão relativo (%), em termos de repetibilidade; LOD – limite de detecção; *em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Fonte: elaborado pela autora.

4.4. MÉTRICAS VERDES

O grau de sustentabilidade do método foi avaliado por meio da aplicação das métricas verdes AGREE (Pena-Pereira *et al.*, 2020) e AGREEprep (Wojnowski *et al.*, 2022). As métricas são baseadas nos 12 princípios da química analítica verde (Gałuszka *et al.*, 2013) e nos 10 princípios do preparo de amostras verde (López-Lorente *et al.*, 2022), respectivamente. No entanto, a métrica AGREEprep foca especificamente na etapa de preparo de amostras, visando avaliar seu impacto ambiental. Essa avaliação é importante quando se busca desenvolver ou aprimorar metodologias analíticas de modo a, simultaneamente, aumentar a sua eficiência e promover maior sustentabilidade, reduzindo ou eliminando o uso de substâncias perigosas e tóxicas, e utilizando os recursos ambientais de forma mais responsável (Brito *et al.*, 2025).

Conforme mostrado na Figura 9, o método proposto obteve um score de 0,71 na métrica AGREE, superior ao valor relatado por Ferreira *et al.* (2022), que também desenvolveu um método de extração assistida por ultrassom utilizando um NADES à base de ácido cítrico e ácido málico, com pontuação de 0,68 na métrica AGREE. Como scores acima de 0,60 são considerados indicativos de métodos sustentáveis, os resultados confirmam que o procedimento desenvolvido está em consonância com os princípios da química analítica verde.

Além disso, o método proposto neste trabalho apresentou um score de 0,75 na métrica AGREEprep. A extração *ex situ* foi realizada com um NADES composto por ácido cítrico e ácido málico, ambos sustentáveis e biodegradáveis. Somente reagentes não perigosos foram utilizados em todo o procedimento. O pré-tratamento das amostras envolveu duas etapas: sonicação e filtração. Com uma frequência analítica de 36 amostras por hora utilizando banho ultrassônico, o consumo estimado de energia foi de 3,05 Wh/amostra. Também foi considerado o consumo energético da bomba de vácuo usada na filtração, estimado em 5 Wh/amostra. A determinação final foi realizada por espectrometria de absorção atômica com chama.

A Tabela 15 apresenta as pontuações obtidas para os métodos de extração e digestão avaliados, calculadas a partir da aplicação das métricas verdes AGREE e AGREEprep, em comparação com o método NADES-UAE desenvolvido neste trabalho. Observa-se que os quatro métodos da literatura, sendo dois métodos de extração assistida por ultrassom e dois métodos de digestão assistida por micro-ondas, apresentaram pontuações inferiores a 0,50 em ambas as métricas, enquanto o método proposto neste trabalho alcançou 0,71 para AGREE e 0,75 para AGREEprep. Esses resultados evidenciam que o método NADES-UAE não apenas apresenta desempenho analítico adequado, mas também se configura como uma alternativa

significativamente mais sustentável que as demais metodologias.

Figura 9 - Avaliação do método proposto utilizando as métricas verdes (A) AGREE e (B) AGREEprep

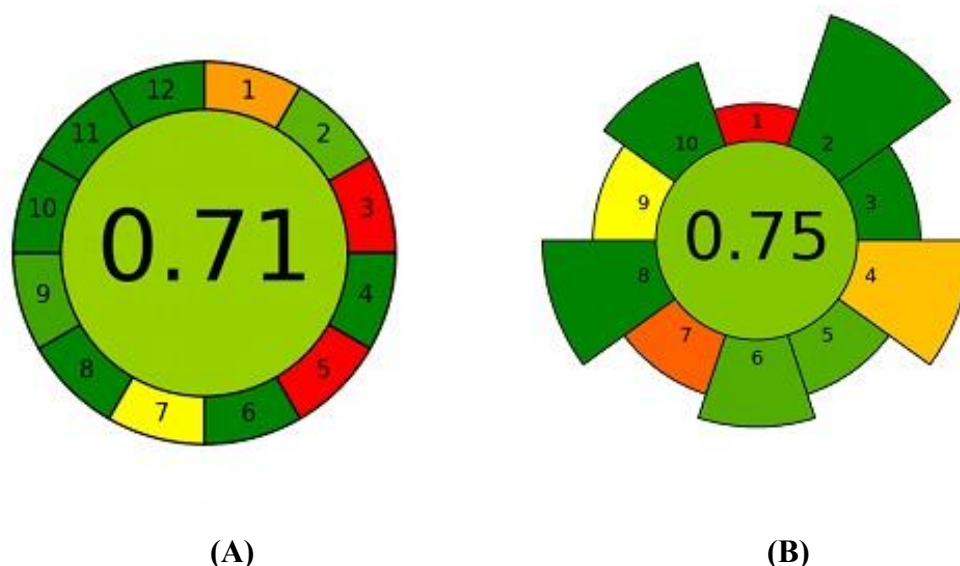







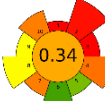




Tabela 15 - Avaliação do grau de sustentabilidade do método NADES-UAE proposto utilizando as métricas AGREE e AGREEprep, em comparação a métodos de extração e de digestão descritos na literatura para a determinação elementar em amostras de café

Método	Reagentes empregados	Métrica AGREE	Métrica AGREEprep	Referência
NADES-UAE	NADES ácido cítrico-ácido málico			Este trabalho
UAE	HNO ₃ (0,6 mol L ⁻¹) e HCl (11,9 mol L ⁻¹)			De Gois <i>et al.</i> , 2018
UAE	HNO ₃ e HCl (solução de água régia 1,0 mol L ⁻¹)			Szymczycha-Madeja <i>et al.</i> , 2015
MAD	HNO ₃ (65%) e H ₂ O ₂ (29%)			Junior, Furlong e Carapelli, 2024
MAD	HNO ₃ (65%) e KOH (5%)			Anissa <i>et al.</i> , 2023

NADES-UAE - extração assistida por ultrassom com solvente eutético profundo natural; UAE - extração assistida por ultrassom; MAD – digestão assistida por micro-ondas.

Fonte: elaborado pela autora.

Os métodos de extração assistida por ultrassom referenciados na Tabela 15 (De Gois *et al.*, 2018; Szymczycha-Madeja *et al.*, 2015) envolvem 3 ou menos etapas no preparo de amostras e um baixo consumo de energia, entre 5 e 8 Wh/amostra. Além disso, os métodos UAE apresentam elevada frequência analítica se comparado aos métodos de digestão e utilizam ácidos inorgânicos diluídos ao invés de concentrados, o que reduz o impacto ao meio ambiente, porém ainda assim apresentam toxicidade e se apresentam menos vantajosos do que o método desenvolvido neste trabalho, que só utiliza reagentes biodegradáveis e de baixa toxicidade. O método proposto por Szymczycha-madeja *et al.* (2015) apresenta menor pontuação, pois envolve o uso de uma maior massa de amostra e de um maior volume de solvente (solução de água régia 1 mol L⁻¹) e, conseqüentemente, gera mais resíduo.

Apesar de os métodos de digestão assistida por micro-ondas (Anissa *et al.*, 2023; Junior, Furlong e Carapelli, 2024) apresentarem desempenho analítico adequado, eles utilizam reagentes tóxicos como ácido nítrico concentrado, hidróxido de potássio ou peróxido de hidrogênio, geram resíduos consideráveis e demandam um elevado consumo energético por amostra. Esses fatores contribuem para suas pontuações inferiores nas métricas verdes, se comparados aos métodos de extração assistida por ultrassom. Ademais, o método descrito por Anissa *et al.* (2023) emprega uma técnica espectrométrica (ICP-MS) que demanda um maior consumo energético e que apresenta uma menor frequência analítica que outras como o ICP OES. Desse modo, esse foi o método que obteve a menor pontuação nas métricas AGREE e AGREEprep.

Com essa comparação, foi possível evidenciar o caráter sustentável do método desenvolvido neste trabalho, que emprega um solvente verde e biodegradável, gera pouco resíduo e consome menos energia, tornando o procedimento mais eficiente e seguro. O método é rápido e simples, não envolvendo etapas adicionais no pré-tratamento das amostras de café nem o uso de reagentes tóxicos. Além disso, a utilização da espectrometria de absorção atômica com chama contribui para um menor gasto energético em comparação com técnicas como ICP-MS ou ICP OES, sem comprometer a precisão e sensibilidade na determinação dos analitos de interesse.

É possível ainda comparar o método proposto neste trabalho com o método desenvolvido por Brito *et al.* (2025), que também utiliza NADES, um composto por ácido cítrico, xilitol e água (45 % m m⁻¹) e o outro composto por ácido cítrico, ácido málico e água (45% m m⁻¹), para extração de As, Cd e Pb em amostras ambientais e alimentícias. Os autores aplicaram a métrica verde AGREEprep e obtiveram scores de 0,54 e 0,45 para os métodos MAE e UAE, respectivamente. O score obtido para o método UAE desenvolvido foi mais baixo se

comparado ao deste trabalho, e isso se deve majoritariamente pela utilização do ICP-MS como técnica analítica, que demanda um maior consumo de energia e tempo de análise, além do fato de que o método de extração desenvolvido pelos autores gera mais resíduo (>10 mL por amostra) e de que o ultrassom empregado por eles só comporta 1 amostra por vez, sendo reduzida a frequência de análise.

As pontuações obtidas por meio das métricas AGREE e AGREEprep para o método proposto neste trabalho reforça sua conformidade com os critérios que o qualificam como uma abordagem verde. Destaca-se, entre suas vantagens, o uso de reagentes biodegradáveis e de baixa toxicidade, a redução no consumo de energia proporcionada pela aplicação de ultrassom, e a menor geração de resíduos, características que contribuem para um menor impacto ao meio ambiente. Embora melhorias adicionais possam ser implementadas, como o preparo de amostras *in situ*, a automação e a miniaturização, com potencial para elevar o seu desempenho em aplicações futuras, o método já demonstra forte alinhamento com os princípios da química analítica verde.

4.5. CONCLUSÃO

Neste capítulo, foi empregado o NADES composto por ácido cítrico, ácido málico e água previamente preparado para o desenvolvimento de um método de extração assistida por ultrassom em amostras de café solúvel. A utilização do NADES como solvente extrator combinado ao uso das ondas ultrassônicas promoveu uma extração eficiente de Fe, Mn e Zn. A aplicação do planejamento fatorial completo foi efetiva para o estudo das variáveis que afetam o processo de extração (volume do NADES e tempo de sonicação), possibilitando a definição da melhor condição experimental para extração dos analitos, que garantiu uma maior resposta múltipla e condições adequadas de análise, com menor gasto de solvente e reduzido tempo de análise.

O método desenvolvido apresentou recuperações satisfatórias, baixos desvios-padrão relativos e boa linearidade para todos os analitos avaliados, evidenciando a confiabilidade do método e a sua adequação para a quantificação exata e precisa de Fe, Mn e Zn em amostras de café.

A avaliação das características sustentáveis do método proposto foi realizada por meio da aplicação das métricas verdes AGREE e AGREEprep. Os resultados revelaram que o método NADES-UAE está em conformidade com os princípios da GAC e do GSP, ao empregar

reagentes com baixa toxicidade e biodegradáveis, apresentar um baixo consumo energético e minimizar a geração de resíduos.

Dessa forma, foi desenvolvido um método simples, rápido e sustentável de extração empregando NADES, para determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel, com potencial para ser aplicado em análises elementares em diferentes matrizes.

CAPÍTULO V: CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação do solo, água e ar com elementos potencialmente tóxicos pode decorrer de fontes naturais ou de intervenções antrópicas. Tais elementos possuem potencial de bioacumulação em plantas, animais e nos seres humanos. Nesse contexto, o café, amplamente cultivado e consumido no mundo, pode incorporar elementos potencialmente tóxicos no cultivo, e nos processos pós-colheita. Diante do possível impacto à saúde humana dos elementos potencialmente tóxicos presentes no café, faz-se necessário o seu monitoramento.

Os métodos convencionalmente empregados no preparo de amostras de café para posterior determinação elementar por técnicas espectrométricas envolvem extensos tempos de análise e um elevado gasto de reagentes tóxicos. Nesse sentido, neste trabalho foi preparado e caracterizado um solvente eutético profundo natural composto por ácido cítrico, ácido málico e água, que foi posteriormente aplicado com elevada eficiência no desenvolvimento de um método verde de extração assistida por ultrassom.

O NADES foi preparado através do método de agitação e aquecimento, que possibilitou a obtenção de uma solução pouco viscosa, com rapidez e simplicidade. A aplicação da estratégia de otimização multivariada para determinação das melhores condições experimentais do preparo do NADES e do método de extração assistida por ultrassom garantiu a maximização da eficiência do processo de extração e a minimização do gasto de reagentes e geração de resíduos, uma vez que reduz a quantidade de experimentos a serem realizados e o tempo de análise, favorecendo uma aplicação mais sustentável.

O uso das ondas ultrassônicas contribuiu para uma maior eficácia do processo de extração, ao possibilitar uma maior transferência de massa da amostra para o solvente extrator. O método de extração assistida por ultrassom utilizando NADES desenvolvido se apresenta como uma alternativa sustentável, principalmente por não envolver a utilização de ácidos inorgânicos concentrados e aquecimento, reduzindo-se a suscetibilidade a contaminações e perdas por volatilização, e por demandar um menor tempo de análise.

O emprego do solvente eutético profundo natural implicou em um processo mais simples, seguro e com menor impacto ambiental, em conformidade com os princípios da química analítica verde e do preparo de amostras verde. O NADES é composto por reagentes biodegradáveis e de baixa toxicidade e apresenta um simples preparo. O método NADES-UAE apresentou elevada frequência analítica e rapidez, ao envolver apenas duas etapas no pré-tratamento das amostras, além do baixo consumo de energia. Diante disso, o método de extração utilizando NADES obteve pontuação satisfatória nas métricas de avaliação do grau de sustentabilidade (AGREE e AGREEprep), demonstrando sua adequação como abordagem verde para a análise elementar no café. Ademais, exibiu desempenho analítico adequado para a

determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de café solúvel, com boa linearidade, precisão e exatidão.

REFERÊNCIAS

ADOLFO, F. R. *et al.* Simultaneous determination of Fe and Ni in guarana (*Paullinia cupana* Kunth) by HR-CS GF AAS: Comparison of direct solid analysis and wet acid digestion procedures. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 88, p. 103459, 2020.

AIROUYUWA, J. O. *et al.* Influence of physicochemical properties of carboxylic acid-based natural deep eutectic solvents (CA-NADES) on extraction and stability of bioactive compounds from date (*Phoenix dactylifera* L.) seeds: An innovative and sustainable extraction technique. **Journal of Molecular Liquids**, 388, p. 122767, 2023.

ALBALS, D. *et al.* Multi-element determination of essential and toxic metals in green and roasted coffee beans: A comparative study among different origins using ICP-MS. **Science Progress**, v. 104, n. 2, 2021.

ALI, J. *et al.* Green and innovative technique develop for the determination of vanadium in different types of water and food samples by eutectic solvent extraction method. **Food Chemistry**, v. 306, p. 125638, 2020.

ALMEIDA, J. S. *et al.* Direct multielement determination of Cd, Pb, Fe, and Mn in ground coffee samples using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **X-Ray Spectrometry**, v. 50, n. 1, p. 2–8, 2020.

ALTUNAY, N. *et al.* Simple and green heat-induced deep eutectic solvent microextraction for determination of lead and cadmium in vegetable samples by flame atomic absorption spectrometry: a multivariate study. **Biological Trace Element Research**, v. 198, p. 324–331, 2020.

ALTUNAY, N. *et al.* Assessment of arsenic in water, rice and honey samples using new and green vortex-assisted liquid phase microextraction procedure based on deep eutectic solvent: Multivariate study. **Microchemical Journal**, v. 179, p. 107541, 2022.

ALTUNAY, N. *et al.* Investigation of vortex assisted magnetic deep eutectic solvent based dispersive liquid–liquid microextraction for separation and determination of vanadium from water and food matrices: Multivariate analysis. **Journal of Molecular Liquids**, v. 396, p. 124000, 2024.

ALTUNAY, N.; TUZEN, M. A simple and green ultrasound liquid–liquid microextraction method based on low viscous hydrophobic deep eutectic solvent for the preconcentration and separation of selenium in water and food samples prior to HG-AAS detection. **Food Chemistry**, v. 364, p. 130371, 2021.

ALY, A.; GÓRECKI, T. Green Approaches to Sample Preparation Based on Extraction Techniques. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1719, 2020.

AMORIM FILHO, V. R. *et al.* Comparative studies of the sample decomposition of green and roasted coffee for determination of nutrients and data exploratory analysis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 47–53, 2007.

ANDRUCH, V. *et al.* Application of deep eutectic solvents in atomic absorption spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 147, p. 116510, 2022.

ANISSA, Z. *et al.* Evaluation of trace metallic element levels in coffee by icp-ms: A comparative study among different origins, forms, and packaging types and consumer risk assessment. **Biological Trace Element Research**, v. 201, n. 11, p. 5455–5467, 2023.

ÁRVAY, J. *et al.* Concentration of Micro- and Macro-Elements in Green and Roasted Coffee: Influence of Roasting Degree and Risk Assessment for the Consumers. **Biological Trace Element Research**, v. 190, p. 226–233, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ – ABIC. Indicadores da Indústria de Café. Relatório de 2024. [Acesso em: 18 de julho de 2024]. Disponível em: <<https://www.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/>>.

ATAKOL, A. *et al.* Trace determination of cobalt in heather leaf tea by matrix matching calibration assisted flame atomic absorption spectrometry following a dispersive liquid–liquid microextraction utilizing a Schiff base ligand. **Measurement**, v. 248, p. 116879, 2025.

AYYILDIZ, M. F. *et al.* Ultraviolet-assisted Fenton digestion of peach juice for the determination of nickel by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). **Analytical Letters**, v. 57, n. 13, p. 2170–2181, 2024.

AZU, N. O. **Tetrahydrofuran**. In: Encyclopedia of Toxicology (pp. 997–1002). Elsevier, 2024.

BAQUETA, M. R. *et al.* Independent components–discriminant analysis for discrimination of Brazilian Canephora coffees based on their inorganic fraction: A preliminary chemometric study. **Microchemical Journal**, v. 196, p. 109603, 2024.

BASTIAN, F. *et al.* From Plantation to Cup: Changes in Bioactive Compounds during Coffee Processing. **Foods**, v. 10, p. 2827, 2021.

BIZZI, C. A. *et al.* Microwave-assisted digestion methods: towards greener approaches for plasma-based analytical techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, p. 1448–1466, 2017.

BOTELLA, M. B. *et al.* Highly efficient natural deep eutectic solvent-based liquid-liquid microextraction and inductively coupled plasma mass spectrometry for selective determination of inorganic selenium species in nut samples. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 211, p. 106832, 2024.

BRAGAGNOLO, F. S. *et al.* Revisiting natural deep eutectic solvents (NADES) as extraction media and ready-to-use purposes. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 175, p. 117726, 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Sumário Executivo do Café – Abril 2024**. Secretaria de Política Agrícola, Departamento de Análise Econômica e Políticas Públicas, Brasília, DF, abril de 2024. Disponível em: <http://www.consorciopesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2024/Abril/Sumario_Cafe_abril_2024.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 setembro de 2005. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html>. Acesso em: 5 de junho de 2025.

BRITO, T. A. *et al.* Green extraction using natural deep eutectic solvents for determination of As, Cd, and Pb in plant and food matrices by ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 464, p. 141922, 2025.

CANALES, R. *et al.* Chemometric and green metric strategies for sustainable analytical methods: phenolic compounds in lettuce-NADES extracts. **Analytical Methods**, v. 13, p. 1261–1268, 2021.

CANNAVACCIUOLO, C. *et al.* Natural Deep Eutectic Solvents (NADESs) Combined with Sustainable Extraction Techniques: A Review of the Green Chemistry Approach in Food Analysis. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 56, 2023.

CARVALHO, P. M. *et al.* Evaluation of different analytical approaches using total reflection X-ray fluorescence systems for multielemental analysis of human tissues with different adipose content. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 198, p. 106548, 2022.

CERQUEIRA, U. M. F. M. *et al.* New approaches of slurry sampling as an alternative technique of sample preparing for elemental analysis. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 167, p. 117277, 2023.

CERQUEIRA, U. M. F. M. *et al.* Doehlert Design in the Optimization of a Method for Determining Metals in Spirulina (*Arthrospira* sp.) Samples Based on a Tetramethylammonium Hydroxide Suspension. **Food Analytical Methods**, v. 18, p. 1291–1300, 2025.

COSTA, F. S. *et al.* Natural deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction in the medicinal herb sample preparation and elemental determination by ICP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, 109, p. 104510, 2022.

COSTA, F. S. *et al.* Microwave-assisted extraction based on emulsion breaking with natural deep eutectic solvent for vegetable oil sample preparation prior to elemental determination by ICP OES. **Talanta**, v. 266, p. 125108, 2024.

DAI, Y. *et al.* Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents in Natural Products Research: Mixtures of Solids as Extraction Solvents. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 2162–2173, 2013a.

DAI, Y. *et al.* Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica Chimica Acta**, v. 766, p. 61–68, 2013b.

DAI, Y. *et al.* Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. **Food Chemistry**, v. 187, p. 14–19, 2015.

DE GOIS, J. S. *et al.* A high-throughput method for multi-element determination in green coffee beans using diluted nitric acid and ultrasound energy. **Analytical Methods**, v. 10, n. 14, p. 1656–1661, 2018.

DEBASTIANI, R. *et al.* Elemental analysis of Brazilian coffee with ion beam techniques: From ground coffee to the final beverage. **Food Research International**, v. 119, p. 297–304, 2019.

ELAHI, F. *et al.* Ultrasound-assisted deep eutectic solvent-based liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of Ni (II) and Zn (II) in food samples. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133384, 2022.

ELIK, A. *et al.* Ionic hydrophobic deep eutectic solvents in developing air-assisted liquid-phase microextraction based on experimental design: Application to flame atomic absorption spectrometry determination of cobalt in liquid and solid samples. **Food Chemistry**, v. 350, p. 129237, 2021.

ELIK, A. *et al.* Experimental design of ligandless sonication- assisted liquid- phases microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvents for accurate determination of Pb(II) and Cd(II) from waters and food samples at trace levels. **Food Chemistry**, v. 371, p. 131138, 2022.

ELIK, A.; ALTUNAY, N. Preparation and investigation of green and cheap deep eutectic solvents for determination of essential and toxic metal ions at trace levels in different coffee products. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 39, p. 101602, 2024.

ESPINO, M. *et al.* Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 76, p. 126–136, 2016.

FAROOQ, M. Q. *et al.* Deep eutectic solvents in separations: Methods of preparation, polarity, and applications in extractions and capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1633, p. 461613, 2020.

FEBRIANTO, N. A.; Zhu, F. Coffee bean processing: Emerging methods and their effects on chemical, biological and sensory Properties. **Food Chemistry**, v. 412, p. 135489, 2023.

FERNÁNDEZ, M. de los A. *et al.* Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: The way forward for sustainable analytical developments. **Analytica Chimica Acta**, v. 1038, p. 1–10, 2018.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Atomic absorption spectrometry – A multi element technique. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 100, p. 1–6, 2018a.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Multivariate optimization techniques in analytical chemistry – an overview. **Microchemical journal**, v. 140, p. 176–182, 2018b.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Determination and assessment of contamination of toxic chemical elements in soils – Review. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 181, p. 118055, 2024.

FERREIRA, S. S. *et al.* Greenness of procedures using NADES in the preparation of vegetal samples: Comparison of five green metrics. **Talanta Open**, v. 6, p. 100131, 2022.

FREITAS, D. S. *et al.* Enhancing insights into the phenomena of deep eutectic solvents. **Sustainable Materials and Technologies**, v. 41, p. 101039, 2024.

FREITAS, V. V. *et al.* Coffee: A comprehensive overview of origin, market, and the quality process. **Trends in Food Science & Technology**, v. 146, p. 104411, 2024.

FRINHANI, R. Q. *et al.* Determination of optimal experimental conditions for elemental analysis of green and roasted coffee by energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 143, p. 107548, 2025.

GALUSZKA, A. *et al.* The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 50, p. 78–84, 2013.

GRASSINO, A. N. *et al.* Evaluation of coffee and coffee waste fractions as mineral sources based on their multi-element composition. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 104, n. 12, p. 2912–2931, 2024.

GRISE, M. V. T. R. *et al.* Multivariate analysis caffeine extraction from roasted and ground coffee powder using eutectic mixtures as a sustainable system. **Food and Humanity**, v. 5, p. 100645, 2025.

GOMEZ, F. J. V. *et al.* A Greener Approach to Prepare Natural Deep Eutectic Solvents. **Chemistry Select**, v. 3, n. 22, 2018.

GUIMARÃES, L. B. *et al.* Solid phase extraction combined with energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry for multielement determination. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 58, n. 8, p. 545–561, 2022.

GUIMARÃES, T. G. S. *et al.* Mixture design and physicochemical characterization of amino acid-based DEEP eutectic solvents (AADES) for sample preparation prior to elemental analysis. **Journal of Molecular Liquids**, v. 345, p. 117887, 2022.

HABTE, G. *et al.* Elemental profiling and geographical differentiation of Ethiopian coffee samples through inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-OES), ICP-mass spectrometry (ICP-MS) and direct mercury analyzer (DMA). **Food Chemistry**, v. 212, p. 512–520, 2016.

HANIFAR, K. *et al.* An environmental-friendly procedure based on deep eutectic solvent for extraction and determination of toxic elements in fish species from different regions of Iraq. **Journal of Food Protection**, v. 86, n. 7, p. 100102, 2023.

HOLLER, J. F.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. São Paulo: Bookman, 2013.

HUANG, Y. *et al.* Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1400–1405, 2017.

INMETRO [Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial]. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**: documento de caráter orientativo: DOQ-CGCRE-008. rev. 9. [S. l.: s. n.], 2020.

JANDA, K. *et al.* Mineral Composition and Antioxidant Potential of Coffee Beverages Depending on the Brewing Method. **Foods**, v. 9, p. 121, 2020.

Ji, Y. *et al.* Hydrophobic deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of trace cadmium and arsenic in wine samples. **Microchemical Journal**, v. 164, p. 105974, 2021.

JIN, X. *et al.* A comparison study of Fenton-like and Fenton reactions in dichloromethane removal. **Environmental Technology**, v. 43, n. 28, p. 4504–4514, 2022.

JOFRE, F. C. *et al.* Assessing the greenness of optimized ultrasound and infrared assisted extraction through analytical metrics. **Advances in Sample Preparation**, v. 5, p. 100054, 2023.

JUNIOR, J. B. dos S. E. *et al.* Evaluation of the influence of cultivation on the total magnesium concentration and infusion extractability in commercial arabica coffee. **Food Chemistry**, v. 327, p. 127012, 2020.

JUNIOR, J. B. dos S. E.; Furlong, E. B.; Carapelli, R. Study on the impact of adopting organic practices on the absorption and extractability of Cu and Zn in commercial coffee samples. **Food and Humanity**, v. 3, p. 100353, 2024.

KANDHRO, F. *et al.* Determination of toxic elemental levels in whey milk of different cattle and human using an innovative digestion method: risk assessment for children < 6.0 months to 5 years. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 41923–41936, 2023.

KARGARGHOMSHEH, P. *et al.* Evaluation of Trace Elements in Coffee and Mixed Coffee Samples Using ICP-OES Method. **Biological Trace Element Research**, v. 202, p. 2338–2346, 2024.

KHADHRAOUI, B. *et al.* Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 76, p. 105625, 2021.

KÖVILEIN, A. *et al.* Malic acid production from renewables: a Review. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, n. 3, p. 513-526, 2020.

KSIAŻEK, E. Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. **Molecules**, v. 29, n. 1, p. 22, 2024.

LAI, Z. Y. *et al.* A review on natural based deep eutectic solvents (NADESs): fundamentals and potential applications in removing heavy metals from soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 116878–116905, 2023.

LAN, G. *et al.* Fast and Sensitive Determination of Cadmium and Selenium in Rice by Direct Sampling Electrothermal Vaporization Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8176, 2022.

LEMOS, V. A. *et al.* Deep eutectic solvent in ultrasound-assisted liquid-phase microextraction for determination of vanadium in food and environmental waters. **Microchemical Journal**, v. 180, p. 107543, 2022.

LERNER, N. *et al.* Rapid direct determination of tin in beverages using energy dispersive X-ray fluorescence. **Talanta**, v. 199, p. 662-666, 2019.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I. *et al.* The ten principles of green sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 148, p. 116530, 2022.

LORENZETTI, A. S. *et al.* Water behavior study for tailoring fructose-citric acid based natural deep eutectic solvent properties towards antibiotics solubilization. **Journal of Molecular Liquids**, v. 363, p. 119917, 2022.

MAFAKHERI, N. *et al.* Development of a dispersive liquid–liquid microextraction procedure based on a natural deep eutectic solvent for ligand-less preconcentration and determination of heavy metals from water and food samples. **Microchemical Journal**, v. 199, p. 11001, 2024.

MELO, J. C. *et al.* Sequential Determination of Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, and Zn in Powdered Refreshments by FS-F AAS After a Simple Sample Treatment. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 212–221, 2020.

MENG, Y. *et al.* Optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction, characterization, and bioactivities of flavonoids from *Cercis glabra* leaves. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 120, p. 107434, 2025.

MOHAMMED, E. *et al.* Optimization of an acid digestion procedure for the determination of Hg, As, Sb, Pb and Cd in fish muscle tissue. **MethodsX**, v. 4, p. 513–523, 2017.

MOHD FUAD, F.; MOHD NADZIR, M. The formulation and physicochemical properties of betaine-based natural deep eutectic solvent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 360, p. 119392, 2022.

MOLLAKHALILI-MEYBODI, N. *et al.* Potentially toxic elements (PTEs) in coffee: A comprehensive review of toxicity, prevalence, and analytical techniques. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 34, n. 1, p. 367–384, 2024.

MOREIRA, L. S. *et al.* Enhanced extraction of arsenic and cadmium from environmental samples using a natural deep eutectic solvent and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 102, n. 18, p. 7100-7111, 2020.

NASCIMENTO, V. R. do *et al.* Microwave-assisted UV digestion of starch and skimmed milk powder: Environmentally friendly protocol for essential and toxic elements determination. **Talanta**, v. 270, p. 125575, 2024.

OLECHNO, E. *et al.* Infusions: Can They Be a Source of Microelements with Antioxidant Properties? **Antioxidants**, v. 10, n. 11, p. 1709, 2021.

OLIVEIRA, A. F. de *et al.* The use of diluted formic acid in sample preparation for macro- and microelements determination in foodstuff samples using ICP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 7-12, 2018.

OLIVEIRA, M. *et al.* Intra- and interspecific mineral composition variability of commercial instant coffees and coffee substitutes: Contribution to mineral intake. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 702–709, 2012.

OLIVEIRA, M. *et al.* Espresso beverages of pure origin coffee: Mineral characterization, contribution for mineral intake and geographical discrimination. **Food Chemistry**, v. 177, p. 330–338, 2015.

PENA-PEREIRA, F. *et al.* AGREE—Analytical GREENness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 2020.

POHL, P. *et al.* Simplified sample treatment for the determination of total concentrations and chemical fractionation forms of Ca, Fe, Mg and Mn in soluble coffees. **Food Chemistry**, v. 163, p. 31–36, 2014.

POHL, P. *et al.* Simple ICP-OES based method for determination of selected elements in brewed ground and soluble coffees prior to evaluation of their intake and chemical fractionation. **Food Chemistry**, v. 263, p. 171–179, 2018.

POHL, P. *et al.* Response surface methodology assisted development of a simplified sample preparation procedure for the multielement (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr and Zn) analysis of different coffee brews by means of inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 241, p. 123215, 2022.

PYTLAKOWSKA, K. Preconcentration of Zn, Cu, and Ni Ions from Coffee Infusions via 8-Hydroxyquinoline Complexes on Graphene Prior to Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometry Determination. **Applied Spectroscopy**, v. 70, n. 11, p. 1891–1899, 2016.

RAGHEB, E. *et al.* Magnetic solid-phase extraction using metal–organic framework-based biosorbent followed by ligandless deep-eutectic solvent-ultrasounds-assisted dispersive liquid–liquid microextraction (DES-USA-DLLME) for preconcentration of mercury (II). **Microchemical Journal**, v. 166, p. 106209, 2021.

RAHIMI, A. *et al.* Content of potentially toxic elements (PTEs) in coffee and coffee-based products: a meta-analysis study, Systematic review, and health risk assessment. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 3, p. 356-364, 2024.

ROUHI, M. *et al.* ICP-OES determination of some heavy metal residues in milk samples by dispersive liquid–liquid microextraction; application of newly synthesized deep eutectic solvent as a complexing agent and extraction solvent. **Chemical Papers**, v. 77, n. 12, p. 7421–7429, 2023.

SANTANA, A. P. R. *et al.* Natural deep eutectic solvents for sample preparation prior to elemental analysis by plasma-based techniques. **Talanta**, v. 199, 361–369, 2019a.

SANTANA, A. P. R. *et al.* Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (NADES) by different methods. **Journal of Molecular Liquids**, v. 293, p. 111452, 2019b.

SANTANA, A. P. R. *et al.* Synthesis of natural deep eutectic solvents using a mixture design for extraction of animal and plant samples prior to ICP-MS analysis. **Talanta**, v. 216, p. 120956, 2020.

SANTOS, L. B. *et al.* Deep eutectic solvents in liquid-phase microextraction: Contribution to green chemistry. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 146, p. 116478, 2022.

SAVI, L. K. *et al.* Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. **Fluid Phase Equilibria**, v. 488, p. 40–47, 2019.

SAVIĆ, A. *et al.* Dietary Intake of Minerals and Potential Human Exposure to Toxic Elements via Coffee Consumption. **Biological Trace Element Research**, v. 203, p. 1817–1829, 2024.

SAVIĆ, A. *et al.* Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Multivariate Profiling of Rare Earth Elements in Coffee. **Foods**, v.14, n. 2, p. 275, 2025.

ŞEMEN, S. *et al.* Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. **Food Chemistry**, v. 215, p. 92–100, 2017.

SENILA, M. *et al.* Essential and Nonessential Elements, Lipids and Volatile Compounds in Coffee and Transfer to Coffee Brews: Assessment of the Benefits and Potential Risks for Human Health. **Food Science & Nutrition**, v. 13, p. 4640, 2025.

SHAMSIPUR, M. *et al.* A natural deep eutectic solvent–based ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction method for ligand-less pre-concentration and determination of traces of cadmium ions in water and some food samples. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 5, p. 1203–1213, 2022.

SHISHOV, A. *et al.* Deep eutectic solvents based on carboxylic acids for metals separation from plant samples: Elemental analysis by ICP-OES. **Food Chemistry**, v. 366, p. 130634, 2022.

SIHLAHLA, M. *et al.* Determination of selenium in cereal and biofortified samples by ICP-OES using an alcohol-based deep eutectic solvent in digestion procedure. **Advances in Sample Preparation**, v. 8, p. 100092, 2023.

SILVA, F. L. F. *et al.* Development of a wet digestion method for paints for the determination of metals and metalloids using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 146, p. 188–194, 2016.

SILVA, R. F. da *et al.* Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal plants based on the principles of green analytical chemistry: A review. **Microchemical Journal**, v. 175, p. 107184, 2022.

SIMMER, M. M. B. *et al.* Edaphoclimatic conditions and the soil and fruit microbiota influence on the chemical and sensory quality of the coffee beverage. **European Food Research and Technology**, v. 248, p. 2941–2953, 2022.

ŠKULCOVÁ, A. *et al.* Physical properties and thermal behavior of novel ternary green solvents. **Journal of Molecular Liquids**, v. 287, p. 110991, 2019.

SMICHOWSKI, P.; LONDONIO, A. The role of analytical techniques in the determination of metals and metalloids in dietary supplements: A review. **Microchemical Journal**, v. 136 p. 113–120, 2018.

SOROURADDIN, S. M. *et al.* Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method based on a ternary deep eutectic solvent as chelating agent and extraction solvent for preconcentration of heavy metals from milk samples. **Talanta**, v. 208, p. 120485, 2020.

SOTOUNEH, F. *et al.* Simultaneous preconcentration and determination of trace metals in edible plants and water samples by a novel solvent bar microextraction using a meltblown layer of facemask as the extractant phase holder combined with FAAS. **Microchemical Journal**, v. 190, p. 108622, 2023.

SOUZA, T. L. de *et al.* Evaluation of the total contents and bioaccessible fractions of inorganic constituents in nutritive flours exposed to consumption in Brazil. **Journal of Trace Elements and Minerals**, v. 12, p. 100228, 2025.

STATSOFT INC. (2004). **Statistics para Windows** (sistema de software para análise de dados). Versão 7.0. Tulsa, Oklahoma, USA: StatSoft Inc. Disponível em: <<https://statsoftacademic.com.br>>.

STELMACH, E. *et al.* The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. **Food Chemistry**, v. 182, p. 302–308, 2015.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A. *et al.* Developments and strategies in the spectrochemical elemental analysis of fruit juices. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 55, p. 68–80, 2014.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A. *et al.* Simplified multi-element analysis of ground and instant coffees by ICP-OES and FAAS. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 32, n. 9, p. 1488–1500, 2015.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS – TBCA. Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.2. São Paulo, 2023. [Acesso em: 09 de agosto de 2024]. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tbca>>.

TAVAKOLI, M. *et al.* Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) based on solidification of floating organic drop using a deep eutectic solvent for

simultaneous preconcentration and determination of nickel and cobalt in food and water samples. **Analytical Letters**, v. 54, n. 18, p. 2863–2873, 2021.

TAVARES, M. P. de F.; MOURAD, A. L. Coffee beverage preparation by different methods from an environmental perspective. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 25, n. 7, p. 1356–1367, 2020.

TEKIN, Z. *et al.* A green, accurate and sensitive analytical method based on vortex assisted deep eutectic solvent-liquid phase microextraction for the determination of cobalt by slotted quartz tube flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125825, 2020.

TESLIĆ, N. *et al.* Simultaneous Hydrolysis of Ellagitannins and Extraction of Ellagic Acid from Defatted Raspberry Seeds Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADES). **Antioxidants**, v. 11, n. 2, p. 254, 2022.

TIŞLI, B. *et al.* Determination of Manganese in Coffee and Wastewater Using Deep Eutectic Solvent Based Extraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 54, n. 6, p. 979-989, 2021.

TORABI, A. *et al.* Deep eutectic solvent-based ligandless ultrasound-assisted liquid-phase microextraction for extraction of cobalt ions from food samples prior to spectrophotometric determination. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 18, p. 893–902, 2021.

UL HAQ, H. *et al.* Deep eutectic solvents based assay for extraction and determination of zinc in fish and eel samples using FAAS. **Journal of Molecular Liquids**, v. 333, p. 115930, 2021.

-UL-HAQ, I. *et al.* Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Essential and Non-essential/Toxic Trace Metals in Vegetables and Their Determination by FAAS and ICP-OES: An Evaluation of Human Health Risk. **Food Analytical Methods**, v. 14, n. 11, p. 2262–2275, 2021.

UNAR, A. A. *et al.* Evaluate the aluminum concentrations in whey milk samples of cows from different areas using deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction method. **Talanta**, v. 273, p. 125847, 2024.

VOICA, C. *et al.* Multielemental Analysis of Coffee by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 49, n. 16, p. 2627–2643, 2016.

WEINBERGER, M. *et al.* Critical evaluation of energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry for multielemental analysis of coffee samples: Sample preparation, quantification and chemometric approaches. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 215, p. 106898, 2024.

WINIARSKA-MIECZAN, A. *et al.* Cadmium and Lead Concentration in Drinking Instant Coffee, Instant Coffee Drinks and Coffee Substitutes: Safety and Health Risk Assessment. **Biological Trace Element Research**, v. 201, p. 425–434, 2023.

WOJNOWSKI, W. *et al.* AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry: TrAC**, v. 149, 2022.

YAO, Y. *et al.* Assessment of toxicity of tetrahydrofuran on the microbial community in activated sludge. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5213–5221, 2010.

YIN, L. *et al.* Green analytical chemistry metrics for evaluating the greenness of analytical procedures. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 14, n. 11, p. 101013, 2024.

APÊNDICE A – Publicação de artigo científico

COSTA, G. C. *et al.* A multivariate optimization of a green ultrasound-assisted extraction method using a natural deep eutectic solvent for the determination of Fe, Mn, and Zn in instant coffee samples by F AAS. **Food Chemistry**, v. 491, p. 145271, 2025. DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.145271 (*Capítulos III e IV*).