

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Instituto de Ciências Exatas**  
**Departamento de Química**

Júlia Célia Lima Gomes

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE BISFENOL A, SEUS ANÁLOGOS E OUTROS  
PLASTIFICANTES EM CAFÉ EM CÁPSULAS**

Belo Horizonte  
2024

UFMG/ICEX/DQ. 1.616

D. 877

Júlia Célia Lima Gomes

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE BISFENOL A, SEUS ANÁLOGOS E OUTROS  
PLASTIFICANTES EM CAFÉ EM CÁPSULAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre(a) em Química.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Nori de Macedo

Coorientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Brenda Lee Simas Porto

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

G633a  
2024  
D  
Gomes, Júlia Célia Lima.  
Avaliação da presença de bisfenol A, seus análogos e outros plastificantes em café em cápsulas [manuscrito] / Júlia Célia Lima Gomes. 2024.  
85 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Adriana Nori de Macedo.  
Coorientadora: Brenda Lee Simas Porto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.

Bibliografia: f. 58-70.  
Apêndice: f. 71-85.

1. Química analítica – Teses. 2. Café – Teses. 3. Cromatografia líquida – Teses. 4. Espectrometria de massa – Teses. 5. Preparação de amostra (Química) – Teses. 6. Café – Resíduos – Teses. 7. Análise de componentes principais – Teses. 8. Plásticos – Teses. 9. Extração (Química) – Teses. I. Macedo, Adriana Nori de, Orientadora. II. Porto, Brenda Lee Simas, Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**"Avaliação da Presença de Bisfenol A, seus Análogos e outros Plastificantes em Café em Cápsulas"****Julia Celia Lima Gomes**

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Adriana Nori de Macedo - Orientadora  
UFMGProf. Rodinei Augusti  
UFMGProfa. Mariana Ramos de Almeida  
UFMG

Belo Horizonte, 10 de julho de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Nori de Macedo, Professora do Magistério Superior**, em 10/07/2024, às 15:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mariana Ramos de Almeida, Professora do Magistério Superior**, em 10/07/2024, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodinei Augusti, Professor do Magistério Superior**, em 10/07/2024, às 16:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3362001** e o código CRC **FC6F356C**.

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dr<sup>a</sup>. Adriana Nori de Macedo, minha querida orientadora, por toda a atenção e cuidado dedicados à minha formação, por compartilhar parte dos seus conhecimentos e sabedoria, e por ter deixado a minha jornada mais leve e agradável.

À minha coorientadora Profa. Dr<sup>a</sup>. Brenda Lee Simas Porto, por todas as contribuições, pelo carinho e cuidado durante todo o processo.

À minha família por todo o apoio e por serem um refúgio quando precisei. À minha mãe, Celinha, por todo o amor diariamente recebido, por ser um grande exemplo e por me fazer acreditar que sou capaz de alcançar todos os meus objetivos. Ao meu pai, Betinho, por sempre me incentivar a ser independente, por espalhar alegria por onde passa e por ser o melhor amigo que eu poderia ter. Ao meu irmão, Danilo, por toda proteção, cumplicidade, torcida e por ser uma grande fonte de inspiração. A minha cunhada, Thays, pela amizade e por agregar amor a nossa família. Aos meus amados sobrinhos, Samuel e Mariana, por me cobrirem com o amor mais puro e pelos inúmeros momentos de alegria.

Aos amigos do laboratório LACMass, Brícia, Túlio, João Victor, Larissa e Henrique pelos bons momentos vividos e por todo o aprendizado compartilhado.

À Mariana Diniz pela inestimável amizade iniciada ainda na graduação, por todas as conversas inspiradoras e engrandecedoras sobre ciência e principalmente pela valiosa ajuda com o Matlab e com quimiometria.

À Carol Galassi pela amizade e gentileza com a qual sempre me recebeu semanalmente.

A todos meus amigos, especialmente Rafa, Dani e Livinha, por todo apoio, torcida e carinho.

À UFMG e ao Departamento de Química, em particular ao programa de pós-graduação, pela infraestrutura e pelo corpo de funcionários, que foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho. À CAPES pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram.

A Deus por guiar o meu caminho e por me permitir compartilhar a vida com pessoas incríveis.

## RESUMO

Plastificantes são substâncias incorporadas aos plásticos com a intenção de aumentar sua flexibilidade e plasticidade. Neste trabalho, avaliou-se a migração de bisfenol A e outros plastificantes em café em cápsulas, utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução. O preparo de amostra foi realizado utilizando acetonitrila como solvente de extração e partição por *salting out*. As condições instrumentais utilizadas nas análises foram determinadas com base no padrão analítico do bisfenol A, visando sua identificação ao nível do limite de migração específica determinado pela legislação ( $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ). Com o método utilizado, buscou-se também avaliar de forma mais abrangente a possível presença de outros compostos, incluindo análogos do bisfenol A e outros tipos de plastificantes em geral. Após a análise das amostras de cafés em cápsula (10 tipos de cafés em cápsulas, 1 tipo de café em grão e 5 cafeteiras) em duplicata, verificou-se que a presença de bisfenol A e de compostos análogos não ocorre de maneira expressiva, já que tiveram intensidade de sinal consistente com níveis inferiores ao estabelecido pela legislação brasileira. Por outro lado, detectou-se a presença de diversos outros plastificantes, incluindo ftalatos, acrilatos, epóxidos e ácidos orgânicos. Comparando cafés preparados a partir de diferentes tipos de cápsulas, foi possível detectar compostos plastificantes até mesmo em cápsulas de alumínio e de papel compostável. Esse resultado dá origem a algumas possíveis hipóteses, como: (i) mesmo cápsulas de outros materiais podem ter algum revestimento contendo plastificantes; (ii) outras partes das próprias cafeteiras, feitas de plástico, podem levar à migração de plastificantes para a bebida; ou (iii) os próprios cafés podem já apresentar algum tipo de contaminação com plastificantes, oriunda de seu beneficiamento prévio ao acondicionamento nas cápsulas. Pela análise de componentes principais foi possível averiguar as semelhanças entre os cafés preparados a partir de cápsulas feitas com diferentes materiais.

**Palavras-chave:** plastificantes; disruptores endócrinos; químicos sintéticos; HPLC-HRMS; PCA.

## ABSTRACT

Plasticizers are substances added to plastic materials to increase their flexibility and plasticity. In this study, the migration of bisphenol A and other plasticizers into capsule coffees was evaluated using liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry. Sample preparation was carried out using acetonitrile as the extraction solvent and salting-out partitioning. The instrumental conditions used in the analyses were determined based on the analytical standard of bisphenol A, aiming for its identification at the level of the specific migration limit set by legislation (0.05 mg L<sup>-1</sup>). The method also sought to broadly assess the potential presence of other compounds, including bisphenol A analogs and other types of plasticizers in general. After analyzing the capsule coffee samples (11 types of capsule coffees, 1 type of coffee bean, and 5 coffee maker machines) in duplicate, it was found that the presence of bisphenol A and its analogs was not significant, as their signal intensity was consistent with levels below those established by the Brazilian legislation. On the other hand, various other plasticizers, including phthalates, acrylates, epoxides, and organic acids, were detected. Comparing coffees prepared from different types of capsules, plasticizers were detected even in aluminum and compostable paper capsules. This result gives rise to several possible hypotheses: (i) even capsules made from other materials may have some coating containing plasticizers; (ii) other parts of the coffee makers themselves, made of plastic, could lead to the migration of plasticizers into the beverage; or (iii) the coffee itself might already have some contamination with plasticizers, originating from its processing before being packed in the capsules. Principal component analysis allowed for examining similarities between coffees prepared from capsules made with different materials.

**Key-words:** plasticizer; endocrine disruptors; synthetic chemicals; HPLC-HRMS; PCA.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Diagrama simplificado das principais partes de um espectrômetro de massas .....	27
Figura 2 - Gráfico de barras das publicações que utilizaram espectrometria de massas para análise de BPA em alimentos. ....	29
Figura 3 - Cromatogramas de íon extraído para os padrões de BPA nas concentrações a) 0,05 mg L <sup>-1</sup> , b) 0,10 mg L <sup>-1</sup> , c) 0,25 mg L <sup>-1</sup> e d) 0,50 mg L <sup>-1</sup> .....	38
Figura 4 - Espectro de fragmentação do íon de <i>m/z</i> 227,1078 obtido para padrão de BPA na concentração de 0,05 mg L <sup>-1</sup> .....	39
Figura 5 - Cromatogramas de íon extraído e espectros de fragmentação do íon de <i>m/z</i> 227,1078 obtidos utilizando coluna Kinetex F5 para solução padrão de BPA nas concentrações a) 0,05 mg L <sup>-1</sup> , b) 0,10 mg L <sup>-1</sup> .....	41
Figura 6 - Cromatogramas de íon extraído ( <i>m/z</i> 227,1078) obtidos para amostras de café a) diluído b) diluído e fortificado no nível de 0,05 mg L <sup>-1</sup> e c) diluído e fortificado no nível de 0,10 mg L <sup>-1</sup> .....	43
Figura 7 - Cromatogramas de íon extraído para extratos feitos com solução padrão de bisfenol A 0,05 mg L <sup>-1</sup> (a); café submetido a extração com mistura de hexano e isopropanol sem fortificação (b) e fortificado com bisfenol A no nível de 0,05 mg L <sup>-1</sup> (c); café submetido a extração com mistura de hexano e isopropanol e fortificado no nível de 0,10 mg L <sup>-1</sup> (d); café submetido a extração com acetonitrila sem fortificação (e) e fortificado nos níveis de 0,05 mg L <sup>-1</sup> (f) e 0,10 mg L <sup>-1</sup> (g).....	44
Figura 8 - Cromatogramas de íon extraído para a) solução padrão de BPA 0,10 mg L <sup>-1</sup> , b) extrato de café pelo método QuEChERS, c) extrato de café fortificado no nível de 0,1 mg L <sup>-1</sup> pelo método QuEChERS, d) extrato de café pelo método QuEChERS sem pré-concentração.....	45
Figura 9 - Espectro de fragmentação do íon de <i>m/z</i> 227,1078 obtido para extrato de café QuEChERS sem pré-concentração. ....	46
Figura 10 - Cromatograma de íon extraído e espectro de fragmentação para a) extrato de café QuEChERS fortificado antes da extração no nível de 0,05 mg L <sup>-1</sup> b) extrato de café QuEChERS fortificado após a extração no nível de 0,05 mg L <sup>-1</sup> .....	47
Figura 11 - Dados gerados pelo <i>Compound Discoverer</i> para o BPA: a) cromatograma de íon extraído para <i>m/z</i> 227,10769 b) espectro de massas contendo os isótopos mais abundantes e c) espectro de fragmentação do composto.....	49
Figura 12 - Cromatogramas de íon extraído ( <i>m/z</i> 249,0227 ) para o BPS para: a) amostra DG2A de café de cápsula de plástico, b) amostra NA2B de café de cápsula de alumínio, c) amostra NEO2B de café de cápsula de papel compostável e d) amostra de café em grão CGA. ....	50
Figura 13 - Dados processados no <i>Compound Discoverer</i> para o BPS: a) cromatograma de íon extraído para <i>m/z</i> 249,0227 e b) espectro de massas contendo os isótopos mais abundantes. ....	51
Figura 14 - Mapa de calor da intensidade dos plastificantes identificados nas amostras de café. ....	54

Figura 15 - Escores nas primeiras componentes principais (CP1 e CP2) para as amostras de café. ....	55
Figura 16 - Pesos nas primeiras componentes principais para as amostras de café. (a) CP 1; (b) CP 2. ....	56
Figura A1 - Esquema do funcionamento da ionização por paper spray. ....	81
Figura A2 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) solução padrão de BPA no nível de concentração de 1,0 mg L <sup>-1</sup> e b) metanol. ....	82
Figura A3 - Espectro de fragmentação obtido para confirmar a identificação do BPA.....	83
Figura A4 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) amostra de café na concentração de 0,05 mg L <sup>-1</sup> , b) amostra de café na concentração de 0,10 mg L <sup>-1</sup> , c) amostra de café na concentração de 0,25 mg L <sup>-1</sup> e d) amostra de café na concentração de 0,50 mg L <sup>-1</sup> . ....	84
Figura A5 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) amostra de café apenas pré-concentrada, b) extrato de café após extração com hexano e isopropanol e pré-concentrado e c) extrato de café após extração com acetonitrila e pré-concentrado. ....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de estudos selecionados sobre a presença de BPA em alimentos. ....	17
Tabela 2 - Fórmulas estruturais do BPA e de alguns de seus análogos.....	20
Tabela 3 – Parâmetros de operação, fornecidos pelos fabricantes das cafeteiras, durante o preparo de café. ....	33
Tabela 4 - Programação utilizada no gradiente de eluição.....	35
Tabela 5 – Lista de inclusão usada na aquisição de dados. ....	35
Tabela 6 - Comparativo entre os gradientes utilizados nos métodos instrumentais. ....	40
Tabela 7 - Intensidades de sinal obtido para os cromatogramas de íon extraído para os extratos de café fortificados.....	48

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Cafés analisados e suas respectivas informações. ....	32
Quadro 2 - Compostos identificados pelo software <i>Compound Discoverer</i> . ....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI – Ionização química à pressão atmosférica, do inglês, *atmospheric pressure chemical ionization*

BPA – Bisfenol A

BPAF – Bisfenol AF

BPAP – Bisfenol AP

BPB – Bisfenol B

BPC – Bisfenol C

BPE – Bisfenol E

BPF – Bisfenol F

BPP – Bisfenol P

BPS – Bisfenol S

BPZ – Bisfenol Z

CI – Ionização química, do inglês, *chemical ionization*

CP – Componente principal

DDA – Aquisição dependente de dados, do inglês, *data dependent acquisition*

EI – Ionização elétrons, do inglês, *electron impact*

ESI – Ionização por eletrospray, do inglês, *electrospray ionization*

GC – Cromatografia a gás, do inglês, *gas chromatography*

HPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial, do inglês, *high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry*

LLE – Extração líquido-líquido, do inglês, *liquid-liquid extraction*

LME – Limite de migração específico

MALDI – Ionização e dessorção assistida por laser com matriz, do inglês, *matrix assisted laser desorption and ionization*

MEHP - Mono-(2-etilhexil) ftalato

MS – Espectrometria de massas, do inglês, *mass spectrometry*

$m/z$  – Razão massa/carga

PCA – Análise de componentes principais, do inglês, *principal component analysis*.

PS-MS – Espectrometria de massas com ionização por *paper spray*, do inglês, *paper spray mass spectrometry*

SPE – Extração em fase sólida, do inglês, *solid-phase extraction*

UPLC–PDA–FLD - Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e detector de fluorescência, do inglês, *ultra-high performance liquid chromatography coupled with photodiode array and fluorescence detector*

UPLC-HRMS – Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução, do inglês, *ultra-high performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry*

UPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial, do inglês, *ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry*

WHO – Organização Internacional da Saúde, do inglês, *World Health Organization*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
1.1	CAFÉ EM CÁPSULAS .....	15
1.2	BISFENOL A.....	16
1.2.1	Usos e risco à saúde humana.....	16
1.2.2	Análogos do BPA.....	20
1.3	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A DETECÇÃO DE BISFENOL A EM ALIMENTOS .....	22
1.3.1	Preparo de amostras.....	23
1.3.2	Cromatografia líquida de alta eficiência .....	26
1.3.3	Espectrometria de massas.....	27
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>30</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	30
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>31</b>
3.1	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	31
3.2	PREPARO DE AMOSTRAS.....	32
3.2.1	Preparo de café espresso .....	32
3.2.2	Extração pelo método QuEChERS .....	34
3.3	ANÁLISE INSTRUMENTAL .....	34
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
4.1	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO INSTRUMENTAL (HPLC-HRMS) .....	38
4.2	DESENVOLVIMENTO DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO .....	42
4.3	ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE CAFÉ .....	48
4.3.1	Bisfenol A e análogos .....	48
4.3.2	Outros plastificantes.....	52
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>58</b>
	<b>APÊNDICE A</b> .....	<b>71</b>

<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>81</b>
-------------------------	-----------

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Café em cápsulas

O consumo de café se faz presente em diversas culturas, de modo que os seus grãos são uma das commodities mais negociadas em âmbito mundial. Para a safra de 2023/2024, tem-se uma estimativa de produção global em cerca de 174 milhões de sacas, sendo o Brasil o principal produtor, responsável pela produção de quase 55 milhões de sacas.<sup>1,2</sup> Aproximadamente metade da produção é destinada ao mercado interno, já que o Brasil é o segundo maior consumidor mundial de café, sendo consumidas pouco mais de 21 milhões de sacas no ano de 2022.<sup>3</sup>

De acordo com uma avaliação feita pela Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), observa-se uma crescente demanda pelo produto no mercado interno desde a década de 90.<sup>3</sup> Apesar de já bem estabelecido, o consumo de café está em constante evolução, observando-se o surgimento de novas práticas e novos padrões de consumo.<sup>4</sup>

A praticidade aliada à grande diversidade de produtos comercializados, o que permite diferentes experiências sensoriais aos consumidores, fizeram com que o mercado de café em cápsulas se desenvolvesse rapidamente.<sup>5,6</sup> Em 2022, a comercialização de café na forma de cápsulas no Brasil foi o equivalente a cerca de 395 mil toneladas de sacas.<sup>3</sup>

As cápsulas consistem em recipientes no formato de cone truncado, que são utilizados para armazenar quantidades de café suficientes para o preparo de porções individuais da bebida. Diferentes materiais podem ser utilizados na sua confecção, observando-se o predomínio de alumínio e de plásticos.<sup>6-8</sup> Durante o preparo da bebida, as cápsulas são submetidas a aquecimento e aumento de pressão, condições que propiciam a liberação de resíduos de plastificantes e de metais, que ao migrarem para o alimento tornam-se contaminantes.<sup>9-12</sup>

Estudos com o objetivo de avaliar esse tipo de contaminação já têm sido reportados na literatura científica. Por exemplo, em um estudo realizado por di Bella e colaboradores, foi avaliada a migração de resíduos de plastificantes durante o preparo de cafés espresso e em cápsulas. Observou-se a presença de diversos compostos, sendo o ftalato de dimetila presente em maior concentração.<sup>13</sup> Já em Sakaki *et al.*, avaliou-se a presença de plastificantes que apresentam atividade estrogênica em cafés em cápsulas e em cafés preparados em prensa francesa. Com o método UPLC-MS/MS desenvolvido, os autores detectaram a presença de compostos como benzofenona e bisfenol A nas amostras de café nos dois modos de preparo estudados.<sup>14</sup>

## **1.2 Bisfenol A**

### **1.2.1 Usos e risco à saúde humana**

O 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano, também conhecido por bisfenol A ou BPA, é um composto sintético que confere maior resistência aos materiais e, devido a sua versatilidade de aplicações, é atualmente comercializado em grandes volumes. Os seus principais usos na indústria de alimentos se dão na utilização de plásticos para embalagens, em especial o policarbonato, e como um dos componentes de resinas epóxi utilizadas para o revestimento de latas de conserva.<sup>9,15,16</sup> A liberação de BPA a partir de frascos de policarbonato, bem como a atividade estrogênica do composto, foram relatadas pela primeira vez em 1993, em um estudo realizado por Krishnan e colaboradores.<sup>17</sup>

Disruptores endócrinos são compostos sintéticos que causam prejuízos à saúde humana, em razão de atuarem no sistema endócrino modificando o comportamento hormonal. O bisfenol A é um disruptor endócrino, cuja principal interferência se dá na ação do estrogênio, um hormônio de fundamental importância

para o organismo feminino.<sup>16,18–20</sup> O potencial efeito do BPA na infertilidade feminina foi descrito por Ziv-Gal e Flaws.<sup>21</sup>

Porém, diversos estudos indicam que os efeitos adversos causados pelo BPA também são observados em outros sistemas.<sup>18,19,22</sup> Por exemplo, em um estudo conduzido por Tarafdar e colaboradores, verificou-se a relação da exposição ao bisfenol A à ocorrência de diversas enfermidades, entre elas distúrbios metabólicos, disfunção neuroendócrina e interrupção da atividade de algumas enzimas.<sup>22</sup> Além disso, Presunto *et al.* avaliaram os efeitos adversos causados ao organismo masculino, obtendo indícios de que o BPA pode causar alterações no ciclo hormonal, bem como induzir a infertilidade masculina.<sup>23</sup>

Embora não haja um consenso definido quanto ao limite seguro de exposição ao bisfenol A sem causar danos ao organismo, diversas pesquisas indicam que mesmo pequenas quantidades desse composto podem desencadear efeitos adversos.<sup>24–28</sup>

De acordo com um relatório divulgado pela Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization, WHO*), a principal via de exposição humana ao BPA é a alimentar,<sup>29</sup> dado que os alimentos são capazes de acumular o bisfenol livre presente nas embalagens.<sup>20,30</sup> Diversos estudos já foram feitos para quantificar a presença de bisfenol A em alimentos e bebidas envoltos em embalagens plásticas ou em latas revestidas por resinas. Na Tabela 1 são apresentados estudos selecionados que avaliaram a presença de bisfenol A em diferentes alimentos.

**Tabela 1 - Dados de estudos selecionados sobre a presença de BPA em alimentos.**

País	Ano	Matriz	Técnica analítica	Concentrações	Ref.
China	2018	Tempero pronto	UPLC-MS/MS	0,0689 – 0,2162 mg kg <sup>-1</sup>	31
Turquia	2023	Alimentos e bebidas enlatados	UPLC-MS/MS	Alimentos: 0,008 – 0,042 mg kg <sup>-1</sup> Bebidas: 0,005 – 0,1 mg kg <sup>-1</sup>	32

Tabela 1 - continuação

País	Ano	Matriz	Técnica analítica	Concentrações	Ref.
Itália	2023	Legumes embalados	HPLC-MS/MS	0,00151 – 0,02122 mg kg <sup>-1</sup>	33
China	2021	Bebida de café enlatada	UPLC-MS/MS	0,0983 – 0,8318 mg kg <sup>-1</sup>	34
China	2020	Água mineral em garrafas	UPLC-PDA-FLD	n.d	35
Coréia do Sul	2009	Alimentos e bebidas enlatados	HPLC-FLD	Alimentos: n.d – 125,25 mg kg <sup>-1</sup> Bebidas: n.d – 136,14 mg kg <sup>-1</sup>	36
Arábia Saudita	2013	Bebidas enlatadas e leite em pó	HPLC-FLD	Leite em pó: 0,01182 – 0,01531 mg kg <sup>-1</sup> Bebidas: 0,31 – 3,97 mg mL <sup>-1</sup>	37
Espanha	2021	Alimentos enlatados	HPLC-FLD	n.d – 0,202 mg kg <sup>-1</sup>	38
Estados Unidos	2020	Café em cápsula e café feito em prensa francesa	UPLC-MS/MS	Café em cápsula: 0 – 2,42 ng mL <sup>-1</sup> Café em prensa francesa: 0 - 1,70 ng mL <sup>-1</sup>	14
China	2021	Alimentos enlatados	UPLC-MS/MS	n.d – 0,837 mg kg <sup>-1</sup>	39
Índia	2023	Água mineral em garrafas	UPLC-MS/MS	n.d – 9580 ng L <sup>-1</sup>	40
Estados Unidos	2013	Alimentos enlatados	HPLC-MS/MS	0,000235 – 0,00997 mg kg <sup>-1</sup>	41

Legenda: n.d: Não detectado ou menor que o limite de detecção do método.

UPLC-MS/MS: Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial; HPLC-MS/MS: Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial; UPLC-PDA-FLD: Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e detector de fluorescência; HPLC-FLD: Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de fluorescência.

A presença de BPA no café, resultante da migração do composto presente nas embalagens durante o processo de preparação da bebida, foi avaliada em diversas

técnicas de preparo, sendo detectável em cafés enlatados<sup>34,36,42</sup>, em cafés reaquecidos em fornos de micro-ondas<sup>43</sup>, e em cafés em cápsulas de plástico.<sup>14,44</sup>

No Brasil também há uma preocupação acerca da possível migração do BPA para alimentos. Estudos recentes detectaram bisfenol A em algumas matrizes alimentares, sendo observada a sua presença em amostras de leite em concentrações entre 77,6 – 150,8 ng mL<sup>-1</sup>.<sup>45</sup> Também foram avaliadas amostras de fórmulas infantis. No estudo conduzido por Petrarca e colaboradores, detectou-se a presença de bisfenóis em 36% das amostras de fórmulas infantis analisadas, com concentrações na faixa de 11,3 – 18,7 µg kg<sup>-1</sup>.<sup>46</sup> Entretanto, outros dois estudos realizados com fórmulas infantis apresentaram resultados divergentes àqueles anteriormente observados, com a não detecção do composto nos alimentos.<sup>47,48</sup> Tais resultados indicam a necessidade de uma maior investigação a ser realizada com alimentos embalados em plásticos comercializados no Brasil.

Diante dos possíveis riscos associados à exposição ao bisfenol A e considerando-se os frequentes registros da migração do composto presente nas embalagens para os alimentos, tornou-se necessário regulamentar o uso e aplicação do composto. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) por meio da Resolução RDC Nº 589, DE 20 DE DEZEMBRO DE 2021 estabelece um limite de migração específica (LME)\* de 0,05 mg kg<sup>-1</sup> de alimento,<sup>49</sup> visto que esse é o menor nível de concentração na qual inicia-se a observação de efeitos adversos.<sup>50</sup> Já a Resolução RDC Nº 41, DE 16 DE SETEMBRO DE 2011 institui a “proibição da importação e fabricação de mamadeiras ou produtos similares destinados a alimentação de lactantes e crianças até 3 anos de idade que contenha a substância”.<sup>51</sup>

---

\* LME: quantidade máxima permitida de uma substância específica do material em contato com alimentos transferida aos simulantes, em condições de ensaio estabelecidas.

## 1.2.2 Análogos do BPA

Como consequência do controle, e em algumas aplicações, da proibição de uso, tornou-se necessário a substituição do bisfenol A na produção de materiais plastificantes. De modo a cumprir as limitações legais e preservar as características desejadas, fez-se comum a substituição do BPA por compostos análogos, que possuem características físico-químicas semelhantes, porém não têm seu uso atualmente limitado por regulações. Esses compostos apresentam uma estrutura base contendo dois anéis fenólicos unidos por um átomo de ligação, sendo esse normalmente um átomo de carbono. Na Tabela 2 estão dispostas as fórmulas estruturais do bisfenol A e dos seus análogos mais utilizados na indústria.<sup>33,39,52</sup>

**Tabela 2 - Fórmulas estruturais do BPA e de alguns de seus análogos.**

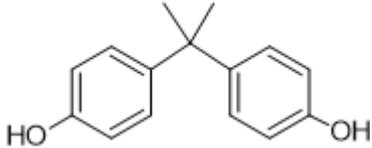
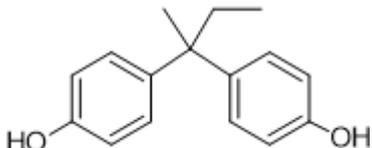
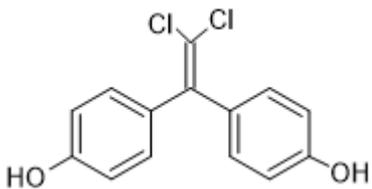
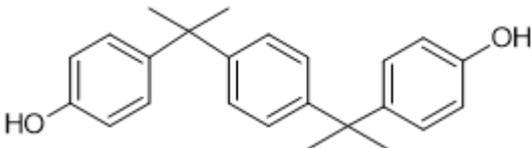
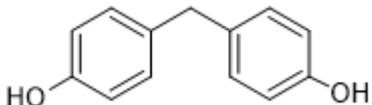
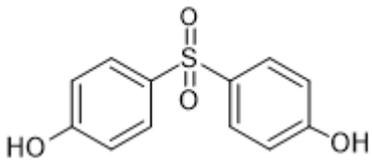
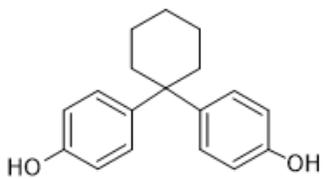
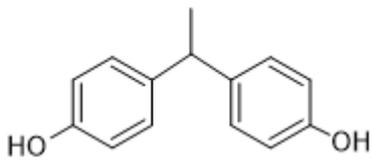
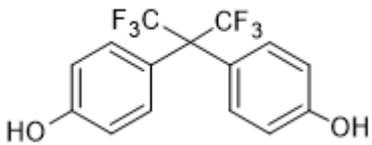
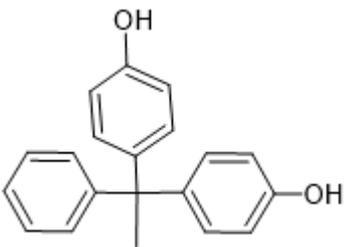
Composto	Fórmula estrutural	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )
BPA		228,286
BPB		242,313
BPC		281,134
BPP		346,462
BPF		200,233

Tabela 2 - Continuação

Composto	Fórmula estrutural	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )
BPS		250,270
BPZ		268,350
BPE		214,260
BPAF		336,229
BPAP		290,356

Em virtude da semelhança nas propriedades físico-químicas, espera-se que os análogos do BPA também apresentem comportamentos toxicológicos prejudiciais aos seres humanos. Alguns estudos foram feitos com o intuito de avaliar a toxicidade dos possíveis substituintes do BPA, e os dados indicam potencial toxicidade desses compostos. Vários deles, em especial o BPS, BPF, BPAF e BPB, apresentaram atividade estrogênica mais intensa se comparados ao BPA. Além disso, há indícios de que também apresentem citotoxicidade, neurotoxicidade e genotoxicidade.<sup>52-54</sup>

Em estudo desenvolvido por Chen *et al.*, avaliou-se a presença de BPA e seus análogos nas embalagens de diferentes produtos alimentícios, incluindo embalagem de água mineral, garrafas de bebidas energéticas e em mamadeiras. Nas condições utilizadas, os autores foram capazes de detectar bisfenol A em praticamente todas as amostras, além de observarem a presença de bisfenol S esporadicamente.<sup>55</sup>

Já a investigação sobre a migração dos compostos presentes nas embalagens para os alimentos tem sido feita em diversos estudos, com a detecção de BPS em amostras de leite<sup>45</sup>, água mineral em garrafa,<sup>40</sup> cogumelos em conserva,<sup>39</sup> e bebidas enlatadas.<sup>39</sup> O BPF tem sido encontrado em amostras de carne enlatada,<sup>39</sup> cogumelos em conserva,<sup>39</sup> molho de mostarda<sup>41</sup> e em legumes.<sup>41</sup> Todavia, todos os estudos indicam que o BPA ainda está presente em maiores concentrações quando comparado a seus análogos.

### **1.3 Métodos analíticos para a detecção de bisfenol A em alimentos**

Para realizar o monitoramento da presença de BPA em alimentos, faz-se necessária a utilização de técnicas analíticas altamente sensíveis, já que se espera que o composto esteja presente em pequenas quantidades, e altamente seletivas, por se tratar de matrizes extremamente complexas. Diferentes técnicas, como eletroforese capilar e métodos imunoquímicos, podem ser utilizadas para a realização desse monitoramento. Entretanto, técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas ou a detectores de fluorescência são as mais empregadas.<sup>15,56-58</sup>

De maneira geral, observa-se uma maior aplicação de métodos de cromatografia líquida (LC) em detrimento aos métodos de cromatografia a gás (GC). Isso se deve principalmente à necessidade da realização de reações de derivatização nos métodos de GC para aumentar a volatilidade do bisfenol A, por se tratar de um composto polar e pouco volátil. Além de tornar a análise mais complexa, a derivatização pode introduzir novas fontes de erros e contaminações.<sup>15,57</sup>

Ainda assim, devido ao fato de as amostras de alimentos serem matrizes complexas, em todas as técnicas supracitadas faz-se necessário realizar um preparo de amostras extenso. Em consequência disso, comumente são observados preparos de amostras compostos por várias etapas, entre elas pré-tratamento, extração, limpeza e concentração.<sup>15,56,59</sup>

A evolução da técnica de espectrometria de massas tem possibilitado o desenvolvimento de metodologias que necessitam de um preparo de amostras simplificado, ou em alguns casos, que eliminam completamente essa etapa da análise.<sup>60</sup> Esses métodos podem ser quantitativos (quando há interesse na determinação da concentração absoluta dos analitos na amostra) ou de triagem, que fornecem rapidamente dados semiquantitativos sobre os componentes das amostras.<sup>61</sup>

### **1.3.1 Preparo de amostras**

O preparo de amostras é uma etapa fundamental nas análises instrumentais, já que permite a remoção de possíveis interferentes, além da extração e pré-concentração dos analitos de interesse. Atualmente, tem-se disponível diferentes técnicas que permitem realizar um eficiente preparo de amostras, que devem ser escolhidas levando-se em consideração as características das amostras e as propriedades físico-químicas dos analitos.<sup>15,59,62</sup>

O pré-tratamento é a etapa inicial do preparo de amostras. Normalmente, compreende processos simples, como homogeneização, filtração e centrifugação. Ao analisar BPA, é de fundamental importância atentar-se para a eliminação de possíveis contaminações de fundo, provenientes de materiais plásticos presentes nos laboratórios, como reagentes armazenados em frascos plásticos, ponteiros, filtros, entre outros. Para tanto, deve-se planejar cada estágio do preparo de amostras de modo a evitar o uso desses materiais.<sup>59,62-64</sup>

A extração compreende a etapa mais complexa do preparo de amostras. Além das características da amostra e dos analitos de interesse, durante a escolha do método de extração, deve-se considerar também as particularidades da técnica instrumental que será utilizada para a detecção. Diversas técnicas de extração para a análise de BPA em alimentos já foram descritas, sendo as extrações líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE) as mais utilizadas.<sup>15,56,65</sup>

A LLE baseia-se na diferença de solubilidade de determinado composto quando em contato com uma mistura de dois líquidos imiscíveis. É uma técnica de extração já consolidada, com extensa aplicação, que apresenta boa eficácia e não requer instrumentação custosa. Contudo, normalmente envolve processos longos, que necessitam de uma etapa de limpeza da amostra adicional e utilizam grandes volumes de solventes orgânicos, sendo o metanol, acetato de etila e acetonitrila os solventes mais utilizados para a extração de bisfenol A.<sup>15,56,58</sup>

Visando mitigar as deficiências da LLE, várias pesquisas foram feitas buscando o desenvolvimento de novas técnicas de extração. Nesse cenário, a SPE torna-se popular. A SPE é uma técnica de extração sólido-líquido, na qual os analitos de uma amostra líquida são retidos em uma fase estacionária sólida, com a posterior recuperação dos analitos por eluição com solvente adequado.<sup>56,66</sup> A diversidade de materiais que podem ser utilizados como adsorventes e a dispensa de uma etapa adicional de limpeza são as principais vantagens dessa técnica em relação a LLE.<sup>56,63</sup>

Ambas as técnicas já foram utilizadas para a detecção de bisfenol em amostras de café, observando-se uma preferência pela LLE. Por exemplo, Lim *et al.* realizaram a extração de BPA em café enlatado pela aplicação da LLE. Para isso, inicialmente diluíram a amostra de café em acetonitrila, e em seguida fizeram a extração com o solvente por duas vezes. Os extratos passaram por filtração e secagem, com posterior ressuspensão em solução de acetonitrila e água (60:40, v/v).<sup>36</sup> Já para a análise de BPA em café em cápsulas e em café preparado em prensa francesa, Sakaki e colaboradores procederam com extrações líquido-líquido, porém utilizando-se acetato de etila como solvente. Os extratos também passaram por secagem, com reconstituição da amostra em metanol.<sup>14</sup>

Já a SPE foi utilizada para a extração do composto em cafés solúveis e cafés enlatados. No trabalho desenvolvido por Kang e Kondo, a extração foi realizada utilizando-se cartuchos de fase sólida mista, sendo uma combinação de grupos não polares ( $C_{18}$ ), trocadores catiônicos ( $SO_3^-$ ) e trocadores aniônicos ( $NR_3^+$ ). O condicionamento foi feito com metanol e água, enquanto a lavagem foi feita apenas com água e a eluição do BPA foi feita com solução de acetonitrila e água (40:60, v/v).<sup>67</sup> Mais recentemente, em 2018, Choi e colaboradores analisaram o BPA presente em cafés enlatados. Nesse caso, utilizou-se cartucho  $C_{18}$  e metanol e água para o condicionamento do cartucho. A lavagem foi feita com água e a eluição com metanol.<sup>68</sup>

Nos últimos anos, tem-se verificado um aumento na utilização do método QuEChERS para a extração de BPA em alimentos. Esse método de preparo de amostras foi desenvolvido por Anastassiades e Lehota para a análise de resíduos de pesticidas em frutas e vegetais.<sup>69</sup> Considerando-se a sua relativa facilidade de operação, sem o uso de equipamentos complexos, aliada a um menor consumo de solventes e um tempo mais curto de execução, a sua aplicação foi estendida para outras finalidades além da análise de pesticidas.<sup>56</sup>

O método, descrito como rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro, é composto por duas etapas, sendo a primeira baseada na partição líquido-líquido induzida pelos sais adicionados, e a segunda correspondendo a extração em fase sólida dispersiva.<sup>69</sup> A possibilidade de efetuar-se pequenas adaptações mantendo-se boas taxas de recuperação dos analitos, é uma das grandes vantagens da técnica, o que possibilitou a sua aplicação em diversas análises.<sup>70</sup>

Mahlangu *et al.*, por exemplo, utilizaram o método QuEChERS na análise de bisfenóis em feijões cozidos, peixes e carnes, todos enlatados. Com os métodos de extração e análise instrumental propostos, foram capazes de detectar BPB e BPA nas amostras, sendo esse último presente em todas as amostras avaliadas.<sup>71</sup> Faraji e colaboradores também aplicaram o método QuEChERS para a extração de BPA em amostras alimentícias enlatadas. Nesse estudo, o bisfenol A estava presente nas amostras com concentração média entre 28,4 - 157,7  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .<sup>72</sup>

As etapas de limpeza e pré-concentração no método QuEChERS geralmente são feitas de maneira complementar à extração, uma vez que nem sempre a extração é suficientemente seletiva, ou em muitos casos os analitos estão presentes em concentrações muito baixas.<sup>59,73</sup>

### 1.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma técnica de separação e identificação de compostos, na qual a separação é definida pelas diferentes interações entre os compostos presentes na amostra e as fases móvel e estacionária utilizadas. Nessa técnica, a amostra é carregada pela fase móvel líquida, sendo então bombeadas por um sistema de bombas de alta pressão, de modo a percorrer a coluna cromatográfica.<sup>74</sup>

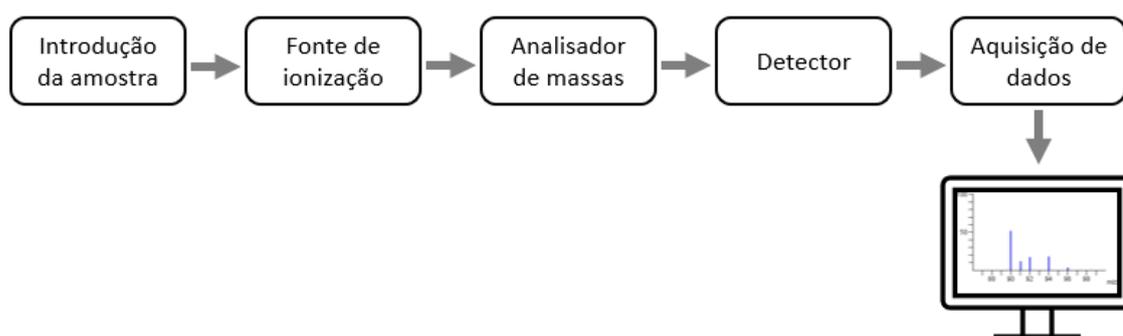
O fato de a solubilidade na fase móvel ser o principal requisito necessário para a amostra, o que permite a separação de quase todas as classes de compostos orgânicos, aliado à possibilidade de hifenização com diversas técnicas instrumentais para uma melhor identificação e quantificação dos compostos, justifica a crescente utilização da técnica de HPLC na análise de bisfenol A em alimentos.<sup>75-78</sup>

Zhang *et al.*, por exemplo, realizaram a quantificação de BPA em amostras de leite utilizando um método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a detector de fluorescência. Com as condições utilizadas, o composto foi identificado em todas as amostras em uma faixa de concentração de 0,23 – 0,56  $\mu\text{g g}^{-1}$ .<sup>79</sup> Já no estudo desenvolvido por Zheng e colaboradores, foi identificado a presença de diversos análogos do bisfenol A em fórmulas infantis. Utilizando-se um método HPLC-MS/MS os compostos análogos foram identificados em grande parte das amostras, destacando-se o BPS, BPF e BPP.<sup>80</sup>

### 1.3.3 Espectrometria de massas

A técnica de espectrometria de massas (MS) tem como princípio a geração de íons em fase gasosa, com posterior separação com base na razão de suas massas e cargas elétricas ( $m/z$ ), cuja aplicação permite a obtenção de informações sobre a massa e a estrutura dos compostos. De maneira geral, um espectrômetro de massas é constituído por uma fonte de ionização, seguido por analisador de massas e um detector. Além desses componentes, tem-se ainda um sistema de injeção de amostras e um de aquisição de dados (Figura 1).<sup>81</sup>

**Figura 1- Diagrama simplificado das principais partes de um espectrômetro de massas**



Fonte: Elaborado pela autora.

A introdução da amostra pode ser feita de maneira direta, utilizando-se uma sonda, ou indireta, na qual é necessário um sistema de injeção, podendo esse sistema ser alguma outra técnica analítica, como por exemplo cromatografia. Essa etapa deve ser realizada de modo que a amostra injetada seja adequada para o bom funcionamento da fonte de ionização.<sup>82</sup>

A fonte de ionização desempenha o papel crucial de ionizar compostos ionizáveis, permitindo, assim, sua análise posterior no analisador de massas. Existem diversas técnicas de ionização disponíveis, algumas das quais funcionam em condições de pressão reduzida e são altamente energéticas, como a ionização por elétrons (EI) e a ionização química (CI). Já as técnicas de ionização brandas, por sua vez, operam em pressão atmosférica. Dentre eles tem-se a ionização química à

pressão atmosférica (APCI), a ionização por eletrospray (ESI), e a ionização/dessorção assistida por laser com matriz (MALDI).<sup>81,82</sup>

Os analisadores de massas têm o papel de examinar e separar os íons que são gerados na etapa de ionização com base em seus valores de  $m/z$ . Esses dispositivos fazem uso de propriedades eletromagnéticas para realizar essa separação, aplicando-se campos elétricos, magnéticos ou uma combinação de ambos. O poder de resolução de um espectrômetro de massas diz respeito a capacidade do analisador em distinguir íons com valores de  $m/z$  muito próximos. Assim, quanto maior o poder de resolução, mais precisa é a separação entre íons de massas semelhantes.<sup>81,82</sup> Existem diversos tipos de analisadores, como: quadrupolo, armadilha de íons, tempo de voo e orbitrap.

Alexander Makarov desenvolveu um novo tipo de analisador de massas, denominado orbitrap, que tem o seu funcionamento baseado no movimento orbital que os íons realizam ao serem submetidos a um campo elétrico. Analisadores de massas do tipo orbitrap possuem alto poder de resolução, além de fornecerem valores precisos de massas, o que permite a identificação inequívoca de moléculas.<sup>83</sup> As características desse analisador permitem que ele seja amplamente utilizado em abordagens não alvo, ou *untarget*, que objetivam a identificação de compostos desconhecidos.<sup>84–86</sup>

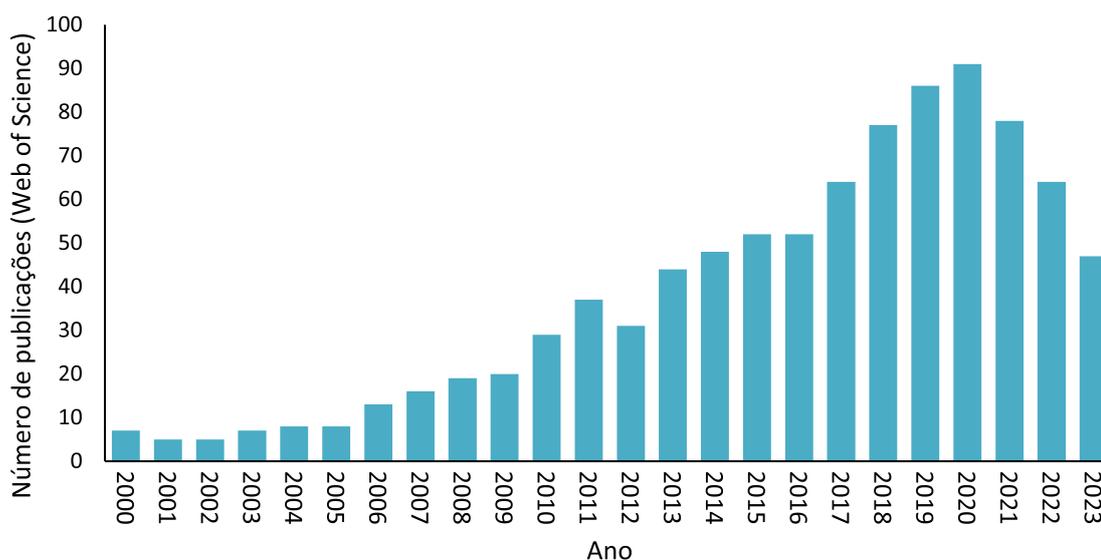
Outra utilização de grande importância dos analisadores do tipo orbitrap se dá nas análises *screening*, também chamadas de triagem. Essas análises semiquantitativas podem ser feitas de maneira preliminar, com o intuito de avaliar a existência de contaminantes, fornecendo uma faixa de concentração na qual tais compostos estão presentes. Considerando-se a complexidade envolvida nas análises de alimentos, as análises de triagem apresentam-se como uma ferramenta facilitadora no monitoramento de contaminantes em matrizes alimentícias, tornando-se assim, amplamente empregada.<sup>87,88</sup>

Finalmente, os detectores têm a função de produzir um sinal elétrico amplificado para cada íon que colide em sua superfície. Como resultado da sua atuação, tem-se a geração do espectro de massas. Diferentes tipos de detectores

podem ser utilizados, e essa escolha deverá ser feita de acordo com o tipo de analisador empregado.<sup>81</sup>

A diversidade de fontes de ionização, de tipos de analisadores e até mesmo de detectores, faz com que a espectrometria de massas seja uma técnica versátil, que permite ser configurada de modo a se obter alta sensibilidade e seletividade. Esses motivos, aliados a possibilidade de hifenização à técnicas instrumentais de separação, fizeram com que seu uso se tornasse bastante popular em diferentes tipos de análises, inclusive para a análise de bisfenol A em alimentos, conforme demonstrado na Figura 2.

**Figura 2 - Gráfico de barras das publicações que utilizaram espectrometria de massas para análise de BPA em alimentos.**



Fonte: Web of Science. Referentes aos descritores bisphenol A (todos os campos) AND food analysis (todos os campos) AND mass spectrometry (todos os campos), de 2000 a 2023. Acessado em 01/10/2023 às 15h23min.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a migração de bisfenol A e seus análogos em amostras de café preparados a partir de cafés em cápsulas comumente consumidos no Brasil.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver um procedimento de preparo de amostra para a extração de bisfenol A em amostras de café de cápsula;
- Desenvolver um método de análise por HPLC-HRMS para detecção de bisfenol A e de compostos análogos;
- Avaliar a migração de bisfenol A, compostos análogos e outros plastificantes em cafés de cápsula preparados a partir de diferentes tipos de café e marcas de cafeteiras.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Reagentes e soluções

Visando evitar a contaminação proveniente dos diversos materiais de plástico presentes na rotina de laboratório, utilizou-se, sempre que possível, materiais de vidro. Para a limpeza prévia, os materiais ficaram em banho com solução de ácido nítrico 10% v/v (Merck, Darmstadt, Alemanha) por cerca de 5 horas, com posterior sonicação em banho de ultrassom (Unique, modelo USC-1400A) por 1 hora. Em seguida, completou-se o volume dos materiais com solução de etanol e água (1:1 v/v) e realizou-se a sonicação em banho ultrassom por 1 hora. Por fim, os materiais foram lavados com água ultrapura e reservados para uso exclusivo.

O padrão analítico bisfenol A (99% de pureza) foi adquirido da Sigma-Aldrich (Missouri, USA). Quantidade adequada do padrão foi diluído em metanol grau HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha), originando-se solução estoque de concentração 1000 mg L<sup>-1</sup>. A partir da solução estoque, foram realizadas diluições adequadas, também em metanol grau HPLC, originando as soluções de trabalho de concentrações 0,05 mg L<sup>-1</sup>, 0,10 mg L<sup>-1</sup>, 0,25 mg L<sup>-1</sup> e 0,50 mg L<sup>-1</sup>.

Os demais reagentes utilizados nos procedimentos foram: metanol grau HPLC (VWR Chemicals, USA), etanol grau P.A. (95% de pureza, NEON, Brasil), hexano grau HPLC (pureza de ≥ 95%, Sigma-Aldrich, USA), isopropanol grau P.A. (Synth, Brasil), acetonitrila grau HPLC (Merck, Alemanha), sulfato de magnésio anidro (J.T. Baker, USA) e cloreto de sódio (J.T. Baker, USA).

## 3.2 Preparo de amostras

### 3.2.1 Preparo de café espresso

As amostras de café em cápsulas ( $n = 20$ ) e café em grãos ( $n = 2$ ) foram adquiridas na rede comercial, e armazenadas em temperatura ambiente. Todos os cafés eram da espécie arábica (*Coffea arabica*), com diferentes intensidades de torra. Para avaliar a possível migração de bisfenol A proveniente das cafeteiras, uma vez que elas possuem componentes plásticos, adquiriram-se cafés em cápsulas de alumínio e de papel compostável, e café em grãos. No Quadro 1 são apresentadas as informações pertinentes a cada amostra, enquanto na Tabela 3 são apresentados os parâmetros de operação, fornecidos pelos fabricantes, referentes às cafeteiras.

**Quadro 1 - Cafés analisados e suas respectivas informações.**

Amostra	Intensidade da torra	Tipo de café	Cafeteira
DG1A	Média	Cápsula de plástico	DG
DG1B			
DG2A	Escura		
DG2B			
TC1A	Clara-média	Cápsula de plástico	TC
TC1B			
TC2A	Média-escura		
TC2B			
NP1A	Clara-média	Cápsula de plástico	ND40
NP1B			
NP2A	Média-escura		
NP2B			

Quadro 1 - Continuação

<b>Amostra</b>	<b>Intensidade da torra</b>	<b>Tipo de café</b>	<b>Cafeteira</b>
NA1A	Média	Cápsula de alumínio	ND40
NA1B			
NA2A	Média-escura		
NA2B			
NEO1A	Média	Cápsula de papel compostável	NEO
NEO1B			
NEO2A	Escura		
NEO2B			
CG1A	Média	Grão	LG
CG1B			

Tabela 3 – Parâmetros de operação, fornecidos pelos fabricantes das cafeteiras, durante o preparo de café.

<b>Máquina</b>	<b>Pressão máxima (bar)</b>	<b>Temperatura do café (° C)</b>	<b>Volume de café (mL)</b>
DG	15	85-90	50 <sup>1</sup> - 35 <sup>2</sup>
TC	15	85-90	50
ND40	19	85-92	40
NEO	15	85-91	40 <sup>1</sup> - 25 <sup>2</sup>
LG	15	90-95	40

Legenda: 1: Volume preparado para o café de menor intensidade; 2: Volume preparado para o café de maior intensidade.

Para o preparo dos cafés, utilizou-se água ultra purificada pelo sistema AcquaQuality, modelo módulo 2 MOD2. Inicialmente, realizou-se um ciclo de enxague utilizando água ultra purificada, visando a eliminação de possíveis resíduos presentes nas cafeteiras. Em seguida, o café foi preparado selecionando o modo de preparo correspondente ao café espresso.

### 3.2.2 Extração pelo método QuEChERS

Diferentes procedimentos de extração foram considerados. Inicialmente, avaliou-se a simples diluição do café em água. A fim de se obter amostras mais limpas visando a preservação da coluna cromatográfica e a eliminação de possíveis interferências na ionização do bisfenol A, avaliou-se o uso de diferentes solventes de extração, sendo eles: (i) mistura entre hexano e isopropanol e (ii) acetonitrila.

O método de extração otimizado foi adaptado daquele descrito por Anastassiades e Lehotay, no qual em um tubo de vidro, adicionou-se 2,5 mL de café espresso recém preparado e em temperatura ambiente, e 2,5 mL de acetonitrila, e procedeu-se com agitação em vórtex (Biomixer, modelo QL-901) por cerca de 1 minuto. Adicionou-se 1,00 g de  $MgSO_4$  e 0,25 g de NaCl, agitando novamente por 1 minuto. Centrifugou-se a 3000 rpm por 5 minutos, em centrífuga Centribio, modelo 80-2B. Transferiu-se 1,0 mL do sobrenadante para um frasco de vidro âmbar (*vial*) de borosilicato com capacidade de 2,0 mL e tampa rosqueada de polipropileno, contendo septo de politetrafluoroetileno (PTFE/silicone) para posterior análise cromatográfica.<sup>69</sup> O solvente de extração foi utilizado como branco de reagente e incluído na sequência analítica.

### 3.3 Análise instrumental

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a líquido de alta eficiência, modelo *Vanquish Horizon*, equipado com bomba binária VF-P10-A-01, amostrador automático VF-A10-A-02, compartimento de coluna VH-C10-A-02 e acoplado a um espectrômetro de massas com fonte de ionização por eletrospray (ESI), modelo *Q Exactive Plus*, ambos da *Thermo Scientific*. Utilizou-se coluna cromatográfica Kinetex F5, 150 x 4,6 mm, 5  $\mu m$  de tamanho de partícula e 100 Å de tamanho de poro (Phenomenex, USA), cuja temperatura foi mantida em 30 °C. O volume de injeção foi de 5  $\mu L$ .

Metanol e água foram utilizados como fase móvel, em modo de eluição gradiente, conforme demonstrado na Tabela 4.

**Tabela 4 - Programação utilizada no gradiente de eluição.**

Tempo (min)	Fluxo (mL min <sup>-1</sup> )	Metanol (% v/v)
0	0,3	30
1	0,3	30
5	0,3	95
8	0,5	95
9	0,5	30
10	0,3	30

Os espectros de massas foram adquiridos em modo negativo, em uma faixa de massas de 50-500 *m/z*. A temperatura e voltagem do capilar foram mantidas em 320 °C e 3,0 kV, respectivamente. O modo de aquisição de dados foi por aquisição dependente de dados (DDA), com a realização de experimentos do tipo Full MS/dd MS/MS (TopN), que consistia na realização de uma varredura completa seguida pela fragmentação dos N íons mais intensos, sendo N = 5, e dos íons selecionados na lista de inclusão. Essa lista continha os valores de *m/z* de alta resolução de cada composto (BPA e seus análogos) e sua energia de colisão normalizada, e está apresentada na Tabela 5.

**Tabela 5 – Lista de inclusão usada na aquisição de dados.**

Composto	<i>m/z</i>	Energia de colisão normalizada
BPA	227,1078	25
BPB	278,9985	22
BPC	345,1860	30
BPP	199,0764	38
BPF	249,0227	30
BPS	267,1391	25
BPZ	213,0921	35

Tabela 5 - Continuação

Composto	<i>m/z</i>	Energia de colisão normalizada
BPE	335,0512	15
BPAF	289,1234	18
BPAP	231,1329	25

O modo *full scan* foi operado com resolução de 70,000 (FWHM), *AGC target* de  $1 \times 10^6$  e *maximum IT* de 100 ms. Enquanto o modo DDA foi operado com resolução de 17,500, *AGC target* de  $2 \times 10^5$ , *maximum IT* de 50 ms e energia de colisão normalizada de 20, 40 e 60.

A identificação dos compostos análogos ao BPA e demais plastificantes foi realizada utilizando-se o modelo de fluxo de trabalho denominado “*Food Research with Stats Unknown ID with Online and local Database Searches*” disponível no *software Compound Discoverer*. Essa ferramenta permite a identificação e caracterização de compostos desconhecidos por meio da comparação das separações cromatográficas e espectros de massas obtidos com informações disponíveis em bases de dados e bibliotecas espectrais.

Considerou-se adequado o método que permitisse a obtenção de um cromatograma de íon extraído viável (i.e., com formato relativamente gaussiano e visualmente distinguível do ruído), além da identificação de no mínimo um fragmento característico com erro de massa inferior a 5 ppm. A identificação dos demais compostos foi considerada adequada quando se obteve um cromatograma de íons extraídos viável e com intensidade mínima de  $1,0 \times 10^6$ , além do espectro de distribuição isotópica com ao menos um isótopo corretamente identificado, ou o espectro de fragmentação condizente com aquele esperado para ele de acordo com a biblioteca espectral “*mzCloud*”.

O processamento dos dados obtidos foi realizado utilizando-se *softwares* em versões gratuitas disponibilizadas pela empresa *Thermo Scientific*, sendo que o *FreeStyle 1.8 SP2 QF1* foi utilizado para extração dos dados referentes ao BPA, com

base em seu valor de  $m/z$  de alta resolução com janela de 5 ppm, enquanto o *Compound Discoverer* 3.3 SP3 (versão *trial*) foi utilizado para detecção e identificação dos demais plastificantes.

### **3.4 Análise estatística**

Os dados das áreas dos picos cromatográficos obtidos foram exportados para o programa MATLAB (Mathworks, Natick, Massachusetts, EUA, v. R2024a) e, utilizando o pacote PLS-Toolbox (Eigenvector Research, Manson, Washington, EUA, v.9.3.1), foi possível realizar o pré-processamento dos mesmos. Aplicou-se o método de autoescalamento, uma vez que os dados possuíam escalas diferentes. Com os dados pré-processados, realizou-se uma análise exploratória utilizando o método de Análise de Componentes Principais (PCA).

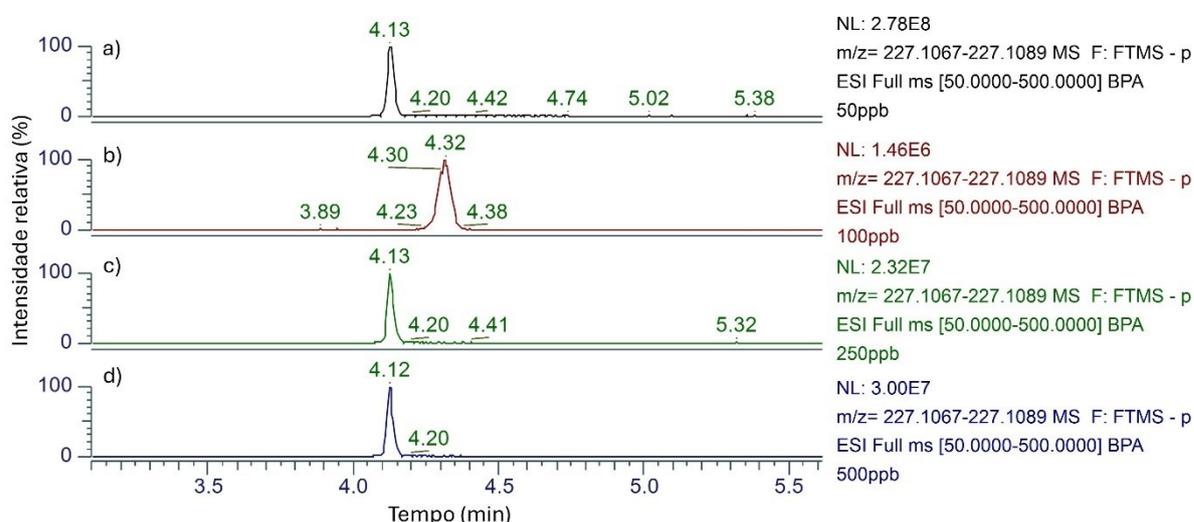
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Desenvolvimento do método instrumental (HPLC-HRMS)

Inicialmente, as análises foram realizadas em condições cromatográficas semelhantes às utilizadas por Wang *et al.*,<sup>34</sup> enquanto as condições utilizadas no espectrômetro de massas foram adaptadas daquelas descritas nos trabalhos de Zhao *et al.*,<sup>89</sup> e Regueiro e colaboradores.<sup>90</sup>

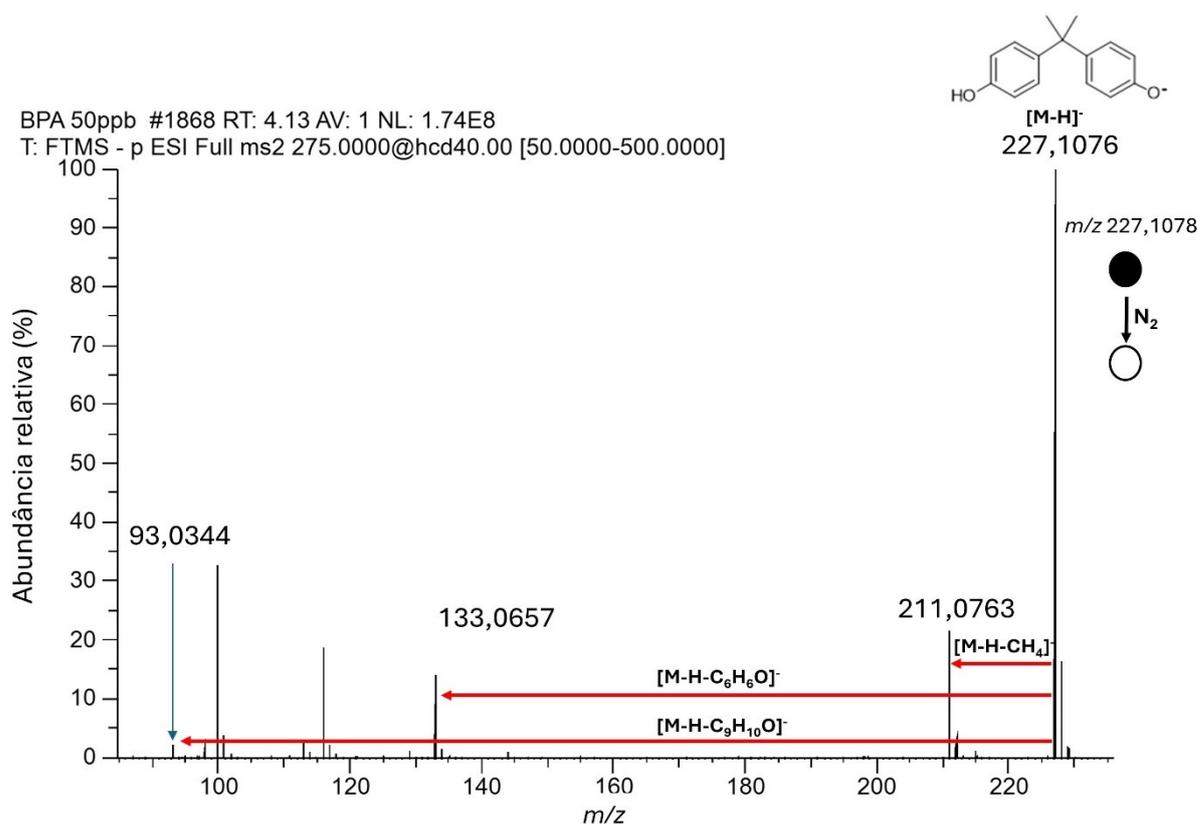
Na Figura 3, apresentam-se os cromatogramas de íon extraído, obtidos em modo negativo e utilizando-se coluna cromatográfica Luna Ômega Polar C<sub>18</sub>, 100 x 2,1 mm, 1,6 µm de tamanho de partícula e 100 Å de tamanho de poro (Phenomenex, USA), para solução padrão de bisfenol A nas concentrações 0,05 mg L<sup>-1</sup>, 0,10 mg L<sup>-1</sup>, 0,25 mg L<sup>-1</sup> e 0,50 mg L<sup>-1</sup>. Esses valores foram escolhidos já que representam uma, duas, cinco e dez vezes, respectivamente, o LME permitido pela legislação. Verifica-se um comportamento semelhante para todos os níveis de concentração, obtendo-se picos bem separados, em tempos de retenção em torno de 4,13 minutos e com adequada intensidade de sinal (bem acima do nível de ruído da linha de base).

**Figura 3 - Cromatogramas de íon extraído para os padrões de BPA nas concentrações a) 0,05 mg L<sup>-1</sup>, b) 0,10 mg L<sup>-1</sup>, c) 0,25 mg L<sup>-1</sup> e d) 0,50 mg L<sup>-1</sup>.**



Na Figura 4 é apresentado o espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  227,1078 oriundo da solução padrão de bisfenol A na concentração  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ , no qual verifica-se um padrão de fragmentação compatível com o descrito na literatura, observando-se a existência dos íons produtos de  $m/z$  211,0759, 133,0653 e 93,0340, referentes a perda de um grupo  $\text{CH}_4$ , de fenol ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$ ) e de 4-isopropenilfenol ( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$ ), respectivamente.<sup>89</sup> Deve-se ressaltar que todos os fragmentos apresentaram erros de massa inferiores a 5 ppm em relação aos valores teóricos.

**Figura 4 - Espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  227,1078 obtido para padrão de BPA na concentração de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ .**



Entretanto, à medida que os testes foram realizados, observou-se uma diminuição na eficiência da coluna cromatográfica, que já havia sido utilizadas em outros projetos, resultando em menores intensidades de sinais juntamente a variação considerável no tempo de retenção. Portanto, fez-se necessário realizar a troca da coluna cromatográfica utilizada.

O método anteriormente desenvolvido, que se mostrou eficiente para a análise de BPA, nomeado como BPA\_Oficial, teve seu desempenho avaliado quando a coluna cromatográfica foi substituída por uma Kinetex F5, 150 x 4,6 mm, 5 µm de tamanho de partícula e 100 Å de tamanho de poro, que tem uso recomendado para separação de compostos aromáticos e polares, aplicável, portanto, ao bisfenol A. O resultado inicial indicou a necessidade de realizar pequenos ajustes no método, de modo que um novo gradiente de eluição fosse elaborado. Para isso, adaptou-se aquele descrito em Nicolucci e colaboradores.<sup>91</sup> O novo método foi denominado de BPA\_Kinetex, e na Tabela 6 apresentam-se os gradientes de eluição utilizados em cada método.

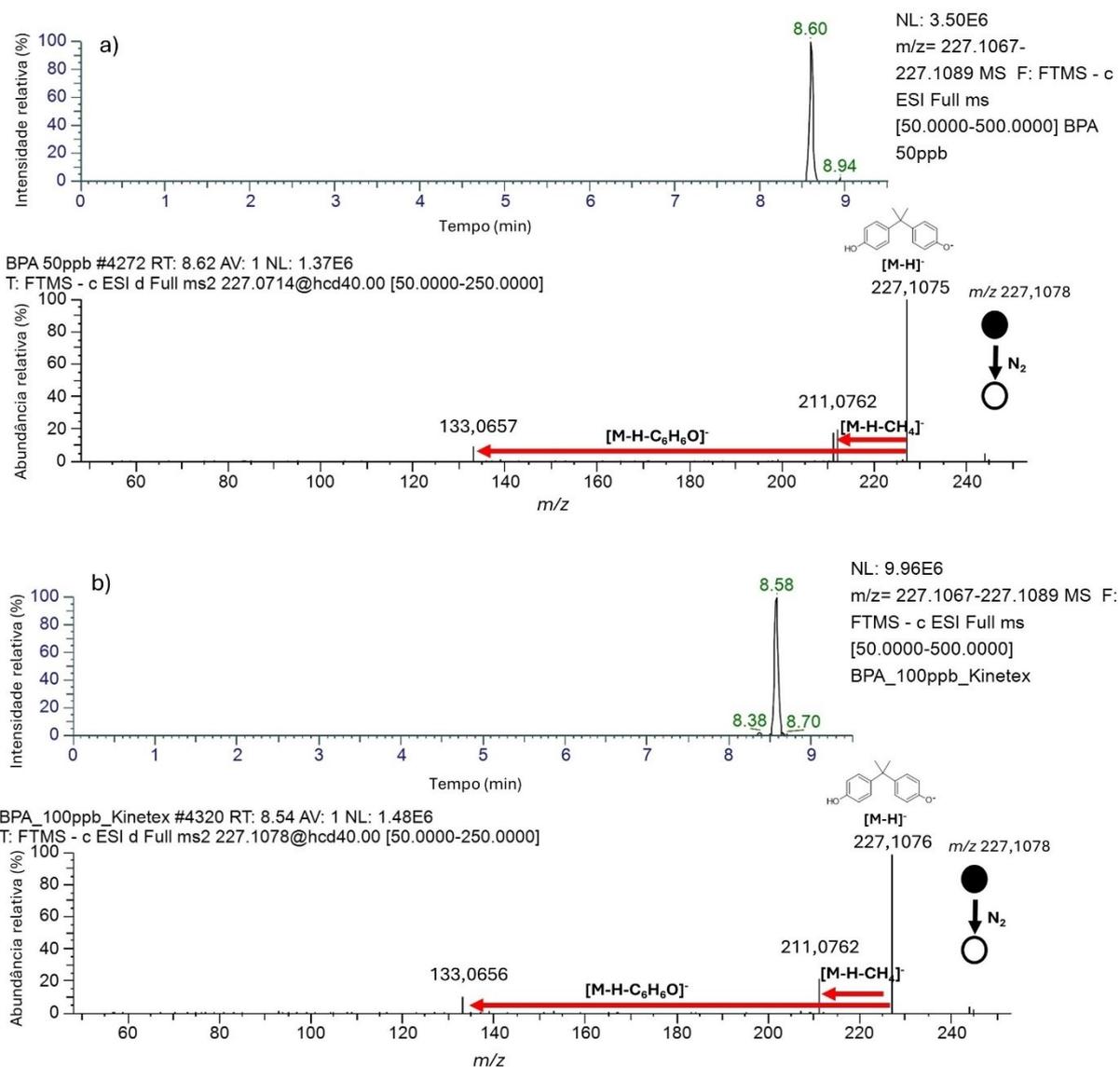
**Tabela 6 - Comparativo entre os gradientes utilizados nos métodos instrumentais.**

Método instrumental	Coluna cromatográfica	Tempo (min)	Fluxo (mL min <sup>-1</sup> )	Metanol (% v/v)
BPA_Oficial	Luna Ômega Polar C18	0	0,3	30
		1	0,3	50
		3	0,3	90
		5	0,5	95
		8	0,5	95
		8,5	0,3	30
		11	0,3	30
BPA_Kinetex	Kinetex F5	0	0,3	30
		1	0,3	30
		5	0,3	95
		8	0,5	95
		9	0,5	30
		10	0,3	30

Na Figura 5 apresentam-se os cromatogramas de íon extraído e os seus respectivos espectros de massas obtidos para solução padrão de bisfenol A em dois níveis de concentração, sendo eles 0,05 e 0,10 mg L<sup>-1</sup>, quando analisados pelo método modificado. Verifica-se que os resultados obtidos com as novas condições instrumentais são muito semelhantes aos gerados anteriormente, sendo a variação do tempo de retenção de 4,13 para 8,60 minutos a única diferença significativa entre os métodos. O aumento no tempo de retenção do analito já era esperado, uma vez que a coluna Kinetex F5 apresenta maiores dimensões e tamanho de partícula. Além

disso, a fase estacionária dessa coluna é composta por grupos fenil-hexil, que interagem mais fortemente com grupos aromáticos, quando comparado ao grupo C<sub>18</sub>.

**Figura 5 - Cromatogramas de íon extraído e espectros de fragmentação do íon de  $m/z$  227,1078 obtidos utilizando coluna Kinetex F5 para solução padrão de BPA nas concentrações a) 0,05 mg L<sup>-1</sup>, b) 0,10 mg L<sup>-1</sup>.**

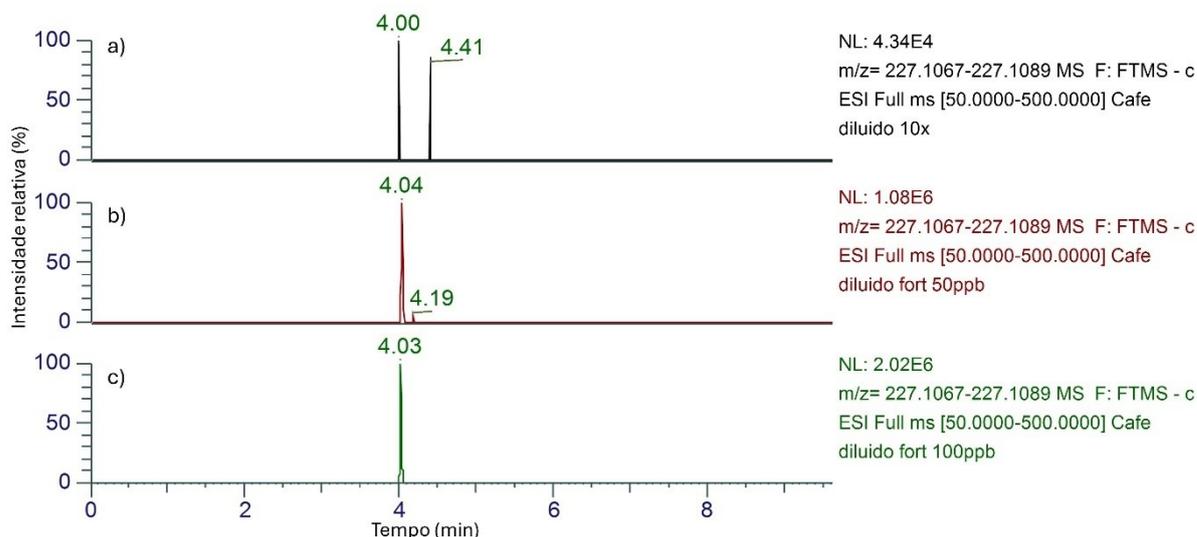


## 4.2 Desenvolvimento do procedimento de extração

Tendo em perspectiva a realização de análises abrangentes, que possibilitassem a detecção de diversas classes de plastificantes, idealizou-se um preparo de amostras simplificado, de modo a preservar as características das amostras, porém que fosse capaz de extrair o bisfenol A. Para tanto, inicialmente, foi avaliado o desempenho da simples diluição do café em água (1:10 v/v). Com o intuito de confirmar que um possível pico cromatográfico observado é de fato referente ao BPA, fortificaram-se amostras com solução padrão em dois níveis de concentração, sendo eles 0,05 e 0,10 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Tendo em vista que os testes foram realizados com o método BPA\_Oficial, pode-se considerar que o procedimento proposto se mostrou eficiente, uma vez que obtiveram-se picos no tempo de retenção referente ao do BPA com resolução e intensidade de sinal adequadas, conforme se observa nos cromatogramas apresentados na Figura 6. Porém, pela análise de soluções padrão, feitas em dias diferentes com o intuito de monitorar o bom desempenho do método instrumental, observaram-se variações no tempo de retenção do composto, indicando, assim, uma provável diminuição na eficiência da coluna cromatográfica. Por tratar-se de uma matriz extremamente complexa e visando uma melhor conservação da coluna cromatográfica e eliminação de possíveis interferências na ionização do composto, como por exemplo supressão de sinal, optou-se por realizar um preparo de amostra mais elaborado, de modo que os extratos gerados fossem mais limpos em comparação ao café diluído.

**Figura 6 - Cromatogramas de íon extraído ( $m/z$  227,1078) obtidos para amostras de café a) diluído b) diluído e fortificado no nível de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  e c) diluído e fortificado no nível de  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ .**

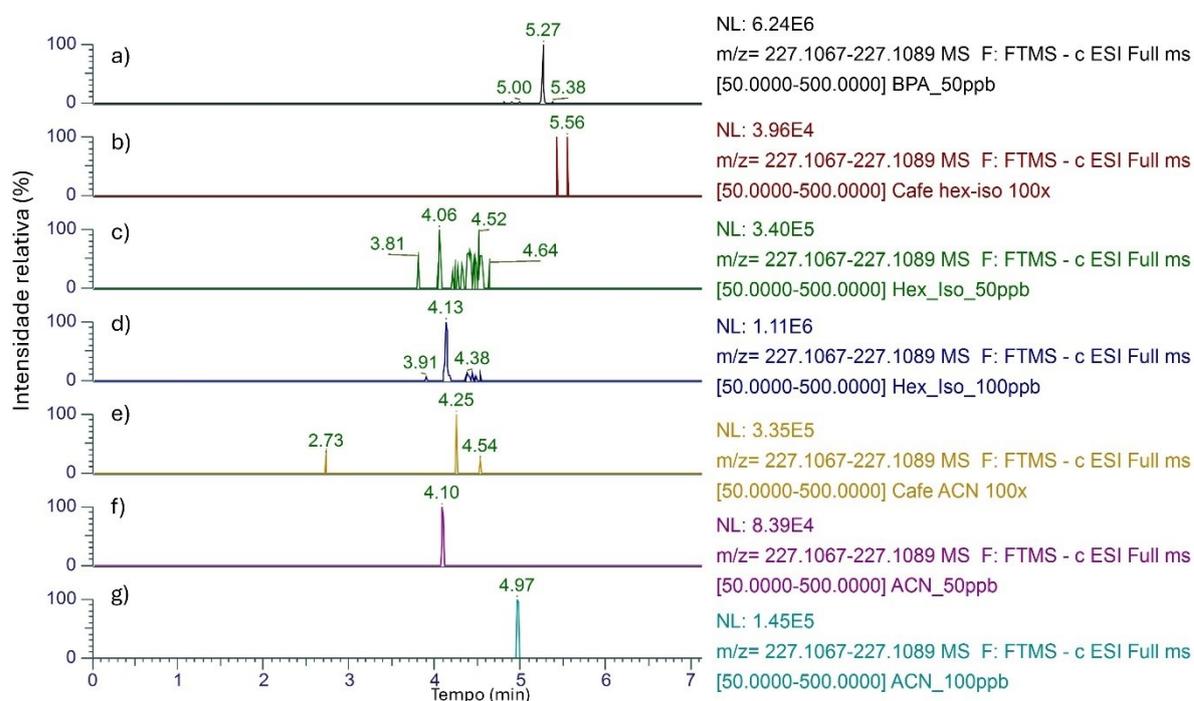


O primeiro procedimento de extração testado consistiu na adição de 7,5 mL de solução contendo três partes de hexano e duas partes de isopropanol a 2,0 mL de café. Em seguida, procedeu-se com agitação em vórtex por 1 minuto, com consequente repouso em banho de gelo até a ocorrência da separação de fases. O extrato foi pré-concentrado em um fator de 100, utilizando-se concentrador rotativo à vácuo RVC 2-33 CDplus (Christ, Alemanha), no qual 5 mL de extrato foi seco e ressuspendido em 50  $\mu\text{L}$  de metanol.<sup>92</sup> Concomitantemente, avaliou-se a extração com acetonitrila, cujo procedimento consistiu na diluição de 5,0 mL de café em 5,0 mL de acetonitrila contendo 40% (v/v) de água ultrapura. A essa mistura, adicionou-se 5,0 mL de acetonitrila, e agitou-se em vórtex por 1 minuto. Em seguida, centrifugou-se por 10 minutos a 2500 rpm. A fase aquosa foi descartada, e ao sólido residual foram adicionados 5,0 mL de acetonitrila, com posterior secagem e ressuspensão em 50  $\mu\text{L}$  de metanol.<sup>36</sup> Em ambos os procedimentos testados, avaliaram-se também amostras fortificadas antes da extração em dois níveis de concentração, conforme explicado anteriormente.

Conforme é apresentado na Figura 7, verifica-se que ambos os procedimentos propostos não foram eficientes para a extração de bisfenol em café, dada a ausência de pico com boa definição no tempo de retenção do analito, com intensidade de sinal

mínima requerida. Observa-se também um aumento no tempo de retenção referente ao BPA, resultado da diminuição da eficiência da coluna cromatográfica, conforme anteriormente discutido.

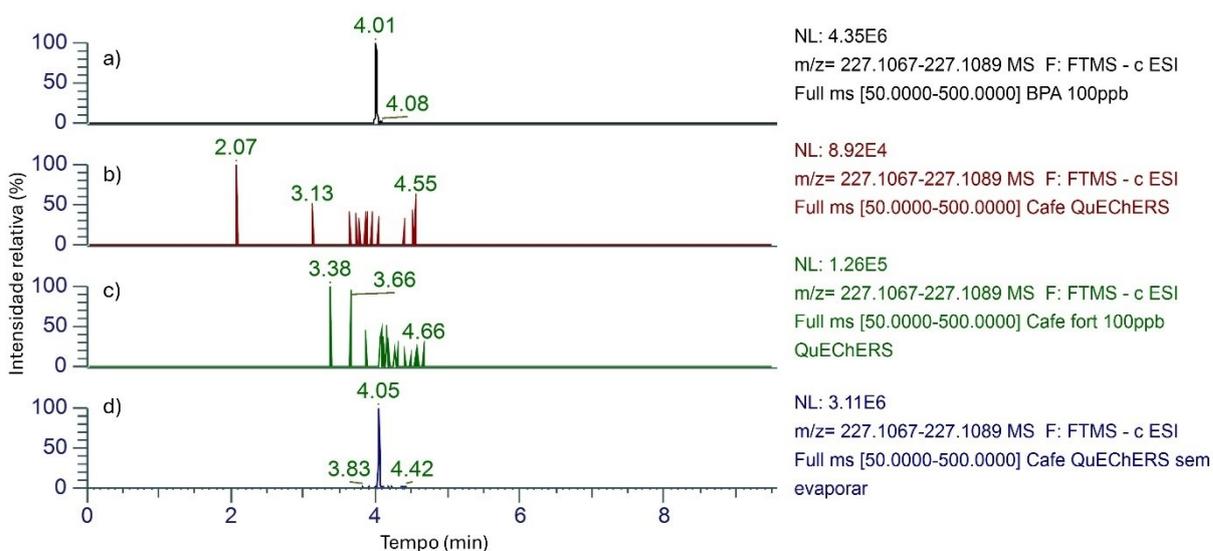
**Figura 7 - Cromatogramas de íon extraído para extratos feitos com solução padrão de bisfenol A 0,05 mg L<sup>-1</sup> (a); café submetido a extração com mistura de hexano e isopropanol sem fortificação (b) e fortificado com bisfenol A no nível de 0,05 mg L<sup>-1</sup> (c); café submetido a extração com mistura de hexano e isopropanol e fortificado no nível de 0,10 mg L<sup>-1</sup> (d); café submetido a extração com acetonitrila sem fortificação (e) e fortificado nos níveis de 0,05 mg L<sup>-1</sup> (f) e 0,10 mg L<sup>-1</sup> (g).**



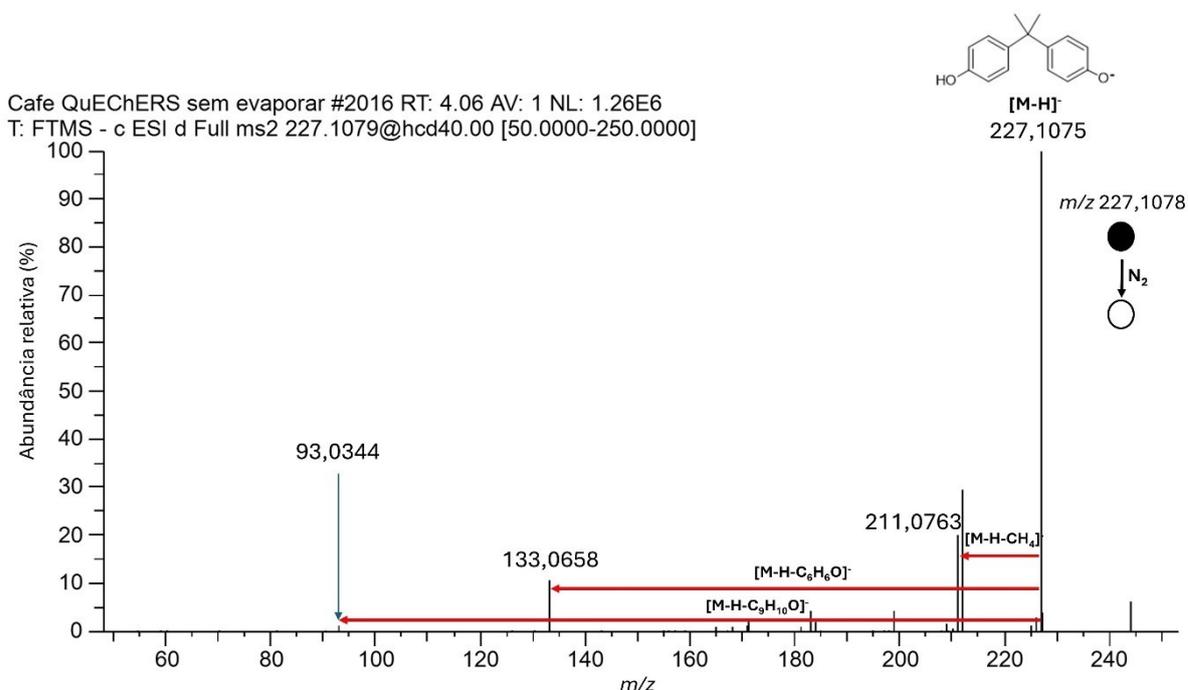
Revisando-se a literatura, verificou-se a utilização do método QuEChERS para a extração de bisfenol A em diferentes matrizes alimentícias.<sup>71,72,93,94</sup> Portanto, optou-se por avaliar a aplicação desse método, seguindo procedimento anteriormente descrito. A princípio, o método de extração contava com uma etapa adicional, na qual, por meio de evaporação do solvente em concentrador rotativo à vácuo, a amostra era pré-concentrada em um fator de 100. Para esses testes, além da amostra de café submetida ao procedimento de extração, analisou-se ainda uma amostra de café fortificada antes da extração no nível de concentração de 0,10 mg L<sup>-1</sup> e uma amostra de café submetida à extração, porém que não foi pré-concentrada.

Os dados indicaram que a etapa de pré-concentração não apresentou resultados satisfatórios, uma vez que foram observados vários picos não separados na região do tempo de retenção do bisfenol A, conforme mostrado na Figura 8. Em contrapartida, o extrato de café que não foi submetido a pré-concentração apresentou um pico bem definido e com intensidade de sinal adequada, além de apresentar um espectro de massas  $MS^2$  com o exato perfil de fragmentação do bisfenol A, como observa-se na Figura 9. Portanto, a pré-concentração não foi incorporada ao método de extração, e testes adicionais foram realizados para confirmar a eficácia do procedimento proposto.

**Figura 8 - Cromatogramas de íon extraído para a) solução padrão de BPA 0,10 mg L<sup>-1</sup>, b) extrato de café pelo método QuEChERS, c) extrato de café fortificado no nível de 0,1 mg L<sup>-1</sup> pelo método QuEChERS, d) extrato de café pelo método QuEChERS sem pré-concentração.**



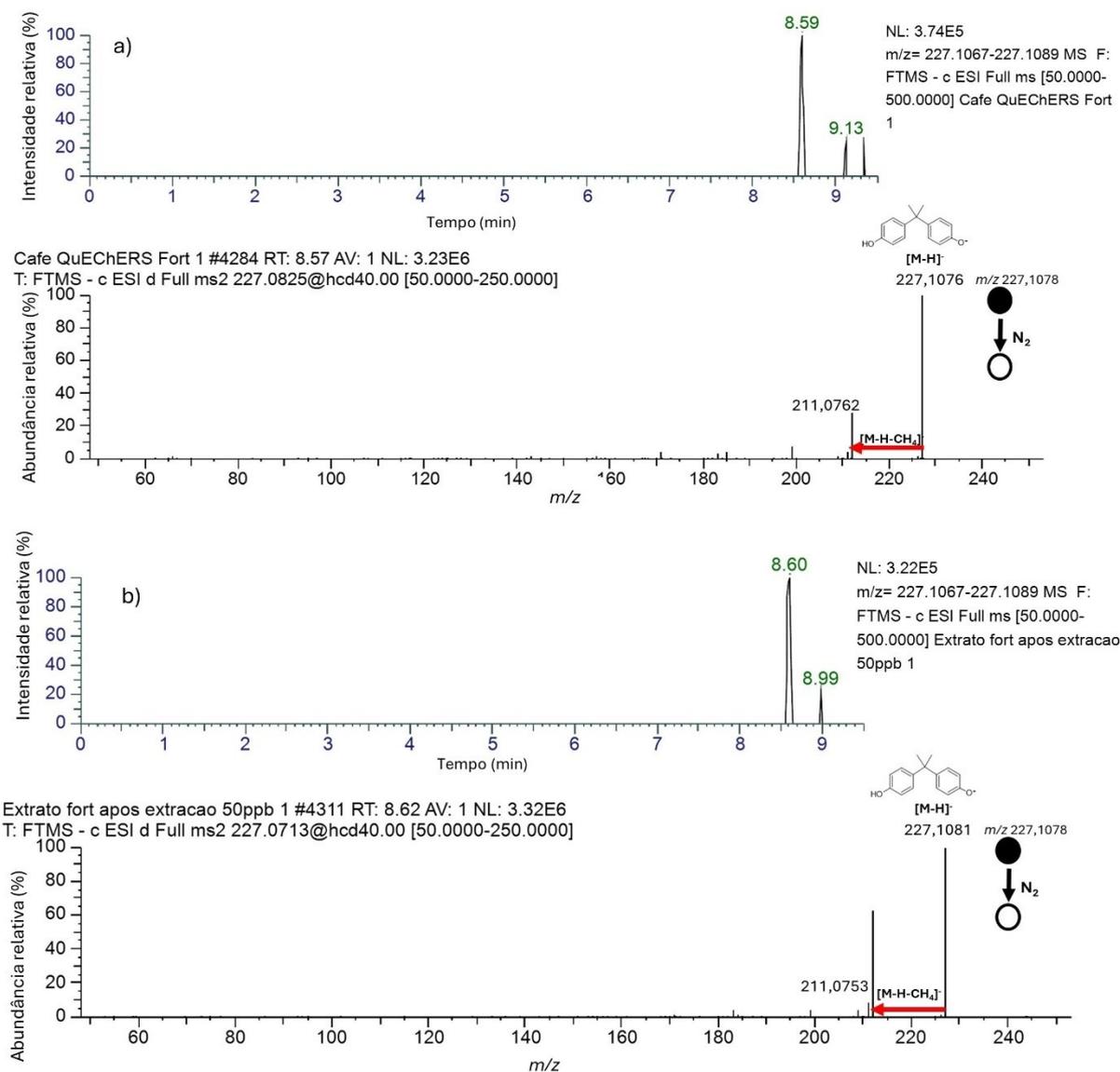
**Figura 9 - Espectro de fragmentação do íon de  $m/z$  227,1078 obtido para extrato de café QuEChERS sem pré-concentração.**



Os testes subsequentes foram realizados com o método adaptado para a utilização da coluna cromatográfica Kinetex F5, portanto considera-se que o tempo de retenção relativo ao bisfenol A é de 8,60 minutos.

Para confirmar a eficácia do método proposto, foram analisadas duplicatas dos extratos de café fortificados, antes e após a extração, no nível de 0,05 mg L<sup>-1</sup>. Observou-se um comportamento semelhante para todas as amostras, e conforme apresentado na Figura 10, verifica-se a presença de pico bem definido e com boa intensidade de sinal no tempo de retenção do composto. Além disso, o fragmento com  $m/z$  221,0759 foi observado nos espectros com intensidade de sinal significativa.

**Figura 10 - Cromatograma de íon extraído e espectro de fragmentação para a) extrato de café QuEChERS fortificado antes da extração no nível de 0,05 mg L<sup>-1</sup> b) extrato de café QuEChERS fortificado após a extração no nível de 0,05 mg L<sup>-1</sup>.**



Pela comparação das intensidades dos sinais obtidas para as replicatas dos extratos fortificados antes e após o procedimento de extração foi possível verificar que a matriz, mesmo sendo muito complexa, não interfere no processo analítico de modo a afetar a resposta instrumental relacionada ao bisfenol A. Na Tabela 7, são apresentadas as intensidades obtidas para os extratos.

**Tabela 7 - Intensidades de sinal obtido para os cromatogramas de íon extraído para os extratos de café fortificados.**

<b>Amostra</b>	<b>Intensidade de sinal</b>
Extrato de café fortificado antes da extração replicata 1	3,74E+05
Extrato de café fortificado antes da extração replicata 2	3,11E+05
Extrato de café fortificado após a extração replicata 1	3,22E+05
Extrato de café fortificado após a extração replicata 2	2,54E+05

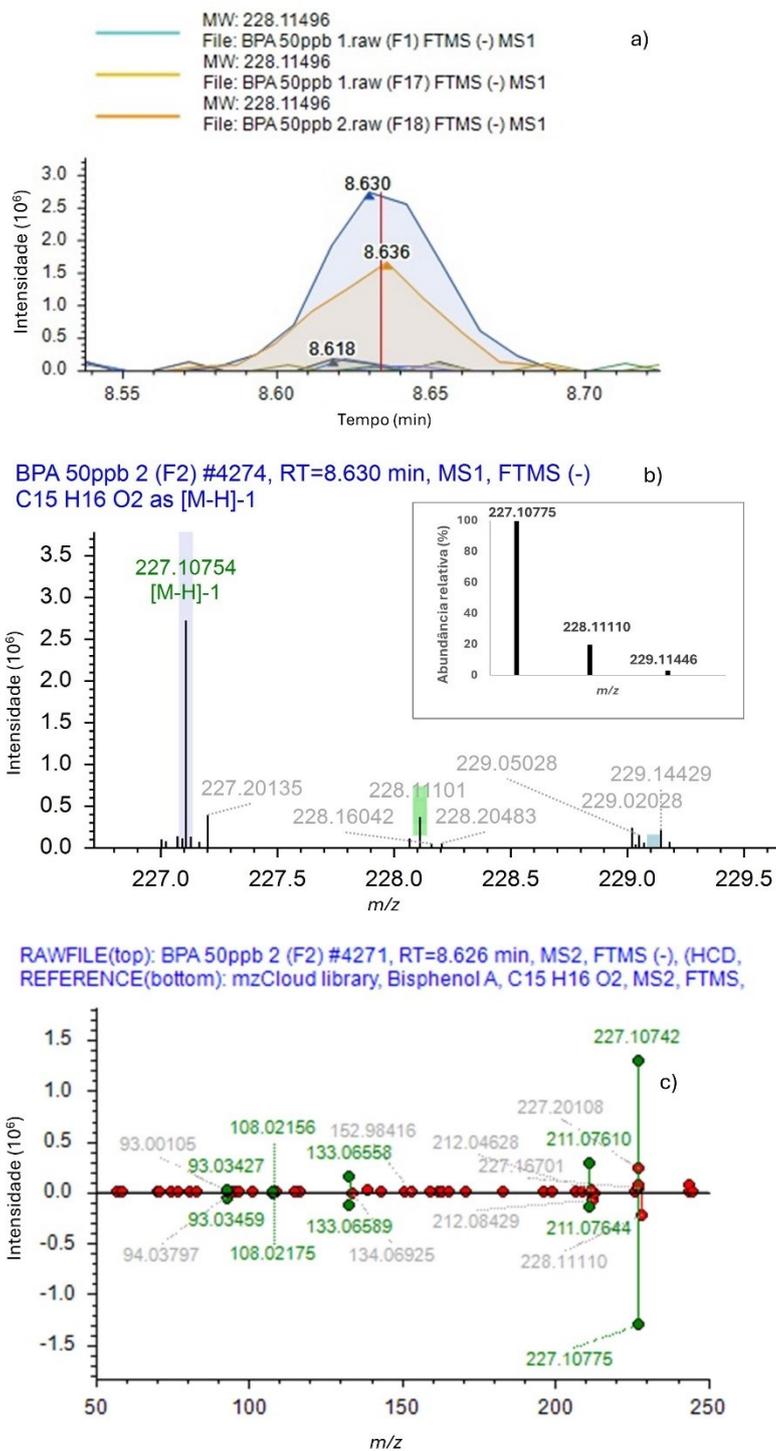
Dessa forma, tem-se que o método QuEChERS desenvolvido é eficaz para a extração de BPA em café, uma vez que não houve perdas consideráveis desse analito no decorrer do preparo da amostra.

### **4.3 Análise das amostras de café**

#### **4.3.1 Bisfenol A e análogos**

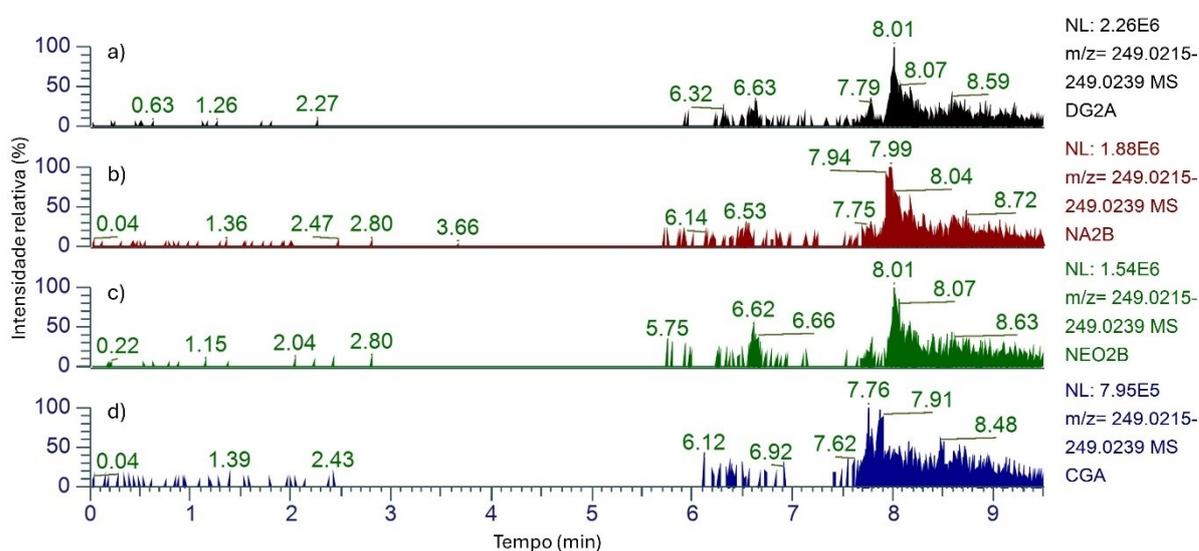
Com o método desenvolvido não foi possível detectar bisfenol A em nenhuma das amostras de café avaliadas. A ausência desse composto nas amostras foi observada pelas duas abordagens adotadas. A identificação do composto pelo software *Compound Discoverer* foi realizada, obtendo-se cromatogramas de íons extraídos para  $m/z$  227,10769 com a presença de picos bem definidos no tempo de retenção de 8,63 minutos e com intensidade de sinal superior a  $1,0 \times 10^6$ , além da distribuição isotópica condizente com a teórica e espectro de massas  $MS^2$  contendo os fragmentos característicos, conforme mostrado na Figura 11. É importante ressaltar que o sinal analítico foi observado apenas nas amostras de solução padrão de BPA, analisada na mesma sequência analítica que as amostras de café no nível de concentração de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ .

Figura 11 - Dados gerados pelo *Compound Discoverer* para o BPA: a) cromatograma de íon extraído para  $m/z$  227,10769 b) espectro de massas contendo os isótopos mais abundantes e c) espectro de fragmentação do composto.



Dentre todos os compostos análogos ao bisfenol avaliados, observou-se indicativos da presença apenas do bisfenol S. Percebeu-se em todas as amostras um comportamento semelhante, obtendo-se cromatogramas de íon extraído para o  $m/z$  249,0227 com a presença de pico sem boa resolução e formato, mas com intensidade de sinal superior à mínima estabelecida como aceitável, no tempo de retenção próximo a 8,01 minutos, como mostrado na Figura 12.

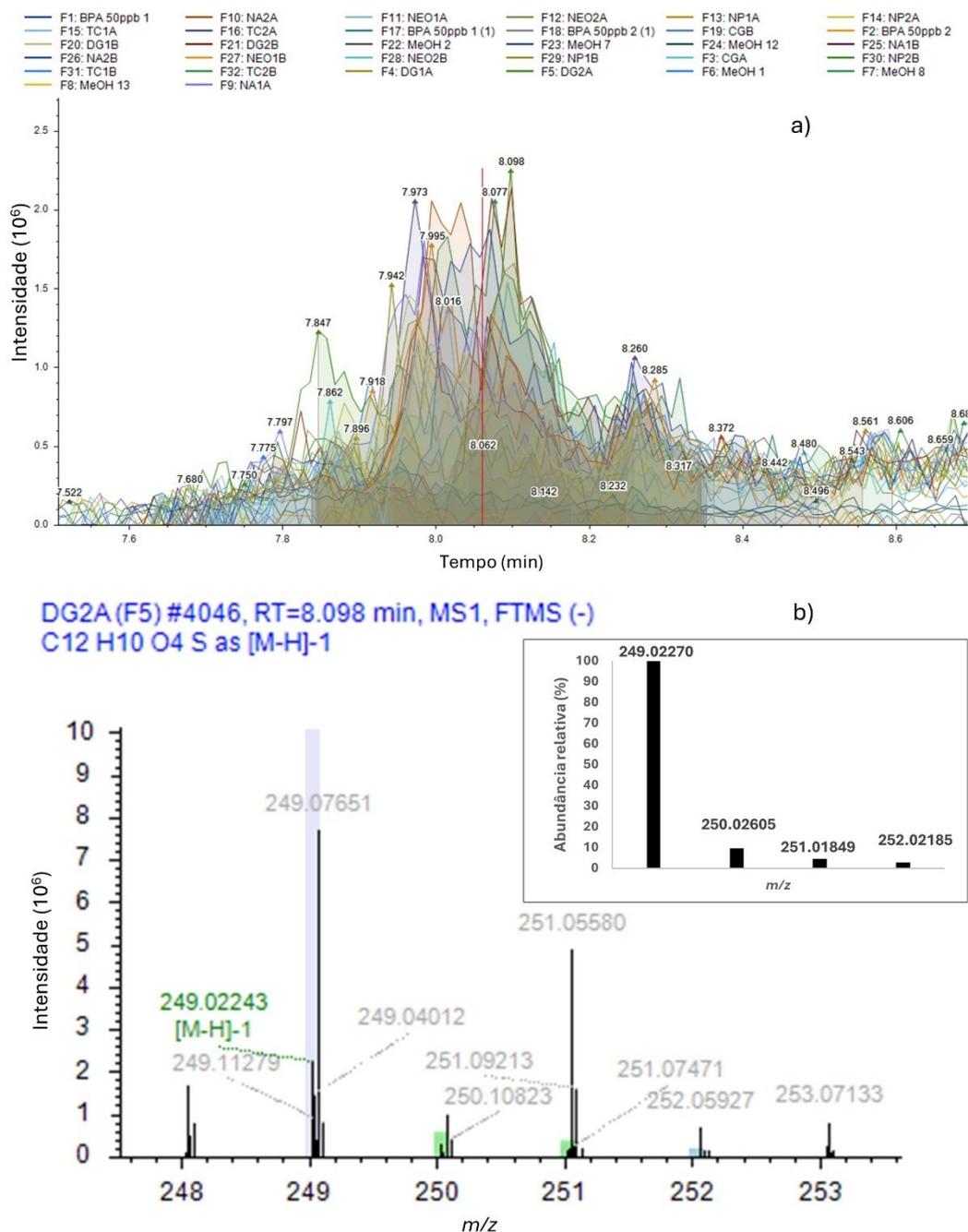
**Figura 12 - Cromatogramas de íon extraído ( $m/z$  249,0227 ) para o BPS para: a) amostra DG2A de café de cápsula de plástico, b) amostra NA2B de café de cápsula de alumínio, c) amostra NEO2B de café de cápsula de papel compostável e d) amostra de café em grão CGA.**



Além disso, nos espectros de fragmentação, nota-se, mesmo em pequenas intensidades, a presença do fragmento de  $m/z$  108,02113, sempre com erro de massa inferior a 5 ppm. A identificação realizada utilizando o *Compound Discoverer* forneceu cromatogramas de íons extraídos sem boa definição e com tempo de retenção de 8,06 minutos, apresentando um comportamento semelhante ao dos cromatogramas extraídos individualmente para o  $m/z$  249,0227 (Figura 12). Ademais, obteve-se o espectro de distribuição isotópica, com a correta identificação de dois dos isótopos mais abundantes, conforme apresentado na Figura 13. Assim sendo, tem-se evidências suficientes para considerar que há presença do composto nas amostras de café. A presença de BPS em diversos alimentos também foi identificada em

trabalhos recentes.<sup>32,33,39,40,45</sup> Entretanto, não foram encontrados estudos que identificaram a presença de bisfenol S em café.

**Figura 13 - Dados processados no *Compound Discoverer* para o BPS: a) cromatograma de íon extraído para  $m/z$  249,0227 e b) espectro de massas contendo os isótopos mais abundantes.**



### 4.3.2 Outros plastificantes

Na busca abrangente por outros plastificantes, foi possível realizar a identificação de outros dez compostos, além dos bisfenóis, nas amostras de café estudadas. Dentre os compostos identificados, tem-se a presença do monobutil ftalato. Ftalatos são um grupo de compostos amplamente empregados como plastificantes, agregando flexibilidade aos produtos, e assim como relatado para os bisfenóis, apresentam efeitos adversos à saúde humana.<sup>95</sup>

Além disso, identificou-se a presença de ácidos graxos, como os ácidos valérico e levúlnico. Sabe-se que ácidos graxos podem ser utilizados como plastificantes, desempenhando a função de estabilizantes térmicos.<sup>96</sup> Apesar de o café conter naturalmente ácidos graxos em sua composição, os respectivos ácidos identificados não são relatados como constituintes do café, de modo que não seria esperada a sua presença.<sup>97,98</sup>

Outros compostos como acrilato, citrato e ácidos orgânicos foram identificados, e estão relacionados no Quadro 2. Os dados gerados pelo *Compound Discoverer* para os compostos estão dispostos no Apêndice A. A utilização de métodos de triagem para monitorar a migração de compostos das embalagens para os alimentos tem se tornado comum, devido à grande variedade de compostos usados na fabricação de embalagens alimentícias.<sup>99,100</sup> Stevens *et al.*, por exemplo, confirmaram a migração de diversos compostos provenientes de diferentes embalagens de alimentos, que além de serem plastificantes, são também considerados disruptores endócrino e metabólicos.<sup>101</sup>

**Quadro 2 - Compostos identificados pelo software *Compound Discoverer*.**

<b>Composto</b>	<b>Amostras onde foi identificado</b>	<b>Aplicações</b>	<b>Ref.</b>
2,3-Epoxy-1-propanol	Em todas as amostras de café	Usado como intermediário de polímeros, em especial do vinil polimérico.	102

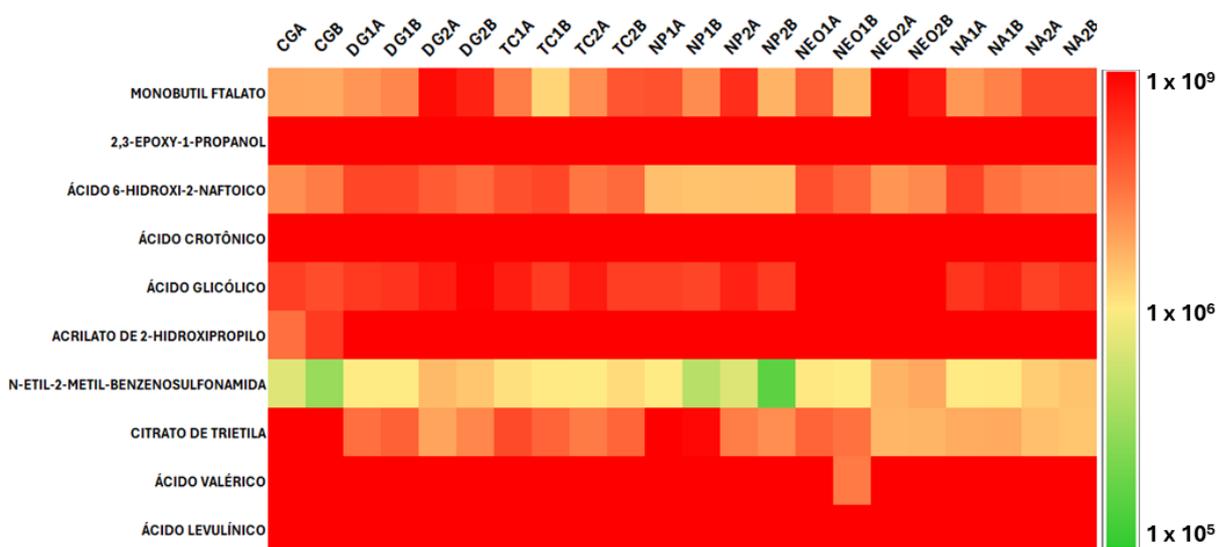
Quadro 2 - Continuação

<b>Composto</b>	<b>Amostras onde foi identificado</b>	<b>Aplicações</b>	<b>Ref.</b>
Ácido 6-hidroxi-2-naftoico	DG1A, DG1B, DG2A, DG2B, TC1A, TC1B, TC2A, TC2B, NP2A, NA1A, NA1B, NA2A, NA2B, NEO1A, NEO2A, NEO2B, CGA e CGB	Usado para copolimerização	103
Ácido crotônico	Em todas as amostras de café, exceto NEO1B	Usado como intermediário de polímeros.	104
Ácido glicólico	Em todas as amostras de café	Usado como intermediário na produção de polímeros biodegradáveis (ex. PLGA).	105
Ácido levulínico	Em todas as amostras de café	Usado como intermediário de polímeros.	96
Ácido valérico	Em todas as amostras de café, exceto NA1B e NEO1B	Usado como intermediário de polímeros.	96
Acrilato de 2-hidroxi-propilo	DG2A, NA2A, NEO2A, NP2A, TC1A, CGB, DG1B, DG2B, NEO2B, NP2B e TC2B	Usado como intermediário de polímeros.	106
Citrato de trietila	Em todas as amostras de café, exceto NP2B	Usado como intermediário na fabricação de acetato de vinila, resinas, policloreto de vinila, entre outros.	107
Monobutil ftalato	CGA, DG2A, NA1A, NA2A, NEO1A, NEO2A, NP1A, NP2A, TC1A, TC2A, DG1B, DG2B, NA1B, NA2B, NEO1B, NEO2B, NP1B, TC1B E TC2B	Embalagens plásticas, tintas, adesivos, selantes, revestimentos de fios.	96
N-etil-2-metil-benzenosulfonamida	DG2A, NEO2A, DG2B, NA2B e NEO2B	Usado como plastificante para polímeros de poliamidas	108

Conforme mostrado na Figura 14, detectaram-se compostos plastificantes em intensidades de sinal elevada em todos os tipos de cafés avaliados. É factível que o café entre em contato com resíduos plastificantes durante o seu beneficiamento, uma

vez que artefatos plásticos estão presentes nas mais diversas atividades humanas. Além disso, observou-se que mesmo as cápsulas de papel compostável e de alumínio possuem revestimentos em seus corpos e material selante em seus lacres, que podem conter plastificantes em sua composição.

**Figura 14 - Mapa de calor da intensidade dos plastificantes identificados nas amostras de café.**



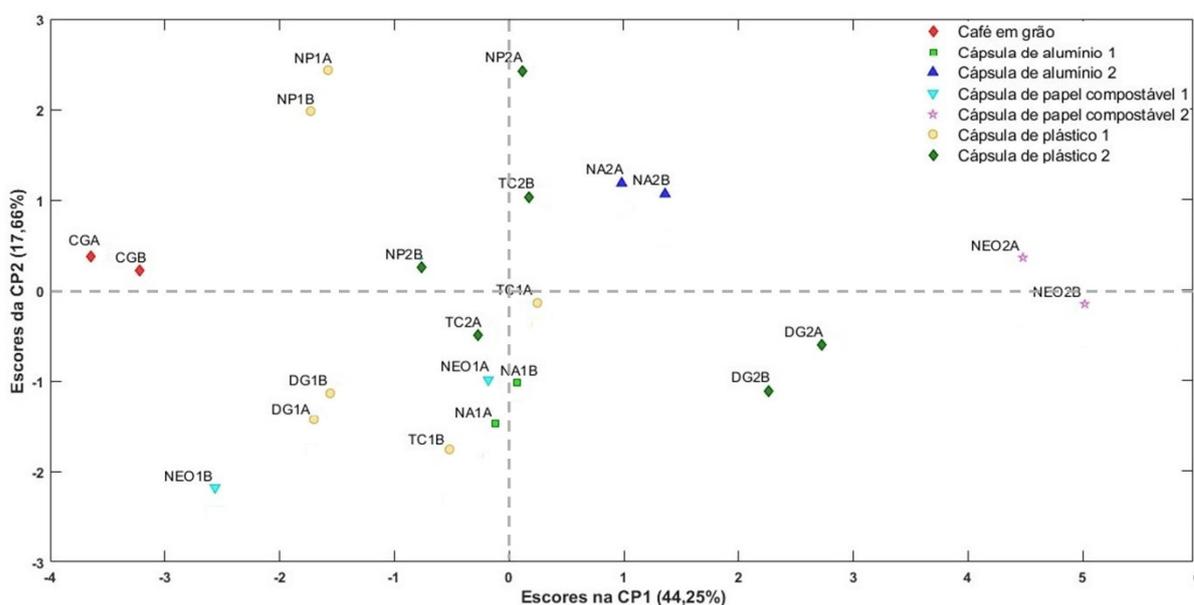
#### 4.4 Análise estatística

Visando verificar se o tipo de material da cápsula influencia na liberação de plastificantes na bebida, realizou-se uma análise exploratória por meio da construção de um modelo PCA. O modelo gerado com duas componentes principais foi capaz de explicar 61,91% da variância total dos dados, sendo 44,25% da variância explicada pela CP1 e 17,66% da variância explicada na CP2. É importante destacar que não foi observada a presença de amostras anômalas.

Na Figura 15 é apresentado o gráfico de escores para CP1 *versus* CP2, no qual observou-se a tendência de formação de um agrupamento localizado na parte negativa da CP1 e positiva da CP2, composto pelos cafés preparados na cafeteira ND40 utilizando-se cápsulas de plásticos na menor intensidade de torra (NP1A e

NP1B). Verificou-se ainda três pequenos agrupamentos, sendo dois deles formados por cafés de maiores intensidades e feitos nas seguintes cafeteiras: NEO utilizando cápsulas de papel biocompostável (NEO2A e NEO2B); e DG utilizando cápsulas de plástico (DG2A e DG2B). Verificou-se ainda uma tendência de agrupamento para os cafés em grãos (CGA e CGB). De maneira geral, não foi possível realizar a discriminação dos cafés pelo tipo de cápsula.

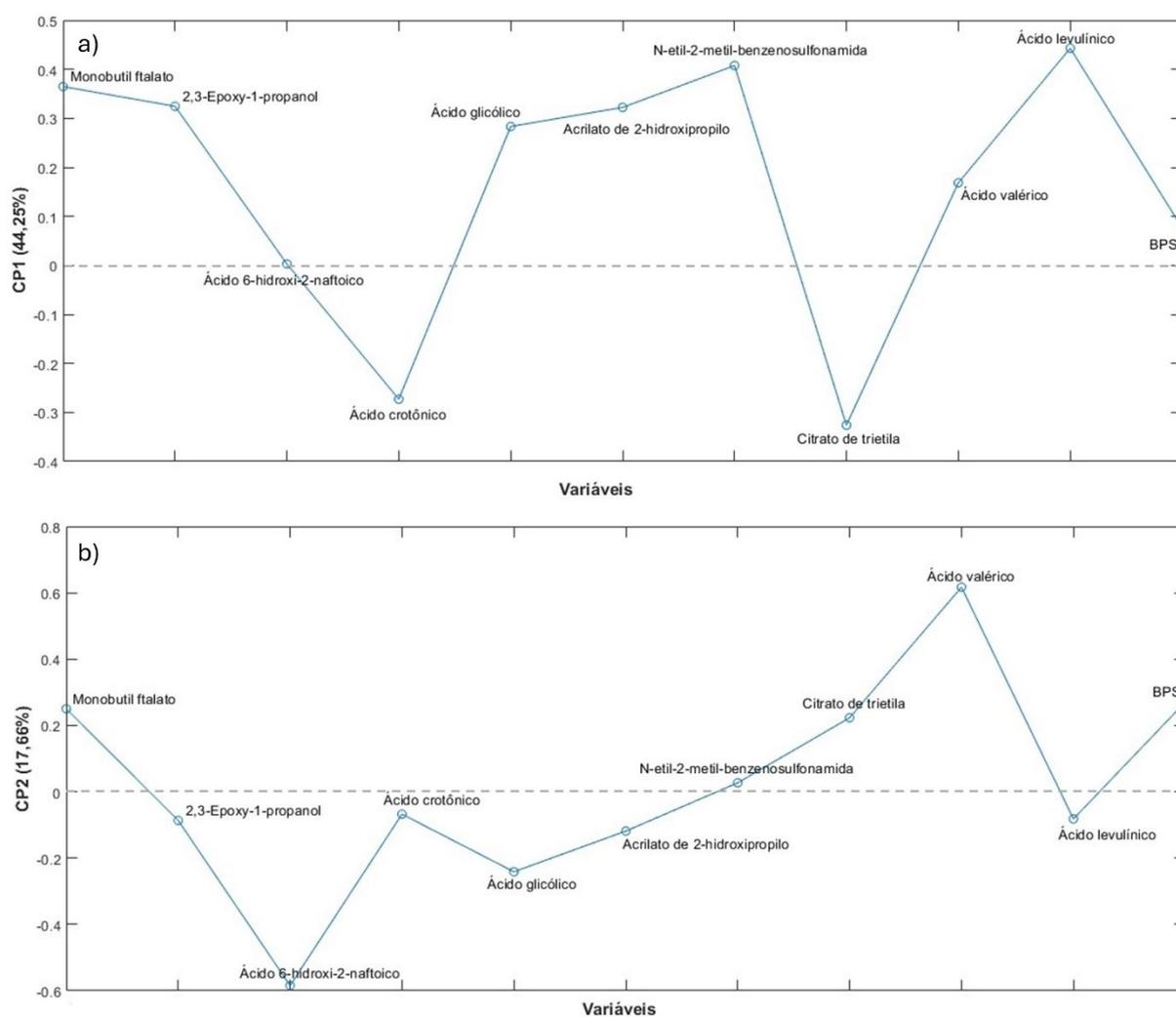
**Figura 15 - Escores nas primeiras componentes principais (CP1 e CP2) para as amostras de café.**



Pelo gráfico de pesos, é possível avaliar como cada variável contribuiu para o posicionamento das amostras nas componentes principais. Assim, conforme é apresentado na Figura 16, verifica-se que o lado positivo da CP1 é influenciado pelo ácido levulínico e N-etil-2-metil-benzenosulfonamida, enquanto o lado negativo é influenciado principalmente pelo citrato de trietila e ácido crotônico. Portanto, as amostras posicionadas no lado negativo da CP1 possuem altos valores de citrato de trietila e de ácido crotônico, e baixos valores de ácido levulínico e de N-etil-2-metil-benzenosulfonamida, como pode ser observado nas amostras de café em grão (CGA e CGB). As amostras no lado positivo da CP1 têm altos valores de ácido levulínico e N-etil-2-metil-benzenosulfonamida.

Já o lado positivo da CP2 é fortemente influenciado pelo ácido valérico, de modo que as amostras localizadas nesse lado possuem altos valores desse composto. Enquanto o ácido 6-hidroxi-2-naftoico influencia o lado negativo, consequentemente, amostras posicionadas no lado negativo da CP2 apresentam altos valores desse composto.

**Figura 16 - Pesos nas primeiras componentes principais para as amostras de café. (a) CP 1; (b) CP 2.**



## 5 CONCLUSÕES

A utilização de um procedimento de extração adaptado do método QuEChERS, combinado a utilização de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução, permitiu avaliar que a migração de bisfenol A e da maioria de seus análogos ocorre em extensão insignificante durante o preparo de café em cápsulas, quando se considera o LME adotado pela legislação brasileira. Em contrapartida, a presença de bisfenol S e diversos outros compostos plastificantes foi detectada.

Pela PCA, verificou-se que o tipo de cápsulas no qual o café é armazenado não é fator estritamente determinante para a identificação de plastificantes na bebida, já que esses compostos foram identificados até mesmo em cápsulas de alumínio e papel compostável, bem como nos cafés em grãos. Esses compostos podem ser provenientes de diversas fontes, como as próprias cafeteiras, o contato do café com plásticos ao longo da sua cadeia produtiva ou até mesmo da presença de plastificantes em revestimentos utilizados na fabricação de cápsulas de outros materiais.

Como perspectivas futuras, pode-se desenvolver um estudo visando avaliar a migração de bisfenóis e plastificantes provenientes das cafeteiras, uma vez que elas possuem componentes plásticos em suas estruturas. Ademais, pode-se realizar análise de triagem de plastificantes também no modo positivo, além de fazer a análise quantitativa para todos os compostos plastificantes identificados, verificando-se se os limites estabelecidos na legislação estão sendo ultrapassados. Além disso, pode-se fazer uma avaliação mais criteriosa, utilizando-se padrão analítico de bisfenol S, de modo a obter a confirmação sobre a presença do composto nas amostras.

## REFERÊNCIAS

1. CONAB. *Acompanhamento Da Safra Brasileira de Café Safra 2023 1º Levantamento*. (2023).
2. USDA. *United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service Mexico's Production Recovering from Coffee Leaf Rust*.  
<https://public.govdelivery.com/accounts/USDAFAS/subscriber/new> (2023).
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Indicadores da Indústria de Café | 2022. Disponível em:  
<https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2022/>. Acesso em: 20 set. 2023.
4. Samoggia, A. & Riedel, B. Coffee consumption and purchasing behavior review: Insights for further research. **Appetite** vol. 129 70–81 (2018).
5. Gandia, R. M., Sugano, J. Y., de Barros Vilas Boas, L. H. & Mesquita, D. L. Beverage capsule consumption: a laddering study. **British Food Journal** vol.120, 1250–1263 (2018).
6. Marinello, S., Balugani, E. & Gamberini, R. Coffee capsule impacts and recovery techniques: A literature review. **Packaging Technology and Science** v. 34, n. 11-12, p. 665–682, 16 set. 2021.
7. Domingues, M. L. B., Bocca, J. R., Fávaro, S. L. & Radovanovic, E. Disposable coffee capsules as a source of recycled polypropylene. **Polimeros**, v. 30, n. 1, 2020.
8. de Bomfim, A. S. C. *et al.* Effect of different degradation types on properties of plastic waste obtained from espresso coffee capsules. **Waste Management** v. 83, 123–130 (2019).
9. Bernardo, P. E. M. *et al.* Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade-Uma Revisão Bisphenol A: Review on its use in the

- food packaging, exposure and toxicity. **Instituto Adolfo Lutz** v. 74, 1–11 (2015).
10. Windisch, J., Keppler, B. K. & Jirsa, F. Aluminum in Coffee. **ACS Omega** v. 5, 15335–15343 (2020).
  11. Khalili Sadrabad, E. *et al.* Bisphenol A release from food and beverage containers – A review. **Food Science and Nutrition** v. 11 3718-3728 (2023).
  12. Vilarinho, F., Sendón, R., van der Kellen, A., Vaz, M. F. & Silva, A. S. Bisphenol A in food as a result of its migration from food packaging. **Trends in Food Science and Technology** vol. 91 33–65 (2019).
  13. Di Bella, G., Potorti, A. G., Lo Turco, V., Saitta, M. & Dugo, G. Plasticizer residues by HRGC-MS in espresso coffees from capsules, pods and moka pots. **Food Control** v. 41, 185–192 (2014).
  14. Sakaki, J. R., Melough, M. M., Provatas, A. A., Perkins, C. & Chun, O. K. Evaluation of estrogenic chemicals in capsule and French press coffee using ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Toxicol Rep** v.7, 1020–1024 (2020).
  15. Ballesteros-Gómez, A., Rubio, S. & Pérez-Bendito, D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. **Journal of Chromatography A** vol. 1216 449–469 (2009).
  16. Yang, C. Z., Yaniger, S. I., Jordan, V. C., Klein, D. J. & Bittner, G. D. Most plastic products release estrogenic chemicals: A potential health problem that can be solved. **Environ Health Perspect** v. 119, 989–996 (2011).
  17. Krishnan, A. V, Stathis, P., Permuth, S. F., Tokes, L. & Feldman, D. *Bisphenol-A: An Estrogenic Substance Is Released from Polycarbonate Flasks during Autoclaving\**. **Endocrinology** v. 132, 2279-2286 (1993).
  18. Muhamad, M. S., Salim, M. R., Lau, W. J. & Yusop, Z. A review on bisphenol A occurrences, health effects and treatment process via membrane technology

- for drinking water. **Environmental Science and Pollution Research** v. 23, 11549–11567 (2016).
19. Rochester, J. R. Bisphenol A and human health: A review of the literature. **Reproductive Toxicology** vol. 42 132–155 (2013).
  20. Fasano, E. & Cirillo, T. Plasticizers and Bisphenol as Food Contaminants: Sources and Human Risk. **Curr Anal Chem** v. 14, 296–305 (2018).
  21. Ziv-Gal, A. & Flaws, J. A. Evidence for bisphenol A-induced female infertility: a review (2007–2016). **Fertility and Sterility** v. 106, n. 4, p. 827–856, 15 set. 2016.
  22. Tarafdar, A. *et al.* The hazardous threat of Bisphenol A: Toxicity, detection and remediation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 423, p. 127097, 5 fev. 2022.
  23. Presunto, M., Mariana, M., Lorigo, M. & Cairrao, E. The Effects of Bisphenol A on Human Male Infertility: A Review of Current Epidemiological Studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12417–12417, 4 ago. 2023.
  24. vom Saal, F. S. & Hughes, C. An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 8, p. 926–933, ago. 2005.
  25. Wang, Z., Liu, H. & Liu, S. Low-Dose Bisphenol A Exposure: A Seemingly Instigating Carcinogenic Effect on Breast Cancer. **Advanced Science**, v. 4, n. 2, 21 nov. 2016.
  26. Tran, H. T. T., Herz, C. & Lamy, E. Long-term exposure to “low-dose” bisphenol A decreases mitochondrial DNA copy number, and accelerates telomere shortening in human CD8 + T cells. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 25 set. 2020.
  27. Teeguarden, J. G. & Hanson-Drury, S. A systematic review of Bisphenol A ‘low dose’ studies in the context of human exposure: A case for establishing

- standards for reporting 'low-dose' effects of chemicals. **Food and Chemical Toxicology** v. 62 935–948 (2013).
28. Nesan, D. et al. Gestational low-dose BPA exposure impacts suprachiasmatic nucleus neurogenesis and circadian activity with transgenerational effects. **Science Advances**, v. 7, n. 22, p. eabd1159, 28 maio 2021.
  29. Ottawa, C. *Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A Report of Joint FAO/WHO Expert Meeting and Report of Stakeholder Meeting on Bisphenol A Food and Agriculture Organization of the United Nations*. www.who.int.
  30. Russo, G. et al. Occurrence of Bisphenol A and its analogues in some foodstuff marketed in Europe. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, p. 110575, set. 2019.
  31. Dong, H., Zeng, X. & Bai, W. Solid phase extraction with high polarity Carb/PSA as composite fillers prior to UPLC-MS/MS to determine six bisphenols and alkylphenols in trace level hotpot seasoning. **Food Chem** v. 258, 206–213 (2018).
  32. Toptancı, İ. Risk assessment of bisphenol related compounds in canned convenience foods, olives, olive oil, and canned soft drinks in Turkey. **Environmental Science and Pollution Research** v. 30, 54177–54192 (2023).
  33. Schiano, M. E. *et al.* Quantitative Determination of Bisphenol A and Its Congeners in Plant-Based Beverages by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. **Foods**, v. 11, n. 23, p. 3853–3853, 29 nov. 2022.
  34. Wang, D.-X. *et al.* Salting-Out Assisted Liquid-Liquid Extraction Coupled to Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Determination of Bisphenol A and Six Analogs (B, E, F, S, BADGE, BFDGE) in Canned Coffee Drinks by Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Food Anal Methods** v. 14, 441–452 (2021).

35. Wang, J. *et al.* Simultaneous determination of nine bisphenol migrations in products related to sanitary and safety of drinking water by auto-solid phase extraction and ultra-performance liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detector. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 3, 24 fev. 2020.
36. Lim, D. S., Kwack, S. J., Kim, K. B., Kim, H. S. & Lee, B. M. Risk assessment of bisphenol a migrated from canned foods in Korea. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues** v. 72, 1327–1335 (2009).
37. Khedr, A. Optimized extraction method for LC-MS determination of bisphenol A, melamine and di(2-ethylhexyl) phthalate in selected soft drinks, syringes, and milk powder. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci** v. 930, 98–103 (2013).
38. Lestido-Cardama, A. *et al.* Multi-analyte method for the quantification of bisphenol related compounds in canned food samples and exposure assessment of the Spanish adult population. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 28, p. 100671, jun. 2021.
39. Cao, P. *et al.* Exposure to bisphenol A and its substitutes, bisphenol F and bisphenol S from canned foods and beverages on Chinese market. **Food Control**, v. 120, p. 107502, fev. 2021.
40. Karsauliya, K. *et al.* Detection of bisphenols in Indian surface water, tap water, and packaged drinking water using dispersive liquid-liquid microextraction: exposure assessment for health risk. **Environmental Science and Pollution Research** v. 30, 17776–17790 (2023).
41. Liao, C. & Kannan, K. Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. **J Agric Food Chem** v. 61, 4655–4662 (2013).
42. Kang, J. H. & Kondo, F. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. **Food Addit Contam** v. 19, 886–890 (2002).

43. Agarwal, A., Gandhi, S., Tripathi, A. D., Iammarino, M. & Homroy, S. Analysis of Bisphenol A migration from microwaveable polycarbonate cups into coffee during microwave heating. **Int J Food Sci Technol** v. 57, 7477–7485 (2022).
44. Sakaki, J. R. *et al.* Estrogenic activity of capsule coffee using the VM7Luc4E2 assay. **Curr Res Toxicol** v. 2, 210–216 (2021).
45. Soares, D. de A. *et al.* Bisphenol determination in UHT milk and packaging by paper spray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 400, p. 134014–134014, 1 jan. 2023.
46. Petrarca, M. H., Perez, M. A. F. & Tfouni, S. A. V. Bisphenol A and its structural analogues in infant formulas available in the Brazilian market: Optimisation of a UPLC-MS/MS method, occurrence, and dietary exposure assessment. **Food research international**, v. 160, p. 111692–111692, 1 out. 2022.
47. Galindo, M. V., Oliveira, W. da S. & Godoy, H. T. Multivariate optimization of low-temperature cleanup followed by dispersive solid-phase extraction for detection of Bisphenol A and benzophenones in infant formula. **Journal of Chromatography A**, v. 1635, p. 461757, jan. 2021.
48. Bomfim, M. V. J., Silvestre, F. B., Zamith, H. P. da S. & Abrantes, S. D. M. P. Determinação de bisfenol A em fórmulas infantis. **Vigilância Sanitária em Debate** v. 3, (2014).
49. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N°589, de 20 de Dezembro de 2021.
50. Vogel, S. A. The Politics of Plastics: The Making and Unmaking of Bisphenol A “Safety”. **American Journal of Public Health**, v. 99, n. S3, p. S559–S566, nov. 2009.
51. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N°41, de 16 de Setembro de 2011.

52. Gramec Skledar, D. & Peterlin Mašič, L. Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 47, 182–199, (2016).
53. Chen, D. *et al.* Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity - A Review. **Environmental Science and Technology**, v. 50, 5438–5453, (2016).
54. Zhu, X. *et al.* Evaluation of single and combined toxicity of bisphenol A and its analogues using a highly-sensitive micro-biosensor. **J Hazard Mater** v. 381, p. 120908–120908, 1 jan. 2020.
55. Chen, S. *et al.* Rapid Analysis of Bisphenol A and Its Analogues in Food Packaging Products by Paper Spray Ionization Mass Spectrometry. **J Agric Food Chem**, v. 65, 4859–4865, (2017).
56. Zheng, J., Tian, L. & Bayen, S. Chemical contaminants in canned food and can-packaged food: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, 2687–2718, (2023).
57. Kumar, P. *et al.* Bisphenol A contamination in processed food samples: an overview. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, 1–20, (2023).
58. Sun, F. *et al.* Recent advances and progress in the detection of bisphenol A. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, 6913–6927, (2016).
59. Gallart-Ayala, H., Núñez, O. & Lucci, P. Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 42, p. 99–124, jan. 2013.
60. Cooks, R. G., Ouyang, Z., Takats, Z. & Wiseman, J. M. Ambient Mass Spectrometry. **Science**, v. 311, n. 5767, p. 1566–1570, 17 mar. 2006.

61. Muñoz-Olivas, R. Screening analysis: an overview of methods applied to environmental, clinical and food analyses. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, 203–216, (2004).
62. Priovolos, I. & Samanidou, V. Bisphenol A and its analogs migrated from contact materials into food and beverages: An updated review in sample preparation approaches. **Journal of Separation Science**, v.43, 1-16, (2023).
63. Mezcuca, M. *et al.* Analysis of synthetic endocrine-disrupting chemicals in food: A review. **Talanta**, v. 100, 90–106, (2012).
64. Ali, S. M. A., Elbashir, A. A., Elamin, M. B. & Aboul-Enein, H. Y. Sample extraction techniques and high-performance liquid chromatographic methods for the analysis of bisphenols. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 19, 2663–2677, (2022).
65. Capriotti, A. L. *et al.* Analytical strategies based on chromatography-mass spectrometry for the determination of estrogen-mimicking compounds in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1313, 62–77, (2013).
66. Poole, C. F. New trends in solid-phase extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, 362–373, (2003).
67. Kang, J. H. & Kondo, F. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. **Food Addit Contam**, v. 19, 886–890, (2002).
68. Choi, S. J. *et al.* Concentrations of bisphenols in canned foods and their risk assessment in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 81, 903–916, (2018).
69. Anastassiades, M., Steven J Lehotay, Darinka Stajnbaher & Frank J Schenck. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and 'Dispersive Solid-Phase Extraction' for the Determination of Pesticide Residues in Produce. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 86, n. 2, p. 412–431, 1 mar. 2003.

70. Perestrelo, R. *et al.* QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica Chimica Acta**, v. 1070, 1–28, (2019).
71. Mahlangu, W. B., Maseko, B. R., Mongadi, I. L., Makhubela, N. & Ncube, S. Quantitative analysis and health risk assessment of bisphenols in selected canned foods using the modified QuEChERS method coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, p. 101078, jun. 2023.
72. Faraji, M., Noorani, M. & Nasiri Sahneh, B. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Method Followed by Ionic Liquid-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Determination of Trace Amount of Bisphenol A in Canned Foods. **Food Anal Methods**, v. 10, 764–772, (2017).
73. Szczepańska, N., Kudłak, B. & Namieśnik, J. Recent advances in assessing xenobiotics migrating from packaging material – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1023, 1–21, (2018).
74. Collins, C., Braga, G. & Bonato, P. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. Editora da UNICAMP, Campinas, 1997.
75. Ballesteros-Gómez, A., Rubio, S. & Pérez-Bendito, D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, 449–469, (2009).
76. Capriotti, A. L. *et al.* Analytical strategies based on chromatography-mass spectrometry for the determination of estrogen-mimicking compounds in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1313, 62–77, (2013).
77. Mezcuca, M. *et al.* Analysis of synthetic endocrine-disrupting chemicals in food: A review. **Talanta**, v. 100, 90–106, (2012).
78. He, N. X. & Bayen, S. An overview of chemical contaminants and other undesirable chemicals in alcoholic beverages and strategies for analysis.

- Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, 3916–3950, (2020).
79. Zhang, Y. *et al.* Metal-organic framework mixed-matrix membrane-based extraction combined HPLC for determination of bisphenol A in milk and milk packaging. **Food Chemistry**, v. 386, p. 132753, ago. 2022.
80. Zheng, Q. *et al.* Bisphenol analogues in infant foods in south China and implications for infant exposure. **The Science of The Total Environment**, v. 910, p. 168509–168509, 1 fev. 2024.
81. SILVERSTEIN, R. M. *et al.* **Spectrometric identification of organic compounds**. Hoboken, Nj: Wiley, 2005.
82. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Vyvyan, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. Cengage Learning, 2010.
83. Hu, Q. *et al.* The Orbitrap: A new mass spectrometer. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, 430–443, (2005).
84. Yan, X. ting, Zhang, Y., Zhou, Y., Li, G. hui & Feng, X. song. Technical Overview of Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry and Its Application to the Detection of Small Molecules in Food (Update Since 2012). **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, vol. 52, 593–626, (2022).
85. Dong, H. *et al.* Advances in Analysis of Contaminants in Foodstuffs on the Basis of Orbitrap Mass Spectrometry: a Review. **Food Analytical Methods**, vol. 15, 803–819, (2022).
86. Senyuva, H. Z., Gökmen, V. & Sarikaya, E. A. Future perspectives in Orbitrap<sup>TM</sup>-high-resolution mass spectrometry in food analysis: a review. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**, v. 32, 1568–1606, (2015).
87. Martínez-Bueno, M. J., Gómez Ramos, M. J., Bauer, A. & Fernández-Alba, A. R. An overview of non-targeted screening strategies based on high resolution

- accurate mass spectrometry for the identification of migrants coming from plastic food packaging materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 110, 191–203, (2019).
88. Knolhoff, A. M. & Croley, T. R. Non-targeted screening approaches for contaminants and adulterants in food using liquid chromatography hyphenated to high resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1428, 86–96, (2016).
89. Zhao, H. *et al.* Investigation on fragmentation pathways of bisphenols by using electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 30, 1901–1913, (2016).
90. Regueiro, J., Breidbach, A. & Wenzl, T. Derivatization of bisphenol A and its analogues with pyridine-3-sulfonyl chloride: Multivariate optimization and fragmentation patterns by liquid chromatography/Orbitrap mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 29, 1473–1484, (2015).
91. Nicolucci, C. *et al.* Human exposure to Bisphenol A and liver health status: Quantification of urinary and circulating levels by LC–MS/MS. **J Pharm Biomed Anal**, v. 140, 105–112, (2017).
92. Porto, B. Métodos rápidos para análise de ácidos graxos em alimentos e seleção de biomarcadores para aterosclerose. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.
93. Xiong, L. *et al.* A rapid and simple HPLC–FLD screening method with QuEChERS as the sample treatment for the simultaneous monitoring of nine bisphenols in milk. **Food Chemistry**, v. 244, 371–377, (2018).
94. Luo, Z. *et al.* Air-assisted liquid-liquid microextraction integrated with QuEChERS for determining endocrine-disrupting compounds in fish by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 260, 174–182, (2018).

95. Mondal, T. *et al.* Phthalates - A family of plasticizers, their health risks, phytotoxic effects, and microbial bioaugmentation approaches. **Environmental Research**, v. 214, p. 114059, 1 nov. 2022.
96. Rahman, M. & Brazel, C. S. The plasticizer market: An assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges. **Progress in Polymer Science**, v. 29, n. 12, p. 1223–1248, dez. 2004.
97. Clarke, J. R. & Macrae, R. **COFFEE Volume 1: Chemistry**. Springer Science & Business Media, 2012.
98. Jham, G. N. *et al.* Lipid classes and triacylglycerols in coffee samples from Brazil: effects of coffee type and drying procedures. **Food Research International**, v. 34, n. 2-3, p. 111–115, 2001.
99. Sapozhnikova, Y., Nuñez, A. & Johnston, J. Screening of chemicals migrating from plastic food contact materials for oven and microwave applications by liquid and gas chromatography - Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1651, p. 462261, ago. 2021.
100. Sapozhnikova, Y. & Nuñez, A. Non-targeted analysis with liquid chromatography - high resolution mass spectrometry for the identification of food packaging migrants. **Journal of Chromatography A**, v. 1676, p. 463215, ago. 2022.
101. Stevens, S. *et al.* Plastic Food Packaging from Five Countries Contains Endocrine- and Metabolism-Disrupting Chemicals. **Environmental Science & Technology**, 5 mar. 2024.
102. Sienel, G., Rieth, R. & Rowbottom, K. T. Epoxides. in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Wiley, 2000).
103. Schwarz, G. & Kricheldorf, H. R. Synthesis and properties of needlelike crystals (whiskers) of poly(6-hydroxy-2-naphthoic acid). **Macromolecules**, v. 24, n. 10, p. 2829–2833, 1 maio 1991.

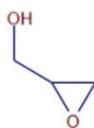
104. Crotonic acid | C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> | CID 637090 - PubChem. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637090#section=Uses>. Acesso em: 18 maio 2024.
105. Miltenberger, K. Hydroxycarboxylic Acids, Aliphatic. in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Wiley, 2000).
106. 2-Hydroxypropyl methacrylate | C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> | CID 13539 - PubChem. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13539>. Acesso em: 18 maio 2024.
107. Triethyl citrate | C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub> | CID 6506 - PubChem. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6506>. Acesso em: 18 maio 2024.
108. N-Ethyl-O-toluenesulfonamide | C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>S | CID 14110 - PubChem. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Ethyl-O-toluenesulfonamide>. Acesso em: 18 maio 2024.

## APÊNDICE A

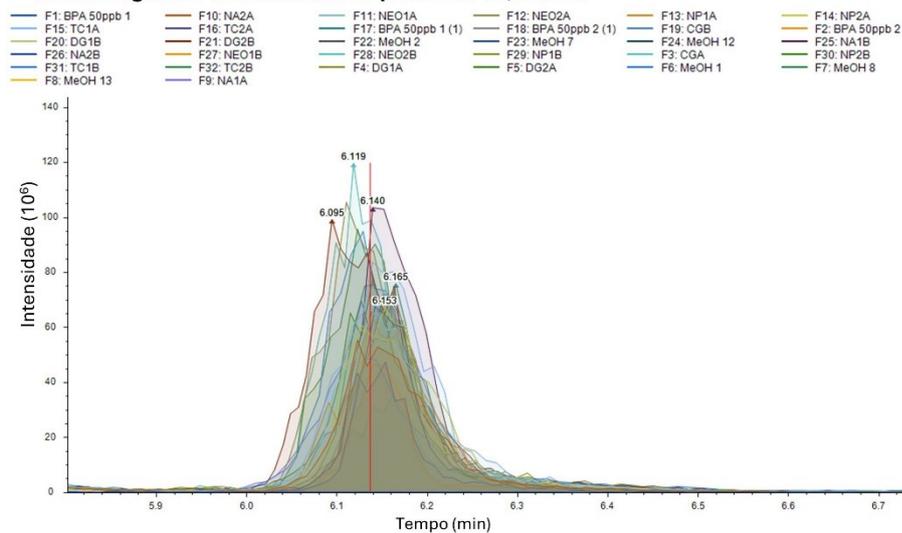
Plastificantes identificados por meio do *software Compound Discoverer*, quando empregado o modo negativo de análise, apresentando-se, quando disponível, os cromatogramas de íon extraído, o espectro de massas obtido com isótopos identificados, juntamente ao espectro teórico, e o espectro de fragmentação.

**Composto:** 2,3-Epoxy-1-propanol

**Estrutura química:**

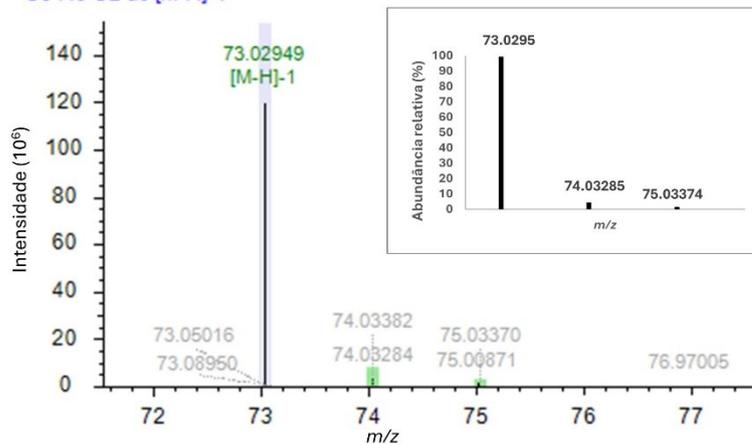


**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  73,02943:**



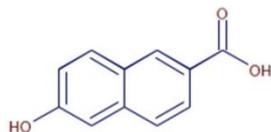
**Espectro de massas com isótopos identificados:**

NEO2B (F28) #3099, RT=6.119 min, MS1, FTMS (-)  
C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub> as [M-H]<sup>-</sup>1

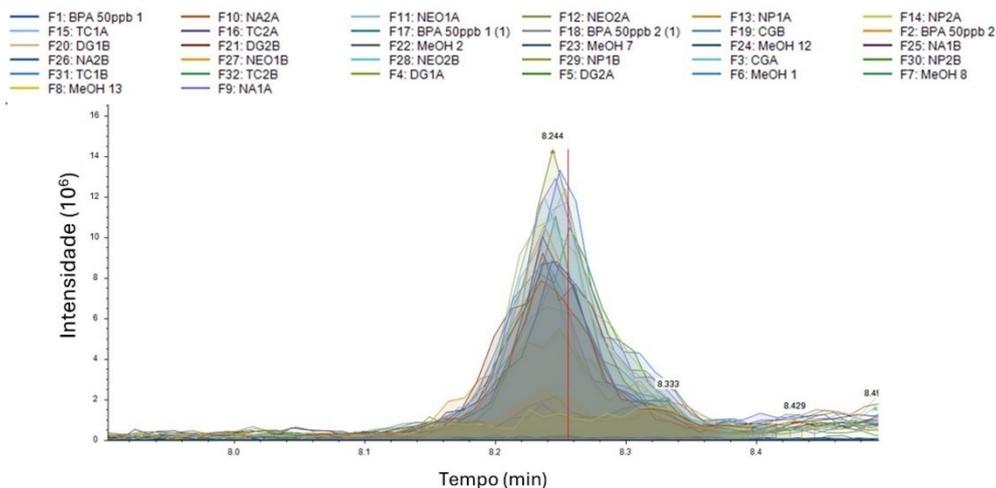


**Composto:** Ácido 6-hidroxi-2-naftoico

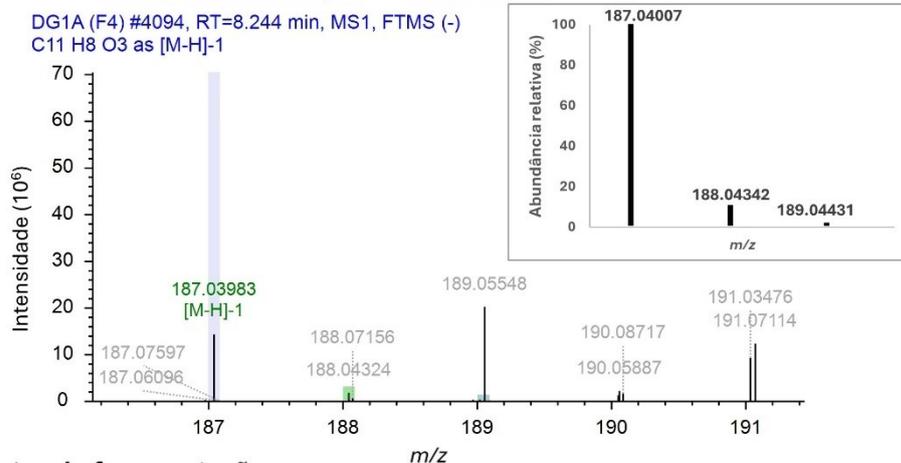
**Estrutura química:**



**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  187,03991:**

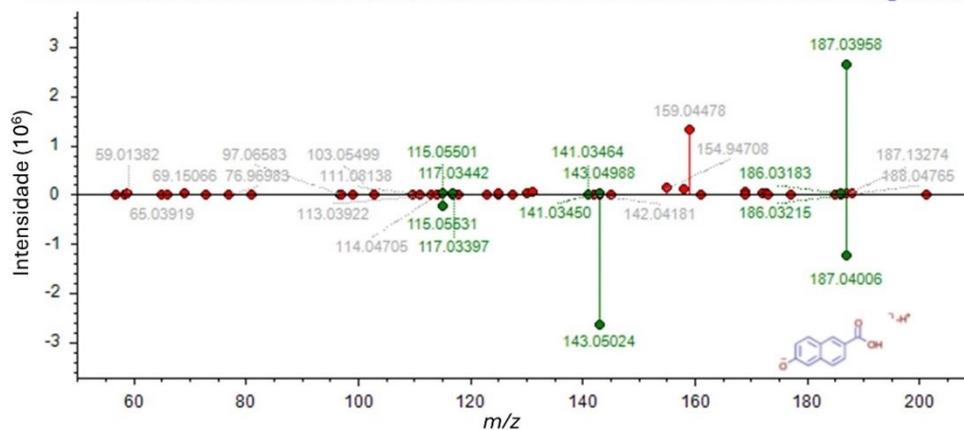


**Espectro de massas com isótopos identificados:**



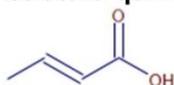
**Espectro de fragmentação:**

RAWFILE(top): DG1A (F4) #4074, RT=8.205 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 187.0397@(20:40:60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, 6-Hydroxy-2-naphthoic acid, C11 H8 O3, MS2, FTMS, (HCD, 187.0401@(10:30:50))

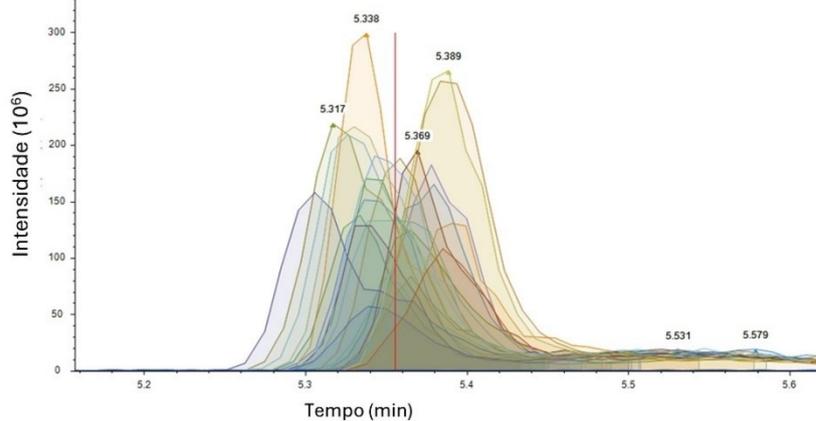


Composto: Ácido crotonico

Estrutura química:

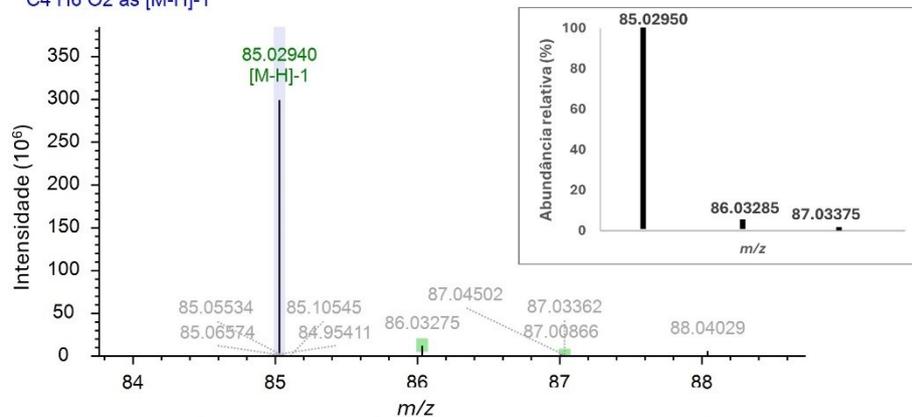


Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  85,02942:



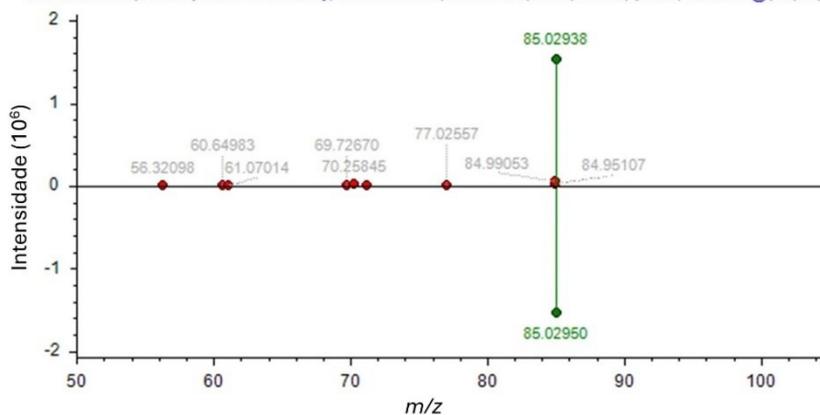
Espectro de massas com isótopos identificados:

NEO1B (F27) #2588, RT=5.338 min, MS1, FTMS (-)  
C4 H6 O2 as [M-H]<sup>-1</sup>



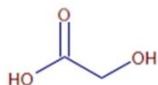
Espectro de fragmentação:

RAWFILE(top): NEO1B (F27) #2588, RT=5.310 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 85.0294@(20:40:60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, Crotonic acid, C4 H6 O2, MS2, FTMS, (HCD, 85.0295@(10:30:50))

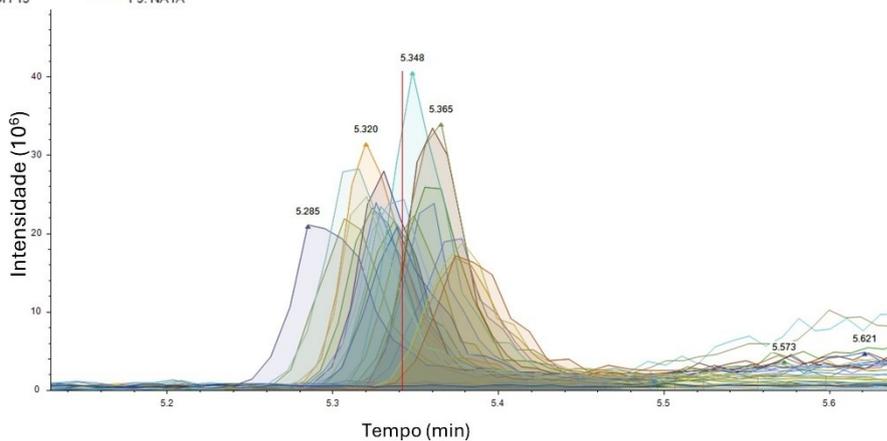
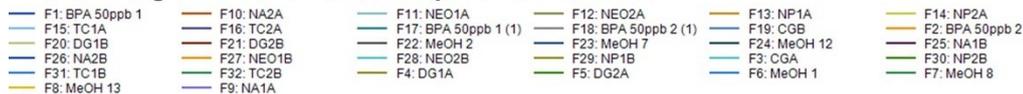


**Composto:** Ácido glicólico

**Estrutura química:**

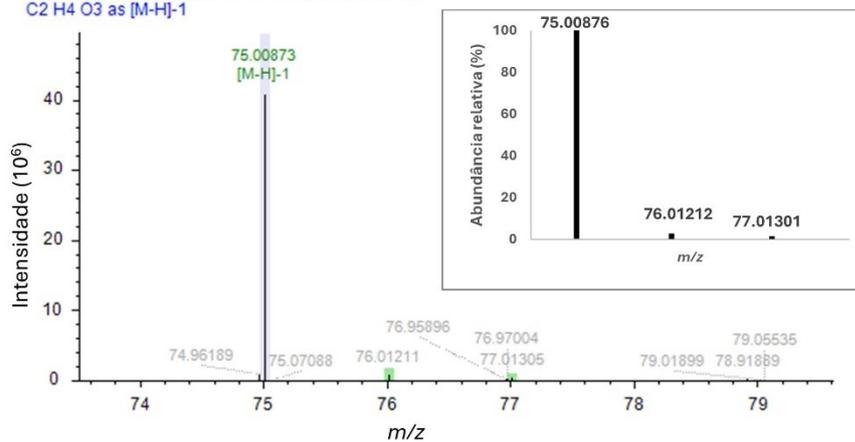


**Cromatograma de íon extraído para m/z 75,00868:**



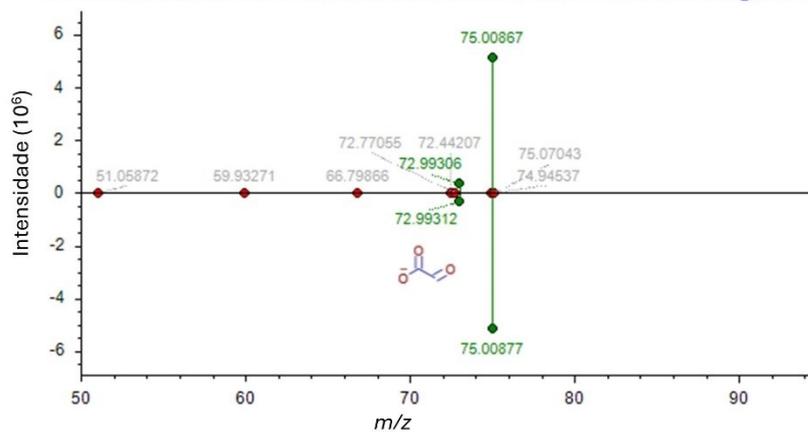
**Espectro de massas com isótopos identificados:**

NEO2B (F28) #2607, RT=5.348 min, MS1, FTMS (-)  
C2 H4 O3 as [M-H]-1



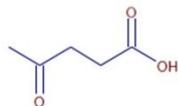
**Espectro de fragmentação:**

RAWFILE(top): NEO2B (F28) #2600, RT=5.337 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 75.0087@(20;40;60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, Glycolic acid, C2 H4 O3, MS2, FTMS, (HCD, 75.0088@(30;50;70))

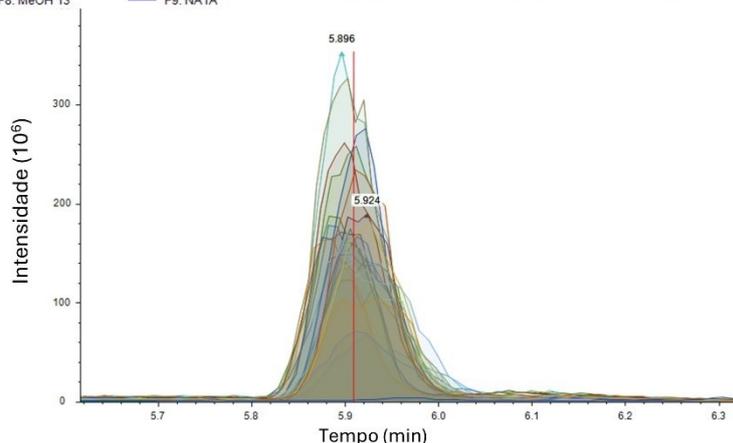
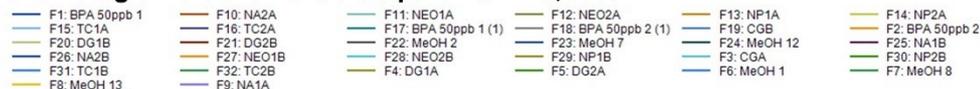


Composto: Ácido levulínico

Estrutura química:

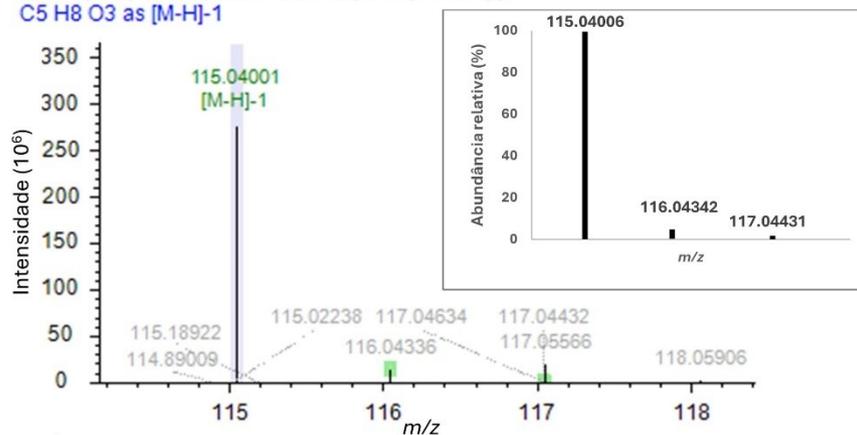


Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  115,03992:



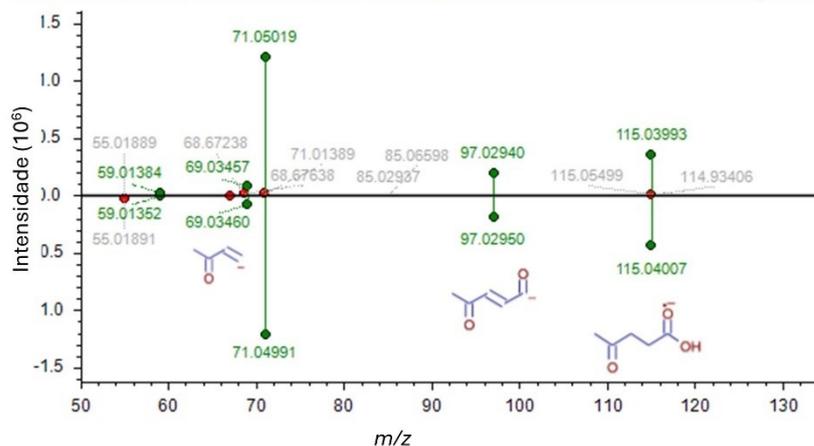
Espectro de massas com isótopos identificados:

NA2B (F26) #2925, RT=5.922 min, MS1, FTMS (-)  
C5 H8 O3 as [M-H]-1



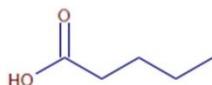
Espectro de fragmentação:

RAWFILE(top): NA2B (F26) #2880, RT=5.853 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 115.0400@ (20;40;60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, Levulinic acid, C5 H8 O3, MS2, FTMS, (HCD, 115.0401@ (20;40;60))

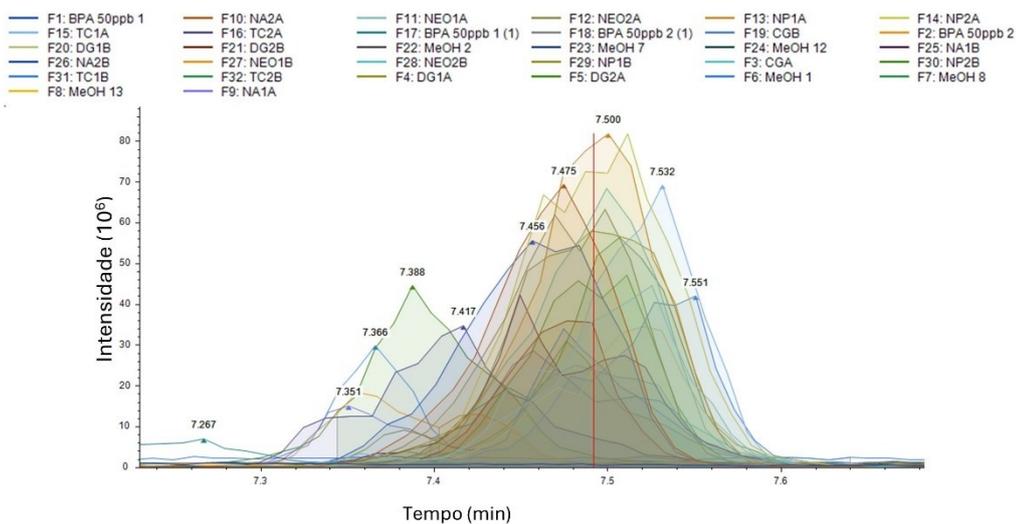


**Composto: Ácido valérico**

**Estrutura química:**

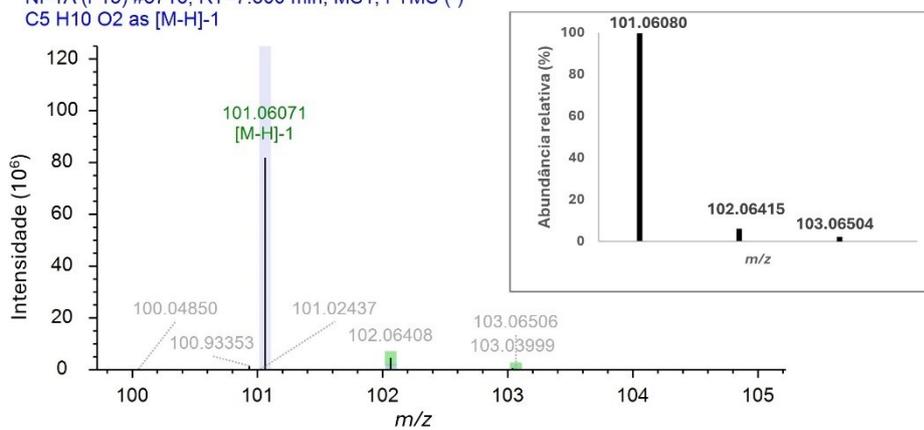


**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  101,06067:**



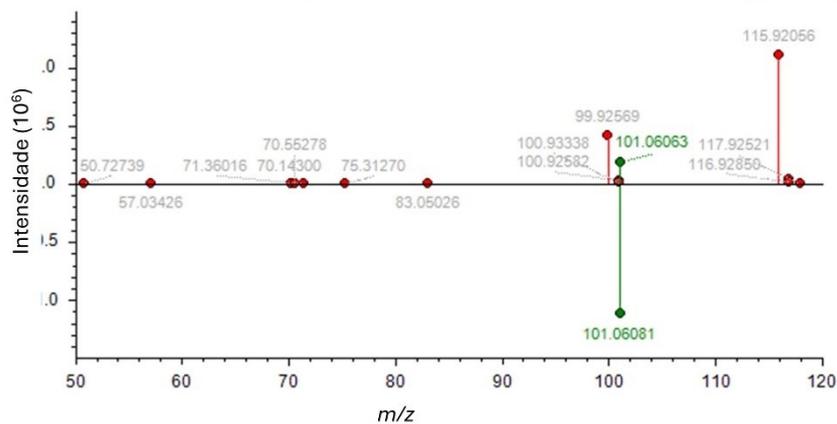
**Espectro de massas com isótopos identificados:**

NP1A (F13) #3716, RT=7.500 min, MS1, FTMS (-)  
C5 H10 O2 as [M-H]-1



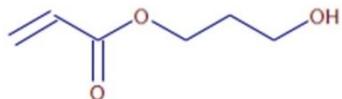
**Espectro de fragmentação:**

RAWFILE(top): NP1A (F13) #3670, RT=7.401 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 101.0607@(20:40:60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, Valeric acid, C5 H10 O2, MS2, FTMS, (HCD, 101.0608@(10:30:50))

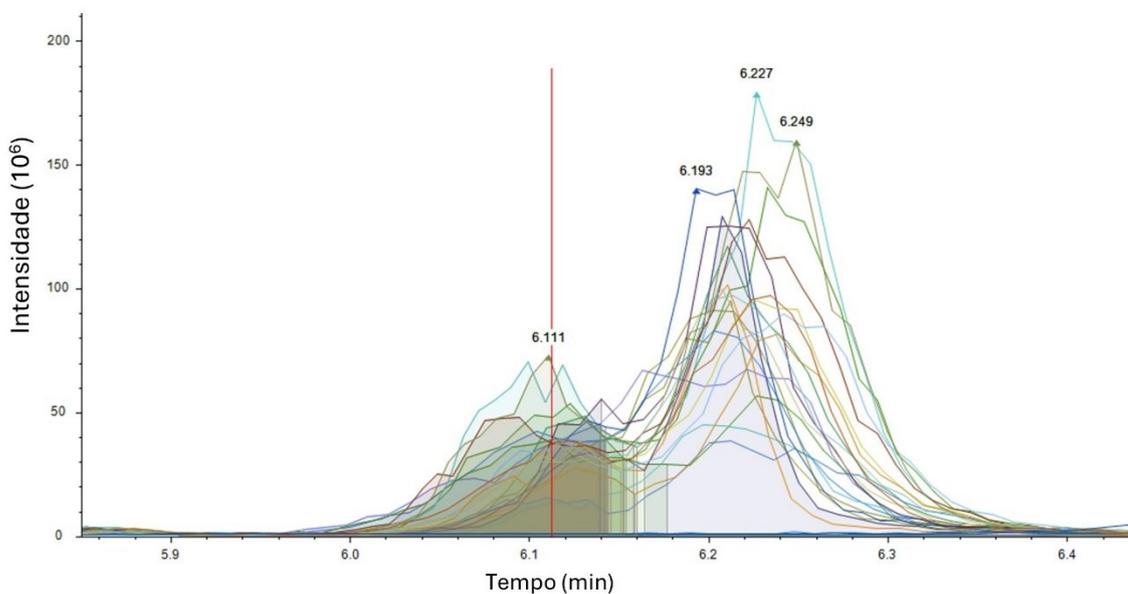
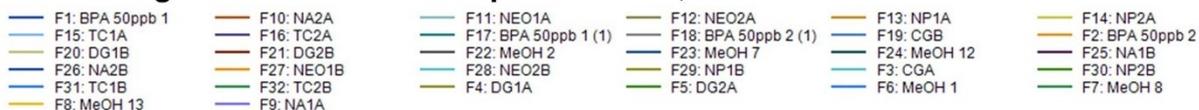


**Composto:** Acrilato de 2-hidroxipropilo

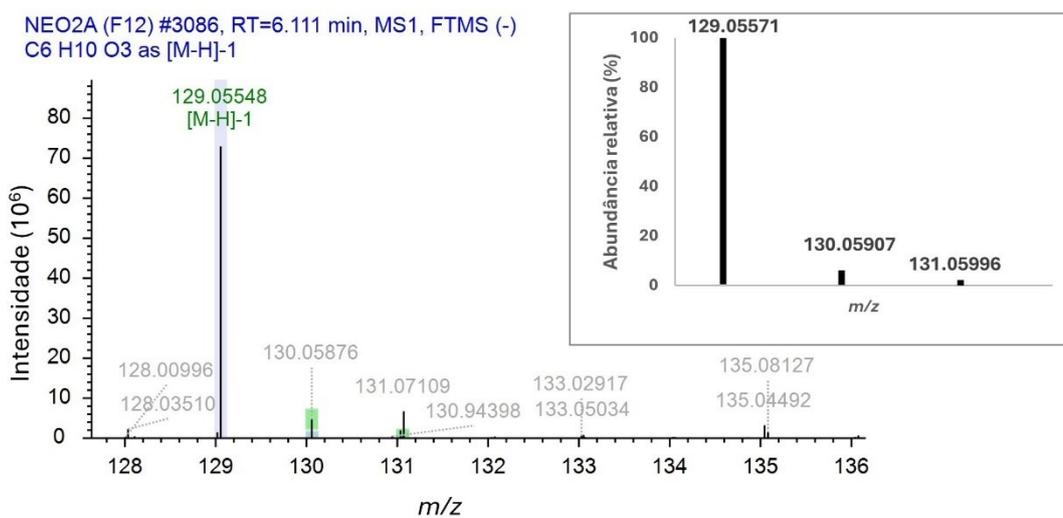
**Estrutura química:**



**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  129,05561:**

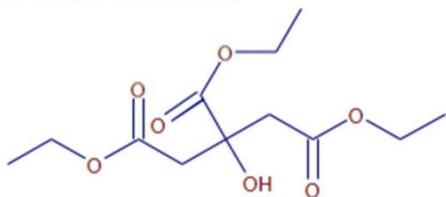


**Espectro de massas com isótopos identificados:**

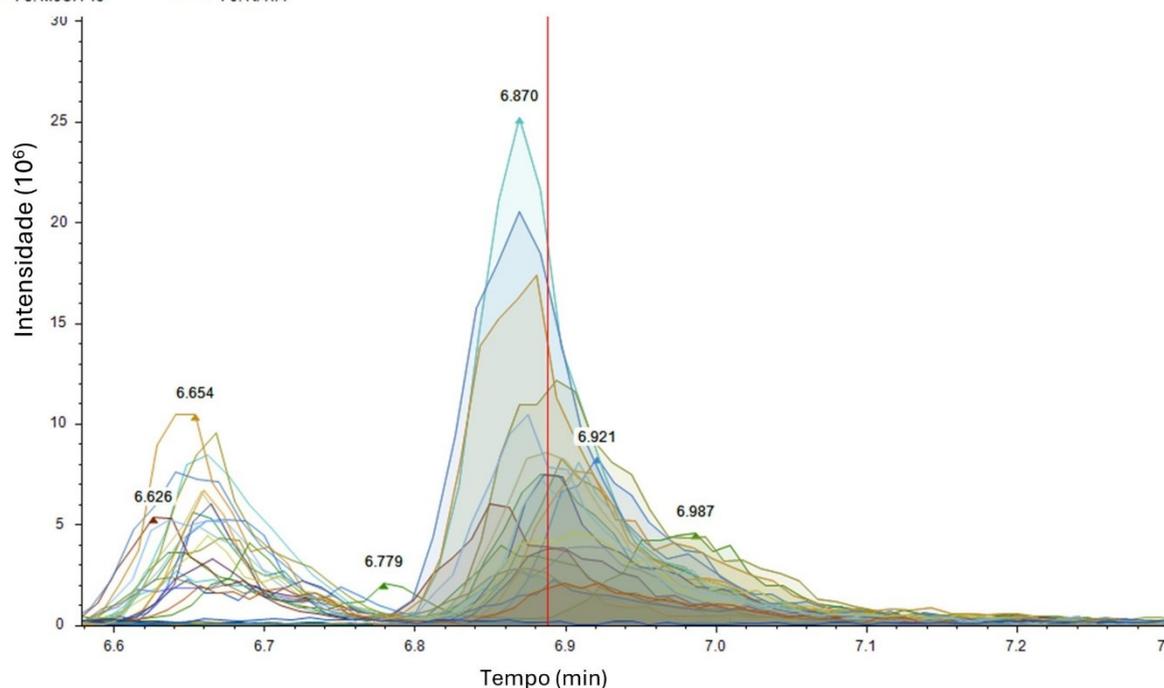
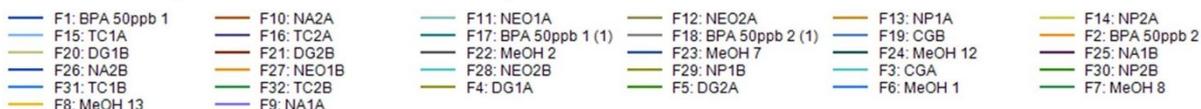


**Composto:** Citrato de trietila

**Estrutura química:**

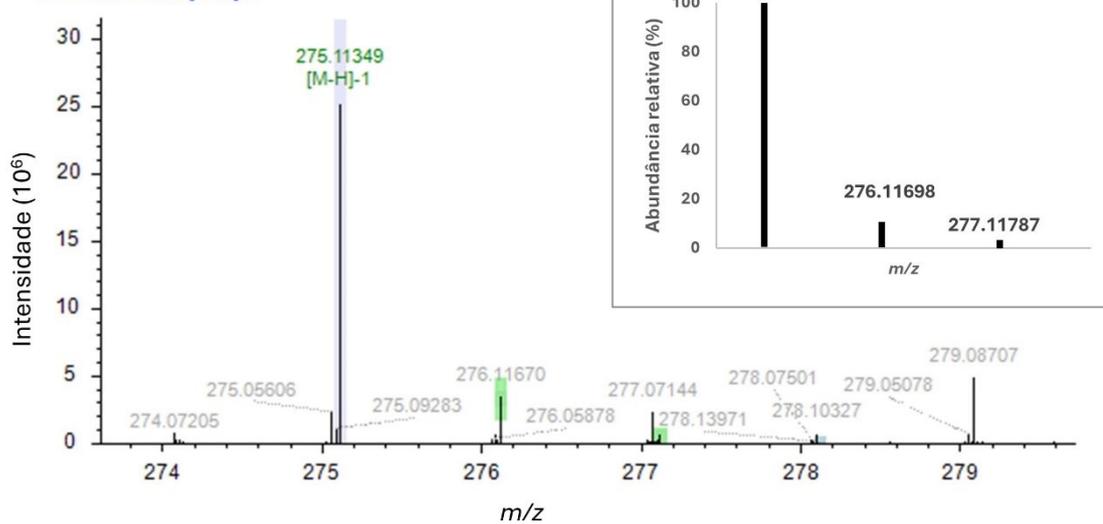


**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  275,11369:**



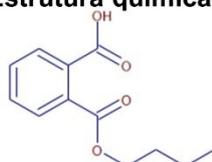
**Espectro de massas com isótopos identificados:**

CGA (F3) #3386, RT=6.870 min, MS1, FTMS (-)  
C12 H20 O7 as [M-H]-1

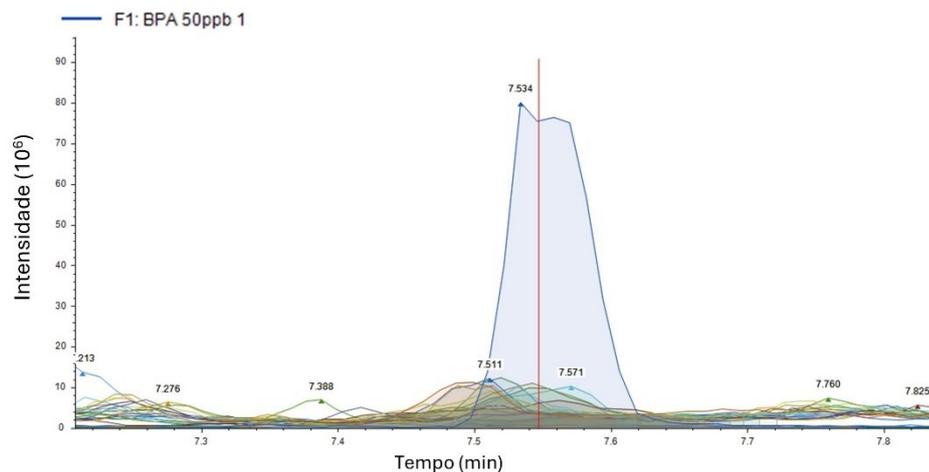


**Composto:** Monobutil ftalato

**Estrutura química:**

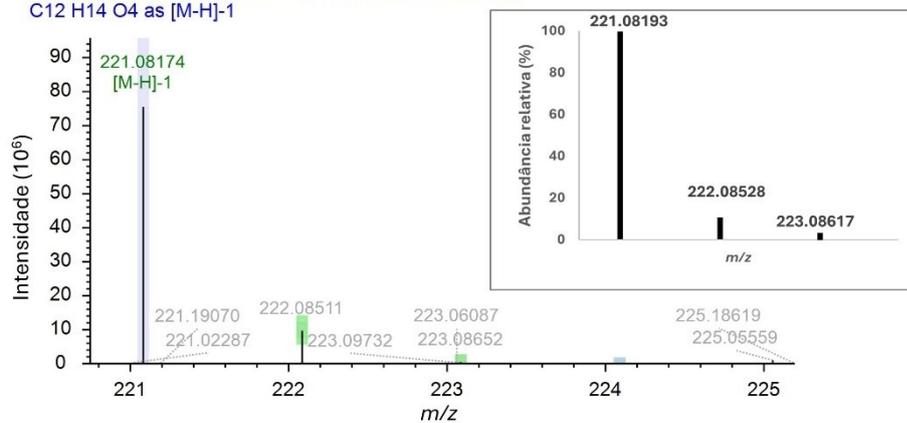


**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  221,08179:**



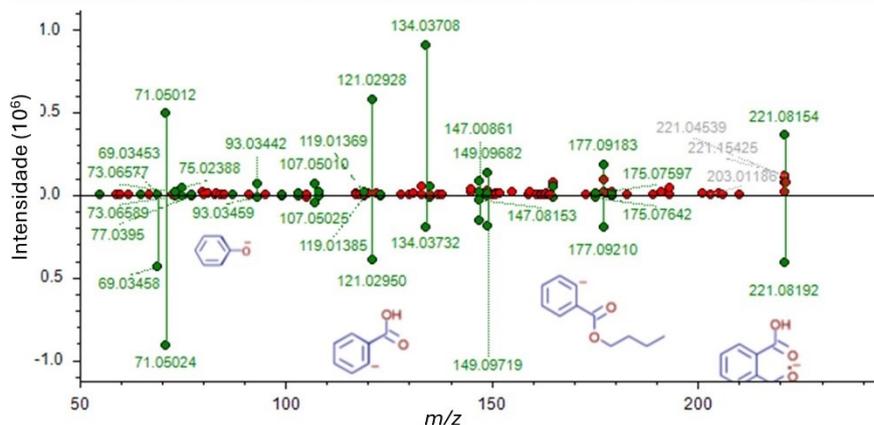
**Espectro de massas com isótopos identificados:**

BPA 50ppb 1 (F1) #3776, RT=7.546 min, MS1, FTMS (-)  
C12 H14 O4 as [M-H]-1



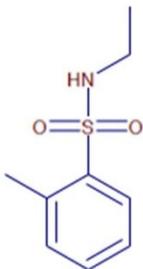
**Espectro de fragmentação:**

RAWFILE(top): BPA 50ppb 1 (F1) #3757, RT=7.508 min, MS2, FTMS (-), (HCD, DDA, 221.0817@ (20;40;60), -1)  
REFERENCE(bottom): mzCloud library, Monobutyl phthalate, C12 H14 O4, MS2, FTMS, (HCD, 221.0819@ (10;30;50))

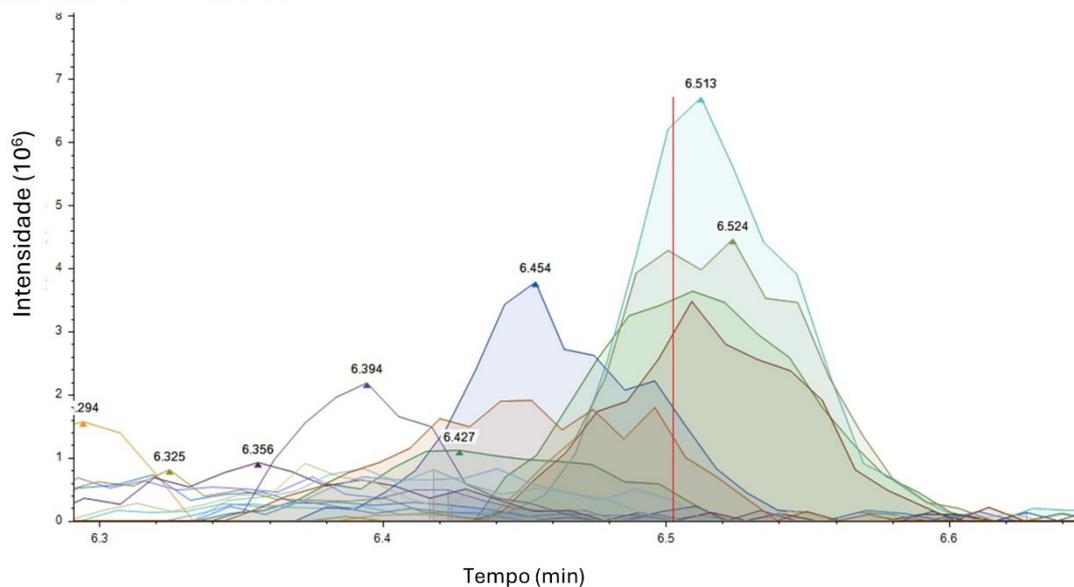
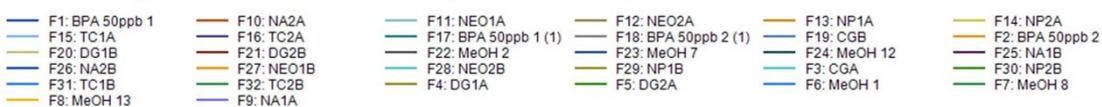


**Composto:** N-etil-2-metil-benzenosulfonamida

**Estrutura química:**

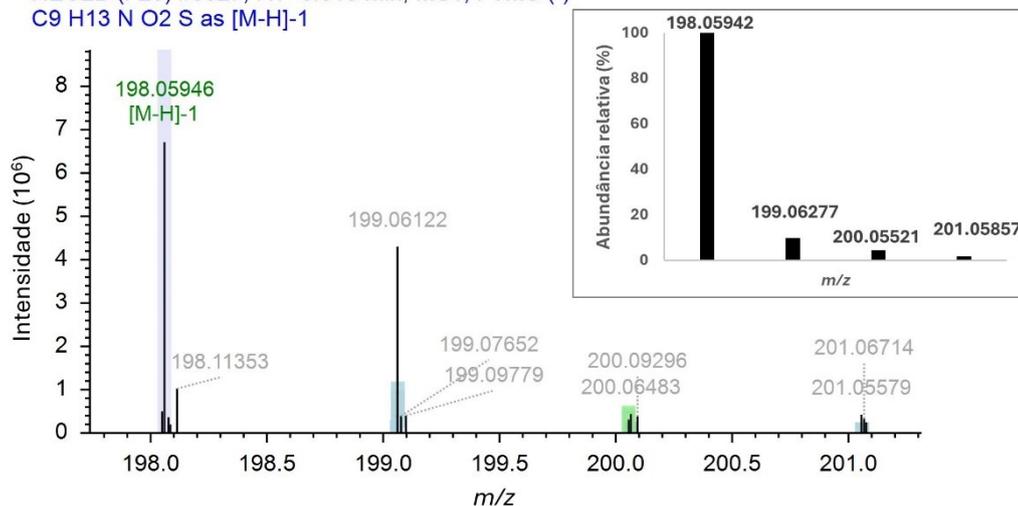


**Cromatograma de íon extraído para  $m/z$  198,05933:**



**Espectro de massas com isótopos identificados:**

NEO2B (F28) #3327, RT=6.513 min, MS1, FTMS (-)  
C9 H13 N O2 S as [M-H]-1

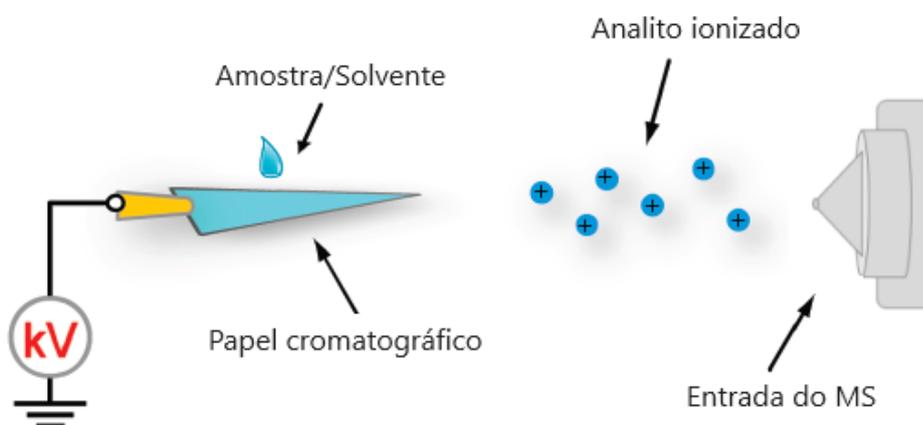


## APÊNDICE B

Inicialmente, desejava-se realizar a identificação de bisfenol A nas amostras de café utilizando-se espectrometria de massas com ionização por *paper spray*. Por intercorrências envolvendo o instrumento de análise, não foi possível desenvolver todas as etapas necessárias para a completude do trabalho. Os resultados obtidos enquanto havia o perfeito funcionamento do instrumento, bem como uma pequena contextualização sobre o processo de ionização por *paper spray* estão reportados neste apêndice.

Nas fontes de ionização ambiente, o processo de ionização ocorre à pressão atmosférica, sem a presença de interface entre a fonte e o ambiente no qual ela está inserida. R. G. Cooks coordenou um estudo que possibilitou o desenvolvimento de uma nova fonte de ionização ambiente, intitulada ionização por *paper spray* (PS). Essa técnica baseia-se na aplicação de voltagem entre um pedaço de papel cromatográfico cortado em formato triangular, no qual a amostra está depositada, e a entrada do espectrômetro de massas. A voltagem aplicada deve ser suficiente para a formação de um *spray* com microgotas carregadas. Assim, o analito ionizado e em fase gasosa, será atraído para o interior do espectrômetro de massas. Na Figura A1 é apresentado o esquema de funcionamento da técnica de ionização por *paper spray*.

Figura A1 - Esquema do funcionamento da ionização por *paper spray*.

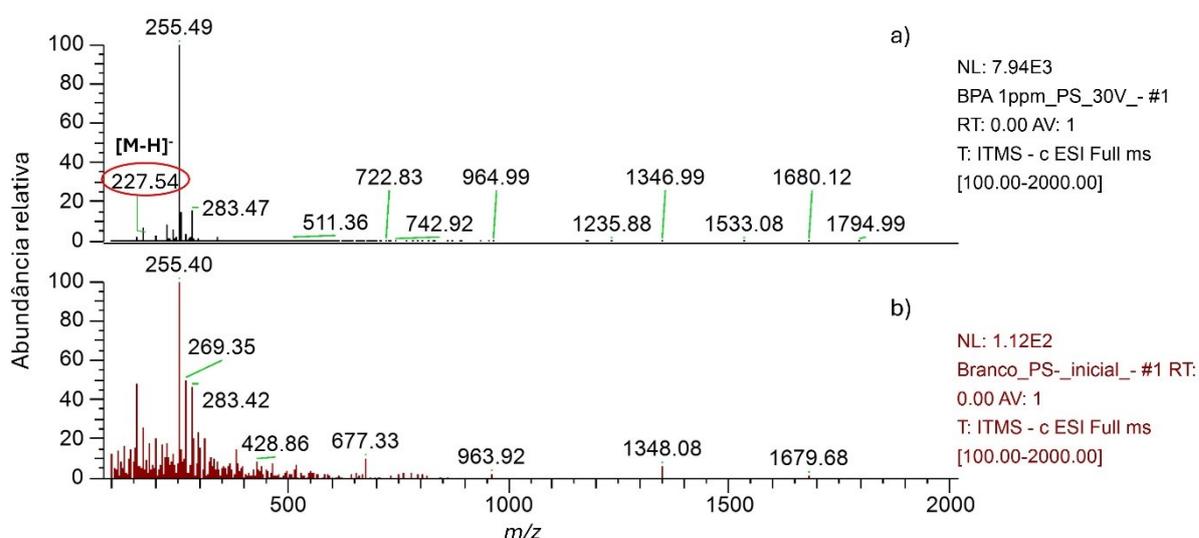


Fonte: Adaptado de Liu et al., 2010 (Liu, J. et al. Development, characterization, and application of paper spray ionization. *Anal Chem* 82, 2463–2471 (2010)).

O mecanismo da ionização por *paper spray* permite a realização da extração e ionização dos analitos em um mesmo procedimento, o que confere grande vantagem à técnica. Ademais, trata-se de uma metodologia rápida e de simples execução. Essas características explicam o número crescente de estudos que utilizam a PS-MS.

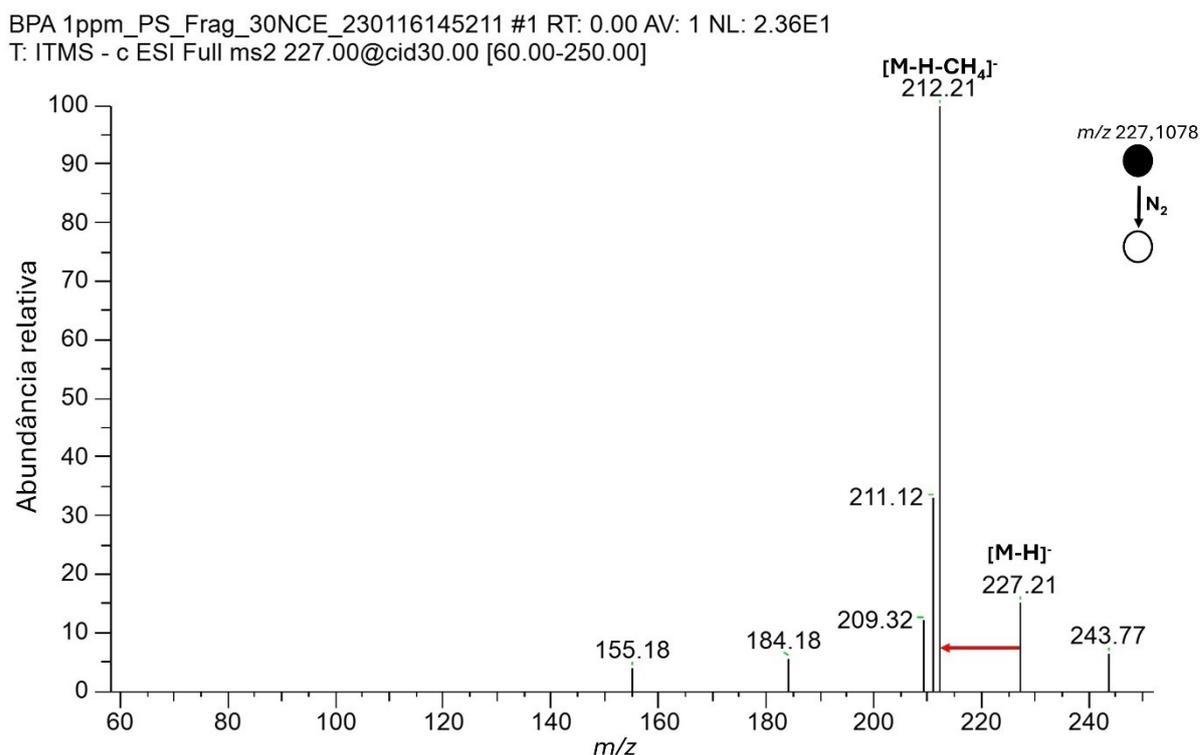
Os testes descritos a seguir foram realizados em um espectrômetro de massas LQC Fleet com analisador de massas do tipo *ion trap* (Thermo Scientific). A definição das condições instrumentais foi feita utilizando-se solução padrão de bisfenol A em concentração de 1 mg L<sup>-1</sup>, e os parâmetros otimizados foram: análise *full scan* no modo negativo; tempo de *scan* de 20 segundos; temperatura do capilar de 275 °C; voltagem aplicada ao capilar de 30 V; voltagem aplicada na fonte de 5 kV. A obtenção de espectros de fragmentação foi feita utilizando-se energia de colisão normalizada de 30. Na Figura A2 apresenta-se o espectro de massas obtidos após a otimização das condições instrumentais, no qual observa-se a presença do *m/z* 227, que é relativo ao BPA. Verifica-se também a presença de um sinal intenso para o *m/z* 255, e esse sinal é referente ao ácido palmítico, um ácido graxo presente no metanol utilizado como solvente nas análises.

**Figura A2 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) solução padrão de BPA no nível de concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> e b) metanol.**



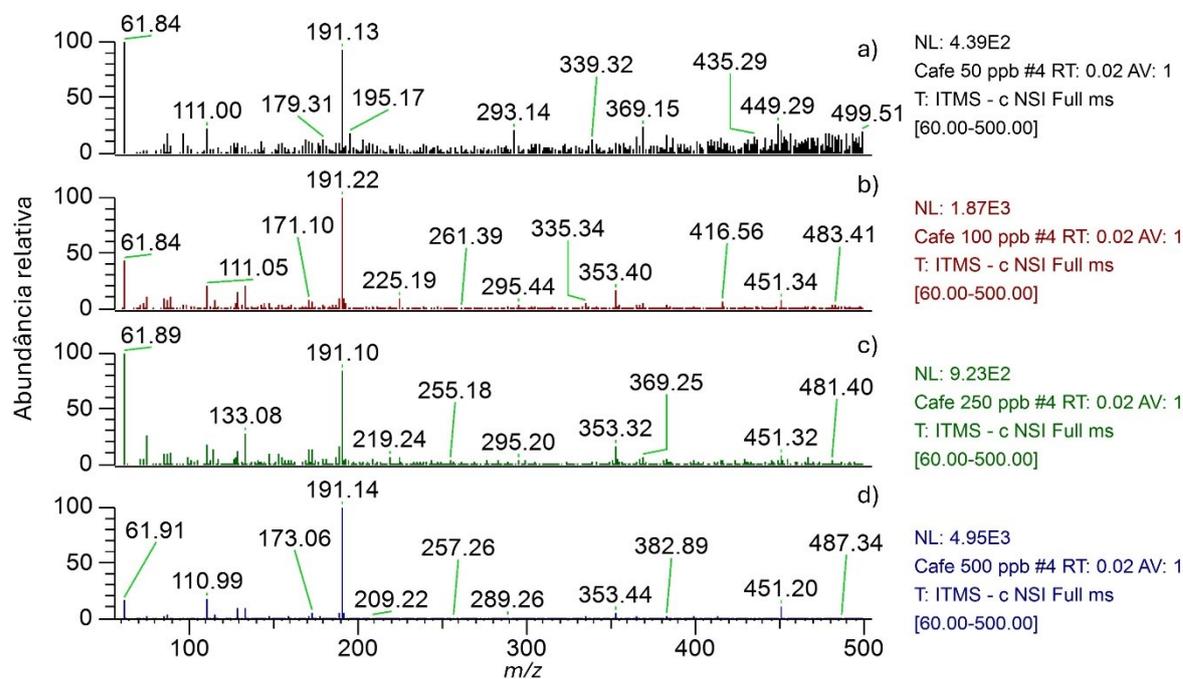
Na Figura A3 é apresentado o espectro de fragmentação para o composto, no qual observa-se a presença do íon de  $m/z$  212. Sendo este um fragmento característico do composto, pode-se considerar que as condições de fragmentação estabelecidas são adequadas.

**Figura A3 - Espectro de fragmentação obtido para confirmar a identificação do BPA.**



Em seguida, avaliou-se amostras de café fortificadas no nível de concentração máxima permitida pela legislação brasileira, e em níveis duas, cinco e dez vezes o LME. Esses valores correspondem às concentrações de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Conforme mostrado na Figura A4, percebe-se que não foi possível identificar um sinal relativo ao composto nos espectros. Tratando-se de uma matriz extremamente complexa e considerando-se a grande diferença de concentração utilizada no desenvolvimento do método e aquela estabelecida pela legislação, definiu-se a necessidade de se realizar um preparo de amostras capaz de eliminar possíveis interferentes matriciais e aumentar a sensibilidade do método.

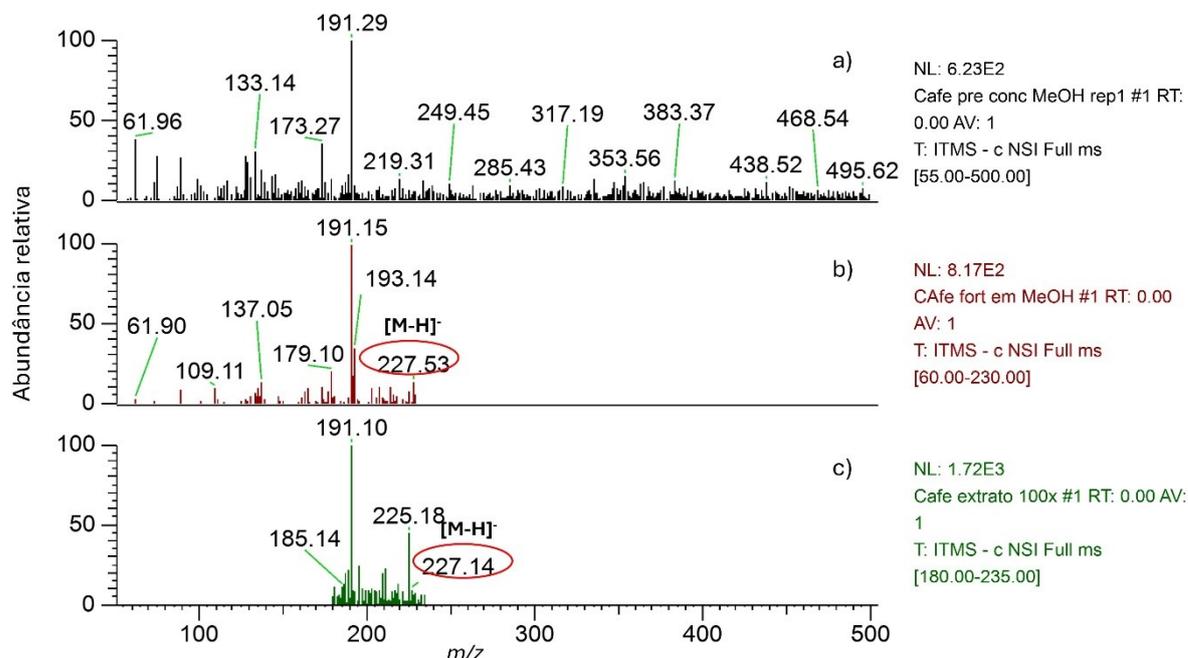
**Figura A4 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) amostra de café na concentração de 0,05 mg L<sup>-1</sup>, b) amostra de café na concentração de 0,10 mg L<sup>-1</sup>, c) amostra de café na concentração de 0,25 mg L<sup>-1</sup> e d) amostra de café na concentração de 0,50 mg L<sup>-1</sup>.**



Inicialmente, avaliou-se apenas a pré-concentração do café. Para isso procedeu-se com a secagem em um concentrador rotativo à vácuo por cerca de 8 horas, até a evaporação total da água. Após finalizada, ressuspendeu-se a amostra em metanol grau HPLC, de modo a obter uma taxa de concentração de 100 vezes. Conforme apresentado na Figura A5, verifica-se que o procedimento não foi suficiente para a obtenção de um sinal referente ao BPA. Portanto, avaliou-se extrações com solvente. No primeiro método avaliado, utilizou-se uma mistura de hexano e isopropanol (1:1 v/v) nas extrações. Avaliou-se também o uso de acetonitrila como solvente de extração. Em ambos os procedimentos, o extrato obtido foi submetido a evaporação do solvente, seguida por ressuspensão em metanol, em uma taxa de concentração de 100 vezes. Os espectros obtidos para esses procedimentos estão mostrados na Figura A5.

Portanto, verifica-se que apesar de haver uma pequena melhora, a intensidade do sinal obtido para o bisfenol A ainda foi muito baixa, fazendo-se necessário a avaliação de outros métodos de extração.

**Figura A5 - Espectros PS(-)-MS obtidos para a) amostra de café apenas pré-concentrada, b) extrato de café após extração com hexano e isopropanol e pré-concentrado e c) extrato de café após extração com acetonitrila e pré-concentrado.**



Como mencionado anteriormente, houve intercorrências no espectrômetro de massas utilizado para as análises por PS-MS, que impediram o prosseguimento desses testes e resultaram na utilização de outro instrumento para a finalização da presente pesquisa. Entretanto, a partir dos testes realizados é possível concluir que a técnica PS-MS se mostrou viável para a detecção do BPA em solução padrão em concentrações da ordem de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  em modo de ionização negativo. Já a detecção desse contaminante em café fortificado ao nível do LME (considerando  $0,05 \text{ mg kg}^{-1} \approx 0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ) não foi possível para amostras analisadas diretamente (i.e., sem preparo de amostras prévio). Dessa forma, há um nicho para o desenvolvimento, em estudos futuros, de um método de preparo de amostras que permita a determinação do BPA com a adequada seletividade e sensibilidade por PS-MS.