



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

EDILAINE ALVES DA SILVA SANTOS

**DETERMINAÇÃO DE HPAs EM CAFÉS TORRADOS E MOÍDOS
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

CAMPINAS

2022

EDILAINE ALVES DA SILVA SANTOS

**DETERMINAÇÃO DE HPAs EM CAFÉS TORRADOS E MOÍDOS
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para a
obtenção do título de Mestra em Ciência
de Alimentos

Orientador (a): Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy

Co-orientador: Dr. Lucas Caldeirão Rodrigues Miranda

ESTE TRABALHO
CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO(A),
EDILAINE ALVES DA SILVA
SANTOS E ORIENTADA PELO(A)
PROF(A). DR(A). HELENA
TEIXEIRA GODOY.

CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Santos, Edilaine Alves da Silva, 1996-
Sa59d Determinação de HPAS em cafés torrados e moídos comercializados no
Brasil / Edilaine Alves da Silva Santos. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Helena Teixeira Godoy.
Coorientador: Lucas Caldeirão Rodrigues Miranda.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Contaminantes. 2. Café. 3. Café - Processamento. I. Godoy, Helena
Teixeira. II. Miranda, Lucas Rodrigues Miranda. III. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Determination of PAHS in roasted coffee and land commercialized in Brazil

Palavras-chave em inglês:

Contaminants

Coffee

Coffee - Processing

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Helena Teixeira Godoy [Orientador]

Danilo Santos Souza

Marcelo Alexandre Prado

Data de defesa: 11-10-2022

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-5385-6756>

- Currículo Lattes do autor: <https://lattes.cnpq.br/6953919917434028>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a). Helena Teixeira Godoy
Presidente
FEA-UNICAMP

Prof. Dr. Danilo Santos Souza
Membro Titular
UFS

Marcelo Alexandre Prado
Membro Titular
FEA-UNICAMP

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA da UNICAMP pela oportunidade no desenvolvimento deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

RESUMO

O café é mundialmente reconhecido como *commodity* agrícola, sendo uma das bebidas mais consumida no mundo. Para obtenção do café comercializado, os grãos são submetidos a diversas operações, secagem, torrefação e moagem. Nesse processo destaca-se a torrefação, já que o tratamento térmico severo desencadeia inúmeras reações, algumas destas associadas ao desenvolvimento de aroma e sabor, mas também de contaminantes, a exemplo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). A incidência de HPAs no café vem sendo relacionada a etapa de torrefação, mas também a contaminação ambiental. Estudos tem evidenciado que alguns HPAs são mutagênicos, genotóxicos e carcinogênicos, portanto, existe a necessidade de analisar os HPAs em cafés. Para essa finalidade, na literatura foram reportadas diversas técnicas de preparo de amostra, a exemplo da extração líquido-líquido (LLE), extração em fase solida (SPE), extração sólido líquido (SLE), microextração em fase sólida (SPME), QuEChERS (*quick, effective, cheap, easy, rugged, and safe*), e microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), e posteriormente o uso principalmente de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Nesse sentido o presente trabalho teve por objetivo, desenvolver e validar um método de análise para a determinação da ocorrência de 13 HPAs em café. Realizou-se ensaios combinando as técnicas, QuEChERS-dSPE, QuEChERS-DLLME e QuEChERS-dSPE-DLLME bem como os solventes hexano e tolueno e combinação destes (50:50), onde o QuEChERS-DLLME junto com os solventes hexano e tolueno (50:50), apresentou os melhores resultados, as variáveis de processo (massa de amostra (g), tempo de ultrassom no QuEChERS (min), volume do extrato (μL), volume de solvente de extração (μL), proporção dos solventes de extração (hexano/tolueno, μL), volume de solvente dispersivo (ml) e o tempo de ultrassom do DLLME (min)) foram otimizadas por meio do planejamento de Plackett-Burman, realizado com 12 ensaios e 3 repetições do ponto central. Seguido de uma otimização univariada, onde ficaram estabelecidos as seguintes condições para o método: 1,5 g de amostra; 3 min no ultrason; 1,5 mL de extrato; 300 μL de solvente; 50% de tolueno; 7 mL de água e 3 min ultrassom no DLLME. Os HPAs foram analisados por cromatografia a gás com detector de espectrometria de massas (GC-MS). O método foi validado e apresentou parâmetros eficientes de acordo com os guias de validação internacional, apresentando confiabilidade para aplicação em amostras e depois utilizado para análise. Vinte e oito amostras comerciais de cafés moído e torrado comercializados no estado de

São Paulo foram analisadas quanto à presença de HPAs. Destas cerca de 80% das amostras continham pelo menos a presença de um HPA. As concentrações encontradas variaram de 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ benzo[a]pireno a 133 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dibenzo[ah]antraceno. Os HPAs indeno[123cd]pireno, criseno, benzo[g,h,i]perileno e benzo[a]pireno foram os que mais apareceram nas amostras avaliadas. A técnica QuEChERS-DLLME alcançou características atrativas para análises de rotina, incluindo pequena quantidade de amostra, baixo consumo de reagente e fácil operação. Os resultados obtidos em algumas amostras demonstraram a presença desses contaminantes, reforçando que há necessidade do estabelecimento de níveis legais para os cafés.

Palavras chave: Café, Contaminantes, processamento

ABSTRACT

Coffee is recognized worldwide as an agricultural commodity, being one of the most consumed in the world. For commercial coffee, the beans are subject to various processes, drying, roasting and grinding. In this process, roasting stands out, since the severe heat treatment triggers numerous reactions, some of which are associated with the development of aroma and flavor, but also of contaminants, for example, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The incidence of PAHs in coffee has been associated to the roasting stage, but also to environmental contamination. Studies have shown that some PAHs are mutagenic, genotoxic and carcinogenic, therefore, there is a need to analyze PAHs in coffee. For this purpose, the literature has reported several techniques for preparing samples, such as liquid-liquid extraction (LLE), solid-phase extraction (SPE), solid liquid extraction (SLE), solid phase microextraction (SPME), QuEChERS (quick, effective, cheap, easy, rugged and safe), and dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), and later the use mainly of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The present work aims to develop and validate an analysis method for determining the occurrence of 13 PAHs in coffee. Tests were carried out combining the techniques QuEChERS-dSPE, QuEChERS-DLLME and QuEChERS-dSPE-DLLME as well as the solvents hexane and toluene and combination of them (50:50). QuEChERS-DLLME together with the solvents hexane and toluene (50:50), presented the best results, according to variables of process (sample mass (g), QuEChERS ultrasound time (min), sample volume extract (μL), volume of extraction solvent (μL), proportion of extraction solvents (hexane/toluene, μL), dispersive solvent volume (ml) and the ultrasound time of the DLLME (min)) were optimized using Plackett-Burman planning, carried out with 12 trials and 3 repetitions of the central point. Followed by an univariate optimization, which gave the following conditions for the method: 1.5 g of sample; 3 min ultrasound; 1.5 mL of extract; 300 μL of solvent; 50% toluene; 7 mL of water and 3 min ultrasound in DLLME. PAHs were analyzed by gas chromatography with mass spectrometry detector (GC-MS). The method was validated and presented efficient parameters according to the international validation guides, presenting reliability for application in samples and then used for analysis. Twenty-eight commercial samples of ground and roasted coffee sold in the state of São Paulo were analyzed for the presence of PAHs. Of these about 80% of the samples contained at least the presence of a PAH.

The concentrations found ranged from 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ benzo[a]pyrene to 133 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dibenzo[ah]anthracene. The PAHs indeno[123cd]pyrene, chrysene, benzo[g,h,i]perilene and benzo[a]pyrene were the ones that most appeared in the evaluated samples. The QuEChERS-DLLME technique achieved attractive features for routine analysis, including small sample size, low reagent consumption and easy operation. The results obtained in some samples demonstrated the presence of these contaminants, reinforcing the need to establish legal levels for coffees.

Keywords: Coffee, Contaminants, processing

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. CAPÍTULO 1 - ARTIGO DE REVISÃO	14
RESUMO	14
ABSTRACT	15
3.1 INTRODUÇÃO	16
3.2 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.2.1 Café	17
3.2.1.1 Classificação botânica	18
3.2.1.2 Composição físico-química café verde	18
3.2.1.3 Mercado do café	20
3.2.2 Processamento	21
3.2.2.1 Processamento primário	22
3.2.2.2 Torrefação	24
3.2.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)	26
3.2.4 Metodologias para análise de HPAs em café	31
3.2.4.1 Técnicas Analíticas	31
3.2.4.2 Técnicas de preparo de amostra	31
3.3 CONSIDERAÇÕES	35
3.4 REFERÊNCIAS	35
4. CAPÍTULO 2	46
RESUMO	46
ABSTRACT	48
4.1 INTRODUÇÃO	49
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.2.1 Amostragem	51
4.2.2 Padrões, solventes e reagentes	52
4.2.3.1 Preparo de amostra	52
4.2.3.2 Condições cromatográficas e da espectrometria de massa (GC-MS)	53
4.2.3.3 Validação interna e controle de qualidade	54
4.2.3.4 Tratamento estatístico	55

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.3.1 Otimização do protocolo de extração	55
4.3.2 Controle de qualidade de validação de método analítico	61
4.3.3 Aplicação a amostras reais	64
4.4 CONCLUSÃO	67
4.5 REFERENCIAS.....	67
5. DISCUSSÃO GERAL	69
6. CONCLUSÃO GERAL	71
7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	72
8. REFERENCIAS	73
9. MATERIAL SUPLEMENTAR	85

1. INTRODUÇÃO GERAL

No cenário mundial, o café se destaca como uma das bebidas mais populares (Bertrand et al., 2003), e vem apresentando um aumento do consumo. Tal fato tem influência dos benefícios associados a essa bebida, além de seu aroma e sabor marcante e agradável, a bebida é também conhecida como estimulante (Esquivel & Jiménez, 2012), sendo fonte de ácidos clorogênicos da dieta humana, compostos antioxidantes e outros compostos bioativos (Farah, 2012). Apesar de ter grande destaque sobre os benefícios associados ao consumo do café, este alimento vem sendo alvo de vários estudos que buscam avaliar a incidência de contaminantes. A contaminação por substâncias tóxicas pode ocorrer em diversos segmentos da cadeia produtiva, desde o plantio até o preparo para consumo, podendo-se destacar contaminantes naturais (fitotoxinas, micotoxinas), ambientais (bifenilas policloradas (PCBs), dioxinas), formados durante o processamento (acrilamida, nitrosaminas, furano, cloropropanóis aminas heterocíclicas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e agrotóxicos (Arcila & Benavides, 2019; Barrios-Rodríguez et al., 2022; Khaneghah et al., 2019; Maziero & Bersot, 2010).

A torrefação é uma das etapas envolvidas no processamento do café, e nela ocorrem inúmeras reações levando a alteração dos compostos químicos presentes nos grãos, uma variedade de compostos são degradados e outros formados. Essas reações, na presença de alguns percussores podem desencadear a formação de contaminantes oriundos desse processo térmico, a exemplo dos HPAs (Chu, 2012; da Silva et al., 2021; Park et al., 2021). Os HPAs são compostos formados pela combustão incompleta e pirólise da matéria orgânica (Premnath et al., 2021), apresentam baixa afinidade com a água, baixa solubilidade e alto coeficiente de partição octanol-água (B.-K. Lee & Vu, 2010). Há uma grande preocupação em torno da presença desses compostos em alimentos, uma vez que alguns desses compostos são descritos como mutagênicos, carcinogênicos, genotóxicos ou citotóxico (Armstrong et al., 2004).

Estudos vem apontando a presença de HPAs em alimentos, dentre eles, o café (Sinisterra, Medina e Lanças, 2022; Pissinatti et al, 2015; Singh, Agarwal, 2021; El-Deen, Kuniyoshi Shimizu 2021; El-Deen, Kuniyoshi Shimizu, 2021). O desenvolvimento de metodologias analíticas sensíveis e eficientes, que possibilitem a geração de dados confiáveis para análise desses

contaminantes em café se faz importante. Em virtude da complexidade da amostra, bem como das baixas concentrações em que esses contaminantes podem estar presente no café, a combinação de um preparo de amostra mais seletivo e uma técnica analítica de alta sensibilidade é um ponto muito importante para o estudo desses compostos.

A determinação de HPAs em amostras de café nacional é extremamente importante, diante do alto consumo de café apresentado pela população brasileira, dado que segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2022), o Brasil ocupa a segunda posição no ranking de consumo de café, e o consumo per capita nacional em 2021 foi de 4,84 kg por ano de café torrado. Tomando como base esses dados, a verificação da ocorrência de HPAs em amostras de café é de grande importância para se avaliar a exposição da população a essa classe de contaminantes.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi determinar a presença de 13 de HPAs em amostras de cafés torrados e moídos comercializados no Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar uma técnica de preparo de amostra (extração e limpeza), simples, rápida e eficiente, com baixa geração de resíduo, para análise de HPAs em cafés torrados e moídos.
- Adaptar e validar metodologia analítica para a determinação de 13HPAs por cromatografia a gás acoplada ao detector de massas em amostras de café.
- Aplicar a metodologia analítica desenvolvida em 28 amostras comerciais.

3. CAPÍTULO 1 - ARTIGO DE REVISÃO

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) EM CAFÉ: UMA REVISÃO

Edilaine A S Santos¹, Lucas C R Miranda¹ e Helena T Godoy¹

¹Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Rua Monteiro Lobato 80, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Food Science and Technology*

RESUMO

O café se destaca estando entre os produtos mais comercializados no mundo, entretanto o processamento do grão pode desencadear a formação de contaminantes, a exemplo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Alguns dos compostos desse grupo apresentam potencial cancerígeno, genotóxico, citotóxico portanto, faz-se necessário estudos que avaliem a presença deles em alimentos. Diante disso, o presente trabalho tem por objetivo, levantar dados a respeito da ocorrência de HPAs em café, bem como de métodos analíticos e de preparo de amostra utilizados para investigação desses compostos. Para isso foi desenvolvida uma revisão de literatura sobre o processamento do café, associando as etapas do processo com a incidência de HPAs, e também um levantamento de dados sobre as metodologias descritas para análise de HPAs em amostras de café, tendo como base 56 artigos, de diversos países. Esse levantamento mostrou que a técnica de cromatografia a gás (GC-MS) é a mais utilizada, e para preparo de amostra são principalmente empregadas técnicas de extração em fase sólida (SPE). Também evidenciou a baixa quantidade de estudos que avaliem HPAs em cafés comerciais brasileiros.

Palavras-chave: HPAs, torrefação, café, contaminantes de processamento

ABSTRACT

Coffee stands out as one of the most commercialized products in the world, however the processing of the grain can trigger the formation of contaminants, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Some of the compounds in this group have carcinogenic, genotoxic, cytotoxic potential, therefore, studies are needed to assess their presence in foods. In view of this, the present work aims to collect data regarding the occurrence of PAHs in coffee, as well as analytical and sample preparation methods used to investigate these compounds. For this, a literature review on coffee processing was carried out, associating the process steps with the incidence of PAHs, and also a data collection on the methodologies described for the analysis of PAHs in coffee samples, based on 56 and articles from different countries. This survey showed that the gas chromatography technique (GC-MS) is the most used, and for sample preparation, solid phase extraction (SPE) techniques are mainly employed. It also evidenced the low number of studies evaluating PAHs in Brazilian commercial coffees.

Keywords: PAHs, roasting, coffee, processing contaminants

3.1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) referem-se a um grande grupo de poluentes orgânicos persistentes, que consistem em carbono e hidrogênio ligados em sistemas de anéis simples a complexos (Cerniglia, 1992). Esses arranjos de anéis benzênicos são resultado da pirólise de compostos orgânicos ou combustão industrial incompleta (Abbas et al., 2018). Esses compostos vêm sendo relatados em alimentos, ar, água, solo e sedimentos (Patel et al., 2020). Esse fato causa preocupação em função do potencial tóxico, bem como o fato da persistência no ambiente apresentada por essas substâncias (Patel et al., 2020).

A exposição a esses compostos pode acarretar diversos efeitos, que vão de agudos como, vômitos, náuseas, diarreia, inflamação e vermelhidão na pele, à efeitos crônicos como oxidativos, toxicidade genética, transformação celular e carcinogenicidade (Diggs et al., 2011; Iko Afé et al., 2020; Khalil et al., 2010; Rossnerova et al., 2015; Sugimura et al., 2004; Tiwari et al., 2017).

A alimentação vem sendo indicada como uma das principais vias de exposição dos seres humanos a esses compostos (Singh et al., 2020). A contaminação de alimentos por HPAs pode ocorrer ao longo de toda cadeia produtiva, uma vez que estes são persistentes no ambiente e podem entrar em contato com os alimentos ou se desenvolver por processamentos que envolvam altas temperaturas (Kacmaz, 2019).

O café vem sendo indicado como uma importante matriz a ser monitorada para contaminação por HPAs. Esse fato diz respeito principalmente a relação que vem sendo estabelecida na literatura entre a torrefação do café e a formação dessas substâncias (Schouten et al., 2020). A torrefação é uma etapa extremamente importante no processamento do café, pois irá desenvolver o aroma e sabor característicos, responsáveis pela popularidade da bebida (Farah, 2012). Entretanto, as altas temperatura envolvidas nesse processo desencadeia a formação de precursores de HPAs (Rose et al., 2015).

Diante desse contexto, e levando em consideração o alto consumo de café no Brasil, o desenvolvimento de técnicas analíticas que contribuam para o monitoramento desses compostos é imprescindível. Essas técnicas devem transpor o desafio da determinação de HPAs em amostra de café, que são os baixos níveis de detecção exigidos e a diversidade de potenciais interferências presentes na matriz (García-Falcón et al., 2005). A cromatografia é a técnica analítica mais citada

na literatura para análise HPAs, onde a cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massa (MS) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detector de fluorescência (FLD) são as mais utilizadas. A associação de técnicas analíticas com técnicas de preparo de amostra é um fator determinante para análise desses contaminantes, técnicas como, extração em fase sólida (SPE), QuEChERS e Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME) vem se destacando frente a avaliação de HPAs em amostras de café. Com isso o presente estudo objetiva o levantamento de dados sobre análise da HPAs em amostras de café torrado e moído.

3.2 REVISÃO DE LITERATURA

3.2.1 Café

O café é uma bebida mundialmente conhecida e consumida, sua obtenção se dá a partir do grão do café torrado e moído. O grão do café é obtido do cafeeiro, planta a qual produz frutos arredondados semelhantes a uma cereja, quando maduros podem atingir a coloração amarela ou vermelha. O grão apresenta duas sementes semiesféricas que retiradas do fruto são denominadas de “grão de café verde”, sendo essa parte destinada ao processamento para a obtenção do café torrado e moído (Buffo & Cardelli-freire, 2004). O grão de café verde é o principal produto de interesse comercial proveniente do fruto. O grão representa cerca de 50-55% da matéria seca e apresenta variabilidade em tamanho, forma e densidade, características influenciadas por práticas agrícolas e espécie cafeeira (Franca & Oliveira, 2019).

O fruto do cafeeiro é uma drupa, sendo caracterizado como carnosos, com o pericarpo diferenciado em exocarpo, mesocarpo e endocarpo (Borém, 2008). O exocarpo é o tecido mais externo da estrutura do fruto, sendo uma camada de células compactadas. O tecido que compõem mesocarpo é formado por células parenquimatosas, apresenta característica de ser rígido. Já o endocarpo é a estrutura mais interna do pericarpo, formado por células esclerenquimatosas, é a parte mais próxima da semente, que é formada pela película prateada, endosperma e embrião (Esquivel & Jiménez, 2012). Dentre as estruturas citadas anteriormente, pode-se destacar que a composição do endosperma está associada aos compostos precursores do aroma e sabor do café torrado, sendo também o principal tecido de reserva.

Sobre este grão, historicamente indicasse a Etiópia como lugar de origem do café, sendo que relatado que se disseminou primeiro para a Índia, seguida da Indonésia, Brasil, Colômbia e América Central (Borém, 2008; Illy & Viani, 1995).

3.2.1.1 Classificação botânica

Em relação a classificação botânica, o café pertence à família *Rubiaceae*, que é composta por vários gêneros, tendo destaque econômico o gênero *Coffea*. Dentro desse gênero são cultivadas as espécies *Coffealiberica* (café Libérica), *Coffeadevrei* (café Excelsa), *Coffeaarabica* (café Arábica) e *Coffeacanephora* (café Robusta), onde as duas últimas apresentam grande relevância na economia mundial correspondendo a mais de 60% da produção, sendo importante destacar que a produção de café comercial geralmente tem como base o blend dessas duas espécies (ICO, 2022).

O *Coffea arábica* é conhecido por sua fragilidade em comparação com robusta, as plantas têm melhor cultivo em clima temperado (19-22°C), têm a forma de um elipsóide semi-triaxial com uma fenda longitudinal sigmoidal em seu lado plano (Franca & Oliveira, 2019). Essa espécie requerer um manejo agrônômico mais cuidadoso em termos de nutrição, fitossanidade (pragas e doenças), colheita, e pós-colheita (Luis et al., 2020). Apresentando um preço mais alto no mercado internacional (Gielissen & Graafland, 2009). O *Coffea arábica* possui em sua composição 0,8-1,4% de cafeína, 7-9% de ácido clorogênico e 0,6-1,2% de trigonelina. Já o *Coffea canéfora* apresenta em sua composição 1,7-4% de cafeína, 7-12% de ácido clorogênico e 0,3-0,9% de trigonelina (Belitz et al., 2009). As espécies apresentam características distintas em sua composição em decorrência das diferentes condições aplicadas para seu manejo e cultivo. O *Coffea canéfora* ocupam preferencialmente as zonas equatoriais de baixa altitude, caracterizam-se como plantas mais vigorosas, os grãos são mais redondos com uma fenda central ligeiramente reta (Franca & Oliveira, 2019), e são menos suscetíveis a ataques de doenças (Luis et al., 2020).

3.2.1.2 Composição físico-química café verde

As substâncias presentes no grão do café podem ser classificadas de acordo com a afinidade pela água. As substâncias hidrossolúveis são a cafeína, trigonelina, ácido nicotínico, ácidos clorogênicos, mono, di e oligossacarídeos, algumas proteínas, minerais e ácidos carboxílicos. Os compostos insolúveis mais encontrados em maior proporção são celulose, lignina, hemicelulose, lipídios, proteínas e minerais (Borém, 2008).

A composição do café verde inclui inúmeros compostos, podendo-se citar os polissacarídeos, que ficam localizados na parede celular (50%), celulose (15%), arabinogalactana-proteínas (25 a 30%), mananas ou galactomananas (50%) e pectina (5%) (Borém, 2008; Navarini et al., 1999; Redgwell et al., 2002). Dentre os compostos, alguns apresentam funções primordiais no grão, sendo estes a arabinogalactana, a qual tem a função de agregar os componentes químicos da parede celular; a manana considerada um polissacarídeo de reserva com função de estruturar a parede das células do grão de café; e a celulose que constitui o esqueleto da parede celular da semente. Vale ressaltar que, a sacarose é o carboidrato de baixo peso molecular predominante no café cru (Rogers et al., 1999; Silwar & Lullmann, 1988). Os carboidratos presentes no grão de café são compostos extremamente importantes, pois tem influência no aroma, na estabilidade da espuma, bem como na viscosidade (Esquivel & Jiménez, 2012).

Além do grupo dos carboidratos, os lipídeos e as proteínas são substâncias presentes em quantidades representativas no grão. Dentre a fração lipídica estão presentes cera, triglicerídeos, ésteres de álcoois diterpênicos, ácidos graxos, álcoois diterpênicos, esteróis, tocoferóis, fosfatídeos e ácidos graxos livre esterificado na forma de triacilgliceróis (Speer & Kölling-Speer, 2006). Já as proteínas podem ser encontradas na semente do café em suas formas solúveis ou insolúveis, também como aminoácidos livres e peptídeos (Mazzafera & Robinson, 2000).

Outros compostos importantes também são encontrados, a exemplo dos ácidos clorogênicos, onde o ácido caféico, ferúlico e p-cumárico apresentam maior importância em termos de quantidade (Clifford et al., 2003). A cafeína é uma substância de grande destaque em relação a composição do café, encontrando-se livre no citoplasma e ligada a parede celular podendo estar associada a ácidos clorogênicos. Também há presença de trigonelina, ácido nicotínico, outros ácidos carboxílicos (acético, cítrico, málico, fórmico, químico, succínico), bem como os minerais que correspondem a 4% da massa seca do café cru, tendo destaque potássio, magnésio, fosforo e cálcio (Borém, 2008).

A cafeína é um alcalóide de grande importância para o café, estando diretamente associado à qualidade das bebidas de café, já que tem relação direta com o amargor (Farah et al., 2006). É reconhecida pela sua ação estimulante no sistema nervoso central, aumento do estado de alerta, circulação sanguínea e respiração (Belay et al., 2008). Outros possíveis benefícios da cafeína incluem a melhora do humor e o melhor desempenho em exercícios, sendo um dos fatores que trazem destaque e tem influência sobre a grande aceitação da bebida (Heckman et al., 2010). Embora os benefícios, o consumo de cafeína foi associado a insônia e dependência leve, em altas doses a cafeína foi vinculada a ansiedade, inquietação, tensão, nervosismo e agitação psicomotora (Daly & Fredholm, 1998).

3.2.1.3 Mercado do café

O café se destaca como uma das bebidas mais consumidas em escala mundial. Segundo a Instrução Normativa nº 16, de 24 de maio de 2010, entende-se por café (bebida), o líquido obtido por infusão, percolação, decantação ou outro processo de preparo a partir do café torrado e moído. Apesar de haver diferentes espécies de café, maior parte da bebida café é obtida a partir das espécies *Coffea arabica* (Arabica) e *Coffea canephora* (Robusta). O café arábica se destaca por suas propriedades sensoriais, é uma bebida de aroma e sabor refinado, enquanto o café robusta é descrito como um café neutro, de sabor fraco, destacando o amargor (Bertrand, Guyot, Anthony, Lashermes, 2003).

O café é reconhecido comercialmente como *commodity* agrícola, tendo grande destaque no cenário mundial. Segundo dados da Organização Internacional do Café (ICO, 2022), aproximadamente 170 países produzem café, tendo destaque o Brasil, Vietnã, Colômbia e Indonésia. Nesse cenário o Brasil também se destaca como maior exportador desse produto. E com relação ao consumo estima-se que o café seja uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo (Tommerdahl et al., 2022).

A popularidade desta bebida está associada ao aroma e sabor marcante e agradável, bem como as suas propriedades. A infusão do café é conhecida como estimulante, propriedade atribuída principalmente à cafeína (Esquivel & Jiménez, 2012). Além da cafeína outros compostos presentes no café apresentam efeito positivo sobre a saúde, como ácido clorogênico, ácido nicotínico,

trigonelina, ácido quinolínico, ácido tanínico, ácido pirogólico (Minamisawa et al., 2004). O café reconhecido como principal fonte de ácido clorogênico da dieta humana, sendo também uma fonte compostos de antioxidantes e outros compostos bioativos (Farah, 2012).

Essa notoriedade dos benefícios do café vem contribuindo com o aumento do consumo por parte da população mundial, a acessibilidade da bebida para qualquer população social e econômica, é um fator que também contribui, bem como os hábitos gerados em torno dessa bebida, como pausa durante o trabalho exaustivo ou dias de estudo, e a necessidade contemporânea de conveniência, espaços de interação social e para simplesmente desfrutar, as cafeterias apresentam um fenômeno relevante em todas as cidades urbanas ao redor do mundo. Em função da demanda durante todos os períodos do ano e por ser sazonal o armazenamento é necessário para manter a melhor qualidade. Nesse sentido, vários países tropicais e subtropicais produzem café extensivamente (Ghosh & Venkatachalapathy, 2014).

3.2.2 Processamento

O processamento para obtenção do café torrado e moído engloba etapas, iniciando com a colheita. A colheita do café pode ser realizada tanto manualmente quanto mecanicamente. A colheita manual confere maior seletividade ao colher frutos em diferentes estádios de maturação, uma vez que no mesmo pé ou até no mesmo galho pode haver frutos com graus de maturação diferentes. Pois os frutos do cafeeiro geralmente não amadurecem de forma simultânea. Sendo importante ressaltar que frutos fora do estágio de maturação tido como o ideal (maduro) podem desencadear formação de defeitos no produto. Apesar de uma boa seletividade dos frutos, esse processo acaba sendo demorado e, portanto, caro. A colheita mecânica é realizada agitando as árvores, ou com equipamentos que funcionam como um “pente flexível” retirando os frutos dos galhos, que ao contrário do outro método, não há seletividade do grão, o que pode ocasionar presença de sujidades, como pedras, galhos, folhas, bem como defeitos de rendimento, frutos não maduros, frutos fermentados ou até mesmo frutos na senescência. No entanto, apresenta um valor menor que a colheita manual (Toci et al., 2006).

A pós a colheita, não é indicado que fruto seja armazenado por longos períodos, pois há risco de fermentação, contaminação microbiana, inclusive por fungos toxicogênicos, podendo também haver a formação de defeitos (Borém, 2008).

3.2.2.1 Processamento primário

O processamento do fruto do café até a obtenção do café torrado moído é composto por várias etapas. Como a recepção que ocorre em moegas, abanação que objetiva a separação de impurezas dos frutos e pode ser realizada de forma manual ou mecânica, na sequência ocorre a separação hidráulica dos frutos, a qual ocorre em lavadores, por meio da diferença de densidade, separando em dois grupos, frutos verdes ou mais densos, e dos menos densos, chamados de boia (Farah, 2012). Em seguida a extração da polpa, nessa etapa ocorre a produção do grão de café verde. Esse processo de extração pode ocorrer por via seca e a via úmida. A **Figura 1** esboça um fluxograma de processamento primário do café.

Na via seca os frutos são processados na sua forma integral, as sementes são expostas ao sol ou secadores de ar até que o teor de umidade seja de aproximadamente 10%-12% (Toci et al., 2006). Logo após o processo de secagem, a casca e a polpa dos grãos são removidas. O exocarpo que originalmente é amarelo ou vermelho torna-se escuro, há diminuição do tamanho da cereja em até 40%, formando o café coco ou café natural. Sendo importante ressaltar que no Brasil o café é normalmente produzido por via seca, e que essa forma de beneficiamento apresenta menor geração de resíduo sólidos e líquidos (Borém, 2008).

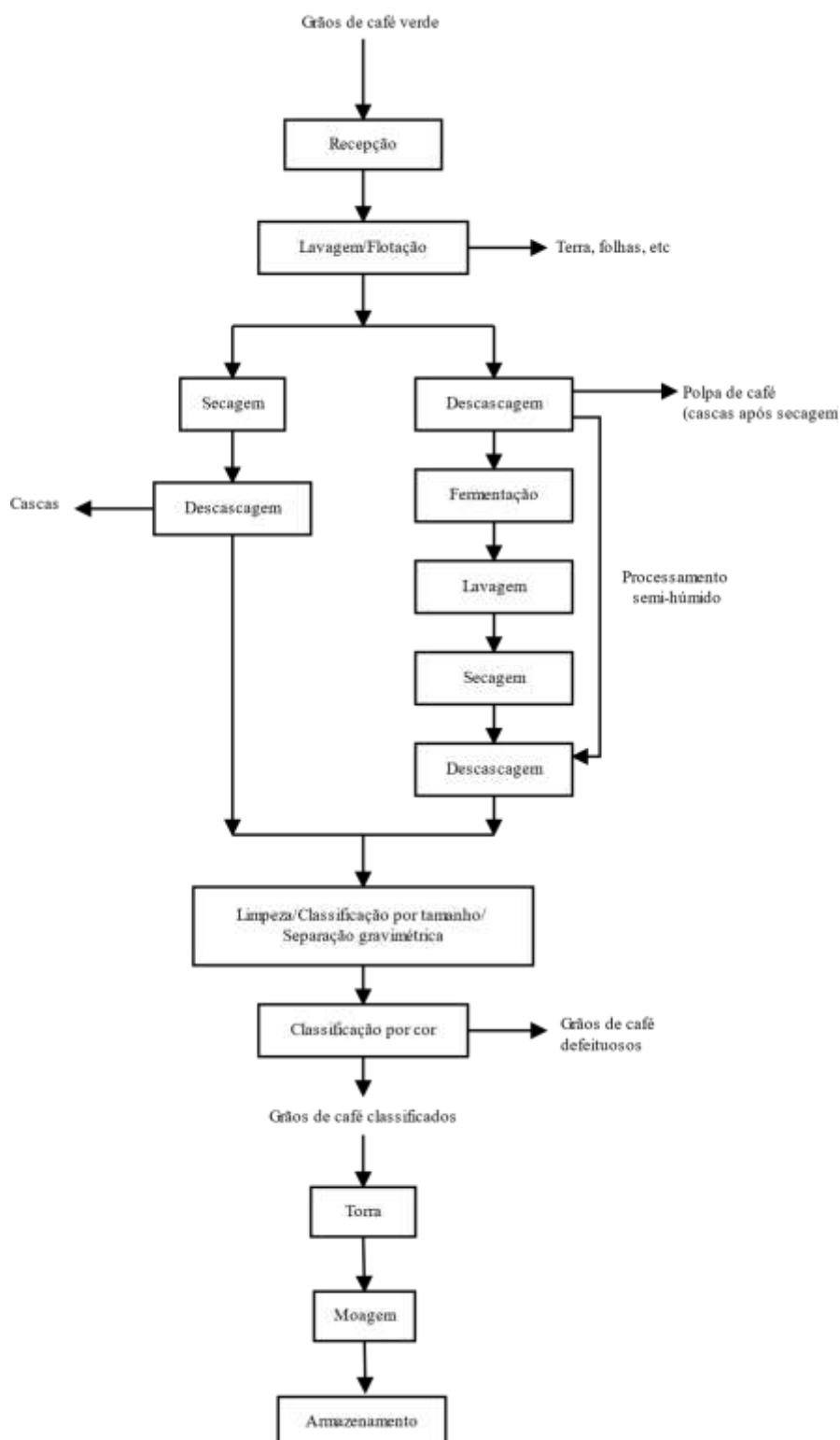


Figura 1. Processamento primário do café (Adaptado de Franca, Oliveira, 2019).

Por outro lado, na via úmida são produzidos os cafés pergaminhos (Esquivel & Jiménez, 2012). É possível obter três formas de café no processado por via úmida, o café despulpado, obtido pela remoção mecânica da casca e a mucilagem por fermentação biológica, o descascado, com remoção da casca e parte da mucilagem mecanicamente e o desmucilado, obtido removendo mecanicamente toda a casca e a mucilagem (Borém, 2008). O descascamento é uma etapa comum a todos as formas de processamento por via úmida, a quantidade de frutos verdes é um fator que pode comprometer essa etapa. Em seguida ocorre despulpamento, onde o café descascado é direcionado para tanques de fermentação, por um período de 12 a 48 horas. Essa etapa objetiva a hidrólise da mucilagem. Após a fermentação o café deve ser lavado manual ou mecanicamente para finalizar a remoção da mucilagem e, em seguida, podem ser secos ao sol ou em secadores de ar e armazenados para uso comercial, bem como na via seca (Pereira et al., 2019).

Logo após a secagem dos grãos, por via seca ou via úmida ocorre a cura, que é a retirada da casca e o armazenamento (Vincent, 1987). Nesta etapa ocorre limpeza granulometria e por densidade, triagem colorimétrica e ensacamento em sacos padrão de 60kg. Depois desse primeiro tratamento realizado, os grãos podem ser comercializados para serem processados, seguindo etapas de torrefação e moagem (Borém, 2008).

3.2.2.2 Torrefação

Depois da etapa de secagem o café pode ser armazenado ou direcionado para o processamento visando a obtenção de um produto. Nesse sentido é importante destacar a torrefação como uma das principais etapas do processamento, visto que essa etapa é responsável pela conversão do grão do café verde em café torrado. A torrefação é um tratamento térmico a seco, onde os grãos são expostos ao ar quente, havendo o aumento da temperatura, que desencadeia reações químicas, desidratação, e alterações na microestrutura (Schenker & Rothgeb, 2017). A torrefação do café requer temperaturas elevadas e superiores a 190° C, para possibilitar o desenvolvimento das características sensoriais desejadas (Farah, 2012).

O calor transferido para o café verde tem grande influência sobre as transformações que ocorrem no grão, onde a etapa de torra pode ser dividida em três etapas, sendo inicialmente na

torrefação, na qual ocorre a evaporação da água livre. Nesta fase quando a temperatura das sementes atinge 130° C, a sacarose carameliza, e as sementes começam a apresentar coloração dourada e inchar, sendo possível observar também o desaparecimento do cheiro de café verde (Buffo & Cardelli-freire, 2004), onde as alterações químicas nesta fase inicial são pequenas em relação as outras fases da torrefação. Ao atingir temperaturas superiores a 160° C, iniciam-se uma série de reações, onde a composição química dos grãos muda drasticamente, ocorrendo desprendimentos em grandes quantidades de moléculas de dióxido de carbono. É perceptível a mudança na coloração das sementes para marrom claro, o aumento do volume e o início da formação de aroma (Farah, 2012). Em temperaturas superiores a 190° C, é possível observar as reações de Maillard e Strecker, que envolvem carboidratos, proteínas e outras classes de compostos de baixo e alto peso molecular (Schenker & Rothgeb, 2017). Ao atingir a temperatura desejada, pelo período ideal o processo é interrompido e as sementes são rapidamente resfriadas pelo uso de água ou ar, sendo preferível o emprego do ar. Esse tratamento térmico pode durar em período de 3 a 20 minutos (Farah, 2012).

A temperatura nessa fase tem correlação com alguns parâmetros, como a cor, onde quanto maior a temperatura, mais escuro o café, podendo classificar em graus de torra, "leve", "médio" ou "escuro". O aumento da temperatura durante a torrefação é constante até atingir a temperatura máxima que pode variar de 200 a 250° C (Schenker & Rothgeb, 2017). As temperaturas empregadas na torra podem estar relacionadas ao tipo de torrefador utilizado, geralmente em torrefadores de cama de fluidos as temperaturas podem atingir até 250° C (Farah, 2012). Bem como o tempo, que influencia as reações, períodos de torra mais longos podem gerar um café amargo e sem o aroma desejado, já períodos de torra curtos podem ser insuficientes para que todas as reações ocorram (Schenker & Rothgeb, 2017).

Comumente o processo descontínuo para torrefação do café é o que mais ocorre, resumidamente nesse processo os grãos são carregados em cilindros horizontais rotativos, onde o ar quente é soprado para dentro para aquecer os grãos, por temperaturas em torno de 220° C, por um período suficiente para atingir o grau de torra desejado. Com relação ao grau de torra, geralmente é avaliado por medições de refletância de luz de grãos torrados moídos ou inspeção visual de sua cor por um operador (Dutra et al., 2001).

Na torrefação algumas alterações são evidenciadas, em função da sucessão de reações que provocam modificações na composição do grão de café. Essa etapa é considerada como determinante, pois nela ocorre a formação de propriedades físicas, que tem influência direta nas características sensoriais, tecnológicas e funcionais do café (Schenker & Rothgeb, 2017). Em virtude da formação de compostos relacionados ao sabor e aroma característico da bebida, desenvolvimento da coloração escura, textura porosa e quebradiça que favorece a moagem (Buffo & Cardelli-freire, 2004). Outros fatores também podem ser observados, como aumento do volume, a estrutura se torna mais porosa (Schenker et al., 1999) grão, bem como vaporização da água e conversão de matéria seca em compostos voláteis (Schenker & Rothgeb, 2017). Dentre algumas das reações que ocorrem durante a torrefação, tem a formação carboidratos de baixo peso molecular, a partir de polissacarídeos (Arya & Rao, 2010), alteração da coloração em função da pirólise de compostos orgânicos (Belitz et al., 2009). E outras reações, como reação de Maillard, degradação de Strecker, pirólise, caramelização, desnaturação e degradação de proteínas e de alguns ácidos (Aguiar et al., 2016).

Após a torrefação do café, há uma alteração da composição em decorrência das reações ocorridas durante o processamento, estando principalmente carboidratos (38–42% base seca), melanoidinas (23%), lipídios (11–17%), proteínas (10%), minerais (4,5–4,7%), ácidos clorogênicos (2,7–3,1%), ácidos alifáticos (2,4–2,5%), cafeína (1,3–2,4%), dentre outros em menor concentração (Belitz et al., 2009). O grão do café é, então, moído, podendo ser comercializado como café torrado moído ou podem ser direcionados para fabricação de café instantâneo (Farah, 2012).

Sendo importante destacar a relação da qualidade sensorial do café e a etapa de torrefação. Os atributos sensoriais que indicam qualidade do café, compreendem aroma, acidez, amargor, corpo, sabor e impressão global da bebida. A intensidade e equilíbrio desses parâmetros definem a qualidade sensorial do café (Stalmach et al., 2006). Sabe-se que esses parâmetros são influenciados diretamente pelas espécies utilizadas, manejo e condições de cultivo das plantas, grau de maturação na colheita, método de colheita e método do processamento.

3.2.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) se referem a um grupo formado por mais de 200 compostos orgânicos, em sua estrutura apresentam dois ou mais anéis aromáticos fundidos (Binello et al., 2021). Como características, destaca-se a alta hidrofobicidade, baixa solubilidade em água, alto coeficiente de partição octanol-água, baixa pressão de vapor e altos pontos de fusão e ebulição, dependendo das estruturas (B.-K. Lee & Vu, 2010). Tais propriedades torna-os mais persistentes no ambiente (Patel et al., 2020). Outro ponto importante sobre as características dessas substâncias, é que há HPAs de baixo peso molecular, estes são formados por três ou menos anéis aromáticos, já os de alto peso molecular, são moléculas que em sua estrutura apresentam quatro ou mais anéis aromáticos (Premnath et al., 2021).

Esses compostos são formados principalmente como resultado da combustão incompleta e pirólise da matéria orgânica, sendo contaminantes ambientais que podem estar presente em qualquer meio devido a deposição desses compostos na atmosfera, pela ocorrência incêndios florestais, erupções vulcânicas, emissão de gases e partículas de veículos motorizados e indústrias, derramamentos de óleo, sistemas de aquecimento doméstico, usinas de energia, combustíveis fósseis, refino de petróleo, gaseificação de carvão e incineração de resíduos. Tais fatores e as características dos HPAs possibilitam a bioacumulação destes no meio ambiente (Harvey & Lacey, 1997; Premnath et al., 2021; Purcaro et al., 2016).

O contato dos seres humanos com os HPAs está associado a três principais vias, ingestão, respiração e o contato dérmico. O consumo de alimentos é uma via importante para a exposição humana a contaminantes ambientais (Singh et al., 2020). Estudos tem evidenciado que a contaminação de alimentos por esses compostos podem ser a partir de fontes ambientais, processamento de alimentos industriais e de preparação de alimentos domésticos (EFSA, 2008).

A ocorrência dessas substâncias em alimentos deve-se ao preparo, processamento de alimentos ou até mesmo pela entrada na cadeia alimentar quando culturas ou plantas são cultivadas com recursos contaminados, como solo, ar ou água (Lawal, 2017). Tecnologias de processamento que envolvam altas temperaturas, como secar, assar ou grelhar são indicadas como possíveis fontes de formação de contaminantes como HPAs (Kacmaz, 2019). Nos últimos anos estudos vêm sendo realizados para determinar os níveis de exposição a HPAs, e alimentos como cereais, carnes, gorduras e óleos demonstram níveis significativos desses compostos quando estes são defumados e grelhados (Lawal, 2017). Processos de torrefação e secagem de grãos de café, grãos de cacau e

folhas de chá podem contribuir para o aumento do teor de HPAs (Pincemaille et al., 2014), principalmente quando estes passam por processos excessivos em relação a temperatura e tempo de exposição a temperatura elevadas (Rose et al., 2015).

A formação dos HPAs no café ocorre pela pirólise de compostos presentes nessa matriz, durante a etapa de torrefação. Em função da complexidade da composição do café é difícil descrever as reações envolvidas na formação desses compostos com precisão (Houessou et al., 2008). Sob altas temperaturas ocorre a quebra de macromoléculas (carboidratos, lipídeos e proteínas), podendo acarretar a formação de moléculas mais leves de baixo peso molecular e radicais livres intermediários, que apresentam alta reatividade (Singh et al., 2020; Wen et al., 2018). Quando estes compostos são ciclicizados e recombinados podem formar compostos de alto peso molecular a exemplo dos HPAs (Badger & Buttery, 1958). Essas moléculas migram gradualmente para a parte hidrofóbica do alimento e se acumulam (Chen & Chen, 2001).

Em um estudo realizado por Reizer et al., (2022) sobre mecanismos para formação de HPAs, são sugeridas três vias de formação desses compostos, sendo essas, com adições de acetileno, mecanismo Diels-Alder e mecanismo de formação com radicais, mas nenhuma das vias é diretamente indicada como principal via para formação desses compostos em alimentos.

A exposição aos HPAs pode estar associada a efeitos adversos, como interferência na função normal das membranas celulares e sistemas enzimáticos (Cross et al., 2011). A toxicidade dos HPAs pode induzir sintomas como vômitos, náuseas, diarreia, inflamação e vermelhidão da pele, danos nos rins e fígado, diminuição da imunidade ou imunossupressão, ruptura de células sanguíneas, deficiências congênitas, doenças mediadas por estresse oxidativo, toxicidade genética, transformação celular e carcinogenicidade (Diggs et al., 2011; Iko Afé et al., 2020; Khalil et al., 2010; Rossnerova et al., 2015; Sugimura et al., 2004; Tiwari et al., 2017). Os efeitos tóxicos associados a exposição aos HPAs são separados em efeitos agudos e efeitos crônicos. Estudos destacam que os efeitos agudos promovidos pelos HPAs dependem do tempo, da via de exposição, número ou concentração de exposição, do nível de toxicidade do composto, estado de saúde e idade (Domingo & Nadal, 2015; Khalil et al., 2010; J. G. Lee et al., 2019). O impacto da exposição a curto prazo dos HPAs não é claro, já a exposição ocupacional, a longo prazo a poluentes mistos contendo altas concentrações de HPAs, pode causar sensibilidade ocular, irritação, náusea, vômito,

diarreia, confusão, irritação e inflamação da pele (Rengarajan et al., 2015), podendo-se citar o antraceno e benzo(a)pireno como irritantes diretos da pele que podem causar reações alérgicas cutâneas em animais e humanos (Bil et al., 2018; Rose et al., 2015). Estudos indicam que alguns desses compostos são relacionados a teratogenicidade (Crowell et al., 2014; Perera et al., 2005; Rossnerova et al., 2015; Tarantini et al., 2011; Tiwari et al., 2017), genotoxicidade (Lewtas, 2007; Onopiuk et al., 2021; Schwerdtle et al., 2010), imunotoxicidade (Corsini & van Loveren, 2014), carcinogênese e efeitos citotóxicos (Armstrong et al., 2004). A carcinogenicidade desses compostos pode variar de acordo com o número e estrutura dos anéis aromáticos que compõem a molécula (Amirdivani et al., 2019).

Após entrar no organismo, em função da sua lipofilicidade, os HPAs são facilmente absorvidos (Celik-Saglam et al., 2022; Rengarajan et al., 2015). Boa parte dos contaminantes desse grupo são ingeridos junto com alimentos, passam pelo trato gastrointestinal, seguem absorvidos pelo metalismo de primeira passagem e, então, no fígado, passam pela biotransformação (Gerde et al., 2001). Normalmente os HPAs não apresentam características eletrofílicas, que permitem a ocorrência de interações covalentes com os centros nucleófilos do DNA e outras moléculas. Entretanto, quando ocorre conversão metabólica dos HPAs, por sistemas microssômicos oxidativos, são formados intermediários (epóxidos e diol epóxidos) capazes de gerar espécies de carbocátions altamente reativas que, por sua vez, estão associados com a ligação com o DNA. Essa ativação ocorre por meio de enzimas do citocromo P450 (Bendtsen et al., 2021; Sugimura et al., 2004). Os produtos de adição formados causam uma distorção na estrutura de dupla hélice do DNA, comprometendo sua função e induzindo o desenvolvimento de aduto, e consequentemente alteração genética, erros e mutações na replicação do DNA (Binello et al., 2021), porém os organismos possuem mecanismo de reparo para eliminação de adutos de DNA, por meio da excisão de nucleotídeos (Kropachev et al., 2013). Caso esses adutos não sejam reparados, podem causar mutações permanentes (Zhou et al., 2010), podendo ser pior se esses metabolitos estiverem em locais críticos com genes supressores de tumor ou oncogenes, pois podem iniciar o processo de carcinogênese (Olivier et al., 2010).

A atividade carcinogênica do BaP, por exemplo, é resultado de sua biotransformação. No fígado esse composto é oxidado formando o BaP-7,8-dihidrodiol-9,10-epóxido, que pode se ligar ao DNA modificando o mecanismo de replicação (Delft et al., 2010; Miller & Ramos, 2001). Para

esclarecer mais esse processo, sabe-se que a estrutura dos HPAs não apresenta características eletrofílicas, entretanto quando ocorre conversão metabólica desses compostos por sistemas oxidativos, podem ser formados intermediários eletrofílicos, capazes de reagir com DNA. Os produtos dessa reação tem o potencial de causar uma distorção na estrutura de dupla hélice do DNA, o que irá comprometer sua função, promovendo o travamento do aduto em uma alteração genética (Binello et al., 2021).

Diante da incidência desses compostos em alimentos e o risco associado, pode-se destacar o benzo(a)Pireno (BaP), benz(a)Antraceno (BaA), benzo(b)Fluoranteno (BbF) e Criseno (CHR), conhecido como grupo dos 4HPA, bem como a soma de 8 HPAs (os 4HPA juntamente com o benzo[k]fluoranteno [BkF], Dibenzo[ah]antraceno (DB(a,h)A), benzo [g,h, i]perileno B(g,h,i)P e indeno[1,2,3-c,d]pireno (I(c,d)P)) são compostos a serem monitorados. Esses grupos foram estabelecidos pelo Painel da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), como sendo indicador adequado de HPA em alimentos (EFSA, 2008).

A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classifica os compostos em grupos, sendo esses: Grupo 1 - carcinogênico para humanos; Grupo 2A - provavelmente carcinogênico para humanos; Grupo 2B - possivelmente carcinogênico para humanos; Grupo 3 - não classificável quanto à sua carcinogenicidade para humanos e Grupo 4 - provavelmente não carcinogênico para humanos. Nesse sentido, é importante ressaltar que a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou alguns compostos do grupo dos HPAs, como o benzo(a)Pireno em carcinógeno humano (Grupo 1), bem como o naftaleno e o criseno, que foram considerados possivelmente cancerígenos para humanos (Grupo 2B) (IARC, 2021).

Nesse sentido, o estudo desses compostos em alimentos é de suma importância, verificar níveis, processos associados e com isso tentar mensurar o risco associado a exposição a esses compostos. Segundo dados da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), os cereais e os frutos do mar são as classes de alimentos que mais contribuem para exposição dietética aos HPAs (EFSA, 2008). Com isso foi determinado o limite máximo de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ de benzo(a)pireno ou sua soma com benzo(a)antraceno, criseno e benzo(b)fluoranteno em alimentos infantis, para óleos e gorduras não deve exceder $10 \mu\text{g/kg}$, para grãos de cacau e produtos derivados $35 \mu\text{g/kg}$, e para carnes e produtos da pesca $30 \mu\text{g/kg}$ (European Commission, 2011). Sendo importante ressaltar que não há legislação que estabeleça limites para HPAs em café.

3.2.4 Metodologias para análise de HPAs em café

3.2.4.1 Técnicas Analíticas

A avaliação de contaminantes em matrizes alimentares vem sendo realizada para o monitoramento desses compostos, possibilitando a verificação da concordância com os limites máximos de resíduos permitidos para liberação de moléculas alvo, que podem estar presentes em níveis traços. Dessa maneira o uso de técnicas seletivas, com boa capacidade de separação são imprescindíveis. Nesse sentido, a cromatografia é a técnica analítica mais citada na literatura para análise de HPAs, acoplada a detectores apropriados podem reduzir o efeito de interferentes presentes nos alimentos. Para análise de HPAs em matrizes alimentares a Cromatografia Gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massa (MS) é uma das técnicas mais citadas (Kacmaz, 2019). Para análise de HPAs em café junto com GC-MS a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando detecção de fluorescência (FLD) é uma das mais reportadas na literatura (Erdem et al., 2021; Singh & Agarwal, 2021).

3.2.4.2 Técnicas de preparo de amostra

O uso dessas técnicas analíticas requer um preparo de amostra, idealmente este deve englobar extração e limpeza, possibilitando a diminuição do efeito matriz. Atualmente técnicas de preparo de amostra como QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and safe*), MSPE (Extração em Fase Sólida Magnética), LLE (Extração Líquido-Líquido), SPE (Extração em fase sólida), tem sido utilizadas para análise de HPAs em amostras café em diversos estudos (Bishnoi et al., 2005; Houessou et al., 2005; Kamal El-Deen & Shimizu, 2021a; Wu et al., 2021). A Tabela 1 apresenta um levantamento de dados sobre análises de HPAs em amostras de café realizadas nos últimos anos.

Tabela 1. Principais técnicas utilizadas na determinação de HPAs em amostras de café

Técnica de separação	Preparo de amostra	Solvente	Referência
HPLC-FLD	SUPRAS e QuEChERS	Acetonitrila e água acidificada	(Singh & Agarwal, 2021)
GC-MS	QuEChERS - AA-DLLME	Acetonitrila e dietil carbonato (DEC)	(Kamal El-Deen & Shimizu, 2021)
GC-MS	HS-SPME e DI-SPME	Acetonitrila	(Erdem et al., 2021)
HPLC-UV	MSPE	Acetonitrila	(Wu et al., 2021)
GC-MS	Extração assistida por ultrassom	n-hexano	(Kim et al., 2021)
HPLC -UV-VIS	LLE	Hexano	(Bishnoi et al., 2005)
HPLC-FLD	SPE	Hexano	(García-Falcón et al., 2005)
RP-HPLC	SPE	Metanol	(Houessou et al., 2005)
HPLC-FLD	LLE	Ciclohexano	(Houessou et al., 2007)
HPLC-FLD/ GC-ECD	Soxhlett	Hexano	(Stanciu et al., 2008)
GC-MS	LLE	Hexano	(Orecchio et al., 2009)
HPLC-FLD	LLE/SPE	Ciclohexano	(Tfouni et al., 2013)
HPLC-FLD	SPE	Hexano	(Jimenez et al., 2014)
GC-SIM-MS	DSPE LLE	Acetonitrila/ Hexano	(Sadowska-Rociek et al., 2015)
HPLC-FLD SFC-MS	DLLME QuEChERS	1-octanol/ acetonitrila Metanol/ Ciclohexano	Loh et al., 2016 (Yoshioka et al., 2018)
GC-MS	Filtração/CF-SPME	Acetonitrila	(dos Santos et al., 2019)
GC-MS	SPE	Água ultrapura	(Rascón et al., 2019)
GC-MS	SPE	Ciclohexano	(Rattanarat et al., 2021)
GC-MS	Soxhlet	Clorofórmio	(da Silva et al., 2021)

GC-MS	MSPE	Metanol / acetonitrila/ hidróxido de potássio	(Roudbari et al., 2021)
HPLC-FLD	QuEChERS	Acetonitrila	(Chiang et al., 2021)
UHPLC-UV	Homogeneização/ agitação	Metanol	(T. Lee et al., 2020)
GC-MS	HS- e DI-SPME	Água ultrapura	(Pacheco-Fernández et al., 2020)
HPLC-FD	HS-MP-LPME		(Hassan et al., 2020)
HPLC-FLD	LLE	Nanoferrofluido/Acetonitrila	(Fan et al., 2019)
GC-MS	Ultrassom	Acetona / n- hexano	(Nguyen et al., 2019)
GC-MS	Ultrassom	Acetato de etila/ Diclorometano: 2-propanol	(Tala & Chantara, 2019)
GC-MS-MS	QuEChERS	Hexano/ diclorometano	(Tran-Lam et al., 2018)
GC-MS	Ultrassom	N-hexano	(Ko et al., 2018)
GC-MS	SPME	Água bidestilada	(Bagheri et al., 2018)
HPLC-UV	HF-SPME	Acetonitrila	(Yazdi et al., 2018)
GC-MS	MAE-DLLME	Acetona, tetracloroetileno e bifenil	(Kamalabadi et al., 2018)
HPLC- FLD	μ-SPE	Metanol	(Loh et al., 2018)
GC-IDMS	LLE	ASE 350	Belo et al, 2016
HPLC- FLD	Extração em fase sólida magnética	Nano-adsorvente benigno baseado em um líquido iônico	(Shi et al., 2016)
GC-MS	Ultrassom/ Saponificação	n- hexano e cloreto de metileno	(Guatemala-Morales et al., 2016)
GC-MS-FID	US EPA 3545C	DIONEX ASE 100	(Conesa et al., 2016)
GC-MS	LLE/SPE	Hexano e diclorometano	(Pissinatti et al., 2015)
GC-MS	PLE	Hexano	(Duedahl-Olesen et al., 2015)
CG-FID	Soxhlett	Diclorometano e acetona	(Grover et al., 2013)
LC-MS	QuEChERS	Acetonitrila	(Santos da Rosa et al., 2012)

HPLC-FLD	Soxhlett	Hexano, N-dimetilformamida- água	(Tfouni et al., 2012)
GC-MS	SPE	Isooctano / ciclohexano	(Jung et al., 2011)
HPLC-FLD	ELL/ saponificação/ SPE	3-metilcolantreno, etanol-nhexano e n-hexano	(K. Lee & Shin, 2010)
HPLC -FD	Saponificação/ Concentração/ SPE	Hexano / acetona e ciclohexano	(Houessou et al., 2008)
HPLC-DAD	PLE/ Saponificação	Hexano / acetona/ Ciclohexano	Houessou et al, 2006
GC-MS-MS	alcalina/ SPE		(Schlemitz & Pfannhauser, 1996)
GC-MSD	Extração líquido- líquido	Ciclohexano / diclorometano	
GC-NPD			

Sobre os dados expostos na Tabela 1, é notório que das técnicas mais citadas na literatura, GC-MS é a mais reportada para análise de HPAs. Esse fato está associado as características dos HPAs, que são moléculas volatilizáveis, bem como a sensibilidade apresentada pela técnica e seletividade do espectrômetro de massas que possibilita a confirmação da identidade da molécula através do espectro de massas. A segunda técnica mais presente nos trabalhos é o HPLC-FLD, outras técnicas também vêm sendo utilizadas como, CG-FID, GC-SIM-MS, GC-IDMS, GC-NPD, GC-MSD, HPLC-FD, UHPLC-UV, HPLC-DAD, LC-MS, SFC-APCI-MS, RP-HPLC e HPLC -UV-VIS.

Para as técnicas de preparo de amostra a extração em fase solida (SPE) é bastante utilizada, bem como variações dessa técnica como a Extração em fase sólida magnética (MSPE) e a Microextração em Fase Solida (μ -SPE). A extração líquido-líquido também é reportada em vários trabalhos, bem como QuEChERS e Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME).

Por meio desse levantamento foi possível perceber que há muitos estudos sobre a incidência de HPAs em amostras de café, esses trabalhos avaliaram o grão do café verde, grão torrado e moído e a bebida de café, e foram desenvolvidos em diversos países, tendo destaque China, Japão, Tailândia, Etiópia. No Brasil não há muitos estudos realizados em amostras de café comercial, sendo um ponto que chama atenção em virtude da representatividade dessa *commodity* em nosso território.

3.3 CONSIDERAÇÕES

Na literatura diversos trabalhos que avaliam a presença de HPAs em amostra de café torrado evidenciam a contaminação das amostras frente ao processo de obtenção do produto comercial. Contudo, no Brasil não são apresentados dados suficientes para as amostras comercializadas em território nacional, em contrapartida o Brasil é considerado o principal exportador de café e segundo maior consumidor a nível mundial, o que reforça a importância de estudos e levantamento de dados relacionados a esse nível de contaminação. A geração de dados que demonstrem a incidência de HPAs em amostras de café produzidos e comercializados no Brasil torna-se essencial. Para isso é indispensável o desenvolvimento de técnicas analíticas e métodos de preparo e extração eficientes.

3.4 REFERÊNCIAS

- Abbas, I., Badran, G., Verdin, A., Ledoux, F., Roumié, M., Courcot, D., & Garçon, G. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives in airborne particulate matter: sources, analysis and toxicity. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 16, Issue 2, pp. 439–475). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0697-0>
- Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Trends in Food Science & Technology Microencapsulation of natural antioxidants for food application e The specific case of coffee antioxidants e A review. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- Amirdivani, S., Khorshidian, N., Dana, G., Mohammadi, R., Amir, M., Lorena, S., & Souza, Q. D. E. (2019). Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and dairy products. 72(1). <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12567>
- Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 112, Issue 9, pp. 970–978). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.6895>
- Arya, M., & Rao, L. J. M. (2010). *An Impression of Coffee Carbohydrates An Impression of Coffee*. 8398(2007). <https://doi.org/10.1080/10408390600550315>
- Badger, G. M., & Buttery, R. G. (1958). 501. The formation of aromatic hydrocarbons at high temperatures. Part IV. The pyrolysis of styrene. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 2458 – 2463. <https://doi.org/10.1039/JR9580002458>
- Badolato, E. S. G., Martins, M. S., Aued-Pimentel, S., Alaburda, J., Kumagai, E. E., Baptista, G. G., & Rosenthal, A. (2006). Systematic study of benzo[a]pyrene in coffee samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(5), 989–993. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000500025>

- Bagheri, H., Soofi, G., Javanmardi, H., & Karimi, M. (2018). A 3D nanoscale polyhedral oligomeric silsesquioxanes network for microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Microchimica Acta*, 185(9). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2950-z>
- Belay, A., Ture, K., Redi, M., & Asfaw, A. (2008). *Food Chemistry Measurement of caffeine in coffee beans with UV / vis spectrometer*. 108, 310–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.024>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. *Food Chemistry*, 938–970.
- Belo, R. F. C., Pissinatti, R., de Souza, S. V. C., & Junqueira, R. G. (2017). Evaluating Matrix Effects in the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Food: Can These Interferences Be Neglected for Isotope Dilution? *Food Analytical Methods*, 10(5), 1488–1499. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0706-0>
- Bendtsen, K. M., Bengtsen, E., Saber, A. T., & Vogel, U. (2021). A review of health effects associated with exposure to jet engine emissions in and around airports. In *Environmental Health: A Global Access Science Source* (Vol. 20, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12940-020-00690-y>
- Bertrand, B., Guyot, B., Anthony, F., & Lashermes, P. (2003). *Impact of the Coffea canephora gene introgression on beverage quality of C. arabica*. 387–394. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1203-6>
- Bil, W., van der Bent, S. A. S., Spiekstra, S. W., Nazmi, K., Rustemeyer, T., & Gibbs, S. (2018). Comparison of the skin sensitization potential of 3 red and 2 black tattoo inks using interleukin-18 as a biomarker in a reconstructed human skin model. *Contact Dermatitis*, 79(6), 336 – 345. <https://doi.org/10.1111/cod.13092>
- Binello, A., Cravotto, G., Menzio, J., & Tagliapietra, S. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee samples : Enquiry into processes and analytical methods. *Food Chemistry*, 344(November 2020), 128631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128631>
- Bishnoi, N. R., Mehta, U., Sain, U., & Pandit, G. G. (2005). Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai City (India) by high performance liquid chromatography. *Environmental Monitoring and Assessment*, 107(1–3), 399–406. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-3547-7>
- Borém, F. M. (2008). *Pós-Colheita do Café*. UFLA.
- Buffo, R. A., & Cardelli-freire, C. (2004). *Coffee flavour : an overview*. February, 99–104. <https://doi.org/10.1002/ffj.1325>
- Celik-Saglam, I., Balcik, C., & Cetin, B. (2022). Concentrations, sources, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in black, green and fruit flavored tea in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104504>
- Chen, B. H., & Chen, Y. C. (2001). Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the smoke from heated model lipids and food lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5238–5243. <https://doi.org/10.1021/jf0106906>
- Chiang, C. F., Hsu, K. C., Tsai, T. Y., Cho, C. Y., Hsu, C. H., & Yang, D. J. (2021). Evaluation of optimal QuEChERS conditions of various food matrices for rapid determination of EU priority polycyclic aromatic hydrocarbons in various foods. *Food Chemistry*, 334(February 2020), 127471. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127471>
- Chu, Y.-F. (2012). *Coffee: emerging health effects and disease prevention* (Vol. 59). John Wiley & Sons.

- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911.
- Conesa, J. A., Sánchez, N. E., Garrido, M. A., & Casas, J. C. (2016). Semivolatile and Volatile Compound Evolution during Pyrolysis and Combustion of Colombian Coffee Husk. *Energy and Fuels*, 30(10), 7827–7833. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b00791>
- Corsini, E., & van Loveren, H. (2014). *Molecular Immunotoxicology*. Wiley.
- Cross, A. J., Freedman, N. D., Ren, J., Ward, M. H., Hollenbeck, A. R., Schatzkin, A., Sinha, R., & Abnet, C. C. (2011). Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in a large prospective study. *American Journal of Gastroenterology*, 106(3), 432 – 442. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.415>
- Crowell, S. R., Hanson-Drury, S., Williams, D. E., & Corley, R. A. (2014). In vitro metabolism of benzo[a]pyrene and dibenzo[def,p]chrysene in rodent and human hepatic microsomes. *Toxicology Letters*, 228(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.04.004>
- da Silva, C. Q., Fernandes, A. da S., Teixeira, G. F., França, R. J., Marques, M. R. da C., Felzenszwalb, I., Falcão, D. Q., & Ferraz, E. R. A. (2021). Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. *Food Research International*, 141(March 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110089>
- Daly, J. W., & Fredholm, B. B. (1998). *Caffeine – an atypical drug of dependence*.
- Delft, J. H. M. Van, Mathijs, K., Staal, Y. C. M., Herwijnen, M. H. M. Van, Brauers, K. J. J., & Kleinjans, J. C. S. (2010). Time Series Analysis of Benzo [A] Pyrene-Induced Transcriptome Changes Suggests That a Network of Transcription Factors Regulates the Effects on Functional Gene Sets. 117(2), 381–392. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq214>
- Diggs, D. L., Huderson, A. C., Harris, K. L., Myers, J. N., Banks, L. D., Rekhadevi, P. v, Niaz, M. S., & Ramesh, A. (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons and digestive tract cancers: A perspective. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 29(4), 324 – 357. <https://doi.org/10.1080/10590501.2011.629974>
- Domingo, J. L., & Nadal, M. (2015). Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the scientific literature. In *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 86, pp. 144–153). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.10.002>
- dos Santos, R. R., Vidotti Leal, L. D., de Lourdes Cardeal, Z., & Menezes, H. C. (2019). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated and oxygenated derivatives in coffee brews using an efficient cold fiber-solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A*, 1584, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.046>
- Duedahl-Olesen, L., Navaratnam, M. A., Jewula, J., & Jensen, A. H. (2015). PAH in Some Brands of Tea and Coffee. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35(1), 74–90. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918554>
- Dutra, E. R., Oliveira, L. S., Franca, A. S., Ferraz, V. P., & Afonso, R. (2001). A preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of the degree of roast. *Journal of Food Engineering*, 47(3), 241–246.
- EFSA. (2008). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food 1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Adopted on 9 June 2008*. June, 1–114.

- Erdem, P., Tağaç, A. A., Bozkurt, S. S., & Merdivan, M. (2021). Chitosan and dicationic ionic liquid intercalated clay-coated solid-phase microextraction fiber for determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples. *Talanta*, 235(July). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122764>
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products ☆. *FRIN*, 46(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- European Commission, E. C. (2011). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 215(4), 1–5.
- Fan, C., Cao, X., Han, T., Pei, H., Hu, G., Wang, W., & Qian, C. (2019). Selective microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using a hydrophobic deep eutectic solvent composed with an iron oxide-based nanoferrofluid. *Microchimica Acta*, 186(8). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3651-y>
- Farah, 2019 - Coffee. (n.d.).
- Farah, A. (2012). *2 Coffee Constituents*.
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., & Trugo, L. C. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 98(2), 373–380.
- Franca, A. S., & Oliveira, L. S. (2019). Coffee. In *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products* (pp. 413–438). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00017-4>
- García-Falcón, M. S., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2005). Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry*, 90(4), 643–647. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.059>
- Gerde, P., Muggenburg, B. A., Lundborg, M., & Dahl, A. R. (2001). The rapid alveolar absorption of diesel soot-adsorbed benzo[a]pyrene: bioavailability, metabolism and dosimetry of an inhaled particle-borne carcinogen and 2 Battelle association warrants further investigation. In *Carcinogenesis* (Vol. 22, Issue 5).
- Ghosh, P., & Venkatachalapathy, N. (2014). Processing and drying of coffee--a review. *Int. J. Eng. Res. Technol*, 3(12), 784–794.
- Gielissen, R., & Graafland, J. (2009). *Concepts of price fairness : empirical research into the Dutch coffee market*. 18(2), 165–178.
- Grover, I. S., Sharma, R., Singh, S., & Pal, B. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in some grounded coffee brands. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(8), 6459–6463. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-3037-7>
- Guatemala-Morales, G. M., Beltrán-Medina, E. A., Murillo-Tovar, M. A., Ruiz-Palomino, P., Corona-González, R. I., & Arriola-Guevara, E. (2016). Validation of analytical conditions for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 197, 747–753. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.135>
- Harvey, J., & Lacey, M. G. (1997). A postsynaptic interaction between dopamine D1 and NMDA receptors promotes presynaptic inhibition in the rat nucleus accumbens via adenosine release. *Journal of Neuroscience*, 17(14), 5271–5280.

- Heckman, M. A., Weil, J., & De Mejia, E. G. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of Food Science*, 75(3), R77--R87.
- Houessou, J. K., Benac, C., Delteil, C., & Camel, V. (2005). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 871–879. <https://doi.org/10.1021/jf048633a>
- Houessou, J. K., Delteil, C., & Camel, V. (2006). Investigation of sample treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7413–7421. <https://doi.org/10.1021/jf060802z>
- Houessou, J. K., Goujot, D., Heyd, B., & Camel, V. (2008). Modeling the formation of some polycyclic aromatic hydrocarbons during the roasting of Arabica coffee samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3648–3656. <https://doi.org/10.1021/jf073233j>
- Houessou, J. K., Maloug, S., Leveque, A. S., Delteil, C., Heyd, B., & Camel, V. (2007). Effect of roasting conditions on the polycyclic aromatic hydrocarbon content in ground Arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9719–9726. <https://doi.org/10.1021/jf071745s>
- Iko Afé, O. H., Saegerman, C., Kpoclou, Y. E., Anihouvi, V. B., Douny, C., Igout, A., Mahillon, J., Hounhouigan, D. J., & Scippo, M. L. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination of traditionally grilled pork marketed in South Benin and health risk assessment for the Beninese consumer. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(5), 742–752. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1726502>
- Illy, A., & Viani, R. (1995). *Espresso coffee: the chemistry of quality*.
- Jimenez, A., Adisa, A., Woodham, C., & Saleh, M. (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49(11), 828–835. <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.938552>
- Jung, S. Y., Park, J. S., Son, Y. J., Choi, S. J., Lee, Y. J., Kim, M. S., Park, S. H., Lee, S. M., & Chae, Y. Z. (2011). Analysis of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in ground coffee using GC-tandem mass spectrometry and estimation of daily dose. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 43(5), 544–552. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2011.43.5.544>
- Kacmaz, S. (2019a). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Kacmaz, S. (2019b). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Kamal El-Deen, A., & Shimizu, K. (2021). Modified μ -QuEChERS coupled to diethyl carbonate-based liquid microextraction for PAHs determination in coffee, tea, and water prior to GC–MS analysis: An insight to reducing the impact of caffeine on the GC–MS measurement. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1171(January), 122555. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122555>

- Kamalabadi, M., Mohammadi, A., & Alizadeh, N. (2018). Simultaneous determination of seven polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee samples using effective microwave-assisted extraction and microextraction method followed by gas chromatography-mass spectrometry and method optimization using central composite design. *Food Analytical Methods*, 11(3), 781–789. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1042-8>
- Khalil, A., Villard, P. H., Dao, M. A., Burcelin, R., Champion, S., Fouchier, F., Savouret, J. F., Barra, Y., & Seree, E. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons potentiate high-fat diet effects on intestinal inflammation. *Toxicology Letters*, 196(3), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.04.010>
- Kim, H. S., Kim, J., Choi, J., Paik, Y., Moon, B., Joo, Y. S., & Lee, K. W. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in beverage and dairy products in South Korea: a risk characterization using the total diet study. *Food Science and Biotechnology*, 30(7), 989–1002. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00927-7>
- Ko, J. H., Das, G., Kim, J. E., & Shin, H. S. (2018). Study on formation of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from different roasting condition in coffee. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3991–4000. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3324-6>
- Kropachev, K., Kolbanovskiy, M., Liu, Z., Cai, Y., Zhang, L., Schwaib, A. G., Kolbanovskiy, A., Ding, S., Amin, S., Broyde, S., & Geacintov, N. E. (2013). Adenine-DNA adducts derived from the highly tumorigenic dibenzo[a,l]pyrene are resistant to nucleotide excision repair while guanine adducts are not. *Chemical Research in Toxicology*, 26(5), 783–793. <https://doi.org/10.1021/tx400080k>
- Lawal, A. T. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science*, 3(1). <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>
- Lee, B.-K., & Vu, V. T. (2010). *Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter 99 X Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter*.
- Lee, J. G., Suh, J. H., & Yoon, H. J. (2019). Occurrence and risk characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons of edible oils by the Margin of Exposure (MOE) approach. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0454-0>
- Lee, K., & Shin, H. S. (2010). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in commercial Roasted Coffee Beans. *Food Science and Biotechnology*, 19(6), 1435–1440. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0205-9>
- Lee, T., Park, H., Puligundla, P., Koh, G. H., Yoon, J., & Mok, C. (2020). Degradation of benzo[a]pyrene and acrylamide in roasted coffee beans by corona discharge plasma jet (CDPJ) and its effects on biochemical and sensory properties. *Food Chemistry*, 328(February), 127117. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127117>
- Lewtas, J. (2007). Air pollution combustion emissions: Characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive, and cardiovascular effects. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 636, Issues 1–3, pp. 95–133). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.08.003>
- Loh, S. H., Neoh, P. E., Tai, C. T., & Kamaruzaman, S. (2018). Pengekstrakan μ -fasa pepejal yang mudah menggunakan filem C18 untuk pengekstrakan hidrokarbon aromatik polisiklik dalam minuman kopi. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22(1), 1–7. <https://doi.org/10.17576/mjas-2018-2201-01>

- Luis, C., Vegro, R., & Almeida, L. F. De. (2020). Global coffee market : Socio-economic and cultural dynamics. In *Coffee Consumption and Coffee Industry Strategies in Brazil*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814721-4.00001-9>
- Mazzafera, P., & Robinson, S. P. (2000). Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry*, 55(4), 285–296.
- Miller, K. P., & Ramos, K. S. (2001). Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo [a] pyrene and related hydrocarbons. *Drug Metabolism Reviews*, 33(1), 1–35.
- Minamisawa, M., Yoshida, S., & Takai, N. (2004). Determination of Biologically Active Substances in Roasted Coffees Using a Diode-Array HPLC System. *Analytical Sciences : The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 20, 325–328. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.325>
- Navarini, L., Gilli, R., Gombac, V., Abatangelo, A., Bosco, M., & Toffanin, R. (1999). Polysaccharides from hot water extracts of roasted *Coffea arabica* beans: isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 40(1), 71–81.
- Nguyen, V. T., Nguyen, T. B., Chen, C. W., Hung, C. M., Huang, C. P., & Dong, C. Di. (2019). Cobalt-impregnated biochar (Co-SCG) for heterogeneous activation of peroxymonosulfate for removal of tetracycline in water. *Bioresource Technology*, 292(July), 121954. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121954>
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., Pereira, M. C., & Morais, S. (2019). Children environmental exposure to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and biomonitoring in school environments: A review on indoor and outdoor exposure levels, major sources and health impacts. In *Environment International* (Vol. 124, pp. 180–204). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.052>
- Olivier, M., Hollstein, M., & Hainaut, P. (2010). TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(1), a001008. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008>
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal processing. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 115, pp. 366–379). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.043>
- Orecchio, S., Ciotti, V. P., & Culotta, L. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 819–826. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.011>
- Pacheco-Fernández, I., Rentero, M., Ayala, J. H., Pasán, J., & Pino, V. (2020). Green solid-phase microextraction fiber coating based on the metal-organic framework CIM-80(Al): Analytical performance evaluation in direct immersion and headspace using gas chromatography and mass spectrometry for the analysis of water, urine and brewed. *Analytica Chimica Acta*, 1133, 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.08.009>
- Park, S., Jo, A., & Lee, K. (2021). Effect of various roasting , extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358(March), 129806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129806>

- Patel, A. B., Shaikh, S., Jain, K. R., Desai, C., & Madamwar, D. (2020). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>
- Pereira, G. V. D. M., Neto, D. P. D. C., Júnior, A. I. M., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2019). Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*, 272(August 2018), 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
- Perera, F., Tang, D., Whyatt, R., Lederman, S. A., & Jedrychowski, W. (2005). *DNA Damage from Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Measured by Benzo[a]pyrene-DNA Adducts in Mothers and Newborns from Northern Manhattan, The World Trade Center Area, Poland, and China*. <http://aacrjournals.org/cebpa/article-pdf/14/3/709/2263240/709-714.pdf>
- Pincemaille, J., Schummer, C., Heinen, E., & Moris, G. (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked and non-smoked black teas and tea infusions. *Food Chemistry*, 145, 807–813. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.121>
- Pissinatti, R., Nunes, C. M., de Souza, A. G., Junqueira, R. G., & de Souza, S. V. C. (2015). Simultaneous analysis of 10 polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry: Optimization, in-house method validation and application to an exploratory study. *Food Control*, 51, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.003>
- Premnath, N., Mohanrasu, K., Raj, R. G., Dinesh, G. H., Prakash, G. S., Ananthi, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., & Arun, A. (2021). Chemosphere A crucial review on polycyclic aromatic Hydrocarbons - Environmental occurrence and strategies for microbial degradation. *Chemosphere*, 280(March), 130608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130608>
- Purcaro, G., Barp, L., & Moret, S. (2016). Determination of hydrocarbon contamination in foods. A review. *Analytical Methods*, 8(29), 5755–5772.
- Rascón, A. J., Azzouz, A., & Ballesteros, E. (2019). Use of semi-automated continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic and non-alcoholic drinks from Andalucía (Spain). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1117–1125. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9279>
- Rattanarat, P., Chindapan, N., & Devahastin, S. (2021). Comparative evaluation of acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons contents in Robusta coffee beans roasted by hot air and superheated steam. *Food Chemistry*, 341(August 2020), 128266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128266>
- Redgwell, R. J., Trovato, V., Curti, D., & Fischer, M. (2002). Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. *Carbohydrate Research*, 337(5), 421–431.
- Reizer, E., Viskolcz, B., & Fiser, B. (2022). Formation and growth mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: A mini-review. In *Chemosphere* (Vol. 291). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132793>
- Rengarajan, T., Rajendran, P., Nandakumar, N., Lokeshkumar, B., Rajendran, P., & Nishigaki, I. (2015). Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. In *Asian Pac J Trop Biomed* (Vol. 5, Issue 3). www.elsevier.com/locate/apjtb

- Rogers, W. J., Michaux, S., Bastin, M., & Bucheli, P. (1999). Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. arabica*) coffees. *Plant Science*, 149(2), 115–123.
- Rose, M., Holland, J., Dowding, A., Petch, S. R. G., White, S., Fernandes, A., & Mortimer, D. (2015). Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.018>
- Rossnerova, A., Rossner, P., Milcova, A., Topinka, J., Ambroz, A., Pavlikova, J., Svecova, V., Vlkova, V., Pulkrabova, J., Hajsova, J., & others. (2015). The impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in polluted air and diet on newborns. *Toxicology Letters*, 2(238), S120.
- Roudbari, A., Rafiei Nazari, R., Shariatifar, N., Moazzen, M., Abdolshahi, A., Mirzamohammadi, S., Madani-Tonekaboni, M., Delvarianzadeh, M., & Arabameri, M. (2021). Concentration and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial tea and coffee samples marketed in Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(4), 4827–4839. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10794-0>
- Sadowska-Rociek, A., Surma, M., & Cieřlik, E. (2015). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coffee and Coffee Substitutes using Dispersive SPE and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 8(1), 109–121. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9876-9>
- Santos da Rosa, J., Freitas-Silva, O., Pacheco, S., Luiz de Oliveira Godoy, R., & Moraes de Rezende, C. (2012). LC-MS Based Screening and Targeted Profiling Methods for Complex Plant: Coffee a Case Study. *Current Drug Metabolism*, 13(9), 1244–1250. <https://doi.org/10.2174/138920012803341410>
- Schenker, S., Handschin, S., Frey, B., Perren, R., & Escher, F. (1999). Structural properties of coffee beans as influenced by roasting conditions. *ASIC, 18e Colloque, Helsinki*.
- Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). *The Roast d Creating the Beans ' Signature*. 245–271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00011-6>
- Schlemitz, S., & Pfannhauser, W. (1996). Monitoring of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in food using gas chromatography. *Zeitschrift Fur Lebensmittel -Untersuchung Und -Forschung*, 203(1), 61–64. <https://doi.org/10.1007/BF01267771>
- Schouten, M. A., Tappi, S., & Romani, S. (2020). Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies--a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(22), 3807–3821.
- Schouten, M., Alessia, M., Tappi, S., Angeloni, S., Cortese, M., Caprioli, G., Vittori, S., & Romani, S. (2021). Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting – A systematic study. *Food Chemistry*, 343(November 2020), 128514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128514>
- Schwerdtle, T., Ebert, F., Thuy, C., Richter, C., Mullenders, L. H. F., & Hartwig, A. (2010). Genotoxicity of soluble and particulate cadmium compounds: Impact on oxidative dna damage and nucleotide excision repair. *Chemical Research in Toxicology*, 23(2), 432–442. <https://doi.org/10.1021/tx900444w>
- Shi, Y., Wu, H., Wang, C., Guo, X., Du, J., & Du, L. (2016). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples by magnetic solid-phase extraction coupled with HPLC-FLD. *Food Chemistry*, 199, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.137>

- Silwar, R., & Lullmann, C. (1988). The determination of mono-and disaccharides in green Arabica and Robusta coffees using high performance liquid chromatography. *Café Cacao Thé*.
- Singh, L., & Agarwal, T. (2021). Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee. *Food Chemistry*, 364(June), 130440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130440>
- Singh, L., Agarwal, T., & Simal-Gandara, J. (2020). PAHs, diet and cancer prevention: Cooking process driven-strategies. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 99, pp. 487–506). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.030>
- Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 201–216.
- Stalmach, A., Mullen, W., Nagai, C., & Crozier, A. (2006). On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. 18(figure 1), 253–261.
- Stanciu, G., Dobrinas, S., Birghila, S., & Popescu, M. (2008). Determination of organic compounds from different types of coffee by HPLC and GC-ECD analysis. *Environmental Engineering and Management Journal*, 7(6), 661–666. <https://doi.org/10.30638/eemj.2008.089>
- Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H., & Nagao, M. (2004). Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Science*, 95(4), 290 – 299. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2004.tb03205.x>
- Tala, W., & Chantara, S. (2019). Use of spent coffee ground biochar as ambient PAHs sorbent and novel extraction method for GC-MS analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(13), 13025–13040. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04473-y>
- Tarantini, A., Maître, A., Lefèbvre, E., Marques, M., Rajhi, A., & Douki, T. (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons in binary mixtures modulate the efficiency of benzo[a]pyrene to form DNA adducts in human cells. *Toxicology*, 279(1–3), 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.09.002>
- Tfouni, S. A. V., Serrate, C. S., Carreiro, L. B., Camargo, M. C. R., Teles, C. R. A., Cipolli, K. M. V. A. B., & Furlani, R. P. Z. (2012). Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two Coffea cultivars: Coffea arabica cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and Coffea canephora cv. Apoatã IAC-2258. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(2), 406–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02854.x>
- Tfouni, S. A. V., Serrate, C. S., Leme, F. M., Camargo, M. C. R., Teles, C. R. A., Cipolli, K. M. V. A. B., & Furlani, R. P. Z. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two Coffea cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 526–530. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.015>
- Tiwari, M., Sahu, S. K., & Pandit, G. G. (2017). Distribution of PAHs in different compartment of creek ecosystem: Ecotoxicological concern and human health risk. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 50, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.01.008>
- Toci, A., Farah, A., & Carlos Trugo, L. (2006). EFEITO DO PROCESSO DE DESCAFEINAÇÃO COM DICLOROMETANO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS CAFÉS ARÁBICA E ROBUSTA ANTES E APÓS A TORRAÇÃO. In *Quim. Nova* (Vol. 29, Issue 5).

- Tommerdahl, K. L., Hu, E. A., Selvin, E., Steffen, L. M., Coresh, J., Grams, M. E., Bjornstad, P., Rebholz, C. M., & Parikh, C. R. (2022). Coffee Consumption May Mitigate the Risk From the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Kidney International Reports*, 7(7), 1665–1672. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.04.091>
- Tran-Lam, T. T., Dao, Y. H., Nguyen, L. K. T., Ma, H. K., Tran, H. N., & Le, G. T. (2018). Simultaneous determination of 18 polycyclic aromatic hydrocarbons in daily foods (Hanoi metropolitan area) by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Foods*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/foods7120201>
- Vincent, J. C. (1987). Green coffee processing. In *Coffee* (pp. 1–33). Springer.
- Wu, H., Li, D., Zhao, B., Guan, S., Jing, X., Ding, Y., & Fan, G. (2021). Magnetic covalent organic framework nanocomposites as a new adsorbent for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and food samples. *Analytical Methods*, 13(25), 2847–2856. <https://doi.org/10.1039/d1ay00496d>
- Yazdi, M. N., Yamini, Y., & Asiabi, H. (2018). Multiwall carbon nanotube- zirconium oxide nanocomposite hollow fiber solid phase microextraction for determination of polyaromatic hydrocarbons in water, coffee and tea samples. *Journal of Chromatography A*, 1554, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.040>
- Yoshioka, T., Nagatomi, Y., Harayama, K., & Bamba, T. (2018). Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee beverages and dark beer using novel high-sensitivity technique of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(1), 126–130. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.01.014>
- Zhou, G. D., Richardson, M., Fazili, I. S., Wang, J., Donnelly, K. C., Wang, F., Amendt, B., & Moorthy, B. (2010). Role of retinoic acid in the modulation of benzo(a)pyrene-DNA adducts in human hepatoma cells: Implications for cancer prevention. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 249(3), 224–230. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.019>

4. CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DE HPAs EM AMOSTRAS DE CAFÉS COMERCIALIZADOS NO BRASIL

Edilaine A S Santos¹, Lucas C R Miranda¹, Helena T Godoy¹

¹Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Rua Monteiro Lobato 80, CEP 13083-862, Campinas, SP, Brasil

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Food Research International*

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são reconhecidos como uma classe de mais de 200 compostos orgânicos com dois ou mais anéis aromáticos fundidos. Estudos indicam que alguns desses são classificados como mutagênicos, carcinogênicos, genotóxicos ou citotóxicos. Essas substâncias podem estar presentes em alimentos em função da contaminação ambiental, bem como da sua formação durante o tratamento térmico de alimentos, a exemplo do café. Nesse sentido o presente trabalho tem como objetivo estimar os níveis de 13 HPAs presentes em amostras de cafés torrados e moídos comercializados no Brasil. Para isso, primeiramente, foi desenvolvido e otimizado um método de preparo de amostra, utilizando o planejamento experimental Plackett-Burman(PB) com 7 variáveis, resultando em 12 ensaios e 3 repetições do ponto central, que resultou na combinação QuEChERS (sem a etapa de limpeza), DLLME (microextração líquido-líquido dispersiva), que foi validada de acordo com o guia da IUPAC. Os HPAs foram então analisados utilizando a cromatografia a gás com detector de massas (GC-MS). A técnica analítica foi adaptada e validada, e os parâmetros de validação foram considerados adequados. A metodologia foi aplicada em 28 amostras comerciais de café torrado e moído. A concentração de

HPAs presente variou de 21 e 133 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Indicando contaminação por HPAs, sugerindo a necessidade do estabelecimento de níveis legais para os cafés.

Palavras-chave: toxicologia de alimentos, análise de alimentos, preparo de amostra, otimização, análise de alimentos, cromatografia

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are recognized as a class of over 200 organic compounds with two or more fused aromatic rings. Studies indicate that some of these are classified as mutagenic, carcinogenic, genotoxic or cytotoxic. These substances may be present in foods due to environmental contamination, as well as their formation during the thermal treatment of foods, such as coffee. In this sense, the present work aims to estimate the levels of 13 PAHs present in Sample of roasted and ground coffee sold in Brazil. For this purpose, a sample preparation method was developed and optimized, using the Plackett-Burman (PB) experimental design with 7 variables, provoked in 12 trials and 3 repetitions of the central point, which resulted in the combination of QuEChERS (without the step cleaning), DLLME (dispersive liquid-liquid microextraction), which has been validated according to the IUPAC guide. The PAHs were then analyzed using mass detector gas chromatography (GC-MS). The analytical technique was adapted and validated, and the validation parameters were considered adequate. The methodology was applied to 28 commercial samples of roasted and ground coffee. The PAH concentration ranges from 21 to 133 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Indicating contamination by PAHs, suggesting the need to establish legal levels for coffees.

Keywords: food toxicology, food analysis, sample preparation, optimization, food analysis, chromatography

4.1 INTRODUÇÃO

A avaliação de contaminantes em matrizes alimentares vem sendo cada vez mais realizada. O monitoramento desses compostos possibilita analisar, de acordo com a legislação, a concordância com os limites máximos de resíduos permitidos. Estudos vem sendo realizados sobre esses compostos, principalmente em função do potencial tóxico que podem apresentar. Nesse sentido, compostos como acrilamida, cloropropanois, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e furanos, vêm sendo analisados em alimentos (Park et al., 2021).

Os HPAs formam uma classe de vários compostos orgânicos formados por dois ou mais anéis aromáticos fundidos, que apresentam alta natureza hidrofóbica e lipofílica. Quando apresentam em sua estrutura química 2 ou 3 anéis aromáticos condensados são classificados como leves e de 4 a 6 anéis como pesados, sendo os HPAs pesados considerados mais estáveis e tóxicos (Purcaro et al, 2016). São formados principalmente como resultado da pirólise (queima) ou combustão incompleta de matéria orgânica. A maior fonte desses HPAs para o ser humano vem da dieta como consequência dos vários processos térmicos em alimentos (secagem, cozimento, torrefação), mas também podem ser resultados de outras atividades, incluindo naturais (incêndios florestais, erupções vulcânicas, processo hidrotermal) e antropométricas (combustão de combustíveis fósseis e madeira e liberação direta de petróleo e derivados) que contribuem para a ampla distribuição dos HPAs no meio ambiente (Kacmaz, 2019).

Devido à sua alta toxicidade, a Agência de Proteção Ambiental dos EUA caracterizou esses compostos como poluentes prioritários (EPA, 2015). O benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e criseno já foram analisados em vários alimentos, e o potencial tóxico desses e de outros HPAs vem sendo avaliados. Estudos indicaram que alguns desses compostos são classificados como mutagênicos, carcinogênicos ou genotóxicos, gerando uma preocupação em torno da exposição a essas substâncias (Armstrong et al., 2004). O Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) com base nas avaliações de risco do International Program on Chemical Safety (IPCS) e do European Union Scientific Committee on Food (SCF), em 2005, concluiu que o benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, criseno, benzo[j]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, dibenzo[a,e]pireno, dibenzo[a,i]pireno , dibenzo[a,h]pireno, dibenzo[a,l]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno e 5-

metilcriseno são claramente genotóxicos e carcinogênicos para humanos. Em 2008, o Painel da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) sobre Contaminantes na Cadeia Alimentar (CONTAM) revisou os dados disponíveis sobre toxicidade e ocorrência de HPAs e concluiu que benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, criseno, dibenz[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-cd]pireno, individualmente ou em combinação, são realmente possíveis indicadores de potencial carcinogênico de HPAs em alimentos.

A alimentação é uma das principais vias de exposição humana aos HPAs, tendo isso em vista a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), através de estudos aponta cereais e os frutos do mar como classes de alimentos que mais contribuem para exposição dietética aos HPAs (EFSA, 2008). Com isso foi determinado o limite máximo de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ de benzo(a)pireno ou sua soma com benzo(a)antraceno, criseno e benzo(b)fluoranteno (4HPA), em alimentos infantis, para óleos e gorduras não deve exceder $10 \mu\text{g kg}$, para grãos de cacau e produtos derivados $35 \mu\text{g kg}$, e para carnes e produtos da pesca $30 \mu\text{g kg}$ (European Commission, 2011). Pesquisas também vem indicando a presença de HPAs em amostras de café, entretanto ainda não há limites estabelecidos.

O café é uma matriz complexa, rica em carboidratos, lipídeos, ácidos orgânicos, e quando submetido a etapa de torrefação, pode proporcionar a pirólise desses compostos, sendo um indicativo de formação de HPAs (M. A. Schouten et al., 2020). Levando em consideração a complexidade dessa matriz, a preparação da amostra representa um parâmetro crítico, principalmente porque esses compostos estão presentes em níveis de traços. Diferentes técnicas de preparo de amostra têm sido exploradas para os HPAs em cafés, a exemplo da extração líquido-líquido (LLE) (K. Lee & Shin, 2010), a extração em fase sólida (SPE) (Jung et al., 2011), a extração assistida por micro-ondas, entre outras (El-Deen, Kuniyoshi Shimizu, 2021; Wu et. al., 2021; Bishnoi et al., 2005; Houessou et al., 2005). A extração por líquido pressurizado (PLE) seguida da LLE e limpeza em colunas de sílica alcançou desempenho adequado para a determinação desses contaminantes em café torrado (Pissinatti et al, 2015). O método QuEChERS (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), reconhecido pela simplicidade de operação, alcançou boas recuperações para HPAs em alimentos, embora a baixa concentração de extrato final represente sua principal desvantagem. Por outro lado, a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) proporcionou

alto enriquecimento de analitos no extrato final (Kamal El-Deen & Shimizu, 2021a). Esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de métodos verdes para preparação de amostras, com foco no consumo mínimo de reagentes e menor geração de resíduos. Desta forma, a combinação de técnicas demonstraram ser uma estratégia útil para fins de extração, limpeza e enriquecimento dos analitos. Além disso o uso planejamentos experimentais no desenvolvimento dos métodos também contribui para a redução da geração de resíduos e menos mão de obra, tempo e custo final (Rodrigues e Iemma, 2014). A principal vantagem inclui a análise simultânea de múltiplas variáveis empregando um pequeno número de tentativas ou repetições. O desenho experimental de Plackett-Burman, introduzido em 1946, tem sido uma alternativa para uma avaliação preliminar das principais variáveis que podem afetar significativamente a resposta estudada, e tem sido aplicada com sucesso em diversas áreas.

Para análise de HPAs em matrizes alimentares a cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massa (MS) é uma das técnicas mais citadas, devido suas características de sensibilidade e seletividade (Kacmaz, 2019), bem como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando detecção de fluorescência (FLD) (Erdem et al., 2021; Singh & Agarwal, 2021). No entanto, o uso dessas técnicas analíticas normalmente requer um preparo de amostra mais refinado.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método simples de preparo de amostra, adaptar uma metodologia por cromatografia a gás e espectrometria de massas para a determinação de 13 HPAs e estimar os níveis de HPAs presentes em amostras de cafés torrado e moído comercializados no Brasil.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostragem

As amostras comerciais de cafés torrados e moídos foram adquiridas na cidade de Campinas, localizada na região sudeste do Brasil. Um total de 28 amostras de marcas diferentes foram coletadas de forma aleatória. Os cafés foram mantidos em sua embalagem original (500 g)

e estocados a temperatura ambiente até o momento da análise. As amostras foram analisadas em triplicata.

4.2.2 Padrões, solventes e reagentes

Padrões analíticos de acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, criseno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[123cd]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[g,h,i]perileno, criseno-d12 e naftaleno-d8, todos com uma pureza padrão > 99,4%, foram obtidos da Supelco (Sigma-Aldrich, Alemanha). Os padrões deuterados foram utilizados como padrões internos. As soluções padrão estoque foram preparadas em tolueno (grau HPLC) em concentrações entre 11,8 a 37,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Uma solução trabalho contendo todos os padrões foi preparada em acetonitrila a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, combinando alíquotas apropriadas das soluções estoque individuais de HPAs. Igualmente, uma solução estoque de criseno-D12 e outra de naftaleno-D8 foram preparadas em tolueno a 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, e uma solução de trabalho foi preparada a partir da solução anterior em acetonitrila a 3 $\mu\text{g L}^{-1}$. Todas as soluções foram armazenadas em frascos âmbar e estocadas a -18°C . A acetonitrila foi adquirida da J.T. Baker, o tolueno da Allied Signal Burdick & Jackson e o hexano da Merck, todos grau HPLC. A água foi obtida de um sistema de purificação Milli-Q (Milipore). O sulfato de magnésio anidro (MgSO_4) foi obtido de J.T. Baker, e aquecido a 550°C por pelo menos 5 h em mufla, e armazenado em dessecador antes do uso. O cloreto de sódio (NaCl) foi adquirido da Synth. Os sorventes de sílica amina primária e secundária (PSA) e C18 foram obtidos da Supelco.

4.2.3.1 Preparo de amostra

O método proposto consiste em duas etapas: (i) Extração baseada em QuEChERS: Primeiro, 1,5 g de amostras de café foram agitadas em vórtex por 15 seg, com 5 mL de acetonitrila e 5 mL de água em um tubo de centrifuga de polipropileno de 50 mL e levadas para o ultrassom por 3 min. Em seguida, 0,5 g de cloreto de sódio e 2 g de sulfato de magnésio anidro foram adicionados à mistura seguido de agitação em vórtex por 15 seg e centrifugação a 3000 g por 5 min, e 1,5 mL de sobrenadante foram tomados para etapa seguinte. (ii) microextração líquido-líquido dispersiva à base de solvente de extração de baixa densidade (DLLME): 1,5 mL do extrato obtido (acetonitrila como solvente dispersor) foram adicionados a um vial de 5mL contendo uma mistura de 150 μL de hexano e 150 μL de tolueno (solvente de extração) e este foi agitado em

vórtex por 15 seg. Em seguida, a mistura foi rapidamente transferida para um tubo de centrífuga de polipropileno de 15 mL, contendo 7ml de água ultra pura, agitado em vórtex por 15 seg e centrifugado a 1000g por 5 min. Após este tempo, a fase líquida superior (tolueno) foi transferida para inserção em frasco de vidro para análise GC-MS subsequente.

4.2.3.2 Condições cromatográficas e da espectrometria de massa (GC-MS)

Um sistema de cromatografia a gás 7890A conectado a um detector de massa quadrupolo simples (5975C) com fonte de ionização eletrônica (EI) da Agilent foi empregado para a determinação dos HPAs. A plataforma ChemStation foi usada para análise de dados qualitativos e quantitativos. A separação dos HPAs foi obtida em uma coluna capilar HP-5ms (30 m x 0,25 mm ID x 0,25 μm de espessura de filme, Agilent J&W, Holanda), que foi mantida inicialmente a 70 °C por 0,75 min, aumentada para 180 °C a 60 °C.min⁻¹, seguida de um aumento de temperatura para 230 °C a 5 °C.min⁻¹ e mantida por 7 min, aumentada para 280 °C a 22 °C.min⁻¹ e mantida por 8 min, e finalmente aumentada a 300°C a 25°C.min⁻¹ e mantida por 8,9 min, resultando em um tempo total de corrida de 39,5 min. O injetor foi mantido a 300°C no modo splitless (fluxo da purga de 100 mL min⁻¹ em 0,75 min) e 1,2 μL do extrato foram injetados. Hélio de ultra pureza (99,999%) foi usado como gás de arraste a um fluxo constante de 2,0 mL.min⁻¹. A energia na fonte de ionização foi de 70 V e as temperaturas da linha de transferência e da fonte de íons foram de 250 °C e 230 °C, respectivamente.

Soluções padrão individuais, todas preparadas em acetonitrila, foram analisadas no modo de varredura completa (m/z 50–500) para conhecimento do tempo de retenção e dos espectros de massas característicos de cada analito. Um íon alvo e dois íons de qualificação foram selecionados para cada HPA (Tabela 1 – material suplementar). A aquisição de dados foi dividida em 6 grupos de íons diferentes no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM), e os tempos de permanência (20–30 ms) foram estabelecidos dependendo do número de íons por grupo. A identificação dos compostos foi estabelecida pelo tempo de retenção do íon alvo, bem como pelas razões qualificadoras para o íon alvo. A seletividade na amostra foi testada por co-cromatografia.

Os parâmetros de razão de íons de quantificação e confirmação e tempo de retenção do pico na amostra comparado como padrão em solvente foram utilizados para a confirmação da

identidade do analito analisado. A quantificação do composto na amostra se deu pela equação da reta da curva de calibração construída pela razão do padrão analítico em cinco diferentes concentrações em razão dos padrões internos deuterados.

4.2.3.3 Validação interna e controle de qualidade

A adequação do método proposto foi verificada através de procedimento de validação interna (IUPAC, 2002). Os parâmetros de validação do método foram o limite de detecção (LOD), o limite de quantificação (LOQ), a linearidade, a precisão intra e inter-dias, a recuperação e o efeito de matriz. O LOD foi definido como a concentração mais baixa do analito em uma amostra em branco enriquecida com razão sinal/ruído de 3, enquanto o LOQ foi definido como a concentração mais baixa na amostra que pode ser quantificada com precisão (DPR <20%) e recuperação entre 60 e 120 %. A amostra utilizada como branco foi uma amostra comercial de café torrado e moído, que não apresentou nenhum dos 13 HPAs estudados. Curvas de calibração foram plotadas com correspondência de matriz de cinco pontos de 10 a 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$. A linearidade foi avaliada através do coeficiente de determinação (R^2) de regressão linear (área do padrão externo/padrão interno versus concentração do padrão externo). A linearidade dos modelos matemáticos obtidos nas curvas de calibração foi avaliada pela ANOVA, bem como análise de falta de ajuste e de resíduos. Ensaio de precisão intra e inter-dias foram realizados em amostras em branco enriquecidas, em três níveis de concentração (LOQ, 105 e 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$) para cada analito, usando três repetições, no mesmo dia e durante três dias consecutivos, respectivamente. As precisões intra e inter-dias foram expressas como desvio padrão relativo (%DPR). A % DPR satisfatória foi definida quando inferior a % DPR calculada pela equação de Horwitz ($RSD = 2 (1-0,5*\log C)$) (Caldeirão et al., 2021). Os ensaios de recuperação (%) também foram realizados em três níveis de concentração (LOQ, 105 e 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$) usando seis repetições. Os efeitos da matriz foram investigados comparando a inclinação da curva de calibração combinada com a matriz com a inclinação das curvas de calibração do solvente na mesma faixa de concentração e foi expresso em porcentagem $\%EM = \left[\left(\frac{\text{Coeficiente angular da curva em matriz}}{\text{Coeficiente angular da curva em solvente}} \right) * 100 \right] - 100$ (Romero-Velarde et al., 2016).

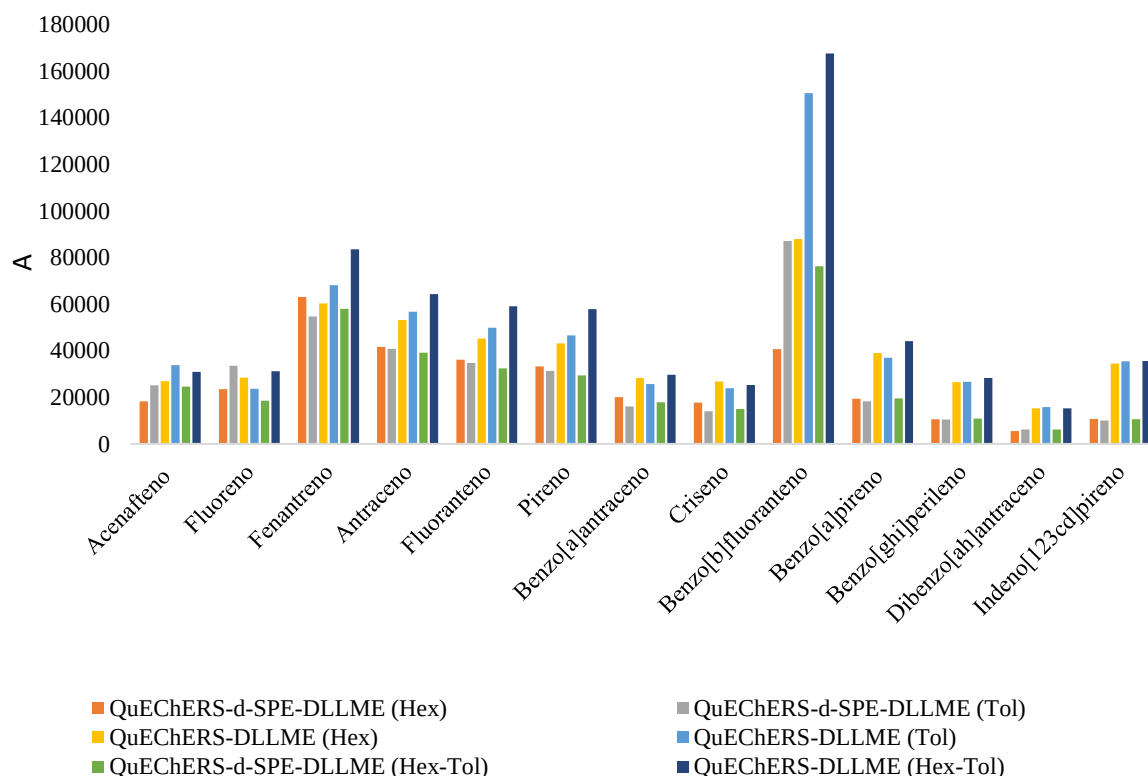
4.2.3.4 Tratamento estatístico

A significância estatística dos modelos foi avaliada pelo teste F (análise de variância – ANOVA), e a qualidade de ajuste desses modelos foi expressa pelo coeficiente de determinação (R^2) e erros relativos. O nível de significância utilizado foi de 10% com o objetivo de minimizar o risco de exclusão de alguma variável importante. As análises estatísticas foram realizadas no software Statistica 12.5 (StatsoftInc., Tulsa, OK, EUA).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Otimização do protocolo de extração

Inicialmente, diferentes protocolos de extração foram testados, considerando uma etapa de extração (QuEChERS), para tal, 1g de amostra branco (previamente analisada constatando a ausência de HPAs) foi pesada em um tubo de 50 mL de polipropileno e fortificada com 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de HPAs, após 1 hora 5 mL de água ultrapura e 5 mL de acetonitrila foram adicionadas, a mistura foi agitada por 15 seg e colocado no ultrassom por 5 min, na sequência adicionou-se 0,5 g de cloreto de sódio e 2 g de sulfato de magnésio anidro, agitou-se por 15 seg e centrifugado a 3000g por 5 min. Logo após, 1 mL do extrato foi transferido para um tubo de 15 mL contendo 100 mg de C18 e 50 mg de PSA para um cleanup em fase sólida dispersiva (dSPE), ou 1mL do extrato foi transferido para um vial de 5mL, 500 μL de solvente extrator (tolueno, hexano e tolueno:hexano (1:1, v/v)) foi adicionado ao extrato e essa mistura foi coletada e injetada rapidamente em um tubo de 15 mL contendo 5 mL de água ultrapura, seguida de agitação em vórtex por 15 seg e centrifugação por 5 min a 1000g, para uma microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). Além disso, uma terceira abordagem foi testada considerando a etapa da extração, seguida do cleanup em extração fase sólida dispersiva e uma concentração em microextração líquido-líquido dispersiva. Os extratos foram injetados em um GC-MS e a resposta de área foi avaliada (Figura 1). Os experimentos foram realizados em triplicata. Como pode-se observar, o experimento com maior área do analitos foi QuEChERS-DLLME (hex:tol), portanto, ele foi escolhido para otimização.



d-SPE:extração em fase sólida dispersiva; DLLME:microextração líquido-líquido dispersiva; Hex: hexano; Tol: tolueno

Figura 1. Razões entre as áreas (A) dos 13 HPAs e do padrão interno de criseno-d12 obtidas com as técnicas de QuEChERS, extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).

A partir do resultado anterior, um planejamento de Plackett-Burman, de 12 ensaios com triplicata no ponto central, foi usado como planejamento experimental (Tabela 3) a fim de avaliar o efeito das variáveis de extração. Sete variáveis independentes foram avaliadas em dois níveis, alto (+1) e baixo (-1) conforme procedimento descrito por Rodrigues e Iemma (2014): massa de amostra (g), tempo de ultrassom 1 (min), volume do extrato (μL), volume de solvente de extração (μL), proporção dos solventes de extração (hexano/tolueno, μL), volume de solvente dispersivo (ml) e o tempo de ultrassom 2 (min).

Tabela 3. Matriz para o planejamento Plackett-Burman (PB) com os valores codificados e reais para as sete variáveis.

Ensaio	Amostra (g)	Ultrassom 1(min)	Extrato (ml)	Solvente (μ L)	Tolueno (%)	Água (ml)	Ultrassom 2 (min)
1	1 (2)	-1(1)	-1(1)	-1(300)	-1(0)	1 (6)	1(5)
2	1 (2)	1(5)	1(2)	-1(300)	-1(0)	-1(3)	-1(1)
3	-1 (1)	1(5)	-1(1)	-1(300)	1(100)	1 (6)	-1(1)
4	1 (2)	-1(1)	1(2)	1(500)	-1(0)	1 (6)	-1(1)
5	1 (2)	1(5)	1(2)	-1(300)	1(100)	-1(3)	1(5)
6	1 (2)	1(5)	-1(1)	1(500)	1(100)	1 (6)	-1(1)
7	-1 (1)	1(5)	1(2)	1(500)	-1(0)	1 (6)	1(5)
8	-1 (1)	-1(1)	1(2)	-1(300)	1(100)	1 (6)	1(5)
9	-1 (1)	-1(1)	1(2)	1(500)	1(100)	-1(3)	-1(1)
10	1 (2)	-1(1)	-1(1)	1(500)	1(100)	-1(3)	1(5)
11	-1 (1)	1(5)	-1(1)	1(500)	-1(0)	-1(3)	1(5)
12	-1 (1)	-1(1)	-1(1)	-1(300)	-1(0)	-1(3)	-1(1)
13	0(1,5)	0(3)	0(1,5)	0 (400)	0 (50)	0(4,5)	0(3)
14	0(1,5)	0(3)	0(1,5)	0 (400)	0 (50)	0(4,5)	0(3)
15	0(1,5)	0(3)	0(1,5)	0 (400)	0 (50)	0(4,5)	0(3)

Ultrassom1: tempo de ultrassom no QuEChERS, Ultrassom2: tempo de ultrassom no DLLME

Avaliando os resultados do experimento realizado com 12 ensaios e as três repetições do ponto central gerados pelo Plackett-Burman, na tabela 4, pode-se perceber que a curvatura, apresentou p-valores maiores que 10%, sendo significativa ($p < 0,1$) para todos os compostos e positiva. Nesse sentido, as respostas obtidas através das variáveis utilizadas indicaram o ponto central como melhor condição para obtenção de resultados analíticos. Para os efeitos obtidos correlacionando a variável amostra, pode-se perceber que esta foi significativa apenas para o indeno[123cd]pireno. Para o tempo de ultrassom no QuEChERS nenhuma das condições testadas foi significativa estatisticamente ($p\text{-valor} > 0,1$). O volume de água utilizado como solvente dispersor no DLLME, foi considerado a única variável significativa para maior parte dos compostos, com exceção do acenafteno, benzo[a]antraceno e indeno[123cd]pireno. O efeito significativo e positivo, pode estar associado a redução de compostos interferentes, de alta e média polaridade. Para a variável volume de solvente extrator não foram observados efeitos significativos para a obtenção de respostas experimentais. Já a variável volume de tolueno, apenas o benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno e benzo[ghi]perileno apresentaram p-valores maiores que 10% ($p < 0,1$), sendo esta estatisticamente significativa na avaliação dos compostos anteriormente citados. Para o benzo[b]fluoranteno o efeito foi positivo, já para os outros dois compostos foram negativos, bem como o tempo de ultrassom no DLLME que não foi significativo para maior parte dos compostos.

Para as variáveis que não apresentaram efeitos significativos, ou seja $p\text{-valor} < 0,1$, como quantidade de amostra, tempo de ultrassom no QuEChRES, volume de tolueno, volume de solvente extrator e tempo de ultrasson no DLLME optou-se por manter as condições do ponto central, visto que a curvatura foi significativa, indicando que as condições do ponto central tiveram efeito positivo sobre o processo de extração.

Tabela 4. Resultados dos principais efeitos na recuperação dos HPAs estimados a partir dos resultados do planejamento experimental Plackett-Burman.

Compostos	Curvatura		Amostra		US1		Água		Volume de extrato		Tolueno		Volume do solvente		US2	
	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor
Acenafteno	496722,0	0,005	18885,0	0,727	-28564,7	0,600	92162,3	0,125	22646,3	0,676	-67473,0	0,240	39448,0	0,474	36901,0	0,502
Fluoreno	487456,8	0,002	73539,2	0,149	-20599,8	0,659	92784,5	0,081	45694,2	0,343	-54697,5	0,264	-2491,5	0,957	-3532,5	0,939
Fenantreno	1490081	0,003	83408	0,574	-160381	0,297	344042	0,050	-2827	0,984	-185547	0,235	53335	0,717	48590	0,741
Antraceno	915794	0,003	43200	0,632	-114951	0,228	250504	0,026	10321	0,908	-100868	0,283	19975	0,823	24842	0,781
Fluoranteno	893766	0,004	4382	0,962	-104576	0,285	233786	0,039	5730	0,950	-117841	0,234	6546	0,943	54509	0,563
Pireno	1132584	0,001	-20683	0,804	-118663	0,188	234343	0,026	-17154	0,837	-144095	0,121	27935	0,738	64824	0,448
Benzo[a]antraceno	190238,2	0,037	-25446,8	0,457	6479,2	0,846	32276,8	0,352	23413,5	0,492	19093,5	0,573	18814,5	0,578	13429,5	0,689
Criseno	278954,8	0,001	7562,8	0,699	-20758,2	0,308	100483,8	0,001	-13135,5	0,507	-16333,2	0,414	-3996,5	0,837	70642,2	0,009
Benzo[b]fluoranteno	3568448	0,001	-116111	0,477	-155843	0,348	396663	0,041	-84724	0,600	348514	0,063	-189961	0,261	144421	0,382
Benzo[a]pireno	593660	0,001	-43321	0,333	-52237	0,251	125967	0,022	-10131	0,813	-100573	0,050	7499	0,861	73232	0,125
Benzo[ghi]perileno	375308,2	0,001	-28036,5	0,277	-22659,5	0,371	89495,8	0,008	-3772,5	0,877	-49825,8	0,078	9084,5	0,712	52666,8	0,066
Dibenzo[ah]antraceno	205728,5	0,001	-5756,5	0,740	-7243,8	0,678	48481,5	0,026	-7242,5	0,678	-32269,2	0,100	8616,8	0,622	35244,2	0,078
Indeno[123cd]pireno	87868,8	0,001	-20983,2	0,023	-8153,8	0,284	8668,8	0,258	728,8	0,919	-9261,5	0,230	1930,2	0,790	12029,8	0,133

US1-tempo do ultrassom durante o QuEChERS; US2 –tempo de ultrassom no DLLME

Os resultados obtidos com o Plackett-Burman indicaram o volume de água da etapa de microextração líquido-líquido dispersiva foi a única variável a ser considerada para um próximo ensaio, como mostra na tabela o $p\text{-valor} < 0,1$ indicando essa variável como significativa e com efeito positivo, sugerindo um aumento do volume de água nessa etapa. Portanto, realizou-se posteriormente uma otimização univariada para o volume de água na etapa de DLLME. Os volumes testados foram 4, 5, 6 e 7 mL. O volume de 7 ml foi o que apresentou melhores resultados, ou seja, maior área para os diferentes HPAs analisados (Figura 3).

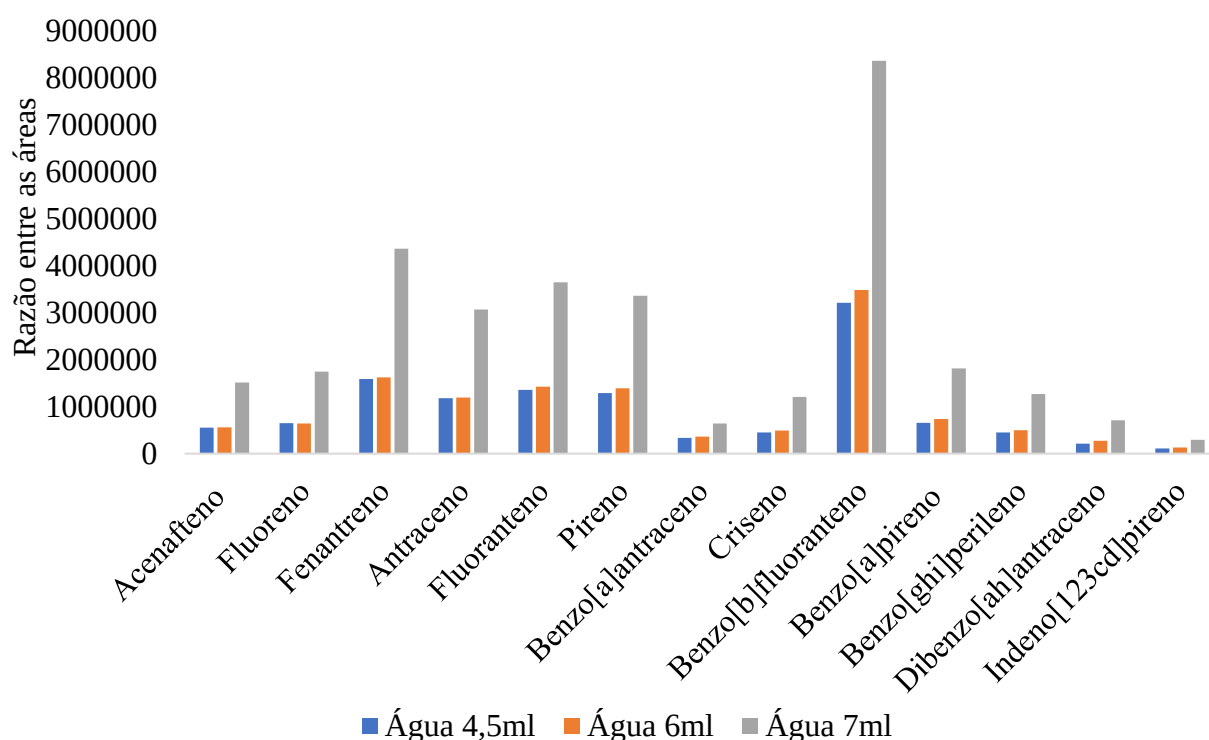


Figura 3. Resultado da otimização univariada em relação aos volumes de água utilizada no Plackett-Burman

A relação entre o aumento da área dos HPAs em função do aumento do volume de água no DLLME, está associado a polaridade das moléculas, a água irá ter mais afinidade por moléculas com a mesmas características (polar), dentre essas moléculas podem estar alguns interferentes, que irão ficar em contato com a água, enquanto os HPAs iram interagir com os solventes (hexano e tolueno) aumentando assim a resposta em área.

Dessa maneira, as condições para variáveis avaliadas ficaram estabelecidas em: 1,5 g de amostra; 3 min no ultrason; 1,5 mL de extrato; 300 μ L de solvente; 50% de tolueno; 7 mL de água e 3 min ultrassom no DLLME, condições do ponto central.

4.3.2 Controle de qualidade de validação de método analítico

A Figura 4 apresenta os resultados referentes ao efeito matriz (EM) sobre os HPAs, utilizando o método de preparo de amostra final otimizado. Considerando os valores propostos por Ferrer e colaboradores (2011), que consideraram $|EM| > 50\%$ efeito de matriz forte; $20\% < |ME| \leq 50\%$ efeito médio; e $|ME| \leq 20\%$ sem efeito de matriz, é possível observar que para o benzo[b]fluoranteno, benzo[a]pireno, Indeno[123cd]pireno e benzo[ghi]perileno, não houve ME, pois os valores são inferiores a 20%. Já para os demais compostos há uma nítida interferência da matriz, sendo obtidos valores de 172,7% para o acenafteno, 150,9% para o fluoreno, 326,9% para o fenantreno, 227,2% para o antraceno, 172,4% para o fluoranteno, 189,5% para o pireno, 114,3% para o benzo[a]antraceno, -36,1% para o criseno e 54,2% para o dibenzo[ah]antraceno. Para esses nove compostos fica claro um efeito matriz mais forte, destacando a influência da matriz na determinação desses HPAs.

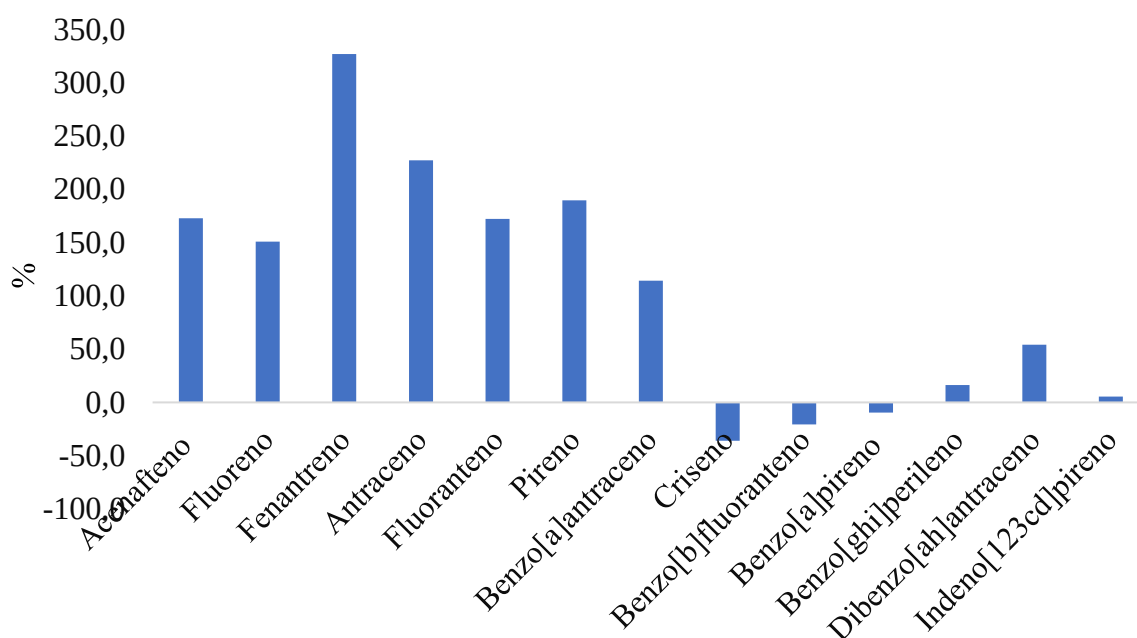


Figura 4. Porcentagens do efeito de matriz (ME) para o método QuEChERS-DLLME-GC-MS para cada HPA.

Na tabela 5 estão os resultados de performance das características do método desenvolvido, (limite de detecção, limite de quantificação, precisão, recuperação). Com relação ao limite de detecção e o limite de quantificação para os 13 HPAs variaram entre 5 e 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 10 e 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente. A linearidade, que foi estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) das curvas de calibração, foram superiores a 0,99 para todos os compostos analisados. Para as precisões intra e inter-dias observou-se valores menores coeficiente de variação Hertz.

Já para os ensaios de recuperação, é possível observar que os resultados ficaram entre 83,2% (Criseno) e 119,5% (Benzo[ghi]perileno). Os valores estão de acordo com o proposto pelo guia de validação utilizado (recuperação entre 60% e 120%). Sendo um indicativo que o método é adequado para uso analítico (Magnusson e Örnemark, 2014).

As curvas de calibração para cada HPA foram submetidas à significância de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, bem como a análise de variância (ANOVA) e testes de falta de ajuste ($p = 0,05$). As respostas foram indicativas de que as curvas de calibração foram significativas, apresentando $p < 0,05$ e não apresentando desvio de linearidade. Essas análises realizadas no software Statistica 12.5 (Statsoft).

Tabela 5. Performance das características do método desenvolvido (QuEChERS-DLLME-GC-MS) para a determinação de HPAs em cafés

Analito	LOD $\mu\text{g kg}^{-1}$	LOQ $\mu\text{g kg}^{-1}$	Faixa Linear $\mu\text{g kg}^{-1}$	Linearidade R^2	Modelo de regressão	Precisão intra-dia (%)			Precisão inter-dia (%)			Recuperação (%)
						1	2	3	1	2	3	
Acenafteno	0,10	0,25	0,25 - 2,00	0,99	$y = 0,0061x + 0,0651$	7,5	5,3	8,8	13,0	9,0	6,9	91,7
Fluoreno	0,10	0,25	0,25 - 2,00	0,991	$y = 0,0068x + 0,3742$	30,0	5,5	9,0	30,0	21,2	5,4	85,6
Fenantreno	0,10	0,25	0,25 - 2,00	0,99	$y = 0,0083x + 1,2831$	1,7	11,7	7,8	13,8	13,9	9,9	117,0
Antraceno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,992	$y = 0,0118x + 0,1729$	8,7	8,6	7,6	10,	7,8	7,9	109,1
Fluoranteno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,991	$y = 0,0109x + 0,7612$	12,9	12,5	5,8	18,8	11,6	8,8	118,6
Pireno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,991	$y = 0,0109x + 0,7992$	7,8	15,1	5,6	19,4	17,0	9,7	112,9
Benzo[a]antraceno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,991	$y = 0,0021x + 0,192$	4,5	5,7	17,4	9,9	14,1	13,1	85,7
Criseno	0,05	0,40	0,40 - 2,00	0,991	$y = 0,0012x + 0,0616$	6,1	17,0	17,0	6,1	20,2	20,3	83,2
Benzo[b]fluoranteno	0,05	0,40	0,40 - 2,00	0,99	$y = 0,0042x + 0,82$	8,4	20,6	21,9	8,4	22,5	22,0	102,1
Benzo[a]pireno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,99	$y = 0,004x + 0,1008$	2,2	9,7	9,5	6,1	12,0	8,8	111,1
Indeno[123cd]pireno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,991	$y = 0,0031x + 0,0964$	7,8	11,5	7,9	10,5	15,5	8,3	117,9
Dibenzo[ah]antraceno	0,10	0,25	0,25 - 2,00	0,99	$y = 0,0017x - 0,0118$	7,9	14,8	14,4	7,9	19,9	13,9	108,6
Benzo[ghi]perileno	0,05	0,10	0,10 - 2,00	0,991	$y = 0,0031x + 0,0964$	7,8	11,5	7,9	10,5	15,5	8,3	117,9

4.3.3 Aplicação a amostras reais

O método desenvolvido foi aplicado em amostras comerciais de café, na tabela 6 temos os resultados, onde em onze das amostras analisadas foi possível a quantificação de alguns HPAs em 80% das amostras. As concentrações verificadas nas amostras variaram de 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ benzo[a]pireno a 133 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dibenzo[ah]antraceno, sendo interessante destacar também que os HPAs indeno[123cd]pireno, criseno, benzo[g,h,i]perileno e benzo[a]pireno foram os que mais foram detectados nas amostras avaliadas. Avaliando a somatória dos HPAs, pode-se perceber que algumas amostras apresentaram maiores concentrações desses contaminantes do que outras, podendo-se destacar as amostras CA5, CA21, CA24 e CA26, que apresentaram maiores concentrações de HPAs.

Tabela 6. Teor de HPAs ($\mu\text{g kg}^{-1}$) em amostras comerciais de café torrado

Analito	Amostras													
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CA8	CA9	CA10	CA11	CA12	CA13	CA14
Acenafteno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-	-
Fluoreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenantreno	-	-	-	-	55±0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antraceno	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluoranteno	-	-	-	-	34±4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pireno	-	-	-	-	45±3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[a]antraceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Criseno	-	-	-	-	<LOQ	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[b]fluoranteno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[a]pireno	-	-	57±2	-	<LOQ	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-
Indeno[123cd]pireno	<LOQ	-	-	21±6	21± 4	<LOQ	<LOQ	-	-	<LOQ	-	-	-	-
Dibenzo[ah]antraceno	-	-	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[ghi]perileno	-	-	-	-	-	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-
Soma dos HPAs	50	47,5	102	66	197,5	57,5	55	47,5	47,5	50	47,5	47,5	42,5	42,5

Continuação tabela 5.

Analito	Amostras													
	CA15	CA16	CA17	CA18	CA19	CA20	CA21	CA22	CA23	CA24	CA25	CA26	CA27	CA28
Acenafteno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluoreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenantreno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68±8	-	-
Antraceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluoranteno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pireno	<LOQ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[a]antraceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Criseno	<LOQ	<LOQ	-	-	-	-	43±6	-	-	-	35±7	-	-	<LOQ
Benzo[b]fluoranteno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzo[a]pireno	-	<LOQ	-	21±8	-	-	-	23±2	-	94±7	-	-	-	-
Indeno[123cd]pireno	-	31±7	-	-	-	-	45±8	-	76±3	-	-	-	-	-
Dibenzo[ah]antraceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	129±9	-	133±7	-	-
Benzo[ghi]perileno	-	<LOQ	-	-	-	<LOQ	51±6	-	23±6	-	-	-	-	-
Soma dos HPAs	47,5	78,5	42,5	61	42,5	45	174	63	136,5	258	75	233,5	42,5	45

<LOQ - está entre o limite de detecção(LOD) e o limite de quantificado (LOQ);(-)não detectado

4.4 CONCLUSÃO

A técnica de microextração líquido-líquido dispersiva combinada com QuEChERS foi empregada para determinação de 13 HPAs café por GC-MS. Usando o planejamento de Plackett-Burman foi identificada a principal variável de preparo de amostra que pode afetar significativamente a extração de HPAs. Além disso, este desenho experimental contribuiu para a menor geração de resíduos, tempo e custo final envolvidos no desenvolvimento do método devido ao número reduzido de experimentos realizados. No geral, o método desenvolvido apresenta características atrativas para análises de rotina, incluindo pequena quantidade de amostra, baixo consumo de reagente e fácil operação, contribuindo para uma abordagem de preparação de amostra “verde”.

Os resultados obtidos em algumas amostras demonstraram a presença desses contaminantes, reforçando que há necessidade do estabelecimento de níveis legais para os cafés.

4.5 REFERENCIAS

- Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 112, Issue 9, pp. 970–978). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services.
<https://doi.org/10.1289/ehp.6895>
- Caldeirão, L., Fernandes, J. O., Gonzalez, M. H., Godoy, H. T., & Cunha, S. C. (2021). A novel dispersive liquid-liquid microextraction using a low density deep eutectic solvent-gas chromatography tandem mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soft drinks. *Journal of Chromatography A*, 1635. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461736>
- EFSA. (2008). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food 1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Adopted on 9 June 2008*. June, 1–114.
- Erdem, P., Tağaç, A. A., Bozkurt, S. S., & Merdivan, M. (2021). Chitosan and dicationic ionic liquid intercalated clay-coated solid-phase microextraction fiber for determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples. *Talanta*, 235(July).
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122764>
- European Commission, E. C. (2011). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 215(4), 1–5.
- Kacmaz, S. (2019a). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>

- Kacmaz, S. (2019b). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Park, S., Jo, A., & Lee, K. (2021). Effect of various roasting , extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358(March), 129806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129806>
- Romero-Velarde, E., Villalpando-Carrión, S., Pérez-Lizaur, A. B., Iracheta-Gerez, Ma. de la L., Alonso-Rivera, C. G., López-Navarrete, G. E., García-Contreras, A., Ochoa-Ortiz, E., Zarate-Mondragón, F., López-Pérez, G. T., Chávez-Palencia, C., Guajardo-Jáquez, M., Vázquez-Ortiz, S., Pinzón-Navarro, B. A., Torres-Duarte, K. N., Vidal-Guzmán, J. D., Michel-Gómez, P. L., López-Contreras, I. N., Arroyo-Cruz, L. V., ... Pinacho-Velázquez, J. L. (2016). Guidelines for complementary feeding in healthy infants. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition)*, 73(5), 338–356. <https://doi.org/10.1016/j.bmhime.2017.11.007>
- Singh, L., & Agarwal, T. (2021). Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee. *Food Chemistry*, 364(June), 130440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130440>

5. DISCUSSÃO GERAL

O presente trabalho foi constituído de dois artigos, um de revisão com o desenvolvimento do levantamento bibliográfico em torno do tema HPAs em café envolvendo as metodologias utilizadas para tal finalidade, e o outro com uma abordagem sobre o desenvolvimento e validação de uma metodologia de determinação desses compostos na matriz de café.

Com o desenvolvimento do levantamento bibliográfico, ficou evidente que avaliação de HPAs em café é um tema que vem recebendo atenção, tal fato pode ser justificado pela quantidade de trabalhos publicados acerca do assunto.

Na literatura estudos indicam que as principais fontes de contaminação de alimentos por HPAs é a contaminação ambiental, bem como processamento de alimentos que envolvam altas temperaturas (Lawal, 2017; Kacmaz, 2019), podendo-se destacar a torrefação de grãos, a exemplo do café (Pincemaille et al., 2014; Rose et al., 2015). O mecanismo de formação desses compostos não é completamente evidenciado, mas sabe-se que em elevadas temperaturas, como as de torrefação, podem desencadear a pirolise de matérias orgânicas presentes no café, promovendo a quebra de macromoléculas. Podendo acarretar a formação de moléculas mais leves de baixo peso molecular e radicais livres intermediários, que apresentam alta reatividade, estes compostos são ciclicizados e recombinados formando compostos de alto peso molecular a exemplo dos HPAs. Essas moléculas migram gradualmente para a parte hidrofóbica do alimento e se acumulam, podendo estar presentes em concentrações variadas nos alimentos (Houessou et al., 2008; Singh et al., 2020; Wen et al., 2018; Badger & Buttery, 1958; Chen & Chen, 2001). O risco da exposição de seres humanos a HPAs está associado ao seu potencial toxico, como carcinogênese (Amirdivani et al., 2019), teratogenicidade (Crowell et al., 2014; Perera et al., 2005; Rossnerova et al., 2015; Tarantini et al., 2011; Tiwari et al., 2017), genotoxicidade (Lewtas, 2007; Onopiuk et al., 2021; Schwerdtle et al., 2010), imunotoxicidade (Corsini & van Loveren, 2014).

A respeito desse tema, no presente trabalho utilizou-se 55 artigos que abordavam a presença de HPAs em café, com esse levantamento pôde-se perceber que a cromatografia é a técnica mais utilizada, tendo ênfase o uso da cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa (MS) (Kacmaz, 2019), a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) usando detecção de fluorescência (FLD) também recebeu destaque nos trabalhos utilizados. Com relação a técnicas de preparo de amostra a MSPE (Extração em Fase Sólida Magnética), LLE (Extração Líquido-

Líquido), SPE (Extração em fase sólida), bem como, QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), tem sido utilizadas para análise de HPAs em amostras de café em diversos estudos (Bishnoi et al., 2005; Houessou et al., 2005; Kamal El-Deen & Shimizu, 2021a; Wu et al., 2021).

O levantamento desses estudos também indicou que há muitos estudos sobre a incidência de HPAs em amostras de café, esses trabalhos avaliaram o grão do café verde, grão torrado e moído e a bebida de café, e foram desenvolvidos em diversos países, tendo destaque China, Japão, Tailândia, Etiópia. No Brasil não há muitos estudos realizados em amostras de café comercial, sendo um ponto que chama atenção em virtude da representatividade dessa *commodity* em nosso território, uma vez que o Brasil é o segundo maior consumidor de café a nível mundial.

Diante do exposto, considerando a problemática associada aos HPAs, o presente trabalho traz o desenvolvimento e validação de uma técnica para análise de HPAs em amostras de café torrado e moído. A técnica de preparo de amostra QuEChRES-DLLME, foi otimizada por meio do planejamento experimental Plackett-Burman e da otimização univariada. O método estabelecido teve as seguintes condições fixadas 1,5 g de amostra; 3 min no ultrason; 1,5 mL de extrato; 300 μ L de solvente; 50% de tolueno; 7 mL de água e 3 min ultrassom no DLLME.

Com relação aos resultados de performance das características do método desenvolvido, (limite de detecção, limite de quantificação, precisão, recuperação). O limite de detecção e o limite de quantificação para os 13 HPAs variaram entre 5 e 25 μ g kg⁻¹ e 10 e 40 μ g kg⁻¹ respectivamente. A linearidade, que foi estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) das curvas de calibração, foram superiores a 0,99 para todos os compostos analisados. Para as precisões intra e inter-dias observou-se valores menores coeficiente de variação Hertz. E os ensaios de recuperação, é possível observar que os resultados ficaram entre 83,2% (Criseno) e 119,5% (Benzo[ghi]perileno). Os valores estão de acordo com o proposto pelo guia de validação utilizado (recuperação entre 60% e 120%). Sendo um indicativo que o método é adequado para uso analítico (Magnusson e Örnemark, 2014).

O método desenvolvido foi aplicado em amostras comerciais de café, onde os HPAs foram encontrados em 80% das amostras. As concentrações verificadas nas amostras variaram de 21 μ g kg⁻¹ benzo[a]pireno a 133 μ g kg⁻¹ dibenzo[ah]antraceno, sendo interessante destacar também que os HPAs indeno[123cd]pireno, criseno, benzo[g,h,i]perileno e benzo[a]pireno foram os que mais foram detectados nas amostras avaliadas.

6. CONCLUSÃO GERAL

A presença de HPAs em amostras de café é um fato que vem sendo reportado na literatura, entretanto no Brasil ainda são poucos os estudos que avaliam a presença desses contaminante em amostras comerciais.

Metodologias analíticas são ferramentas primordiais para determinação desses contaminantes. A Combinação da técnica e analítica GC-MS e as técnicas de preparo de amostra QuEChERS combinada com DLLME apresentaram boa resposta na determinação 13 HPAs em amostras de café, podendo-se destacar pequena quantidade de amostra, baixo consumo de reagente e fácil operação. Os resultados obtidos no presente estudo indicam a presença desses contaminantes em amostras de café comercializadas no Brasil, sugerindo a necessidade do estabelecimento de limites máximos para esses compostos.

7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Tendo em vista a escassez de estudos sobre HPAs em café comercializado no Brasil uma das sugestões para estudos futuro seria a avaliação de um número maior de amostras, de diferentes regiões (Norte, Nordeste, Centro-Oeste Sul e Sudeste).

8. REFERENCIAS

- Arcila, A., & Benavides, P. (2019). Determinación de trazas de pesticidas en la producción de café en Colombia. *Revista Cenicafe*, 70(ISSN-0120-0275), 8–9. <https://www.cenicafe.org/es/publications/Revista70%282%29-Web.pdf#page=6>
- Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 112, Issue 9, pp. 970–978). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.6895>
- Barrios-Rodríguez, Y. F., Gutiérrez-Guzmán, N., Pedreschi, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Rational design of technologies for the mitigation of neo-formed contaminants in roasted coffee. *Trends in Food Science and Technology*, 120(August 2021), 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.034>
- Bertrand, B., Guyot, B., Anthony, F., & Lashermes, P. (2003). *Impact of the Coffea canephora gene introgression on beverage quality of C. arabica*. 387–394. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1203-6>
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products ☆. *FRIN*, 46(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- Farah, A. (2012). *2 Coffee Constituents*.
- Khaneghah, A. M., Fakhri, Y., Abdi, L., Coppa, C. F. S. C., Franco, L. T., & de Oliveira, C. A. F. (2019). The concentration and prevalence of ochratoxin A in coffee and coffee-based products: A global systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Fungal Biology*, 123(8), 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.05.012>
- Lee, B.-K., & Vu, V. T. (2010). *Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter 99 X Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter*.
- Maziero, M. T., & Bersot, L. S. (2010). Micotoxinas Em Alimentos Produzidos No Brasil. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 12(1), 89–99. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v12n1p89-99>
- Premnath, N., Mohanrasu, K., Raj, R. G., Dinesh, G. H., Prakash, G. S., Ananthi, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., & Arun, A. (2021). Chemosphere A crucial review on polycyclic aromatic Hydrocarbons - Environmental occurrence and strategies for microbial degradation. *Chemosphere*, 280(March), 130608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130608>
- Abbas, I., Badran, G., Verdin, A., Ledoux, F., Roumié, M., Courcot, D., & Garçon, G. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives in airborne particulate matter: sources, analysis and toxicity. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 16, Issue 2, pp. 439–475). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0697-0>
- Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Trends in Food Science & Technology Microencapsulation of natural antioxidants for food application e The specific case of coffee antioxidants e A review. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.012>
- Amirdivani, S., Khorshidian, N., Dana, G., Mohammadi, R., Amir, M., Lorena, S., & Souza, Q. D. E. (2019). *Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and dairy products*. 72(1). <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12567>

- Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 112, Issue 9, pp. 970–978). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.6895>
- Arya, M., & Rao, L. J. M. (2010). *An Impression of Coffee Carbohydrates An Impression of Coffee*. 8398(2007). <https://doi.org/10.1080/10408390600550315>
- Badger, G. M., & Buttery, R. G. (1958). 501. The formation of aromatic hydrocarbons at high temperatures. Part IV. The pyrolysis of styrene. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 2458 – 2463. <https://doi.org/10.1039/JR9580002458>
- Badolato, E. S. G., Martins, M. S., Aued-Pimentel, S., Alaburda, J., Kumagai, E. E., Baptista, G. G., & Rosenthal, A. (2006). Sistematic study of benzo[a]pyrene in coffee samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(5), 989–993. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000500025>
- Bagheri, H., Soofi, G., Javanmardi, H., & Karimi, M. (2018). A 3D nanoscale polyhedral oligomeric silsesquioxanes network for microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Microchimica Acta*, 185(9). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2950-z>
- Belay, A., Ture, K., Redi, M., & Asfaw, A. (2008). *Food Chemistry Measurement of caffeine in coffee beans with UV / vis spectrometer*. 108, 310–315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.024>
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. *Food Chemistry*, 938–970.
- Belo, R. F. C., Pissinatti, R., de Souza, S. V. C., & Junqueira, R. G. (2017). Evaluating Matrix Effects in the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Food: Can These Interferences Be Neglected for Isotope Dilution? *Food Analytical Methods*, 10(5), 1488–1499. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0706-0>
- Bendtsen, K. M., Bengtsen, E., Saber, A. T., & Vogel, U. (2021). A review of health effects associated with exposure to jet engine emissions in and around airports. In *Environmental Health: A Global Access Science Source* (Vol. 20, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12940-020-00690-y>
- Bertrand, B., Guyot, B., Anthony, F., & Lashermes, P. (2003). *Impact of the Coffea canephora gene introgression on beverage quality of C. arabica*. 387–394. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1203-6>
- Bil, W., van der Bent, S. A. S., Spiekstra, S. W., Nazmi, K., Rustemeyer, T., & Gibbs, S. (2018). Comparison of the skin sensitization potential of 3 red and 2 black tattoo inks using interleukin-18 as a biomarker in a reconstructed human skin model. *Contact Dermatitis*, 79(6), 336 – 345. <https://doi.org/10.1111/cod.13092>
- Binello, A., Cravotto, G., Menzio, J., & Tagliapietra, S. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee samples : Enquiry into processes and analytical methods. *Food Chemistry*, 344(November 2020), 128631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128631>
- Bishnoi, N. R., Mehta, U., Sain, U., & Pandit, G. G. (2005). Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai City (India) by high performance liquid chromatography. *Environmental Monitoring and Assessment*, 107(1–3), 399–406. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-3547-7>
- Borém, F. M. (2008). *Pós-Colheita do Café*. UFLA.

- Buffo, R. A., & Cardelli-freire, C. (2004). *Coffee flavour : an overview*. February, 99–104. <https://doi.org/10.1002/ffj.1325>
- Celik-Saglam, I., Balcik, C., & Cetin, B. (2022). Concentrations, sources, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in black, green and fruit flavored tea in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104504>
- Chen, B. H., & Chen, Y. C. (2001). Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the smoke from heated model lipids and food lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5238–5243. <https://doi.org/10.1021/jf0106906>
- Chiang, C. F., Hsu, K. C., Tsai, T. Y., Cho, C. Y., Hsu, C. H., & Yang, D. J. (2021). Evaluation of optimal QuEChERS conditions of various food matrices for rapid determination of EU priority polycyclic aromatic hydrocarbons in various foods. *Food Chemistry*, 334(February 2020), 127471. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127471>
- Chu, Y.-F. (2012). *Coffee: emerging health effects and disease prevention* (Vol. 59). John Wiley & Sons.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911.
- Conesa, J. A., Sánchez, N. E., Garrido, M. A., & Casas, J. C. (2016). Semivolatile and Volatile Compound Evolution during Pyrolysis and Combustion of Colombian Coffee Husk. *Energy and Fuels*, 30(10), 7827–7833. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b00791>
- Corsini, E., & van Loveren, H. (2014). *Molecular Immunotoxicology*. Wiley.
- Cross, A. J., Freedman, N. D., Ren, J., Ward, M. H., Hollenbeck, A. R., Schatzkin, A., Sinha, R., & Abnet, C. C. (2011). Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in a large prospective study. *American Journal of Gastroenterology*, 106(3), 432 – 442. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.415>
- Crowell, S. R., Hanson-Drury, S., Williams, D. E., & Corley, R. A. (2014). In vitro metabolism of benzo[a]pyrene and dibenzo[def,p]chrysene in rodent and human hepatic microsomes. *Toxicology Letters*, 228(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.04.004>
- da Silva, C. Q., Fernandes, A. da S., Teixeira, G. F., França, R. J., Marques, M. R. da C., Felzenszwalb, I., Falcão, D. Q., & Ferraz, E. R. A. (2021). Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. *Food Research International*, 141(March 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110089>
- Daly, J. W., & Fredholm, B. B. (1998). *Caffeine – an atypical drug of dependence*.
- Delft, J. H. M. Van, Mathijs, K., Staal, Y. C. M., Herwijnen, M. H. M. Van, Brauers, K. J. J., & Kleinjans, J. C. S. (2010). Time Series Analysis of Benzo [A] Pyrene-Induced Transcriptome Changes Suggests That a Network of Transcription Factors Regulates the Effects on Functional Gene Sets. 117(2), 381–392. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq214>
- Diggs, D. L., Huderson, A. C., Harris, K. L., Myers, J. N., Banks, L. D., Rekhadevi, P. v, Niaz, M. S., & Ramesh, A. (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons and digestive tract cancers: A perspective. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 29(4), 324 – 357. <https://doi.org/10.1080/10590501.2011.629974>

- Domingo, J. L., & Nadal, M. (2015). Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the scientific literature. In *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 86, pp. 144–153). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.10.002>
- dos Santos, R. R., Vidotti Leal, L. D., de Lourdes Cardeal, Z., & Menezes, H. C. (2019). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated and oxygenated derivatives in coffee brews using an efficient cold fiber-solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A*, 1584, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.046>
- Duedahl-Olesen, L., Navaratnam, M. A., Jewula, J., & Jensen, A. H. (2015). PAH in Some Brands of Tea and Coffee. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35(1), 74–90. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918554>
- Dutra, E. R., Oliveira, L. S., Franca, A. S., Ferraz, V. P., & Afonso, R. (2001). A preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of the degree of roast. *Journal of Food Engineering*, 47(3), 241–246.
- EFSA. (2008). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food 1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Adopted on 9 June 2008*. June, 1–114.
- Erdem, P., Tağaç, A. A., Bozkurt, S. S., & Merdivan, M. (2021). Chitosan and dicationic ionic liquid intercalated clay-coated solid-phase microextraction fiber for determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples. *Talanta*, 235(July). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122764>
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products ☆. *FRIN*, 46(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- European Commission, E. C. (2011). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 215(4), 1–5.
- Fan, C., Cao, X., Han, T., Pei, H., Hu, G., Wang, W., & Qian, C. (2019). Selective microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using a hydrophobic deep eutectic solvent composed with an iron oxide-based nanoferrofluid. *Microchimica Acta*, 186(8). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3651-y>
- Farah, 2019 - *Coffee*. (n.d.).
- Farah, A. (2012). *2 Coffee Constituents*.
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., & Trugo, L. C. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 98(2), 373–380.
- Franca, A. S., & Oliveira, L. S. (2019). Coffee. In *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products* (pp. 413–438). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00017-4>
- García-Falcón, M. S., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2005). Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry*, 90(4), 643–647. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.059>
- Gerde, P., Muggenburg, B. A., Lundborg, M., & Dahl, A. R. (2001). The rapid alveolar absorption of diesel soot-adsorbed benzo[a]pyrene: bioavailability, metabolism and dosimetry of an inhaled particle-borne carcinogen and 2 Battelle association warrants further investigation. In *Carcinogenesis* (Vol. 22, Issue 5).

- Ghosh, P., & Venkatachalapathy, N. (2014). Processing and drying of coffee--a review. *Int. J. Eng. Res. Technol*, 3(12), 784–794.
- Gielissen, R., & Graafland, J. (2009). *Concepts of price fairness : empirical research into the Dutch coffee market*. 18(2), 165–178.
- Grover, I. S., Sharma, R., Singh, S., & Pal, B. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in some grounded coffee brands. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(8), 6459–6463. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-3037-7>
- Guatemala-Morales, G. M., Beltrán-Medina, E. A., Murillo-Tovar, M. A., Ruiz-Palomino, P., Corona-González, R. I., & Arriola-Guevara, E. (2016). Validation of analytical conditions for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 197, 747–753. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.135>
- Harvey, J., & Lacey, M. G. (1997). A postsynaptic interaction between dopamine D1 and NMDA receptors promotes presynaptic inhibition in the rat nucleus accumbens via adenosine release. *Journal of Neuroscience*, 17(14), 5271–5280.
- Heckman, M. A., Weil, J., & De Mejia, E. G. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of Food Science*, 75(3), R77–R87.
- Houessou, J. K., Benac, C., Delteil, C., & Camel, V. (2005). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 871–879. <https://doi.org/10.1021/jf048633a>
- Houessou, J. K., Delteil, C., & Camel, V. (2006). Investigation of sample treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7413–7421. <https://doi.org/10.1021/jf060802z>
- Houessou, J. K., Goujot, D., Heyd, B., & Camel, V. (2008). Modeling the formation of some polycyclic aromatic hydrocarbons during the roasting of Arabica coffee samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3648–3656. <https://doi.org/10.1021/jf073233j>
- Houessou, J. K., Maloug, S., Leveque, A. S., Delteil, C., Heyd, B., & Camel, V. (2007). Effect of roasting conditions on the polycyclic aromatic hydrocarbon content in ground Arabica coffee and coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9719–9726. <https://doi.org/10.1021/jf071745s>
- Iko Afé, O. H., Saegerman, C., Kpoclou, Y. E., Anihouvi, V. B., Douny, C., Igout, A., Mahillon, J., Hounhouigan, D. J., & Scippo, M. L. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination of traditionally grilled pork marketed in South Benin and health risk assessment for the Beninese consumer. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(5), 742–752. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1726502>
- Illy, A., & Viani, R. (1995). *Espresso coffee: the chemistry of quality*.
- Jimenez, A., Adisa, A., Woodham, C., & Saleh, M. (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49(11), 828–835. <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.938552>

- Jung, S. Y., Park, J. S., Son, Y. J., Choi, S. J., Lee, Y. J., Kim, M. S., Park, S. H., Lee, S. M., & Chae, Y. Z. (2011). Analysis of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in ground coffee using GC-tandem mass spectrometry and estimation of daily dose. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 43(5), 544–552. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2011.43.5.544>
- Kacmaz, S. (2019a). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Kacmaz, S. (2019b). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Kamal El-Deen, A., & Shimizu, K. (2021). Modified μ -QuEChERS coupled to diethyl carbonate-based liquid microextraction for PAHs determination in coffee, tea, and water prior to GC–MS analysis: An insight to reducing the impact of caffeine on the GC–MS measurement. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1171(January), 122555. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122555>
- Kamalabadi, M., Mohammadi, A., & Alizadeh, N. (2018). Simultaneous determination of seven polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee samples using effective microwave-assisted extraction and microextraction method followed by gas chromatography-mass spectrometry and method optimization using central composite design. *Food Analytical Methods*, 11(3), 781–789. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1042-8>
- Khalil, A., Villard, P. H., Dao, M. A., Burcelin, R., Champion, S., Fouchier, F., Savouret, J. F., Barra, Y., & Seree, E. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons potentiate high-fat diet effects on intestinal inflammation. *Toxicology Letters*, 196(3), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.04.010>
- Kim, H. S., Kim, J., Choi, J., Paik, Y., Moon, B., Joo, Y. S., & Lee, K. W. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in beverage and dairy products in South Korea: a risk characterization using the total diet study. *Food Science and Biotechnology*, 30(7), 989–1002. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00927-7>
- Ko, J. H., Das, G., Kim, J. E., & Shin, H. S. (2018). Study on formation of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from different roasting condition in coffee. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3991–4000. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3324-6>
- Kropachev, K., Kolbanovskiy, M., Liu, Z., Cai, Y., Zhang, L., Schwaid, A. G., Kolbanovskiy, A., Ding, S., Amin, S., Broyde, S., & Geacintov, N. E. (2013). Adenine-DNA adducts derived from the highly tumorigenic dibenzo[a,l]pyrene are resistant to nucleotide excision repair while guanine adducts are not. *Chemical Research in Toxicology*, 26(5), 783–793. <https://doi.org/10.1021/tx400080k>
- Lawal, A. T. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environmental Science*, 3(1). <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>
- Lee, B.-K., & Vu, V. T. (2010). *Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter 99 X Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter*.
- Lee, J. G., Suh, J. H., & Yoon, H. J. (2019). Occurrence and risk characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons of edible oils by the Margin of Exposure (MOE) approach. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0454-0>

- Lee, K., & Shin, H. S. (2010). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in commercial Roasted Coffee Beans. *Food Science and Biotechnology*, 19(6), 1435–1440. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0205-9>
- Lee, T., Park, H., Puligundla, P., Koh, G. H., Yoon, J., & Mok, C. (2020). Degradation of benzopyrene and acrylamide in roasted coffee beans by corona discharge plasma jet (CDPJ) and its effects on biochemical and sensory properties. *Food Chemistry*, 328(February), 127117. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127117>
- Lewtas, J. (2007). Air pollution combustion emissions: Characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive, and cardiovascular effects. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 636, Issues 1–3, pp. 95–133). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.08.003>
- Loh, S. H., Neoh, P. E., Tai, C. T., & Kamaruzaman, S. (2018). Pengekstrakan μ -fasa pepejal yang mudah menggunakan filem C18 untuk pengekstrakan hidrokarbon aromatik polisiklik dalam minuman kopi. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22(1), 1–7. <https://doi.org/10.17576/mjas-2018-2201-01>
- Luis, C., Vegro, R., & Almeida, L. F. De. (2020). Global coffee market : Socio-economic and cultural dynamics. In *Coffee Consumption and Coffee Industry Strategies in Brazil*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814721-4.00001-9>
- Mazzafera, P., & Robinson, S. P. (2000). Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry*, 55(4), 285–296.
- Miller, K. P., & Ramos, K. S. (2001). Impact of cellular metabolism on the biological effects of benzo [a] pyrene and related hydrocarbons. *Drug Metabolism Reviews*, 33(1), 1–35.
- Minamisawa, M., Yoshida, S., & Takai, N. (2004). Determination of Biologically Active Substances in Roasted Coffees Using a Diode-Array HPLC System. *Analytical Sciences : The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 20, 325–328. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.325>
- Navarini, L., Gilli, R., Gombac, V., Abatangelo, A., Bosco, M., & Toffanin, R. (1999). Polysaccharides from hot water extracts of roasted *Coffea arabica* beans: isolation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 40(1), 71–81.
- Nguyen, V. T., Nguyen, T. B., Chen, C. W., Hung, C. M., Huang, C. P., & Dong, C. Di. (2019). Cobalt-impregnated biochar (Co-SCG) for heterogeneous activation of peroxymonosulfate for removal of tetracycline in water. *Bioresource Technology*, 292(July), 121954. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121954>
- Oliveira, M., Slezakova, K., Delerue-Matos, C., Pereira, M. C., & Morais, S. (2019). Children environmental exposure to particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons and biomonitoring in school environments: A review on indoor and outdoor exposure levels, major sources and health impacts. In *Environment International* (Vol. 124, pp. 180–204). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.052>
- Olivier, M., Hollstein, M., & Hainaut, P. (2010). TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(1), a001008. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008>
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal

- processing. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 115, pp. 366–379). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.043>
- Orecchio, S., Ciotti, V. P., & Culotta, L. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 819–826. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.011>
- Pacheco-Fernández, I., Rentero, M., Ayala, J. H., Pasán, J., & Pino, V. (2020). Green solid-phase microextraction fiber coating based on the metal-organic framework CIM-80(Al): Analytical performance evaluation in direct immersion and headspace using gas chromatography and mass spectrometry for the analysis of water, urine and brewed. *Analytica Chimica Acta*, 1133, 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.08.009>
- Park, S., Jo, A., & Lee, K. (2021). Effect of various roasting , extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358(March), 129806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129806>
- Patel, A. B., Shaikh, S., Jain, K. R., Desai, C., & Madamwar, D. (2020). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>
- Pereira, G. V. D. M., Neto, D. P. D. C., Júnior, A. I. M., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2019). Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*, 272(August 2018), 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
- Perera, F., Tang, D., Whyatt, R., Lederman, S. A., & Jedrychowski, W. (2005). *DNA Damage from Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Measured by Benzo[a]pyrene-DNA Adducts in Mothers and Newborns from Northern Manhattan, The World Trade Center Area, Poland, and China*. <http://aacrjournals.org/cebpa/article-pdf/14/3/709/2263240/709-714.pdf>
- Pincemaille, J., Schummer, C., Heinen, E., & Moris, G. (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked and non-smoked black teas and tea infusions. *Food Chemistry*, 145, 807–813. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.121>
- Pissinatti, R., Nunes, C. M., de Souza, A. G., Junqueira, R. G., & de Souza, S. V. C. (2015). Simultaneous analysis of 10 polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry: Optimization, in-house method validation and application to an exploratory study. *Food Control*, 51, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.003>
- Premnath, N., Mohanrasu, K., Raj, R. G., Dinesh, G. H., Prakash, G. S., Ananthi, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., & Arun, A. (2021). Chemosphere A crucial review on polycyclic aromatic Hydrocarbons - Environmental occurrence and strategies for microbial degradation. *Chemosphere*, 280(March), 130608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130608>
- Purcaro, G., Barp, L., & Moret, S. (2016). Determination of hydrocarbon contamination in foods. A review. *Analytical Methods*, 8(29), 5755–5772.
- Rascón, A. J., Azzouz, A., & Ballesteros, E. (2019). Use of semi-automated continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic and non-alcoholic drinks from Andalucía (Spain). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1117–1125. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9279>

- Rattanarat, P., Chindapan, N., & Devahastin, S. (2021). Comparative evaluation of acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons contents in Robusta coffee beans roasted by hot air and superheated steam. *Food Chemistry*, 341(August 2020), 128266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128266>
- Redgwell, R. J., Trovato, V., Curti, D., & Fischer, M. (2002). Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. *Carbohydrate Research*, 337(5), 421–431.
- Reizer, E., Viskolcz, B., & Fiser, B. (2022). Formation and growth mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbons: A mini-review. In *Chemosphere* (Vol. 291). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132793>
- Rengarajan, T., Rajendran, P., Nandakumar, N., Lokeshkumar, B., Rajendran, P., & Nishigaki, I. (2015). Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. In *Asian Pac J Trop Biomed* (Vol. 5, Issue 3). www.elsevier.com/locate/apjtb
- Rogers, W. J., Michaux, S., Bastin, M., & Bucheli, P. (1999). Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. arabica*) coffees. *Plant Science*, 149(2), 115–123.
- Rose, M., Holland, J., Dowding, A., Petch, S. R. G., White, S., Fernandes, A., & Mortimer, D. (2015). Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.018>
- Rossnerova, A., Rossner, P., Milcova, A., Topinka, J., Ambroz, A., Pavlikova, J., Svecova, V., Vlkova, V., Pulkrabova, J., Hajslova, J., & others. (2015). The impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in polluted air and diet on newborns. *Toxicology Letters*, 2(238), S120.
- Roudbari, A., Rafiei Nazari, R., Shariatifar, N., Moazzen, M., Abdolshahi, A., Mirzamohammadi, S., Madani-Tonekaboni, M., Delvarianzadeh, M., & Arabameri, M. (2021). Concentration and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial tea and coffee samples marketed in Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(4), 4827–4839. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10794-0>
- Sadowska-Rociek, A., Surma, M., & Cieřlik, E. (2015). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coffee and Coffee Substitutes using Dispersive SPE and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 8(1), 109–121. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9876-9>
- Santos da Rosa, J., Freitas-Silva, O., Pacheco, S., Luiz de Oliveira Godoy, R., & Moraes de Rezende, C. (2012). LC-MS Based Screening and Targeted Profiling Methods for Complex Plant: Coffee a Case Study. *Current Drug Metabolism*, 13(9), 1244–1250. <https://doi.org/10.2174/138920012803341410>
- Schenker, S., Handschin, S., Frey, B., Perren, R., & Escher, F. (1999). Structural properties of coffee beans as influenced by roasting conditions. *ASIC, 18e Colloque, Helsinki*.
- Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). *The Roast d Creating the Beans ' Signature*. 245–271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00011-6>
- Schlemitz, S., & Pfannhauser, W. (1996). Monitoring of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in food using gas chromatography. *Zeitschrift Fur Lebensmittel -Untersuchung Und -Forschung*, 203(1), 61–64. <https://doi.org/10.1007/BF01267771>

- Schouten, M. A., Tappi, S., & Romani, S. (2020). Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies--a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(22), 3807–3821.
- Schouten, M., Alessia, M., Tappi, S., Angeloni, S., Cortese, M., Caprioli, G., Vittori, S., & Romani, S. (2021). Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting – A systematic study. *Food Chemistry*, 343(November 2020), 128514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128514>
- Schwerdtle, T., Ebert, F., Thuy, C., Richter, C., Mullenders, L. H. F., & Hartwig, A. (2010). Genotoxicity of soluble and particulate cadmium compounds: Impact on oxidative dna damage and nucleotide excision repair. *Chemical Research in Toxicology*, 23(2), 432–442. <https://doi.org/10.1021/tx900444w>
- Shi, Y., Wu, H., Wang, C., Guo, X., Du, J., & Du, L. (2016). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples by magnetic solid-phase extraction coupled with HPLC-FLD. *Food Chemistry*, 199, 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.137>
- Silwar, R., & Lullmann, C. (1988). The determination of mono-and disaccharides in green Arabica and Robusta coffees using high performance liquid chromatography. *Café Cacao Thé*.
- Singh, L., & Agarwal, T. (2021). Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee. *Food Chemistry*, 364(June), 130440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130440>
- Singh, L., Agarwal, T., & Simal-Gandara, J. (2020). PAHs, diet and cancer prevention: Cooking process driven-strategies. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 99, pp. 487–506). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.030>
- Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 201–216.
- Stalmach, A., Mullen, W., Nagai, C., & Crozier, A. (2006). On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed , paper-filtered coffee. 18(figure 1), 253–261.
- Stanciu, G., Dobrinas, S., Birghila, S., & Popescu, M. (2008). Determination of organic compounds from different types of coffee by HPLC and GC-ECD analysis. *Environmental Engineering and Management Journal*, 7(6), 661–666. <https://doi.org/10.30638/eemj.2008.089>
- Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H., & Nagao, M. (2004). Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. *Cancer Science*, 95(4), 290 – 299. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2004.tb03205.x>
- Tala, W., & Chantara, S. (2019). Use of spent coffee ground biochar as ambient PAHs sorbent and novel extraction method for GC-MS analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(13), 13025–13040. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04473-y>
- Tarantini, A., Maître, A., Lefèbvre, E., Marques, M., Rajhi, A., & Douki, T. (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons in binary mixtures modulate the efficiency of benzo[a]pyrene to form DNA adducts in human cells. *Toxicology*, 279(1–3), 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.09.002>
- Tfouni, S. A. V., Serrate, C. S., Carreiro, L. B., Camargo, M. C. R., Teles, C. R. A., Cipolli, K. M. V. A. B., & Furlani, R. P. Z. (2012). Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two Coffea cultivars: Coffea arabica cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and Coffea

- canephora cv. Apoatã IAC-2258. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(2), 406–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02854.x>
- Tfouni, S. A. V., Serrate, C. S., Leme, F. M., Camargo, M. C. R., Teles, C. R. A., Cipolli, K. M. V. A. B., & Furlani, R. P. Z. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 526–530. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.015>
- Tiwari, M., Sahu, S. K., & Pandit, G. G. (2017). Distribution of PAHs in different compartment of creek ecosystem: Ecotoxicological concern and human health risk. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 50, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.01.008>
- Toci, A., Farah, A., & Carlos Trugo, L. (2006). EFEITO DO PROCESSO DE DESCAFEINAÇÃO COM DICLOROMETANO SOBRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS CAFÉS ARÁBICA E ROBUSTA ANTES E APÓS A TORRAÇÃO. In *Quim. Nova* (Vol. 29, Issue 5).
- Tommerdahl, K. L., Hu, E. A., Selvin, E., Steffen, L. M., Coresh, J., Grams, M. E., Bjornstad, P., Rebholz, C. M., & Parikh, C. R. (2022). Coffee Consumption May Mitigate the Risk From the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Kidney International Reports*, 7(7), 1665–1672. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.04.091>
- Tran-Lam, T. T., Dao, Y. H., Nguyen, L. K. T., Ma, H. K., Tran, H. N., & Le, G. T. (2018). Simultaneous determination of 18 polycyclic aromatic hydrocarbons in daily foods (Hanoi metropolitan area) by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Foods*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/foods7120201>
- Vincent, J. C. (1987). Green coffee processing. In *Coffee* (pp. 1–33). Springer.
- Wu, H., Li, D., Zhao, B., Guan, S., Jing, X., Ding, Y., & Fan, G. (2021). Magnetic covalent organic framework nanocomposites as a new adsorbent for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and food samples. *Analytical Methods*, 13(25), 2847–2856. <https://doi.org/10.1039/d1ay00496d>
- Yazdi, M. N., Yamini, Y., & Asiabi, H. (2018). Multiwall carbon nanotube- zirconium oxide nanocomposite hollow fiber solid phase microextraction for determination of polyaromatic hydrocarbons in water, coffee and tea samples. *Journal of Chromatography A*, 1554, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.040>
- Yoshioka, T., Nagatomi, Y., Harayama, K., & Bamba, T. (2018). Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee beverages and dark beer using novel high-sensitivity technique of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(1), 126–130. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.01.014>
- Zhou, G. D., Richardson, M., Fazili, I. S., Wang, J., Donnelly, K. C., Wang, F., Amendt, B., & Moorthy, B. (2010). Role of retinoic acid in the modulation of benzo(a)pyrene-DNA adducts in human hepatoma cells: Implications for cancer prevention. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 249(3), 224–230. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.019>
- Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review and meta-analysis. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 112, Issue 9, pp. 970–978). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.6895>

- Caldeirão, L., Fernandes, J. O., Gonzalez, M. H., Godoy, H. T., & Cunha, S. C. (2021). A novel dispersive liquid-liquid microextraction using a low density deep eutectic solvent-gas chromatography tandem mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soft drinks. *Journal of Chromatography A*, 1635. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461736>
- EFSA. (2008). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food 1 Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain Adopted on 9 June 2008*. June, 1–114.
- Erdem, P., Tağaç, A. A., Bozkurt, S. S., & Merdivan, M. (2021). Chitosan and dicationic ionic liquid intercalated clay-coated solid-phase microextraction fiber for determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples. *Talanta*, 235(July). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122764>
- European Commission, E. C. (2011). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 215(4), 1–5.
- Kacmaz, S. (2019a). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Kacmaz, S. (2019b). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in flour, bread, and breakfast cereals. In *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 13–20). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00002-2>
- Park, S., Jo, A., & Lee, K. (2021). Effect of various roasting , extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358(March), 129806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129806>
- Romero-Velarde, E., Villalpando-Carrión, S., Pérez-Lizaur, A. B., Iracheta-Gerez, Ma. de la L., Alonso-Rivera, C. G., López-Navarrete, G. E., García-Contreras, A., Ochoa-Ortiz, E., Zarate-Mondragón, F., López-Pérez, G. T., Chávez-Palencia, C., Guajardo-Jáquez, M., Vázquez-Ortiz, S., Pinzón-Navarro, B. A., Torres-Duarte, K. N., Vidal-Guzmán, J. D., Michel-Gómez, P. L., López-Contreras, I. N., Arroyo-Cruz, L. V., ... Pinacho-Velázquez, J. L. (2016). Guidelines for complementary feeding in healthy infants. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition)*, 73(5), 338–356. <https://doi.org/10.1016/j.bmhime.2017.11.007>
- Singh, L., & Agarwal, T. (2021). Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee. *Food Chemistry*, 364(June), 130440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130440>

9. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1. Condições GC-MS/MS

Analito	Ion (m/z)			Tempo de retenção	Tempo janela
Naftaleno D8	136			3,1	1
Acenafteno	153	154	152	4,489	2
Fluoreno	166	165	163	4,898	3
Fenantreno	178	176	179	6,498	4
Antraceno	178	176	179	6,604	
Fluoranteno	202	200	203	9,643	5
Pireno	202	203	101	10,394	
Criseno D12	240	236	241	15,604	6
Benzo[a]antraceno	228	226	229	15,425	
Criseno	228	226	229	15,604	
Benzo[b]fluoranteno	252	253	250	21,888	7
Benzo[a]pireno	252	253	250	22,682	
Benzo[ghi]perileno	276	277	274	26,652	8
Dibenzo[ah]antraceno	278	279	276	26,931	
Indeno[123cd]pireno	276	137	138	27,738	

Tabela 2. Teste de Tukey estudo exploratório das técnicas de extração QuEChERS, d-SPE e DLLME

	1	2	3	4	5	6
Acenafteno	18324 ^b	25134 ^{ab}	26960 ^{ab}	33809.75 ^a	24603.75 ^{ab}	30930 ^a
Fluoreno	23539.25 ^a	33579.5 ^a	28390.75 ^a	23687.75 ^a	18539.25 ^a	31147.75 ^a
Fenantreno	63086.75 ^a	54723.5 ^a	60279.5 ^a	68182.5 ^a	58041.75 ^a	83496.75 ^a
Antraceno	41623.75 ^b	40839.5 ^b	53134 ^{ab}	56738 ^{ab}	39113.75 ^b	64327 ^a
Fluoranteno	36196 ^{bc}	34796 ^{bc}	45264.5 ^{abc}	49907 ^{ab}	32456.25 ^c	59117.5 ^a
Pireno	33200.75 ^b	31331 ^b	43140.5 ^{ab}	46540.5 ^{ab}	29353.75 ^b	57832.5 ^a
Benzo[a]antraceno	20065.25 ^{ab} _c	16133 ^c	28350.75 ^{ab}	25682 ^{abc}	17914 ^{bc}	29758.5 ^a
Criseno	17761.25 ^{ab} _c	14049.25 _c	26789.5 ^a	23969.25 ^{ab} _c	14964 ^{bc}	25292.25 ^{ab}
Benzo[b]fluoranteno	40655.75 ^c	87140 ^{bc}	88030 ^b	150629.75 ^a	76263.5 ^{bc}	167702.5 ^a
Benzo[a]pireno	19424.25 ^b	18328.5 ^b	39009 ^a	36979.75 ^a	19473 ^b	44072.25 ^a
Benzo[ghi]perileno	10781.25 ^b	9986 ^b	34438.5 ^a	35491 ^a	10559.5 ^b	35590.75 ^a
Dibenzo[ah]antraceno	5481.75 ^b	6153.5 ^b	15226.25 ^a	15854.5 ^a	6257.25 ^b	15320.5 ^a
Indeno[123cd]pireno	10596.75 ^b	10502.75 _b	26498.75 ^a	26649.75 ^a	10833.5 ^b	28352.75 ^a

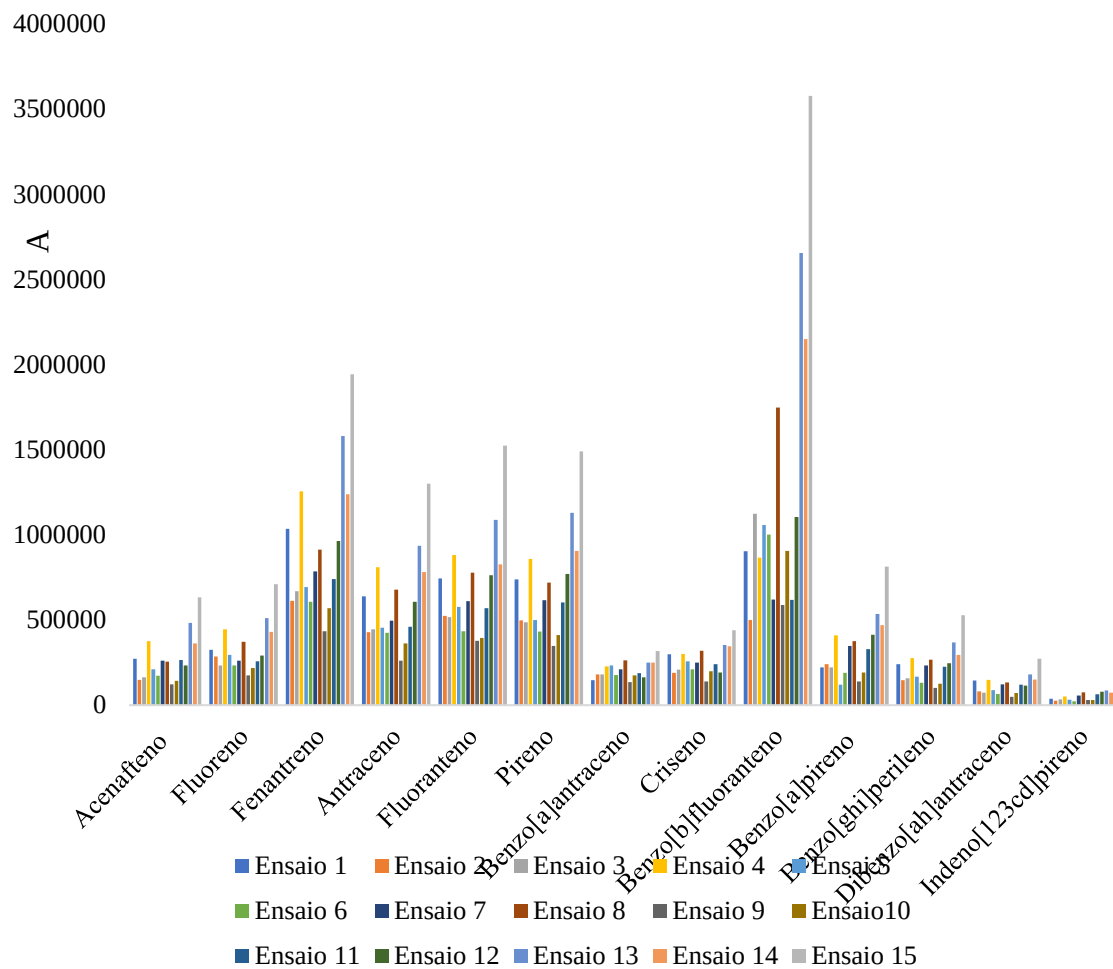


Figura 1. Resultados do Plackett-Burman para os 13 HPAsbbbb