

Avaliação da metodologia analítica para determinação de arsênio, cádmio e chumbo em amostras de café, segundo os critérios de aceitação do *Codex Alimentarius*

Evaluation of the analytical methodology for the determination of arsenic, cadmium and lead in coffee samples, according to *Codex Alimentarius* acceptance criteria

Cristiane Barata-Silva 

Carolina Duque Magalhães 

Renata Aparecida Pereira 

Santos Alves Vicentini-Neto 

Silvana Couto Jacob 

Lisia Maria Gobbo Santos* 

Setor de Elementos Inorgânicos,
Departamento de Química, Instituto
Nacional de Controle de Qualidade
em Saúde/Fundação Oswaldo Cruz
(INCQS/Fiocruz), Rio de Janeiro,
RJ, Brasil

* E-mail: lisia.gobbo@incqs.fiocruz.br

Recebido: 24 maio 2023

Aprovado: 21 dez 2023

Como citar: Barata-Silva C, Magalhães CD, Pereira RA, Vicentini-Neto SA, Jabob SC, Santos LMG. Avaliação da metodologia analítica para determinação de arsênio, cádmio e chumbo em amostras de café, segundo os critérios de aceitação do *Codex Alimentarius*. *Vigil Sanit Debate*, Rio de Janeiro, 2024, v.12: e02192. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.02192>

RESUMO

Introdução: O *Codex Alimentarius* estabelece normas internacionais na área de alimentos para proteger a saúde dos consumidores e garantir práticas legais de comércio entre os países. O Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) disponibiliza documentos orientativos que auxiliam os laboratórios a realizarem a validação de metodologias analíticas. Estas são utilizadas para estabelecer critérios de validação e verificação de conformidade dos métodos aplicados na determinação dos níveis de contaminantes e resíduos em produtos de interesse sanitário. **Objetivo:** Avaliar a metodologia analítica validada utilizada para determinação de arsênio, cádmio e chumbo em amostras de café torrado em pó segundo os critérios de aceitação preconizados no Manual de Procedimentos do *Codex Alimentarius* 27ª edição. **Método:** Trata-se de um estudo observacional do tipo descritivo exploratório qualitativo utilizando base de dados secundários. **Resultados:** Com a leitura do *Codex Alimentarius*, foram estabelecidos os parâmetros utilizados, sendo eles, a faixa mínima de aplicação, o limite de detecção, o limite de quantificação, a precisão e a exatidão. Assim foi realizada a avaliação da metodologia validada e verificou-se que esta é aplicável para a análise de As, Cd e Pb em amostras de café torrado em pó. **Conclusões:** A legislação brasileira atual voltada para o controle da presença de contaminantes em alimentos estabelece os limites máximo tolerados para As, Cd e Pb, mas não define quais metodologias devem ser utilizadas para verificar a presença e concentração destes elementos. Sendo assim, a metodologia apresentada nesse estudo é adequada para controlar a qualidade do café torrado em pó quanto a presença destes contaminantes inorgânicos, contribuindo assim para a proteção e a segurança da população.

PALAVRAS-CHAVE: *Codex Alimentarius*; Inmetro; Parâmetros de Validação; Café Torrado em Pó

ABSTRACT

Introduction: The *Codex Alimentarius* establishes international standards in the food segments to protect the health of consumers and ensure legal trade practices between countries. INMETRO, on the other hand, provides guidance documents that help laboratories carry out the validation of analytical methodology. These documents are used as a criteria to validate and verify conformity of the methods applied to determine contamination and residues in different products. **Objective:** To evaluate the validated analytical methodology used to determine arsenic, cadmium and lead in samples of roasted coffee powder according to the acceptance criteria recommended in the *Codex Alimentarius* 27th edition procedure manual. **Method:** This is an observational study of the descriptive exploratory qualitative type using secondary data base. **Results:** With the reading of the *Codex Alimentarius*, the parameters used were established, namely, the



minimum application range, the detection limit, the quantification limit, precision and accuracy. Thus, the evaluation of the validated methodology was carried out and it was verified that it is applicable for the analysis of As, Cd and Pb in samples of roasted coffee powder. **Conclusions:** Current Brazilian legislation aimed at controlling the presence of contaminants in food establishes the maximum tolerated limits for As, Cd and Pb, but does not define which methodologies should be used to verify the presence and concentration of these elements. Therefore, the methodology presented in this study is adequate to control the quality of roasted coffee powder regarding the presence of these inorganic contaminants, thus contributing to the protection and safety of the population.

KEYWORDS: Codex Alimentarius; Inmetro; Validation Parameters; Roasted Coffee Powder

INTRODUÇÃO

O *Codex Alimentarius* tem como principal objetivo o estabelecimento de normas internacionais na área de alimentos, incluindo padrões, diretrizes e guias sobre boas práticas e de avaliação de segurança e eficácia. Desta forma, o *Codex* possui papel de proteger a saúde dos consumidores e garantir práticas legais de comércio entre os países¹. O Brasil é membro deste programa desde 1968 e é um dos países da América Latina com maior participação¹.

A Comissão do *Codex Alimentarius* tornou-se o ponto de referência internacional importante para o desenvolvimento de parâmetros alimentares² e, por meio do Manual de Procedimentos, 27ª edição, de 2019, estabeleceu critérios para assegurar que os resultados fornecidos pelos laboratórios oficiais sejam gerados utilizando metodologias analíticas adequadas.

No Brasil, o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) é o órgão regulador responsável pelas creditações de laboratórios de ensaio e calibração e avalia conformidade aos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025³. Um laboratório que opera com sistema da qualidade tem intuito de promover a confiança na operação e garantir resultados válidos, para isso, os laboratórios devem seguir uma série de ações incluindo calibração de equipamentos, monitoramento do ambiente, validação técnica de metodologia e equipes treinadas³. O Inmetro disponibiliza um documento orientativo, DOQ-CGCRE-008, que ajuda os laboratórios de ensaios a demonstrar as condições analíticas em que um método é executado⁴.

Uma vez validadas, seguindo o documento orientativo do Inmetro, as metodologias para verificação dos limites máximos tolerados (LMT) dos contaminantes em alimentos devem estar de acordo com o estabelecido na 27ª edição de 2019 do Manual de Procedimentos do *Codex Alimentarius*, segundo o Art. 10 da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 722, de 1º de julho de 2022⁵, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Esse manual de procedimentos analíticos apresenta os critérios de aceitação de ensaios analíticos¹ e auxilia os governos membros a participarem efetivamente no trabalho do Programa de Padrões Alimentares em conjunto com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, sigla do inglês *Food and Agriculture Organization*)/Organização Mundial da Saúde (OMS)⁶.

A Anvisa é a autoridade federal responsável pelo estabelecimento de LMT de contaminantes nos alimentos no Brasil, dentre outras competências⁷. Considera-se contaminante qualquer substância adicionada de forma não intencional aos alimentos, estando presente como resultado da produção, industrialização, processamento,

preparação, tratamento, embalagem, transporte ou armazenamento, ou ainda, como resultado de contaminação ambiental⁸.

Sendo assim, em 2022 foi publicada a RDC n° 722/2022⁹, que dispõe sobre os LMT de contaminantes em alimentos e descreve os princípios gerais para o estabelecimento dos LMT, abordando os métodos de análise para fins de avaliação da conformidade. Esses limites estão definidos na Instrução Normativa (IN) n° 160, de 1º de julho de 2022⁵.

O presente estudo teve como objetivo avaliar, segundo os critérios de aceitação preconizados no Manual de Procedimentos do *Codex Alimentarius* 27ª edição (2019), a metodologia analítica validada e utilizada para determinação de arsênio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) em amostras de café torrado em pó.

MÉTODO

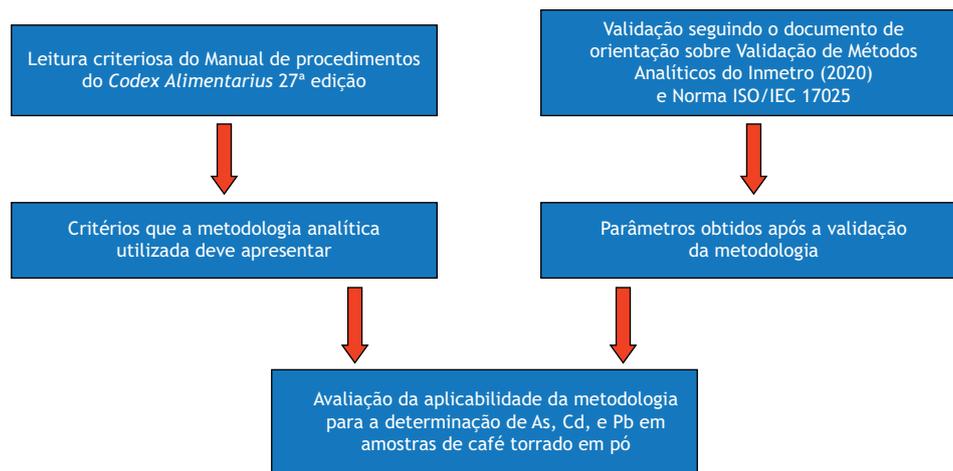
Trata-se de um estudo observacional do tipo descritivo exploratório qualitativo, que utiliza base de dados secundários. Inicialmente foi realizada a leitura criteriosa do Manual de Procedimentos do *Codex Alimentarius* 27ª edição, de modo a verificar quais critérios a metodologia analítica utilizada deveria apresentar.

A metodologia analítica para detecção e quantificação de As, Cd e Pb, a ser avaliada pelos critérios analíticos do *Codex*, foi validada segundo o documento DOQ-CGCRE-008, Revisão 9 do Inmetro de 2020^{2,4}, utilizando os seguintes parâmetros: faixa de trabalho, limite de detecção (LDO), limite de quantificação (LOQ), precisão e recuperação. A validação foi realizada no Setor de Elementos Inorgânicos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz) num espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), modelo Nexion 300D da Perkin Elmer, EUA, equipado com um nebulizador concêntrico (Meinhard) e uma câmara de nebulizador de vidro ciclônico. Os parâmetros estudados na validação foram aqueles descritos no documento de orientação sobre a Validação de Métodos Analíticos do Inmetro de 2020 e a Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025³.

As etapas metodológicas adotadas no presente estudo foram descritas na Figura 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cálculo da faixa mínima de aplicação foi estimado, considerando uma concentração maior 10^{-7} ($\geq 0,1$ mg kg⁻¹) e um nível de confiança de 99%, uma vez que os LMT para café em pó para os elementos As,



Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

Figura 1. Fluxograma das etapas metodológicas utilizadas no presente estudo.

Tabela 1. Critérios de aceitação para avaliar a metodologia analítica para determinar os contaminantes em café torrado em pó com LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, segundo o Codex Alimentarius².

	LMT ¹ (mg kg ⁻¹)	Faixa de trabalho ² (mg kg ⁻¹)	LOD ³ (mg kg ⁻¹)	LOQ ⁴ (mg kg ⁻¹)	Precisão ⁵ (%RSD)	Recuperação ⁶ (%)
As	0,2	0,07-0,33	$\leq 0,02$	$\leq 0,04$	≤ 44	80-110
Cd	0,1	0,03-0,17	$\leq 0,01$	$\leq 0,02$	≤ 44	80-110
Pb	0,5	0,17-0,83	$\leq 0,05$	$\leq 0,10$	≤ 44	80-110

Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

¹ Estabelecidos pela RDC n° 722/2022 e definidos na IN n° 160, de 1° de julho de 2022.

² Para LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, [LMT - 3 sR, LMT + 3 sR], sR o desvio-padrão da reprodutibilidade.

³ Para LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, LOD \leq LMT. 1/10.

⁴ Para LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, LOD \leq LMT. 1/5.

⁵ Para LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, valor de HorRat ≤ 2 , ou seja, $RSD_R / PRSD_R \leq 2 = RSD_R \leq 2 \cdot PRSD_R$, sendo $PRSD_R = 22\%$.

⁶ Para LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, Recuperação 80-110%.

LMT: Limite máximo tolerado; LOD: Limite de detecção; LOQ: Limite de quantificação.

Cd e Pb variam de 0,1 mg kg⁻¹ para Cd até 0,5 mg kg⁻¹ para Pb. Já para calcular o LOD e LOQ, foram utilizadas as fórmulas e tabelas contidas no documento e utilizado como exemplo o LMT de As, Cd e Pb para café em pó⁹.

Quanto à precisão, o Codex determina o desvio-padrão relativo (RSD) para a reprodutibilidade e o critério é calculado com base no LMT, a exatidão é avaliada quando a metodologia apresenta uma etapa de digestão. Caso não seja necessária essa etapa, não é determinada uma faixa de aceitação. Entretanto, a precisão foi validada para repetibilidade, que foi expressa por meio do RSD e a exatidão foi determinada por meio do estudo de recuperação, na qual uma concentração conhecida do analito foi adicionada nas amostras, sendo o número de repetições igual a sete.

O Codex Alimentarius fornece embasamento teórico para o estabelecimento de critérios de aceitação para verificar se a metodologia validada é aplicável para a amostra a ser analisada. Para tal, o LMT de cada contaminante em determinada amostra define quais equações de cálculo devem ser utilizadas para obtenção desses valores.

Sendo assim, como os três contaminantes de interesse possuem LMT $\geq 0,1$ mg kg⁻¹, os valores obtidos para os critérios de aceitação estão descritos na Tabela 1. Nesse documento, a precisão é

avaliada em termos de reprodutibilidade, que é obtida por estudos colaborativos e o RSD $\leq 44\%$. Nesse trabalho, não foi avaliada a reprodutibilidade, e sim a repetitividade.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para validação da metodologia para determinação de As, Cd e Pb em amostras de café torrado em pó por ICP-MS, segundo os parâmetros estabelecidos pelo documento orientativo do Inmetro. A metodologia foi validada para a análise concomitante dos três elementos (As, Cd e Pb) em amostras de café torrado. Em função disso, o primeiro ponto da faixa de trabalho foi estabelecido como o LOQ do Pb e os valores estabelecidos para faixa de trabalho contemplam os valores preconizados pela legislação vigente, a IN n° 160/2022⁵.

A precisão e a exatidão estão dentro dos valores aceitáveis pelo Inmetro, que determina que, para o método ser considerado válido, deve ter um RSD $\leq 15\%$ e uma recuperação entre 80%-110%, na faixa estudada.

Após a realização da validação da metodologia pelo documento orientativo do Inmetro, utilizamos os critérios de aceitação do Codex Alimentarius para verificar se a metodologia validada é aplicável para a análise de As, Cd e Pb em amostras de café torrado em pó e, para isso, seguimos respondendo os critérios como demonstrado na Figura 2.

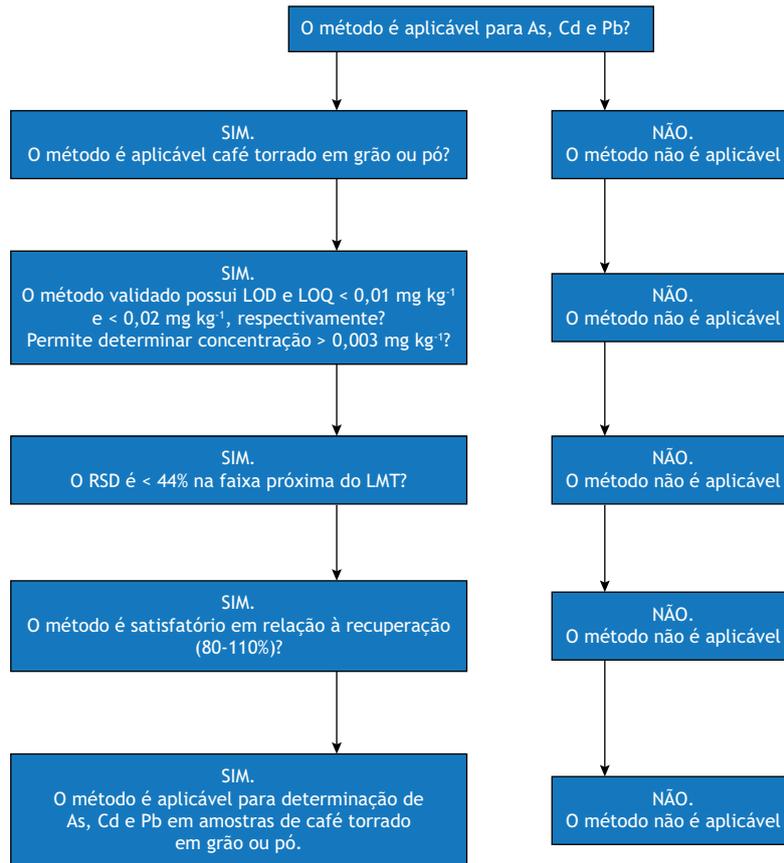


Tabela 2. Resultados obtidos para a validação da metodologia para determinação de arsênio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) em amostra de café torrado em pó por ICP-MS.

	Faixa de trabalho (mg kg ⁻¹)	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)	Precisão (%RSD)	Recuperação (%)
As	0,003-0,3	0,00003	0,0002	7	98
Cd	0,003-0,3	0,00006	0,0003	3	109
Pb	0,003-0,3	0,001	0,003	6	104

Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

LOD: Limite de detecção; LOQ: Limite de quantificação.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

As: Arsênio; Cd: Cádmio; Pb: Chumbo; LMT: Limite máximo tolerado; LOD: Limite de detecção; LOQ: Limite de quantificação.

Figura 2. Fluxograma de análise da aplicabilidade do método validado para a análise das amostras de café torrado em pó quanto à presença de arsênio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), segundo o Codex Alimentarius.

Diante de todas as respostas positivas para os questionamentos apresentados no fluxograma anterior, observamos que a metodologia validada segundo o documento orientativo do Inmetro é aplicável para determinação de As, Cd e Pb em amostras de café torrado em pó e atende aos critérios de aceitação estabelecidos Codex Alimentarius².

CONCLUSÕES

A atual legislação brasileira voltada para o controle da presença de contaminantes em alimentos estabelece os LMT para As, Cd e Pb, mas não define quais metodologias devem ser utilizadas, e sim os critérios de desempenho destinados a verificar a

aplicabilidade dos métodos na determinação da concentração de contaminantes e resíduos em produtos destinados à saúde.

Nessa busca pelo desenvolvimento de metodologias adequadas e confiáveis, o documento produzido pelo Codex Alimentarius é uma excelente ferramenta para garantir resultados fidedignos aos órgãos nacionais e internacionais responsáveis pelo controle de qualidade de alimentos.

Sendo assim, a metodologia apresentada nesse estudo foi validada, segundo o documento orientativo do Inmetro, demonstrou ser aplicável para a análise de As, Cd e Pb em café torrado em pó e atende aos critérios de aceitação estabelecidos pelo Codex Alimentarius, contribuindo assim para a proteção e a segurança da população.



REFERÊNCIAS

1. Food And Agriculture Organization - FAO. Codex Alimentarius: understanding codex. Rome: Food And Agriculture; 2016[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i5667e/i5667e.pdf>
2. Food And Agriculture Organization - FAO. Codex Alimentarius Commission procedural manual. 27a ed. Rome: Food And Agriculture Organization; 2019[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: <https://www.fao.org/publications/card/en/c/CA2329EN/>
3. Associação Brasileira de Normas Técnica - ABNT. NBR ISO 17025 requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnica; 2005 [acesso 2 ago 2022]. Disponível em: https://www.exactusmetrologia.com.br/sites/default/files/3-nbr_iso_iec_17025-2017_versao_exclusiva_treinamento.pdf
4. Coordenação Geral de Acreditação - Cgcre. Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo. Brasília: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia; 2020[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=CalibEnsaio
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Instrução normativa Nº 160, de 1 de julho de 2022. Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. Diário Oficial União. 6 jul 2022.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Codex Alimentarius. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2016[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: https://www.icict.fiocruz.br/sites/www.icict.fiocruz.br/files/Codex%20Alimentarius_%20Minist%C3%A9rio%20Anvisa.pdf
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Contaminantes em alimentos. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2021[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/contaminantes>
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Aditivos e contaminantes. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2021[acesso 2 ago 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/fiscalizacao-e-monitoramento/programas-nacionais-de-monitoramento-de-alimentos/monitoramento-de-aditivos-e-contaminantes-em-alimentos>
9. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 722, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos, os princípios gerais para o seu estabelecimento e os métodos de análise para fins de avaliação de conformidade. Diário Oficial União. 6 jul 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e ao Programa Bolsa Mestrado nota 10 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (2022).

Contribuição dos Autores

Barata-Silva C, Jacob SC, Santos LMG - Concepção, planejamento (desenho do estudo}, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Magalhães CD, Vicentin-Neto SA - Planejamento (desenho do estudo), análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Pereira RA - Análise e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Licença CC BY. Com essa licença os artigos são de acesso aberto que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.