UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

***Estudo da influência de processos de conservação
na distribuição de espécies elementares em água
de coco por espectrometria de absorção e emissão
atômica***

Juliana Naozuka

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira

SÃO PAULO

23 de Julho de 2004

*"A única obrigação em qualquer vida é ser sincero consigo mesmo.
Ser sincero com outra pessoa ou outra coisa não só é impossível,
como ainda é a marca de um falso messias".*
Richard Bach - Ilusões, As aventuras de um messias indeciso.

"....seja mais ouvido do que boca".

Mauro Bertotti

*Aos meus pais Júlia e Marcelo,
irmãos Gustavo e Elaine*

e a “minha vida” Thiago,

pelo apoio incondicional, amor e respeito

Dedico

"Aprender é descobrir aquilo que você já sabe.

Fazer é demonstrar que você o sabe.

Ensinar é lembrar aos outros que eles sabem tanto quanto você.

Vocês são todos aprendizes, fazedores, professores."

Richard Bach - Ilusões, As aventuras de um messias indeciso.

*Ao meu grande mestre Pedro Vitoriano de Oliveira,
não só pela orientação e formação científica e didática,
mas também pela amizade, respeito, lições de vida e enorme paciência*

Dedico

Agradecimentos

*"O laço que une a sua família verdadeira não é de sangue,
mas de respeito e alegria pela vida um do outro."*

Richard Bach - Ilusões, As aventuras de um messias indeciso.

Ao meu "pai científico", Prof. Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira, pela excelente orientação, amizade, paciência e apoio durante toda minha vida científica. Além dos ensinamentos de vida e de luta por uma pesquisa e por uma didática rica e cada vez mais perfeita.

A Prof^a. Dra. Elisabeth de Oliveira, pela orientação, amizade e ensinamentos.

À Prof^a. Dra. Carmen Tadini, pela orientação, respeito, ensinamentos e pelas ricas contribuições no Exame de Qualificação.

Aos demais docentes da Área de Química Analítica do IQ-USP, pelos ensinamentos e amizade. Em especial aos professores Mauro Bertotti ("sogro científico"), Lúcio Angnes, Fábio Rodrigo Piovezani Rocha e Roberto Tokoro.

A todos os docentes do IQ-USP, pela sólida formação em Química.

A todos funcionários da Seção de Graduação, de Pós-graduação e Assistência Acadêmica, pelo atendimento cordial e eficiente.

À Margareth, Giovana e Miriam, pelos divertidos encontros esporádicos e pela convivência durante a graduação.

Ao Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz, pela convivência durante a graduação e pelas ricas conversas.

Aos colegas Denise e Tiago do Laboratório de sensores eletroquímicos e métodos eletroanalíticos, coordenado pelos professores Mauro Bertotti e Roberto Tokoro, pelos bons momentos.

Às colegas Nathália e Kátia, do Laboratório de Engenharia de Alimentos, coordenado pela professora Carmen Tadini, pelas ricas contribuições, conversas e amostras pasteurizadas.

Aos amigos do LEEAA e do LAPA, coordenado pelos professores Elisabeth de Oliveira e Pedro Vitoriano de Oliveira, pela convivência harmoniosa, conversas e "cafés".

A minha "irmã científica", Cassiana Seimi Nomura, pela amizade verdadeira desde os tempos de graduação e por estar sempre presente em todos os bons e maus momentos da minha vida científica e pessoal, me aconselhando e apoiando.

Ao meu "irmão científico", Paulo Rogério Miranda Correia, pela amizade verdadeira desde a minha primeira iniciação científica, pelos ricos ensinamentos químicos, de vida e de luta e por me mostrar qual deve ser a atitude ideal de um pesquisador, educador e orientador.

A minha "mãe científica", Prof^a. Dra. Márcia Andreia Mesquita da Veiga, pela amizade, risadas, por ter permitido que eu colaborasse em seu projeto de pós-doutorado, por ter me dado a chance de aprender a postura e a dedicação de uma pós-doutoranda e de conhecer uma pessoa tão especial e lutadora.

À Silvia, Romeu, Victor, Beatriz, Dona Ida e senhor Miguel, pela convivência, amizade, respeito e família maravilhosa que estão me dando a chance de ter.

À minha maravilhosa família, que sempre me apóia e auxilia em todos os momentos da minha vida, pela enorme paciência, amor e respeito.

A “minha vida” Thiago Regis Longo Cesar da Paixão, pelo amor eterno, respeito, ensinamentos químicos e de vida e paciência durante os nossos 5 anos de namoro. "Tudo é ter você eternamente".

À FAPESP por acreditar nesse projeto de pesquisa e pelo auxílio financeiro fornecido (processo: 02/05091-0).

A Fapesp, CNPq, CAPES e Pró-Reitoria de Pesquisa da Pós-Graduação pelo suporte financeiro.

A todos que de alguma forma colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada

SUMÁRIO

Lista de figuras	v
Lista de tabelas.....	viii
Glossário.....	xi
Abstract	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Coqueiro.....	1
1.2 Água de coco	2
1.3 Papel biológico dos elementos de interesse.....	8
1.4 Influência dos processos de conservação na composição e na distribuição de elementos	11
1.5 Algumas técnicas analíticas de separação	14
1.6 Técnicas analíticas para determinação elementar.....	15
1.6.1 Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido.....	15
1.6.2 Espectrometria de absorção atômica	16
2. OBJETIVO.....	20
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
3.1 Instrumentação	21
3.1.1 Espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido	21
3.1.2 Espectrômetro de absorção atômica.....	22
3.1.3 Fotômetro de chama.....	23
3.1.4 Pasteurização da água de coco.....	24
3.1.5 Congelamento da água de coco.....	24
3.1.6 Forno com aquecimento assistido por microondas focalizadas.....	24
3.1.7 Sistema de filtração a vácuo	25
3.1.8 Sistema de filtração por pressão.....	26
3.2 Reagentes e soluções	26
3.3 Amostras de água de coco	28
3.4 Procedimento	28
3.4.1 Digestão total	28

3.4.2 Ultrafiltração	29
3.4.3 Procedimento analítico para determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES.....	30
3.4.4 Procedimento analítico para determinação de Al, Cu e Fe por ETAAS.	30
3.4.5 Procedimento analítico para especiação de Se^{4+} e Se^{6+} por HG ETAAS.	34
3.4.5.1 Determinação de Se total por ETAAS.....	34
3.4.5.2 Modificação permanente do tubo de grafite com Ir	36
3.4.5.3 Sistema de geração de hidretos.....	36
3.4.5.4 Pré-redução de Se^{6+} a Se^{4+} em forno de microondas	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Desenvolvimento dos métodos analíticos.....	39
4.1.1 Determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES.....	39
4.1.2 Determinação de Al, Cu e Fe por ETAAS	43
4.2 Avaliação da influência dos processos de conservação na composição da água de coco	53
4.2.1 Influência do processo de ultrafiltração na composição química elementar	54
4.2.2 Influência do processo de pasteurização na composição química elementar total	57
4.2.3 Influência do processo de pasteurização na distribuição química elementar	58
4.2.4 Influência do processo de congelamento na composição química elementar total	62
4.2.5 Influência do processo de congelamento na distribuição química elementar	63
4.3 Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de água de coco comerciais.....	66
4.4 Especiação de Se^{4+} e Se^{6+} por HG ETAAS	68
4.4.1 Determinação da concentração total de Se por ETAAS	68

4.4.2 Determinação de Se por HG ETAAS.....	72
4.4.3 Otimização da etapa de pré-redução do Se^{6+}	73
5. CONCLUSÕES	77
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
7. APÊNDICE	89

Lista de figuras

Figura 1 – Formas oxidada e reduzida da polifenoloxidase	4
Figura 2 – Reações de oxidação da dopamina e do catecol catalisada pela polifenoloxidase	5
Figura 3 – Cofator heme da peroxidase	5
Figura 4 – Esquema do processo catalítico de oxidação de um substrato orgânico promovido pela peroxidase	6
Figura 5 – Retenção de nutrientes em função dos diferentes processos de separação e porosidades dos filtros utilizados	11
Figura 6 – Sistema de ultrafiltração a vácuo	25
Figura 7 – Sistema de ultrafiltração por pressão	26
Figura 8 – Diagrama do sistema de geração de hidreto acoplado ao ETAAS: (GT) tubo de grafite; (GLS) separador gás-líquido; (Ar) fluxo de argônio; (T) confluência; (C) carregador; (S) amostra; (Ls) alça de amostra; (Lr) alça de reagente.....	37
Figura 9 – Varreduras de comprimento de onda para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn, das soluções analíticas de referência (—), da água de coco digerida (—) e água de coco diluída (3x) (—).	40
Figura 10 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Al: (▲) 50 µg L ⁻¹ de Al ³⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ ; (■) 50 µg L ⁻¹ de Al ³⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100.....	45
Figura 11 – Curvas analíticas de calibração de Al: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO ₃ e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100	46
Figura 12 – Curvas temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Cu: (▲) 10 µg L ⁻¹ de Cu ²⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ ; (■) 10 µg L ⁻¹ de Cu ²⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100.....	48

Figura 13 – Estudo do tempo de pirólise I (400 °C) para o programa de aquecimento de Cu.	49
Figura 14 – Curvas analíticas de calibração de Cu: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO ₃ e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100	50
Figura 15 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Fe: (●) 10 µg L ⁻¹ em 0,1 % v/v HNO ₃ ; (■) água de coco diluída (15x) para 0,1 % v/v HNO ₃	51
Figura 16 – Efeito da pasteurização na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (∅) e na água de coco pasteurizada (X)	57
Figura 17 – Efeito da pasteurização na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (∅) e na água de coco pasteurizada (X)	58
Figura 18 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (∅) e pasteurizada (X) a 90 °C por 190 s	59
Figura 19 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (∅) e pasteurizada (X) a 90 °C por 300 s	60
Figura 20 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (∅) e pasteurizada (X) a 90 °C por 180 s	60
Figura 21 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,025 µm de porosidade sem pasteurizar (∅) e pasteurizada (X) a 90 °C por 180 s	61
Figura 22 – Efeito do congelamento na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (∅), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a -30 °C. .	63

Figura 23 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem congelamento (∅), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a –30 °C.	64
Figura 24 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,025 µm de porosidade sem congelamento (∅), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a –30 °C.	65
Figura 25 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Se: (▲) 40 µg L ⁻¹ de Se ⁴⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural + 40 µg L ⁻¹ de Se ⁴⁺ em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100	70
Figura 26 – Curvas analíticas de calibração de Se: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO ₃ e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100	71
Figura 27 – Curvas analíticas de calibração de Se: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO ₃ e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO ₃ e 0,1 % m/v Triton X-100	73
Figura 28 – Otimização do tempo de incidência de radiação. Sinais de absorvância de 1 µg L ⁻¹ de Se ⁶⁺ reduzido (—) e de 1 µg L ⁻¹ de Se ⁴⁺ (--) .	75

Lista de tabelas

Tabela 1 – Parâmetros instrumentais para determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES.....	21
Tabela 2 – Parâmetros instrumentais para as determinações de Ca, Mg, Mn e Zn por FAAS	22
Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para as determinações de Al, Cu e Fe por ETAAS	23
Tabela 4 – Programa de aquecimento para digestão total da água de coco	29
Tabela 5 – Programa de aquecimento para digestão da membrana com e sem os resíduos da água de coco.....	30
Tabela 6 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Al e Cu	32
Tabela 7 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Fe	33
Tabela 8 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperaturas de pirólise e de atomização para Se	35
Tabela 9 – Programa de aquecimento utilizado para modificação térmica do tubo de grafite com Ir.....	36
Tabela 10 – Teste de adição e recuperação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em ICP OES.....	41
Tabela 11 – Concentração de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco digerida e diluída (3x) para 0,1 % v/v HNO ₃	42
Tabela 12 – Limite de detecção e quantificação para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em ICP OES	43
Tabela 13 – Concentração de Al em água de coco natural e teste de adição e recuperação	47
Tabela 14 – Concentração de Cu em água de coco e resultados de recuperação	50
Tabela 15 – Concentração de Fe em água de coco natural diluída.....	52

Tabela 16 – Limite de detecção, quantificação e massa característica para Al, Cu e Fe	53
Tabela 17 – Concentração total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado)	56
Tabela 18 – Concentração total de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco comercial	67
Tabela 19 – Concentração de Se em água de coco e resultados de recuperação	71
Tabela 20 – Limite de detecção e massa característica para Se	72
Tabela 21 – Programa de aquecimento para redução do Se^{6+} a Se^{4+}	75
Tabela 22 – Sinais de absorbância obtidos para Se^{4+} , Se^{6+} e $\text{Se}^{4+} + \text{Se}^{6+}$ após etapa de pré-redução.	76

Glossário

AAS: do inglês, Atomic Absorption Spectrometry.

ABIA: Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação.

ASBRACOCO: Associação Brasileira do Coco.

AZ: auto zero.

C: carregador.

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias.

EDL:

ETAAS: do inglês, Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry.

FAAS: do inglês, Flame Atomic Absorption Spectrometry.

GLP: gás liquefeito de petróleo.

GLS: separador gás-líquido.

GT: tubo de grafite.

HCL:

HG-ETAAS: do inglês, Hydride Generation - Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry.

ICP-MS: do inglês, Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry.

ICP OES: do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.

LD: limite de detecção.

Lr: alça de reagente.

Ls: alça de amostra.

OMS: Organização Mundial de Saúde.

PEBD: polietileno de baixa densidade.

PET: polietileno-tereftalato.

S: amostra.

T: confluência.

T_a: Temperatura de atomização.

T_p: Temperatura de pirólise.

UHT: do inglês, Ultra High Temperature.

Resumo

A água de coco é um isotônico natural, uma bebida pouco calórica e muito nutritiva, representando 1,4 % do mercado de refrigerantes e de isotônicos artificiais. Aliado ao crescente mercado interno e externo, surge os processos de conservação com o intuito de preservação da água de coco fora do fruto, facilitando a comercialização e aumentando o tempo de vida de prateleira. Considerando o pressuposto, esse trabalho teve como objetivo principal avaliar a influência dos processos de conservação, ultrafiltração, congelamento e pasteurização, na concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn em água de coco. As determinações foram feitas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica. Investigação no sentido de determinar espécies livres de Se^{4+} e Se^{6+} , em água de coco, por geração de hidretos e pré-concentração na superfície de um tubo de grafite modificada com Ir também foi objetivo desse trabalho. Os estudos foram realizados por meio das determinações das concentrações totais dos elementos e em diferentes frações (filtrado e resíduo), obtidas após ultrafiltração com membrana de celulose (0,100 e 0,025 μm). Em todos os processos de conservação estudados, exceto na ultrafiltração, as concentrações totais dos elementos de interesse foram preservadas. A ultrafiltração com filtro de 0,025 μm promoveu a retenção de uma quantidade significativa de Fe (30%) e Zn (50 %). A influência dos processos de conservação, com base na distribuição dos elementos de interesse, mostrou uma tendência de variação na distribuição de Cu, Fe e Zn na água de coco pasteurizada e em todos os elementos na congelada, sobretudo para aquelas com tempo de congelamento superior a 30 dias. A especiação de Se^{6+} e Se^{4+} foi feita após redução do Se^{6+} com $2,0 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl} + 1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KBr}$ e aquecimento por microondas focalizadas em microfrascos, apresentando cerca de 95 % de eficiência na redução na ausência da amostra de água de coco.

Abstract

The coconut water is a natural isotonic, nutritive and low caloric drink, corresponding to 1.4 % of the soft drink and artificial isotonic market store. The conservation processes of the coconut water appear in association to the expansion of the internal and external market, increasing the shelf-life of the product and its commercialization. The objective of this work was evaluate the influence of the conservation processes, such as, ultrafiltration, freezing and pasteurization based on the concentrations of Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se and Zn in the coconut water. The determinations were done by inductively coupled plasma–optical emission spectrometry and electrothermal atomic absorption spectrometry. The investigation of free-species of Se^{4+} and Se^{6+} , in coconut water, by hydride generation and pre-concentration on the modified graphite tube surface with Ir was also the aim of this project. The studies were carried out through the determinations of the total concentration of the interest elements and in different fractions (filtrate and residue), obtained after ultrafiltration with cellulose membrane filters (0.100 and 0.025 μm). In all processes of conservation studied, except the ultrafiltration, the total concentrations were preserved. The ultrafiltration with filters of 0.025 μm promoted the retention of significant concentration of Fe (30%) e Zn (50%). Considering the distribuituion of the interest elements, the influence of the conservation processes showed a tendency of the variation in the Cu, Fe and Zn distribution for the pasteurized coconut water, and for all elements in the frozen, mainly for frozen samples stored for more than 30 days. The speciation of Se^{4+} and Se^{6+} was carried out after reduction of Se^{6+} with 2 mol L^{-1} HCl + 1 mol L^{-1} KBr and using microvials heated in a focused microwave. The reduction efficiency of the Se^{6+} to Se^{4+} was 95 %, in absence of coconut water.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Coqueiro

O coqueiro, cientificamente chamado de *Cocos nucifera L.* pertence ao gênero *Cocos* e à família *Palmae*, é originário do Sudeste Asiático^{1,2}. O coqueiro é uma palmeira em que tudo se aproveita, a raiz, o caule e as folhas para fins artesanais e o fruto, principalmente, para fins alimentícios (água de coco, leite de coco, coco ralado e óleo de coco)³.

Os maiores produtores mundiais são as Filipinas, a Indonésia e a Índia⁴. No Brasil, as maiores plantações estão localizadas na Bahia, Ceará, Espírito Santo e Amazônia⁵. No estado de São Paulo a cultura do coco vem se expandindo em função do crescente interesse e valorização do mercado de água de coco^{4,5}. Segundo pesquisas realizadas pela Secretaria da Agricultura de São Paulo, a produção de coco no estado poderá aumentar cerca de 25 % durante o ano de 2003, atingindo 10,3 milhões de unidades de coco. Atualmente, os municípios de Jaboticabal, Marília e Pindamonhangaba são os maiores produtores de coco no estado de São Paulo⁵.

No Brasil existem três variedades específicas de coqueiro: anão, gigante e híbrido^{2,6}. Os coqueiros híbridos são obtidos do cruzamento entre o coqueiro anão e gigante⁶. Porém, no Brasil esse cultivo é bastante escasso, pois plantações homogêneas de híbridos requerem custos elevados, uma vez que, há a necessidade de se ter híbridos geneticamente controlados e não híbridos naturais².

Os coqueiros anões apresentam precocidade de formação de frutos (2 a 3 anos) e alta produtividade (100 a 200 frutos por ano) quando comparados aos coqueiros gigantes (precocidade: 6 anos e produtividade: 50 a 60 frutos por ano). Em função dessas características, o coqueiro anão é destinado a suprir o mercado de água de coco e o coqueiro gigante

abastece, principalmente, a agroindústria, que utiliza a polpa para produção de leite de coco, coco ralado e óleo de coco^{2,6}.

1.2 Água de coco

A água de coco é uma bebida saborosa, nutritiva e pouco calórica (27 Kcal/100 g)⁷, correspondendo a aproximadamente 25 % do peso do fruto. Na composição química da água de coco verde podem ser encontrados carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e alguns sais (Ca, Cu, Cl⁻, Fe, K, I⁻, Mg, Mn, Na, SO₄²⁻, PO₄³⁻ e Zn)^{3,7-9}. As concentrações de sais minerais podem variar, principalmente, em função do uso de fertilizantes nas lavouras e do tipo de solo em que são cultivados os coqueiros¹⁰.

A água de coco é utilizada em diversas áreas de pesquisas, como, por exemplo, na medicina, na biotecnologia e na nutrição³.

Na medicina vem sendo aplicada na rehidratação oral e em casos de cólera³. Além disso, a água de coco é utilizada como um fluido de hidratação intravenosa, devido à presença de aminoácidos essenciais e sais minerais em concentração semelhante a do plasma sanguíneo^{3,11,12}. Na biotecnologia é utilizada como diluente que junto com gema de ovo e glicerol constituem um conservante do sêmen caprino, ovino, suíno e canino^{3,13}. Pode ser usada em casos de desnutrição constituindo um suplemento protéico. Por fim, na área alimentícia a valorização da água de coco deve-se ao fato dela ser um isotônico natural e uma bebida pouco calórica³.

O crescente consumo faz com que a água de coco concorra com o mercado de refrigerantes e bebidas isotônicas artificiais, representando 1,4 % desse consumo, segundo a ASBRACOCO (Associação Brasileira do Coco), estimado em cerca de 10 bilhões de litros por ano, segundo a ABIA (Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação)^{14,15}.

Aliado ao próspero mercado consumidor interno e externo da água de coco está o desenvolvimento de tecnologias aplicadas ao envase e aos processos de conservação.

Devido às dificuldades existentes no armazenamento e no transporte do fruto, a comercialização da água de coco no interior do próprio fruto é inviável comercialmente, tanto para o consumo interno como para a exportação. Além disso, o lixo gerado com a casca pode trazer graves problemas uma vez que a sua biodegradação é lenta, aproximadamente 6 anos^{1,7}.

A utilização da casca para a produção de fibras não é muito explorada no Brasil devido a características intrínsecas da casca do coco verde quando comparada com a do coco maduro¹⁶. No entanto, atualmente, há estudos a respeito da utilização da casca como um substrato agrícola, sendo aplicado com sucesso no cultivo de mudas de alface^{16,17}.

O desenvolvimento do processo de envase deve-se a necessidade de comercialização em embalagens apropriadas, tais como, garrafas do tipo PET (polietileno-tereftalato) ou PEBD (polietileno de baixa densidade), copinhos com tampa termo-soldável, garrafas de vidro e principalmente, embalagens Tetra-pak, sendo que a última pode estar associada ao processo UHT (Ultra High Temperature). Nesse processo, a água de coco é submetida a altas temperaturas (100 a 140 °C) por um curto tempo, garantindo a esterilidade necessária para a estocagem em temperatura ambiente⁷. Além das diversas embalagens utilizadas para a comercialização e exportação da água de coco, a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias) vem desenvolvendo uma máquina que torna o envase totalmente automatizado sem o contato com o ambiente; essa máquina retira a água de coco do interior do próprio fruto¹⁸.

Os processos de conservação surgiram com o intuito de inibir a ação enzimática e garantir a estabilidade microbiológica, promovendo o

aumento do tempo de prateleira da água de coco⁷. A ação enzimática se dá em presença de ar atmosférico, em que algumas enzimas, presentes na água, são ativadas, catalisando reações que, em pouco tempo, modificam as características físico-químicas e organolépticas da água de coco. Essas enzimas são, principalmente, a polifenoloxidase e a peroxidase, as quais são comumente encontradas em muitas frutas e vegetais¹⁹.

A massa molecular da polifenoloxidase pode variar de 57 a 62 kDa (57.000 a 62.000 g mol⁻¹) e no seu centro ativo existem íons Cu⁺ como cofatores¹⁹. Estudos realizados mostraram que a polifenoloxidase na ausência de O₂ encontra-se na forma denominada deoxi, Figura 1, essa estrutura na presença de O₂ oxida para íons Cu²⁺, originando o composto oxi (E)¹⁹⁻²¹. A estrutura enzimática da polifenoloxidase com íons Cu²⁺ em seu sítio ativo catalisa reações de oxidação de compostos presentes em frutas e verduras, como por exemplo, a dopamina e o catecol^{19,21-22} (Figura 2).

Figura 1 – Formas oxidada e reduzida da polifenoloxidase

Figura 2 – Reações de oxidação da dopamina e do catecol catalisada pela polifenoloxidase

A peroxidase é uma enzima que possui no seu centro ativo um grupo heme, com íons Fe^{3+} , como cofator, Figura 3²³.

Figura 3 – Cofator heme da peroxidase

Na Figura 4 está apresentado um esquema do processo catalítico de oxidação promovido pela peroxidase. Inicialmente, essa enzima (I) utiliza H_2O_2 como um aceptor de elétron, ou seja, a peroxidase sofre oxidação formando um intermediário (II) com íons Fe^{4+} , enquanto H_2O_2 reduz a H_2O . O intermediário II catalisa a oxidação de substratos orgânicos (AH_2), formando um radical ($\bullet\text{AH}$), enquanto sofre oxidação formando a estrutura III. Na última etapa, o cofator contendo íons Fe^{3+} (I) é regenerado, através da oxidação de um substrato orgânico. Em geral, as reações de oxidação de substratos orgânicos provocam a degradação do alimento^{23,24}.

Figura 4 – Esquema do processo catalítico de oxidação de um substrato orgânico promovido pela peroxidase

As massas moleculares e as atividades das enzimas polifenoloxidase e peroxidase em água de coco foram determinadas por Leite et al²⁵. As técnicas de cromatografia de troca iônica e filtração em gel e eletroforese em gel foram utilizadas para a determinação das massas moleculares da polifenoloxidase (73,8 kDa) e da peroxidase (49,2 kDa), enquanto que a atividade enzimática foi determinada por espectrofotometria UV-visível.

Os processos de conservação da água de coco são utilizados com o intuito de minimizar ou neutralizar a ação dessas enzimas. Atualmente, os

processos mais explorados comercialmente são o resfriamento, o congelamento, a pasteurização e a ultrafiltração⁷. Esse último vem sendo desenvolvido pela Embrapa e ainda está em caráter experimental.

O resfriamento é o processo de conservação mais brando, a água de coco natural é simplesmente envasada e armazenada a uma temperatura de 5 °C. Porém, esse processo não é largamente explorado pelas indústrias uma vez que a água de coco resfriada apresenta um tempo de prateleira de apenas 3 dias⁷.

O congelamento é realizado em câmaras frigoríficas, pode ser lento ou rápido. No congelamento lento a água de coco é submetida à temperatura de -18 a -20 °C por 8 a 12 horas. Esse procedimento não é homogêneo, sendo que açúcares e sais minerais são os últimos componentes a serem congelados. O congelamento rápido ocorre a -30 °C por 15 a 30 minutos, podendo ser utilizadas soluções criogênicas, como por exemplo, salmouras de NaCl ou de CaCl₂ e soluções hidroalcoólicas (3 partes de etanol e 7 partes de água). Esse tipo de congelamento é muito mais uniforme quando comparado ao processo lento. No entanto, o processo de congelamento apresenta alguns problemas, como a impossibilidade de consumo imediato e de recongelamento, o alto custo no armazenamento e, principalmente, possíveis perdas de nutrientes⁷.

A pasteurização é realizada com auxílio de trocadores de calor do tipo placa de aço inox. A água de coco é submetida a altas temperaturas, em torno de 75 a 90 °C, por 20 a 500 s⁷. Após a pasteurização há necessidade de um resfriamento rápido a 5 °C, para a inativação microbiológica. Para as indústrias, a otimização do binômio (temperatura e tempo) é o ponto crucial para a aplicação de um processo de pasteurização satisfatório, capaz de não alterar as características organolépticas e, principalmente, nutricionais.

A ultrafiltração pode ser realizada a temperatura ambiente. Inicialmente, faz-se uma pré-filtração com filtro de porosidade de 8 µm para a retirada de cascas e de partes da polpa que são dispersos na água

de coco no momento da abertura do fruto. Posteriormente, executa-se a ultrafiltração, podendo ser utilizado filtros de membranas de porosidades de 0,01 a 0,1 μm ²⁶. Os maiores problemas da utilização da ultrafiltração são o custo elevado dos equipamentos e as possíveis perdas de nutrientes.

Um grupo da Universidade Estácio de Sá vem testando a eficiência da ultrafiltração na retenção da polifenoloxidase em suco de banana²⁷. Foi avaliada a atividade enzimática da polifenoloxidase no suco de banana centrifugado (4000 rpm por 20 minutos) e no suco ultrafiltrado com membranas capazes de reter compostos de 10 a 30 kDa, utilizando um espectrofotômetro UV-visível para monitorar a reação da enzima com o catecol em 420 nm. Os resultados mostraram que a ultrafiltração é tão eficiente quanto a centrifugação no sentido de isolar essa enzima, pois ocorreu a redução de 98 % da atividade enzimática no suco ultrafiltrado e de 96 % no suco centrifugado.

1.3 Papel biológico dos elementos de interesse

O monitoramento da composição inorgânica da água de coco é de interesse porque vários elementos presentes desempenham papéis importantes na manutenção do bom funcionamento do organismo dos seres vivos. Porém, alguns desses elementos, apesar de serem essenciais, em quantidades excessivas podem causar sérios danos ao organismo^{28,29}.

Os seres humanos podem ingerir cerca de 30 mg de Al por dia e a concentração desse elemento em um indivíduo de 70 Kg corresponde a aproximadamente 1,4 mg L⁻¹. O Al é considerado um elemento não essencial e não tóxico, porém especula-se que a acumulação de Al no cérebro pode levar a severas doenças, como por exemplo, doença de Parkinson e de Alzheimer³⁰.

O Na e o K participam do controle da pressão osmótica, portanto a ingestão de altas concentrações de sais desses elementos pode levar a

hipertensão. Além disso, o K é requerido para a secreção da insulina pelo pâncreas, nas reações enzimáticas envolvendo a fosforilação da creatina, no metabolismo do carboidrato e na síntese protéica. A deficiência de K pode causar batimentos cardíacos rápidos e irregulares, fraqueza muscular, irritabilidade e ocasionalmente paralisia, náuseas, vômitos, diarreia, e inflamação abdominal³¹.

O Mg é um elemento essencial no metabolismo celular, pois constitui um ativador de enzimas responsáveis pela transferência de fosfato e de certas peptidases na digestão de proteínas. A deficiência de Mg é caracterizada por espasmos musculares, batimentos cardíacos acelerados, confusão mental, alucinação, desorientação, falta de apetite, náuseas e vômitos³¹.

A principal função fisiológica do Ca no corpo corresponde à formação e manutenção de ossos e dentes. A deficiência de Ca durante o período de crescimento pode provocar retardamento de crescimento, pobre qualidade dos ossos e dentes. No caso dos ossos, má formação pode ocasionar o raquitismo e a osteoporose³¹.

O Cu é um componente de várias enzimas que participam de importantes reações metabólicas, como a enzima superóxido dismutase, presente no compartimento citossólico, e a citocromo oxidase. A deficiência de Cu pode provocar neutropenia e um tipo específico de anemia. A presença de elevados teores de Cu no organismo implica na redução da quantidade de vitamina A na corrente sanguínea e em problemas renais, que em casos agudos pode levar a doença de Wilson³¹.

O Mn compõe a enzima superóxido dismutase presente no compartimento mitocondrial, que integra o sistema de defesa do organismo contra os radicais livres. A deficiência desse metal pode afetar tanto o combate aos radicais livres como distúrbios no crescimento. Em casos de carência aguda pode ocasionar osteoporose, acromegalia e esclerose múltipla³¹.

O Zn é um co-fator indispensável presente em mais de 100 enzimas

de mamíferos. Está envolvido nos processos de divisão celular, crescimento, cicatrização, regulação do metabolismo e do sistema imunológico. Elevadas doses de Zn podem causar hiperglicemia, além de afetar o intestino e o fígado³¹.

Dentre as inúmeras funções do Fe no organismo destaca-se a sua participação como um co-fator de inúmeras enzimas do ciclo de Krebs. A deficiência de Fe pode causar um retardamento na síntese de hemoglobina, o que resulta no aparecimento de anemias nutricionais, ou seja, a diminuição da concentração de hemoglobinas é resultado da carência de um ou mais nutrientes essenciais. O excesso de Fe no fígado leva a fibrose e cirrose; na pele a excesso de pigmentação; no pâncreas a diabetes; nas juntas a artrite; e no coração a deficiência cardíaca e arritmias fatais³¹.

Finalmente, o Se é um micronutriente essencial para os organismos vivos, porém quando ingerido em altas quantidades pode produzir efeitos tóxicos^{32,33}. A deficiência desse elemento no organismo está relacionada com o aumento do colesterol no plasma sanguíneo, cardiomiopatia, distrofia muscular, disfunção do cérebro e do fígado e desordens no sistema reprodutor de uma grande variedade de animais, podendo gerar um quadro clínico predominante, como é o caso da doença de Kesham, que atinge mais de 10 milhões de chineses³⁴. Os sintomas de toxicidade são mais raros e dependentes da forma química desse elemento no organismo³⁵. No entanto, quando se manifestam estão relacionados com o aparecimento de artrite crônica, desarranjos gastrointestinais, perdas de cabelo, diabetes, tumores e lesões hepáticas³⁶. A quantidade diária de ingestão recomendada pela OMS (Organização Mundial de Saúde) para mulheres e homens adultos corresponde a aproximadamente 55 e 70 mg, respectivamente.³²

1.4 Influência dos processos de conservação na composição e na distribuição de elementos

A ultrafiltração pode ocasionar, principalmente, a perda de nutrientes, pois dependendo da porosidade do filtro de membrana é possível reter certas espécies em função da massa molecular do composto ao qual ela está associada, Figura 5³⁷.

Porosidade (μm)	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1	10
Massa molecular (kDa)	0,2	10	200		
Partículas Retidas	íons sais	vírus proteínas	bactérias		fungos
Processo de Separação	osmose reversa	nanofiltração	ultrafiltração	microfiltração	filtração

Figura 5 – Retenção de nutrientes em função dos diferentes processos de separação e porosidades dos filtros utilizados

Na Figura 5, nota-se que dependendo da porosidade dos filtros de membrana utilizados executam-se diferentes processos de separação, por exemplo, filtração, microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa. E ainda, perdas de nutrientes podem ocorrer, pois os compostos de massas moleculares maiores podem ficar retidos no filtro de membrana e com eles elementos essenciais presentes no alimento. No processo de ultrafiltração (membranas de 0,01 a 0,1 μm) estudado pela Embrapa, além da retenção de microorganismos (vírus, bactérias e fungos), podem

reter algumas espécies presentes na água de coco, principalmente, proteínas.

No congelamento alterações em alimentos podem ser ocasionadas por fenômenos físicos e químicos. Dentre os fenômenos físicos destacam-se a cristalização da água que pode promover a variação na textura e na biodisponibilidade, além de perdas de nutrientes. A alteração da textura e da biodisponibilidade é resultante do crescimento de cristais que podem levar a ruptura de membranas celulares. Quanto às perdas de nutrientes, pode-se citar o caso da lactose em leite e de açúcares em suco, que se separam durante o congelamento e após o descongelamento continuam separados, levando a alteração da aparência do produto, tornando-o impróprio para a comercialização. Os fenômenos químicos devem-se a desnaturação de proteínas e a oxidação de certos componentes, como por exemplo, o ácido ascórbico^{38,39}. Favell et al.⁴⁰ determinou o conteúdo de vitamina C em vegetais (brócolis, cenoura, espinafre e ervilha) frescos (20 °C), resfriados (4 °C) e congelados (-20 °C). O ácido ascórbico foi extraído com ácido metafosfórico e determinado por titulação com 2,6 diclorofenolindofenol⁴¹. De modo geral, os vegetais frescos e resfriados apresentaram uma diminuição acentuada do teor de vitamina C ao longo dos dias. No entanto, devido ao processo de congelamento os vegetais congelados apresentaram uma diminuição de 25 a 30 % na concentração de vitamina C. Porém, o conteúdo de vitamina C não se alterou ao longo dos dias de estocagem.

A pasteurização não deve alterar a composição química elementar total, a não ser devido a possível introdução de contaminantes durante o processo de pasteurização. Porém, esse procedimento pode alterar a estrutura de macro e micromoléculas contendo íons metálicos, alterando a composição específica dos alimentos e, possivelmente, da água de coco⁷.

Um estudo realizado por Caroli et al.⁴² mostrou o efeito da pasteurização em leites comerciais comparados com leites não processados. Os autores utilizaram cromatografia de permeação (ou

exclusão por tamanho) para a separação de 5 frações distintas contidas nas amostras de leite, no caso caseínas, imunoglobulinas, lactoglobulinas, lactoalbuminas e o soro. Nessas cinco frações foram determinados vários elementos químicos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. O Fe e o Se foram os elementos que sofreram a maior influência no processo de pasteurização, pois as concentrações desses elementos nas frações contendo caseínas, lactoalbuminas e no soro foram bastante alteradas.

Um outro trabalho que mostra o efeito da pasteurização e do congelamento foi executado por Trugo et al.⁴³ em amostras de leite humano. O leite humano foi coletado, congelado e armazenado a -20 °C por 15 dias. Após esse procedimento, o leite foi submetido à pasteurização, 62,5 °C por 30 min, seguido de um rápido resfriamento a 5 °C por 10 minutos. Foram determinados os conteúdos de gorduras, proteínas e lactose além de Ca, P, Fe, Cu e Zn. O Zn foi determinado em diferentes frações do leite: caseína, soro e gorduras. Analisando a porcentagem de Zn, verificou-se que a pasteurização resultou num aumento da concentração de Zn nas frações da gordura e de proteína, e uma diminuição na fração do soro. O aumento na fração gordurosa pode ser explicado pelo efeito do congelamento utilizado na etapa de armazenamento do leite, que promove a ruptura de membranas globulares da fração das gorduras devido ao crescimento de cristais de gelo. Enquanto que, o aumento na fração protéica deve-se ao efeito do aumento da temperatura que provoca a desnaturação de proteínas (caseínas). Em ambos os casos ocorrem a liberação de sítios ativos capazes de interagir com o Zn presente na fração do soro.

Os resultados experimentais apresentados nesses trabalhos evidenciam o fato de que os processos de conservação podem alterar o conteúdo de nutrientes dos alimentos⁴⁴. Os processos térmicos podem provocar mudanças na biodisponibilidade de certos elementos químicos, principalmente daqueles que se encontram na forma de complexos^{10,43}. A

alteração da biodisponibilidade pode fazer com que certos nutrientes sejam mais ou menos absorvidos pelo organismo. Um exemplo que pode ser citado é o caso do oxalato que inibe a absorção de Ca, enquanto a vitamina C aumenta a biodisponibilidade do ferro^{44,45}. O efeito provocado pela excessiva absorção ou excreção de nutrientes pode resultar em complicações que geram distúrbios patológicos graves aos seres humanos^{10,46}. Sendo assim, investigações da influência dos processos de conservação na composição química de alimentos são importantes para avaliar as mudanças provocadas e o grau dessas alterações no sentido de melhorar os processos e oferecer os alimentos nas melhores condições para serem consumidos.

1.5 Algumas técnicas analíticas de separação

Na especiação química de alimentos algumas condições devem ser seguidas para o sucesso do procedimento, principalmente nas etapas de amostragem, pré-tratamento e estocagem das amostras. A amostragem deve ser representativa, isenta de contaminação e deve manter a integridade das espécies químicas de interesse. A estocagem deve ser realizada apenas por um curto período de tempo, tomando-se cuidado com os recipientes e o procedimento de estocagem adotado. Em geral, se a estocagem for em um curto período de tempo, as amostras devem ser armazenadas a 4 °C, caso contrário, recomenda-se o uso de temperaturas negativas^{33,47}. O pré-tratamento envolve a separação das diferentes espécies baseando-se em suas propriedades físicas e químicas, tais como massa molecular, solubilidade, afinidade, carga iônica e hidrofobicidade⁴⁸.

As técnicas de separação comumente utilizadas são extração sólido-líquido e líquido-líquido, nas quais estão inseridas as diferentes cromatografias líquida e gasosa, eletroforese capilar, e a separação gás-líquido, como a geração de hidretos⁴⁹⁻⁵¹. Em geral, esses procedimentos permitem isolar espécies de interesse e identificá-las quali e

quantitativamente. No entanto, outros procedimentos permitem separar as espécies de interesse de acordo com os diferentes grupos a que elas podem estar associadas⁴⁸. Esses procedimentos são denominados de fracionamento, os quais podem ser inseridas a filtração, microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa, extração líquido-líquido, sólido-líquido e líquido-gás^{48,50}. Em todos eles, o princípio fundamental está relacionado à separação de frações de acordo com o tamanho, massa molecular, afinidade, reatividade e solubilidade⁴⁸. Na ultrafiltração o uso de filtros de membrana de diferentes porosidades permite a permeação de compostos de distintas massas moleculares^{48,50}. Uma grande vantagem desse procedimento é a não necessidade de se utilizar solventes que podem alterar a forma química das espécies⁵⁰.

Um exemplo de fracionamento, utilizando filtros de membrana de diferentes porosidades, para a separação de espécies de Ni e Cd em feijão, de acordo com a sua massa molecular, foi mostrado por Lange-Hesse^{52,53}. Os autores utilizaram filtros de membranas capazes de reter espécies de 0,5; 5,0; 30 e 100 kDa. Analisou-se Ni e Cd por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite nos diferentes filtrados. De modo geral, Cd estava presente, principalmente, no filtrado, contendo espécies de Cd com massa moleculares acima de 30 kDa, enquanto que, a maior concentração das espécies de Ni apresentou massa molecular menor que 0,5 kDa.

1.6 Técnicas analíticas para determinação elementar

1.6.1 Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido

O princípio fundamental da espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) baseia-se na produção e detecção de um espectro de linhas emitidas por átomos ou íons, durante o processo de desexcitação radiativa de elétrons que sofreram transições

entre diferentes níveis energéticos⁵⁴. O espectro de emissão é específico para cada elemento. O uso quantitativo dessa técnica está baseado no isolamento e seleção, por meio de um monocromador, de linhas atômicas ou iônicas de interesse com posterior detecção⁵⁴. A intensidade de emissão das linhas selecionadas é diretamente proporcional à concentração do elemento de interesse.

O espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido com configuração axial é muito aplicado na determinação de elementos em alimentos, devido à capacidade de análise multielementar simultânea, amplo intervalo linear e boa sensibilidade analítica^{28,55,56}. Entre as opções instrumentais disponíveis hoje em dia para ICP OES, a configuração axial apresenta alta sensibilidade, baixos sinais de fundo e melhor limite de detecção, quando comparado ao ICP OES com configuração radial^{55,56}.

1.6.2 Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica (AAS) baseia-se na medida da absorção de intensidade de radiação eletromagnética por átomos gasosos no estado fundamental. O elemento de interesse absorve a radiação incidente, proveniente de uma fonte de radiação primária que pode ser uma lâmpada de cátodo oco (HCL) ou uma lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL), num comprimento de onda específico, que é selecionado por um monocromador. Os atomizadores mais freqüentemente utilizados são a chama (FAAS) ou o atomizador eletrotérmico (ETAAS)⁵⁷.

A espectrometria de absorção atômica com atomização com chama (FAAS) e eletrotérmica (ETAAS) é largamente utilizada na determinação de metais, semi-metais e não metais. ETAAS é uma técnica largamente explorada devido à capacidade de determinação de elementos traços e ultratraços em diversos tipos de amostras. A alta especificidade, seletividade e relativa facilidade de operação são algumas características

importantes que ajudam a absorção atômica a manter o seu espaço ao lado de outras técnicas espectroscópicas, como ICP OES e a espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS). A excelente sensibilidade, o baixo limite de detecção, a necessidade de pequenos volumes de amostras e soluções analíticas e, ainda, a possibilidade de pré-tratamento térmico "in situ" durante o ciclo de aquecimento, favorecendo a introdução direta de suspensões e sólidos no interior do tubo de grafite, são algumas vantagens adicionais da ETAAS em relação a essas técnicas espectroanalíticas^{29, 57-60}.

Além disso, é possível acoplar ETAAS a um sistema de geração de hidretos (HG-ETAAS)⁶¹⁻⁶³. A HG-ETAAS é uma das técnicas utilizadas para a determinação total e de espécies de elementos formadores de hidretos, como exemplo, o selênio (Se^{4+}). O fato da formação do hidreto depender do estado de oxidação do elemento torna possível o desenvolvimento de procedimentos analíticos visando especiação química. O hidreto de selênio é seletivamente formado a partir do Se (IV). A especiação de Se^{6+} e Se^{4+} por HG-ETAAS vem sendo bastante explorada na literatura⁶⁴⁻⁶⁶. O fato das espécies inorgânicas serem mais tóxicas do que as espécies orgânicas de selênio e ainda, Se (IV) ser mais tóxico do que Se (VI)^{32,67} faz com que a avaliação dessas espécies seja de fundamental importância. Essa hifenação permite que se tenha limite de detecção relativamente baixo, em torno de ng L^{-1} , uma vez que, existe a separação do elemento de interesse do restante da matriz⁶¹. Adicionalmente, a alta sensibilidade também se deve a possibilidade de pré-concentração do hidreto volátil na superfície do tubo de grafite modificada permanentemente com modificador químico apropriado, como o Ir^{68,69}.

Um modificador químico é um sal inorgânico que, geralmente, é coinjetado, em concentração superior ao do elemento de interesse, no interior do tubo de grafite com a solução analítica de referência ou a amostra. A utilização dessas substâncias muitas vezes é essencial devido à possibilidade de aumentar e de reduzir a estabilidade térmica do

elemento de interesse e dos concomitantes presentes na amostra, respectivamente. A modificação permanente pode ser realizada termicamente ou eletroquimicamente, as vantagens agregadas a esses procedimentos devem-se ao aumento da frequência analítica, melhora do limite de detecção e proteção da superfície pirolítica do tubo de grafite. Na modificação térmica uma alíquota do modificador químico é introduzida no interior do tubo de grafite e submetida a um programa de aquecimento que permita a deposição desse na superfície. A maior vantagem da modificação eletroquímica no trapeamento de compostos voláteis pode estar relacionada ao aumento da área superficial modificada^{68,70}.

Além de selênio, HG ETAAS pode também ser aplicada na determinação de As, Sb, Sn, Bi, Te, Pb, Ge, Cd, In e Tl. Nesta técnica, Se(IV) é seletivamente reduzido ao seu hidreto volátil por NaBH₄ em meio ácido, segundo as reações abaixo⁵⁷,

Finalmente, os vapores gerados quimicamente são conduzidos por um fluxo de gás inerte até a parede do tubo de grafite modificada.

A quantificação de Se(VI) por HG ETAAS é possível desde que seja utilizado uma etapa prévia de redução a Se(IV). Agentes redutores propostos na literatura são TiC₃, KI, tiouréia, HCl, HBr, HCl + KBr⁶⁵. A reação de óxido-redução promovida pelo HCl ou HBr está descrita a seguir:

onde X representa Cl ou Br⁶⁵.

Sherrill e Izard⁷¹ determinaram a constante de equilíbrio da reação de redução ($K = [\text{H}_2\text{SeO}_3] [\text{X}_2] / [\text{H}^+]^3 [\text{HSeO}_4^-] [\text{X}^-]^2$) promovida pelo HCl e pelo HBr, à 25 °C, correspondendo a $7,1 \times 10^{-11}$ e $1,1 \text{ kg}^4\text{mol}^{-4}$, respectivamente. Evidenciando que a reação de redução do Se(VI) a Se(IV) por Br⁻ é mais favorável quando comparada a reação com Cl⁻. Krivan et al⁷² verificaram que na redução com HCl a 25 °C, cerca de 97 %

do selênio permanece na forma de Se(VI), no entanto, a 100 °C, consegue-se 95 % de Se(IV). Atualmente, procedimentos de redução com aquecimento assistido por microondas vêm sendo propostos na literatura^{35,64,66}. Além disso, estudos vêm sendo realizados com intuito de se utilizar sistemas de injeção em fluxo para promover a pré-redução, a geração de hidretos e a pré-concentração na superfície grafítica modificada. Logo, consegue-se obter a automatização do sistema, maior rapidez e menor consumo de reagentes e amostra⁶⁴.

2. OBJETIVO

*"Não existe um problema que não ofereça uma dádiva para você.
Você procura os problemas porque precisa das dádivas por eles oferecidas".*

Richard Bach - Ilusões, As aventuras de um messias indeciso

O objetivo do trabalho é avaliar a influência dos processos de conservação, ultrafiltração, congelamento e pasteurização na concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn presentes na água de coco. A avaliação foi feita por meio da determinação da concentração total desses elementos e nas diferentes frações de filtrado e resíduo, após separações por ultrafiltração com membranas de 0,1 e 0,025 μm .

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

3.1.1 Espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido

As determinações de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn foram executadas por ICP OES com detecção simultânea e configuração axial (Spectro Ciros^{ccd} - Spectro Analytical Instruments). O gás de formação do plasma é o argônio 99,998 % v/v (Oxilúmen), responsável por gerar um plasma estável e quimicamente inerte. Os parâmetros instrumentais aplicados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros instrumentais para determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES

Potência (W)	1400
Nebulizador	Fluxo Cruzado (Spectro)
Câmara de nebulização	Duplo passo tipo Scott
Fluxo de gás externo (L min ⁻¹)	12
Fluxo de gás intermediário (L min ⁻¹)	1,0
Fluxo de gás de nebulização (L min ⁻¹)	1,0
Introdução de amostra (mL min ⁻¹)	1,5
Comprimento de onda (nm)	Ca (I) = 422,673 K (I) = 766,490 Mg (II) = 280,270 Mn (II) = 257,610 Na (I) = 589,592 Zn (I) = 213,856

3.1.2 Espectrômetro de absorção atômica

Para certificação do método utilizado em ICP OES com configuração axial, fez-se a determinação de Ca, Mg, Mn e Zn em espectrômetro de absorção atômica com atomização por chama da ANALYTIKJENA AG (AAS vario 6). As melhores condições para determinação dos elementos foram otimizadas, seguindo recomendações do fabricante, e os parâmetros instrumentais utilizados estão apresentados na Tabela 2. Para todos os elementos a vazão do gás comburente (ar sintético), a velocidade de introdução de amostra e o tempo de integração do sinal analítico corresponderam a 430 L h⁻¹, 5 mL min⁻¹ e 2s, respectivamente. A vazão do gás combustível (C₂H₂) foi estabelecida de acordo com o elemento.

Tabela 2 – Parâmetros instrumentais para as determinações de Ca, Mg, Mn e Zn por FAAS

	λ (nm)	I (mA)	Largura da fenda (nm)	Altura de observação (mm)	Vazão do gás acetileno (L h ⁻¹)
Ca	422,7	4	0,5	5	70
Mg	285,2	4	0,5	5	70
Mn	279,5	4	0,2	6	65
Zn	213,9	4	0,5	5	70

Na determinação de Ca e Mg por FAAS foi adicionada 0,1 % v/v de La³⁺ nas soluções analíticas de referência e nas amostras. O La³⁺ foi utilizado para corrigir possíveis interferências químicas e de ionização⁷³. Para a determinação de Ca e Mg na água de coco foram necessárias diluições de 600 e 30 vezes, respectivamente, tanto para as amostras digeridas como para aquelas não digeridas. Para a determinação dos demais elementos as amostras sofreram diluições de 3 vezes antes da

análise.

Para as determinações de Al, Cu e Fe, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica da ANALYTIKJENA AG (AAS ZEE nit 60), com lâmpada de catodo oco, tubo de grafite com aquecimento transversal e corretor de radiação de fundo baseado no efeito Zeeman variável. Os parâmetros instrumentais utilizados no estudo de temperatura de pirólise e atomização para Al, Cu e Fe estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros instrumentais para as determinações de Al, Cu e Fe por ETAAS

Elemento	λ (nm)	I (mA)	Fenda (nm)
Al	309,3	4	0,5
Cu	324,8	4	0,8
Fe	248,3	4	0,8

3.1.3 Fotômetro de chama

Para a certificação do método de determinação de Na e K por ICP OES com configuração axial, esses elementos também foram determinados por fotometria de chama, utilizando um fotômetro de chama DIGIMED (modelo DM-61). Foram feitas as medidas da intensidade de emissão do Na em 589 nm e do K em 766 nm.

O gás combustível utilizado foi o GLP (gás liquefeito de petróleo) e ar sintético o gás comburente, cuja vazão corresponde a 9 L min⁻¹. E a velocidade de introdução de amostra foi de 5 mL min⁻¹.

Para a determinação de Na as amostras foram diluídas 30 vezes, enquanto que, para K, foram diluídas de 600 vezes.

3.1.4 Pasteurização da água de coco

As pasteurizações foram executadas em um trocador de calor tipo placas (Armfield FT43-A). Com esse trocador é possível um controle mais rigoroso das condições de processamento, tempo e temperatura.

As pasteurizações foram feitas em uma mistura de água de coco (n = 90 cocos) com temperatura de 90 °C e diferentes tempos de retenção (180, 190 e 300 s).

3.1.5 Congelamento da água de coco

As amostras de água de coco não processada (mistura de 3 cocos) foram submetidas a -30 °C em um freezer vertical (FANEM, modelo 349-FV/3). As determinações da concentração total e nas diferentes frações dos elementos de interesse foram realizadas em água de coco congelada por 0, 30 e 120 dias.

3.1.6 Forno com aquecimento assistido por microondas focalizadas

A digestão das amostras de água de coco e das membranas utilizadas na ultrafiltração foram executadas com um forno de microondas focalizadas da CEM (Star System 2). Esse forno de microondas focalizadas possui duas cavidades digestoras que utiliza frascos de digestão de quartzo e opera à pressão ambiente, sendo possível o controle do tempo e da temperatura.

Para a pré-redução do Se^{6+} a Se^{4+} utilizou-se um forno de microondas focalizadas da SPEX (Rapid Digestion System), com potência nominal de 300 W, constituído por uma cavidade para introdução de um tubo digestor.

3.1.7 Sistema de filtração a vácuo

A ultrafiltração com filtro de membrana de éster de celulose de 0,10 μm de porosidade (Milli-pore) foi executada em um sistema de filtração a vácuo da Milli-pore, Figura 6. O funil e o adaptador são de vidro, sendo necessária a descontaminação em 10 % v/v HNO_3 por pelo menos 24 horas, evitando assim contaminação, pois em água de coco alguns elementos a serem determinados encontram-se em concentrações traço. O frasco de coleta de vidro não precisou ser descontaminado previamente, pois foi adaptado no interior desse, tubos de ensaio apropriados para a coleta de 20 mL de água de coco. Esses tubos de ensaio foram descontaminados em 10 % v/v HNO_3 .

Figura 6 – Sistema de ultrafiltração a vácuo

3.1.8 Sistema de filtração por pressão

Para a ultrafiltração com filtros de membranas de éster de celulose de porosidade de $0,025\mu\text{m}$ (Milli-pore) foi utilizado um aparato de polipropileno, Figura 7. Nesse sistema, a ultrafiltração da amostra é realizada através da pressão exercida pela seringa. A descontaminação desse aparato foi executada utilizando ácido nítrico 10 % v/v e deixando em água desionizada por 24 horas.

Figura 7 – Sistema de ultrafiltração por pressão

3.2 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas empregando-se água destilada e desionizada em sistemas de ultrapurificação Milli Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA), permitindo obter água com elevado grau de pureza ($18,2\text{ M}\Omega\text{ cm}$). O ácido nítrico (Merck, Darmstadt, Alemanha) utilizado na preparação das soluções analíticas de referência e no processo de preparo de amostras foi purificado em subdestiladores de quartzo (Marconi, Piracicaba, SP).

Soluções estoques contendo 1000 mg L^{-1} de alumínio (AlCl_3), cálcio (CaCl_2), cobre (CuCl_2), ferro (FeCl_3), lantânio (LaCl_3), magnésio (MgCl_2), manganês (MnCl_2), potássio (KCl), sódio (NaCl), selenato (Na_2SeO_4),

selenito (Na_2SeO_3) e zinco (ZnCl_2) foram preparadas, seguindo recomendações do fabricante, a partir de soluções Tritisol (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Soluções analíticas de referência foram preparadas a partir de diluições sucessivas das soluções estoque, em meio de 0,1% v/v de HNO_3 e para Se, em HG-ETAAS, meio de 10 % v/v de HCl:

- ❖ Soluções contendo Al, Cu, Fe e Se para ETAAS:
 - 12,5; 25; 37,5; 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Al;
 - 2,5; 5,0; 7,5; 10; 50; 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu;
 - 10, 20, 30, 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Fe;
 - 5,0; 10; 20; 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se.
- ❖ Soluções contendo Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn para ICP OES:
 - 5, 10, 30 e 50 mg L^{-1} de Ca e Mg;
 - 10, 50, 100 e 200 mg L^{-1} de K e Na;
 - 0,1; 0,5; 1 e 4 mg L^{-1} de Mn e Zn.
- ❖ Soluções contendo Ca, Mg, Mn e Zn para FAAS:
 - 0,25; 0,50; 0,75; 1,0 mg L^{-1} de Ca e Mn;
 - 0,15; 0,20; 0,35; 0,50 mg L^{-1} de Zn;
 - 1,25; 2,5; 3,75; 5,0 mg L^{-1} de Mg.
- ❖ Soluções contendo K e Na para fotometria de chama:
 - 2, 4, 6, 8 e 10 mg L^{-1} de K e Na.
- ❖ Soluções contendo Se^{4+} para a HG ETAAS:
 - 0,5; 1,0; 2,5; 7,5; 15; 22,5 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se.
- ❖ Soluções contendo Se^{6+} para pré-redução:
 - 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se.

Em todos os casos, as soluções de 0,1 % v/v de HNO_3 ou de 10 % v/v HCl foram utilizadas como branco. Para Al e Cu as soluções também continham 0,1% m/v de Triton X-100 da Merck (Darmstadt, Alemanha).

No procedimento de preparo de amostra foi utilizado H_2O_2 da Merck (Darmstadt, Alemanha). No procedimento de pré-redução do Se^{6+} a Se^{4+} foi utilizado KBr e ácido clorídrico, ambos da Merck (Darmstadt,

Alemanha). Solução de Na_2IrCl_6 da Merck (Darmstadt, Alemanha) foi utilizada para a modificação térmica permanente do tubo de grafite para a posterior pré-concentração do hidreto volátil. A formação do hidreto foi promovida pela mistura redutora contendo Na_2BH_4 e NaOH , ambas soluções da Merck (Darmstadt, Alemanha).

Na determinação de Se total em água de coco foi utilizado 20 μg Pd + 10 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ da Merck (Darmstadt, Alemanha) como modificador químico.

3.3 Amostras de água de coco

A amostra de água de coco não processada analisada foi produto da mistura de 90 cocos distintos, essa mesma mistura sofreu pasteurização contínua em um trocador de calor tipos placas, em três diferentes binômios, temperatura e tempo, anteriormente citados (item 3.1.4).

Para avaliar a concentração de alguns elementos em água de coco disponível no mercado, cinco diferentes marcas foram adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo. Para cada marca foram compradas 5 amostras. Nessas amostras determinou-se a concentração total de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn.

3.4 Procedimento

3.4.1 Digestão total

Para a determinação de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco foram utilizados dois procedimentos para o preparo de amostras, um envolveu a digestão ácida em forno de microondas focalizadas, o programa de aquecimento está mostrado na Tabela 4, e o outro apenas a diluição de 3x para 0,1 % v/v HNO_3 .

Tabela 4 – Programa de aquecimento para digestão total da água de coco

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
5 mL de água de coco	Rampa = 5	100
+ 2,5 mL de HNO ₃ (conc)	Patamar = 2	
1 mL de H ₂ O ₂	Rampa = 3	105
	Patamar = 1	
Volume final = 15mL		

Tanto para as amostras digeridas como para as diluídas fez-se uma avaliação de interferências realizando o teste de adição e recuperação dos elementos de interesse. Nesses casos, adicionaram-se alíquotas apropriadas das soluções analíticas de referência dos elementos (0,1 mg L⁻¹ de Fe e Zn; 1 mg L⁻¹ de Mn, 200 mg L⁻¹ de K; e 10 mg L⁻¹ de Ca, Mg e Na) após a digestão ácida e a diluição.

3.4.2 Ultrafiltração

Para a ultrafiltração com filtros de membrana de 0,10 e 0,025 µm filtrou-se 20 e 5 mL de água de coco, respectivamente. Os elementos no filtrado foram determinados diretamente, sendo necessário apenas diluições apropriadas dependendo do elemento, enquanto que, o resíduo e o filtro de membrana foram submetidos à digestão ácida em forno de microondas focalizadas. O branco do filtrado foi obtido pela filtração de 20 ou 5 mL de água desionizada, enquanto que, o branco do resíduo consistiu do digerido do filtro de membrana, usando o programa descrito na Tabela 5.

Tabela 5 – Programa de aquecimento para digestão da membrana com e sem os resíduos da água de coco.

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
resíduo + filtro de membrana	Rampa = 5	100
+ 5 mL de HNO ₃ (conc)	Patamar = 2	
2 mL de H ₂ O ₂	Rampa = 5	105
	Patamar = 1	
Volume final = 20mL		

3.4.3 Procedimento analítico para determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES

A escolha do melhor comprimento de onda para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn no ICP OES foi realizada fazendo-se varreduras das amostras digeridas e diluídas (3x) para 0,1 % v/v HNO₃. Compararam-se as varreduras nos diversos comprimentos de onda das amostras com as varreduras obtidas com as soluções analíticas de referência (150 mg L⁻¹ de Ca²⁺ e K⁺; 40 mg L⁻¹ de Na⁺ e Mg²⁺; 1,0 mg L⁻¹ de Mn²⁺ e 0,35 mg L⁻¹ de Zn²⁺). Os melhores comprimentos de onda foram escolhidos considerando a maior razão sinal/ruído e o menor sinal de fundo.

3.4.4 Procedimento analítico para determinação de Al, Cu e Fe por ETAAS.

Para a determinação de Al e Cu, as amostras de água de coco natural foram minimamente diluídas para 0,1 % v/v de HNO₃ e 0,1 % m/v de Triton X-100. A diluição da amostra foi realizada no próprio copinho do autoamostrador (volume total = 1500 µL), adicionando-se 1250 µL de água de coco + 250 µL do diluente. Com intuito de verificar possíveis

interferências, curvas analíticas em meio aquoso ou em meio da amostra foram preparadas adicionando-se 250 μL de soluções contendo de 75 a 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Al^{3+} e de 6 a 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} em 0,6 % m/v de Triton X-100 e 0,6 % v/v de HNO_3 a 1250 μL de água destilada ou água de coco, respectivamente. A medida desses volumes e a homogeneização da amostra no interior do copinho do autoamostrador foram realizadas utilizando uma micropipeta Eppendorf (Brinkmann Instruments, Wetsbury, USA).

Além do uso de Triton X-100, a água de coco natural foi submetida a um tratamento no interior do tubo de grafite, durante o programa de aquecimento, com uma mistura oxidante contendo 15 % v/v H_2O_2 e 1 % v/v HNO_3 . Para isso, uma alíquota de 15 μL da amostra ou solução analítica de referência foi coinjetada com 10 μL da mistura oxidante no interior do tubo de grafite.

Para avaliar a eficiência do método, concentrações conhecidas de Al^{3+} (15 $\mu\text{g L}^{-1}$) e de Cu^{2+} (1 $\mu\text{g L}^{-1}$) foram adicionadas às amostras diluídas.

No estudo do comportamento térmico, para Al e Cu, obteve-se curvas de temperatura de pirólise e atomização, na ausência de modificadores químicos, para solução analítica de referência de Al (50 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Cu (10 $\mu\text{g L}^{-1}$) em 0,1 % v/v HNO_3 , solução analítica de referência de Al (50 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Cu (10 $\mu\text{g L}^{-1}$) em 0,1 % v/v HNO_3 + 0,1 % m/v Triton X-100 e para amostra de água de coco natural contendo 0,1 % v/v HNO_3 + 0,1 % m/v Triton X-100.

O programa de aquecimento utilizado nesse estudo está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Al e Cu

Etapa	T (°C)	Rampa (°C s⁻¹)	Patamar (s)	Leitura
Secagem	130	5	20	Não
Pirólise I	400	20	t ¹	Não
Pirólise II	Tp ³	100	10	Não
AZ ²	Tp ³	0	6	Não
Atomização	Ta ⁴	Ta ⁴	5	Sim
Limpeza	2600	1200	2	Não

1 Tempo de patamar

2 Auto zero

3 Temperatura de pirólise

4 Temperatura de atomização

Para Cu, além da avaliação das temperaturas de pirólise e atomização, estudou-se, através dos sinais da radiação de fundo, o tempo necessário para a pirólise I. No caso do Al, não houve a necessidade de estudar esse parâmetro, pois na determinação desse elemento obteve-se baixos sinais da radiação de fundo, considerando 10 s de patamar.

As curvas de temperatura de pirólise para Al foram obtidas mantendo a temperatura de atomização constante (2500 °C) e variando a temperatura de pirólise de 1200 a 1800 °C, com incremento de 100 °C. Posteriormente a esse estudo, fixou-se a temperatura de pirólise mais adequada e obtiveram-se as curvas de temperatura de atomização para esses elementos, variando a temperatura de atomização de 2200 a 2500 °C com incremento de 100 °C.

As curvas de temperatura de pirólise para Cu foram obtidas mantendo a temperatura de atomização constante (2400 °C) e variando a temperatura de pirólise de 800 a 1800 °C, para a solução analítica de referência na ausência do Triton X-100, e de 800 a 1400 °C, na presença

de Triton X-100, ambos com incremento de 100 °C. Posteriormente a esse estudo, fixou-se a temperatura de pirólise mais adequada e obtiveram-se as curvas de temperatura de atomização para esse elemento, variando a temperatura de atomização de 1800 a 2500 °C com incremento de 100 °C.

A determinação de Fe em água de coco natural foi realizada nas amostras diluídas. Devido à concentração de ferro nas amostras e a sensibilidade do ETAAS, todas as amostras foram diluídas de 15 vezes para 0,1 % v/v HNO₃. Realizaram-se testes de adição (20 µg L⁻¹) e recuperação do elemento.

Curvas de temperaturas de pirólise e de atomização para Fe foram obtidas utilizando solução analítica de referência de 10 µg L⁻¹ de Fe²⁺ em 0,1% v/v HNO₃ e para a amostra de água de coco natural diluída 15 vezes, na ausência de modificador químico. Neste estudo, introduziu-se, no interior do tubo de grafite, uma alíquota de 10 µL da solução analítica. O programa de aquecimento utilizado neste procedimento está apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização para Fe

Etapas	T (°C)	Rampa (°C s⁻¹)	Patamar (s)	Leitura
Secagem I	110	8	15	Não
Secagem II	130	10	10	Não
Pirólise	Tp ¹	100	10	Não
AZ ²	Tp ¹	0	6	Não
Atomização	Ta ³	Ta ³	5	Sim
Limpeza	2500	200	2	Não

¹ Temperatura de pirólise

² Auto zero

³ Temperatura de atomização

As curvas de temperatura de pirólise para Fe foram obtidas mantendo-se a temperatura de atomização constante (2300 °C) e variando-se a temperatura de pirólise de 800 a 1500 °C, com incremento de 100 °C. Posteriormente a esse estudo, fixou-se a temperatura de pirólise mais adequada em cada caso e obtiveram-se as curvas de temperatura de atomização, variando-se a temperatura de atomização de 1800 a 2500 °C, com incremento de 100 °C.

3.4.5 Procedimento analítico para especiação de Se^{4+} e Se^{6+} por HG ETAAS.

3.4.5.1 Determinação de Se total por ETAAS.

Para a determinação de Se foi utilizado procedimento proposto na literatura por Correia et al.⁷⁴. As amostras de água de coco natural foram pouco diluídas para 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v de Triton X-100. A diluição da amostra foi realizada no próprio copinho do autoamostrador (volume total = 1200 μL), adicionando-se 900 μL de água de coco + 300 μL do diluente, 0,4 % v/v de Triton X-100 + 0,4 % v/v de HNO_3 . As curvas analíticas em meio aquoso ou em meio da amostra foram preparadas adicionando-se 300 μL de soluções contendo de 20 a 160 $\mu g L^{-1}$ de Se^{4+} em 0,4 % m/v de Triton X-100 e 0,4 % v/v de HNO_3 a 900 μL de água destilada ou água de coco, respectivamente.

Além do uso de Triton X-100, a água de coco natural foi submetida a um tratamento no interior do tubo de grafite, durante o programa de aquecimento, utilizando uma mistura oxidante contendo 15 % v/v H_2O_2 e 1 % v/v HNO_3 . Para isso, uma alíquota de 15 μL da amostra ou solução analítica de referência foi coinjetada com 10 μL da mistura oxidante e 10 μL de modificador químico (20 μg Pd + 10 μg Mg (NO_3)₂) no interior do tubo de grafite.

Para a verificação de possíveis interferências químicas foi realizado teste de adição e recuperação de $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Se}^{4+}$.

No estudo do comportamento térmico de Se obteve-se curvas de temperaturas de pirólise e atomização para solução analítica de referência de Se^{4+} ($40 \mu\text{g L}^{-1}$) em 0,1 % v/v HNO_3 + 0,1 % m/v Triton X-100 e para amostra de água de coco natural + $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} em 0,1 % v/v HNO_3 + 0,1 % m/v Triton X-100.

O programa de aquecimento utilizado nesse estudo está apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 – Programa de aquecimento utilizado para obtenção das curvas de temperaturas de pirólise e de atomização para Se

Etapa	T (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Patamar (s)	Leitura
Secagem I	100	10	10	Não
Secagem II	130	10	5	Não
Pirólise I	400	10	10	Não
Pirólise II	Tp ²	100	10	Não
AZ ¹	Tp ²	0	6	Não
Atomização	Ta ³	Ta ³	5	Sim
Limpeza	2500	1200	2	Não

¹ Auto zero

² Temperatura de pirólise

³ Temperatura de atomização

As curvas de temperatura de pirólise para Se foram obtidas mantendo a temperatura de atomização constante (2300 °C) e variando a temperatura de pirólise de 1000 a 1600 °C, com incremento de 200 °C. Posteriormente a esse estudo, fixou-se a temperatura de pirólise mais adequada e obtiveram-se as curvas de temperatura de atomização para esses elementos, variando a temperatura de atomização de 2000 a 2400

°C com incremento de 100 °C.

3.4.5.2 Modificação permanente do tubo de grafite com Ir

Para a pré-concentração do hidreto de selênio na superfície do tubo de grafite realizou-se a modificação térmica permanente com solução de 1000 mg L⁻¹ de Ir em 0,1 % v/v HNO₃. Para isso, introduziu-se uma alíquota de 40 µL do modificador químico e submeteu-se ao programa de aquecimento descrito na Tabela 9.

Tabela 9 – Programa de aquecimento utilizado para modificação térmica do tubo de grafite com Ir

Etapas	T (°C)	Rampa (°C s⁻¹)	Patamar (s)
Secagem I	100	20	40
Secagem II	130	54	50
Pirólise	1200	40	30
AZ ¹	1200	0	6
Atomização	2000	2000	5

¹ Auto zero

Esse procedimento foi realizado três vezes, de tal forma que a massa do modificador no interior do tubo de grafite correspondia a 120 µg. Essa modificação permanente, proposta por Naozuka et al.⁶⁸, foi eficiente para o trapeamento e posterior pré-concentração do hidreto.

3.4.5.3 Sistema de geração de hidretos

O sistema de geração de hidretos (Figura 8) utilizado foi baseado no sistema proposto por Moreno et al.^{70,75} e Flores et al.⁷⁶. Um volume de 1,0

mL de solução analítica de referência ou amostra com e sem adição de solução analítica de referência em 10 % v/v HCl reagiu com 1,0 mL de 6,0 g L⁻¹ de Na₂BH₄ em 5,0 g L⁻¹ de NaOH. Para isso, utilizou-se um sistema em fluxo com vazão de 0,6 mL min⁻¹. O hidreto volátil foi transportado do recipiente reator/separador gás-líquido por um gás inerte, argônio, numa vazão de 300 mL min⁻¹ até a superfície do tubo de grafite modificada com Ir. O tempo de pré-concentração foi de 60 s.

Figura 8 – Diagrama do sistema de geração de hidreto acoplado ao ETAAS: (GT) tubo de grafite; (GLS) separador gás-líquido; (Ar) fluxo de argônio; (T) confluência; (C) carregador; (S) amostra; (Ls) alça de amostra; (Lr) alça de reagente.

As curvas analíticas em meio aquoso ou em meio da amostra foram preparadas a partir de diluições adequadas da solução estoque de 100 µg L⁻¹ de Se⁴⁺ para 10 % v/v HCl. Para a calibração em meio da amostra foi utilizado um volume de 4200 µL da amostra de água de coco natural.

3.4.5.4 Pré-redução de Se^{6+} a Se^{4+} em forno de microondas

Para a pré-redução do Se^{6+} a Se^{4+} utilizou-se 2 mol L⁻¹ de HCl + 1 mol L⁻¹ de KBr como mistura redutora e aquecimento assistido por microondas focalizadas em microfrasco. O sistema de microfrascos adaptados a forno de microondas focalizadas foi proposto por Shan et al.⁷⁷ para a dissolução de material biológico. Para tanto, utilizou-se microfrasco de polipropileno de 2,0 mL de volume. No interior desses foram adicionados 600 µL de solução analítica de referência (1 µg L⁻¹ Se^{4+} , 1 µg L⁻¹ Se^{6+} ou 1 µg L⁻¹ Se^{4+} + 1 µg L⁻¹ Se^{6+}) ou de amostra com e sem adição das soluções de Se^{4+} e Se^{6+} . A esse volume inicial foram adicionados 400 µL da mistura redutora contendo 5 mol L⁻¹ de HCl + 2,5 mol L⁻¹ de KBr.

A solução final foi submetida ao aquecimento por microondas focalizadas. Os microfrascos não foram totalmente vedados a fim de evitar o aumento de pressão no interior dos mesmos. O programa de aquecimento foi otimizado variando-se o tempo de incidência de radiação, com potência de 30 W. A incidência direta de radiação em tempos superiores a 1 minuto promovia o vazamento da solução, devido a intensa formação de gases. A otimização do programa de aquecimento foi feita intercalando-se intervalos com e sem incidência de microondas (30 W), e avaliando os sinais de absorbância de Se^{4+} , Se^{6+} e da mistura Se^{4+} e Se^{6+} .

Após essa otimização, submeteu-se a amostra, em triplicata, com e sem adição das soluções de 1 µg L⁻¹ Se^{4+} , 1 µg L⁻¹ Se^{6+} e 1 µg L⁻¹ Se^{4+} + 1 µg L⁻¹ Se^{6+} ao programa de aquecimento e comparou-se os sinais analíticos na presença e ausência de amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

"Nunca lhe dão um desejo sem também lhe darem o poder de realizá-lo.

Você por ter de trabalhar por ele".

Richard Bach - Ilusões, As aventuras de um messias indeciso.

4.1 Desenvolvimento dos métodos analíticos

4.1.1 Determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES

A técnica de ICP OES se caracteriza por apresentar um baixo nível de interferências químicas e de ionização. Porém, devido ao grande número de linhas espectrais e à radiação de fundo, interferências espectrais são bastante comuns. As principais interferências se classificam em: sobreposição total de linhas de emissão, sobreposição parcial de linhas de emissão, radiação de fundo e radiação difusa⁵⁴.

Em princípio, procurou-se desenvolver um método em que a água de coco fosse simplesmente diluída em meio ácido e introduzida no ICP OES. Porém, para avaliar os possíveis efeitos provocados pela matriz, digestões ácidas foram feitas em paralelo às diluições e os elementos de interesse determinados nessas soluções.

Para selecionar o melhor comprimento de onda para as determinações dos elementos de interesse foram feitas varreduras dos comprimentos de onda das soluções analíticas de referência, água de coco diluída e digerida. Esses gráficos estão apresentadas na Figura 9.

Comparando-se os perfis dos sinais de emissão de Ca, K, Mg, Na e Zn nota-se que não existem interferências espectrais nos comprimentos de onda selecionados (Tabela 1). No entanto, para K, Mn e Zn foi observado um aumento da radiação de fundo, quando se comparam os perfis dos sinais de emissão na presença da solução analítica de referência com aqueles obtidos na presença das amostras digerida e diluída. Devido

a essa pequena distorção observada, a correção do sinal de fundo para K, Mn e Zn foi feita utilizando os recursos disponíveis no espectrômetro.

Figura 9 – Varreduras de comprimento de onda para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn, das soluções analíticas de referência (—), da água de coco digerida (—) e água de coco diluída (3x) (—).

Além das varreduras para investigar possíveis interferências e avaliar a possibilidade de se realizar a determinação com a amostra apenas diluída, fez-se testes de adição e recuperação dos elementos de interesse em água de coco digerida e diluída (3x) para 0,1 % v/v HNO₃ (Tabela 10).

Tabela 10 – Teste de adição e recuperação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em ICP OES

	Adição (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	
		Digerida	Diluída
Ca	20	100	91
K	200	89	93
Mg	20	93	99
Mn	1	106	110
Na	20	159	166
Zn	0,1	106	107

Nota-se que, para a maioria dos elementos de interesse, bons resultados de recuperação foram obtidos tanto para a amostra digerida como para a diluída, indicando a possibilidade de determinação dos elementos de interesse em água de coco apenas diluída. No entanto, nas duas situações testadas as recuperações para Na ficaram acima do esperado.

A hipótese geralmente difundida é que equipamentos com visão axial (tocha de quartzo posicionada horizontalmente) se caracterizam por possibilitarem medidas com maior sensibilidade, porém, com maior incidência de interferências espectrais quando comparado aos equipamentos com visão radial (tocha de quartzo posicionada verticalmente). Isso se deve a maior quantidade de radiação incidente que penetra no sistema óptico e a existência de uma zona fria no plasma que

gera processos de recombinação e reabsorção⁵⁴. No caso do Na, essa hipótese pode ser aplicada, o quê justificaria as elevadas recuperações.

Posteriormente, fez-se a determinação de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES com configuração axial em água de coco digerida e diluída para a validação do método. Adicionalmente, os elementos Ca, Mg, Mn e Zn foram determinados por FAAS e Na e K por fotometria de chama (Tabela 11).

Tabela 11 – Concentração de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco digerida e diluída (3x) para 0,1 % v/v HNO₃.

Concentração (mg L ⁻¹) ± desvio padrão (n=3)				
	ICP OES		FAAS	Fotometria
	(Digerida)	(Diluída)	(Diluída)	(Diluída)
Ca	202 ± 6	217 ± 2	218 ± 7	-
K	971 ± 22	1153 ± 16	-	1364 ± 168
Mg	62 ± 1	65 ± 1	61 ± 2	-
Mn	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1	-
Na	74 ± 1	76 ± 1	-	71 ± 12
Zn	0,36 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,04	-

Avaliando os resultados obtidos para os procedimentos de preparo de amostra (2ª e 3ª colunas da tabela), concluiu-se que eles concordaram em 95 % do limite de confiança, quando aplicado o teste T pareado, evidenciando a possibilidade de determinação desses elementos em água de coco apenas diluída.

Da mesma maneira, comparando-se as concentrações dos elementos de interesse em água de coco diluída com os valores encontrados por outras técnicas analíticas, no caso FAAS e fotometria de chama, pode-se observar que, aplicando o teste T pareado e considerando o limite de confiança de 95 %, os resultados concordaram entre si. Esses

resultados confirmam a hipótese levantada com as varreduras inicialmente feitas, pois, a princípio, verificou-se que nos melhores comprimentos de onda os elementos de interesse não sofrem interferências espectrais.

Os limites de detecção e quantificação para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em ICP OES estão apresentados na Tabela 12. O limite de detecção foi calculado como sendo 3 vezes o desvio padrão do branco da amostra diluída (0,1% v/v HNO₃) e o de quantificação como sendo 10 vezes o desvio padrão dessa mesma solução. Para todas as amostras, as concentrações dos elementos de interesse estavam acima dos limites de quantificação estabelecidos.

Tabela 12 – Limite de detecção e quantificação para Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn em ICP OES

	limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	limite de quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ca	2	7
K	14	48
Mg	1	4
Mn	0,4	1
Na	17	58
Zn	6	20

4.1.2 Determinação de Al, Cu e Fe por ETAAS

Na determinação de Al e Cu por ETAAS o uso de Triton X-100 promoveu a minimização de erros de amostragem, pois o mesmo é um surfactante não iônico que facilitou a homogeneização da amostra^{78,79} e a

introdução da solução no tubo de grafite. Na ausência de Triton X-100, após sucessivas injeções de amostras de água de coco pouco diluídas, os compostos orgânicos presentes ficavam adsorvidos ao capilar de polipropileno, prejudicando a repetibilidade das medidas analíticas. Esse surfactante (0,1% m/v) também foi adicionado ao frasco de lavagem para melhorar a eficiência de limpeza, e minimizar ainda mais os erros de amostragem.

Após sucessivas amostragens de água de coco pouco diluída no tubo de grafite, observou-se a formação de uma intensa quantidade de resíduos carbonáceos na superfície da plataforma, prejudicando a repetibilidade devido à oclusão dos analitos e bloqueio da radiação incidente. Para contornar esse problema uma mistura oxidante contendo 15 % v/v H_2O_2 e 1 % v/v HNO_3 foi coinjetada no tubo de grafite juntamente com as soluções analíticas de referência e amostras. Essa mistura oxidante foi anteriormente proposta por outros autores na determinação de elementos de interesse em leite⁸⁰ e materiais biológicos^{74,81-83}. A mistura oxidante atua na decomposição da matéria orgânica durante as etapas de secagem (130 °C) e pirólise I (400 °C). Com essa estratégia foi possível minimizar a formação de resíduos carbonáceos e aumentar a vida útil do tubo de grafite em mais de 10 vezes (aproximadamente 250 queimas).

As curvas de temperatura de pirólise e atomização para Al estão apresentadas na Figura 10. Uma alíquota (15 μL) da solução analítica de referência ou da amostra foi coinjetada com 10 μL da mistura oxidante.

Figura 10 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (---) para Al: (▲) $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Al^{3+} em 0,1 % v/v de HNO_3 ; (■) $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Al^{3+} em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

Os gráficos apresentados na Figura 10 indicam que a presença de Triton X-100 diminuiu os sinais de absorbância de Al. No entanto, a presença desse surfactante promoveu uma maior estabilização térmica do elemento tanto na ausência como na presença da amostra. As perdas de Al por volatilização, na ausência de Triton X-100, ocorreram em 1300°C , enquanto que com o surfactante, na presença e ausência da amostra ocorreu em 1800°C . A presença de Triton X-100 permitiu a formação de uma espécie de Al mais estável termicamente, provavelmente carbeto de alumínio⁵⁷, atuando como um modificador químico. Devido a essa elevada estabilidade térmica do Al, optou-se em não utilizar modificador químico.

As temperaturas de pirólise e a de atomização adequadas corresponderam a 1700°C e 2400°C , respectivamente. Na melhor condição

otimizada do programa de aquecimento, o tempo de pirólise I foi de 10 s, resultando em um baixo sinal de radiação de fundo (0,008).

Para avaliar possíveis interferências na determinação de Al, obtiveram-se curvas analíticas de calibração em meio aquoso e em meio da amostra de água de coco (Figura 11).

Figura 11 – Curvas analíticas de calibração de Al: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO_3 e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

As curvas analíticas não apresentaram uma boa concordância, o coeficiente angular em meio aquoso foi $0,00225 \pm 0,00001$ ($R^2 = 0,99408$) e em meio da amostra $0,00252 \pm 0,00003$ ($R^2 = 0,99901$). A razão entre os coeficientes angulares foi de 0,89.

Dispondo-se das equações das curvas obtiveram-se os resultados das concentrações de Al na água de coco ($n = 3$) na ausência e na presença da adição de $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de Al^{3+} . Os resultados das concentrações e das recuperações estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Concentração de Al em água de coco natural e teste de adição e recuperação

	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Curva analítica em meio aquoso	30 ± 2	116
Curva analítica em meio da amostra	27 ± 2	104

Apesar do teste T pareado ter indicado uma concordância de 95 % de limite de confiança entre os resultados, para a determinação de Al em água de coco recomenda-se a utilização de uma curva analítica em meio da amostra. A baixa concentração de Al na amostra não permitiu a determinação desse elemento por FAAS ou ICP OES, por esse motivo apenas o teste de adição foi utilizado para avaliar o método.

As curvas de temperaturas de pirólise e atomização para Cu estão apresentadas na Figura 12. Comparando-se os perfis das curvas de temperatura de pirólise da solução analítica sem e com Triton X-100, nota-se, primeiramente, a diminuição do sinal analítico com a adição desse surfactante. A presença de Triton X-100 promoveu perdas de Cu, por volatilização, a partir de 1300 °C, enquanto que na ausência do surfactante a perda ocorre somente em 1400 °C. Diferentemente do que ocorreu com o Al, o Triton X-100 não aumentou a estabilidade térmica do Cu. Neste caso, a adição do surfactante promoveu a desestabilização térmica do Cu, diminuindo a sua temperatura de pirólise em comparação com a solução aquosa. Nesse caso, é provável que ocorra a formação de espécies voláteis entre as espécies de cobre e os produtos da decomposição do Triton X-100. Mesmo assim, para a determinação de Cu, não houve a necessidade de se utilizar modificador químico, uma vez que, obteve-se alta temperatura de pirólise. Portanto, considerando as curvas de pirólise e atomização, as melhores temperaturas adotadas foram de 1200 °C e 2300 °C, respectivamente.

Figura 12 – Curvas temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Cu: (▲) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} em 0,1 % v/v de HNO_3 ; (■) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

Além da otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Cu, otimizou-se também o tempo de pirólise I, pois os sinais de radiação de fundo, para tempos inferiores a 10 s, apresentavam-se elevados ($\sim 0,35$). Os elevados valores de radiação de fundo podem ser oriundos de espécies geradas a partir de concomitantes orgânicos, os quais não foram convenientemente eliminados na etapa de pirólise I. Para tanto, foram avaliados os sinais de radiação de fundo conforme o aumento do tempo de pirólise I e os resultados estão mostrados na Figura 13.

Figura 13 – Estudo do tempo de pirólise I (400 °C) para o programa de aquecimento de Cu.

Com esse estudo verificou-se que o sinal de fundo foi diminuído de 0,1 unidade de absorbância, quando o tempo de pirólise I foi superior a 10 s (Figura 13), permanecendo constante em tempos superiores a 10 s. Sendo assim, adotou-se 10 s como sendo a melhor condição para o programa de aquecimento.

Após a otimização do programa de aquecimento, estudou-se a calibração do espectrômetro com solução analítica de referência e em meio da amostra (Figura 14).

Os coeficientes angulares de ambas as curvas foram equivalentes a 0,00337 e os coeficientes de correlação foram 0,9973 e 0,9989 para a curva analítica de referência em solução aquosa e em meio da amostra, respectivamente. Para Cu, nota-se que a determinação direta desse elemento em água de coco pode ser efetuada mediante curva de calibração aquosa.

Figura 14 – Curvas analíticas de calibração de Cu: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO_3 e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

Os resultados de concentração de Cu em água de coco natural ($n = 3$) e com adição de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} estão mostrados na Tabela 14. O ótimo resultado de recuperação evidencia a inexistência de interferências e a possibilidade de determinação de Cu em amostras de água de coco apenas diluída.

Tabela 14 – Concentração de Cu em água de coco e resultados de recuperação

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
$3,1 \pm 0,5$	100

O estudo do comportamento térmico do Fe foi realizado através de curvas de temperaturas de pirólise e atomização (Figura 15) em solução analítica de referência de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ em 0,1 % v/v HNO_3 e em água de coco diluída (15x) para 0,1 % v/v HNO_3 . Devido à elevada diluição da amostra, para a determinação de Fe em água de coco não foi usada solução de Triton X-100 e nem curva analítica de calibração em meio da amostra.

A curva de temperatura de pirólise em meio de 0,1 % v/v de HNO_3 revelou que ocorreu uma progressiva, mas pouco intensa, queda de sinal de absorbância entre 800 e 1100 °C. Entre 1100 e 1300 °C ocorreu a formação de um patamar. Esses resultados indicam que no primeiro caso deve ter ocorrido perdas de espécies de ferro por volatilização, levando a formação uma espécie mais refratária a 1100 °C, que inicia a volatilização a partir de 1300 °C⁵⁷. Na presença da amostra esse patamar não ficou evidente, porém a volatilização do Fe inicia após 1300 °C.

Figura 15 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Fe: (●) $10 \mu\text{g L}^{-1}$ em 0,1 % v/v HNO_3 ; (■) água de coco diluída (15x) para 0,1 % v/v HNO_3

Analisando-se o perfil da curva de temperatura de atomização, abaixo de 2000 °C não ocorreu a atomização do elemento de interesse. A melhor temperatura de atomização, com a formação do sinal transiente, foi obtida somente acima de 2300 °C, tanto para a solução analítica de referência como para a amostra diluída. Sendo assim, a temperatura de pirólise admitida foi de 1200 °C e a de atomização de 2300 °C. Novamente, o uso de modificador não foi necessário, devido à alta temperatura de pirólise utilizada.

Após a otimização do programa de aquecimento fez-se a determinação de Fe em água de coco natural (n = 3) diluída (15 x) e com adição de 20 µg L⁻¹ de Fe³⁺ (Tabela 15). A boa recuperação da concentração de Fe adicionada em água de coco diluída é um indicativo da inexistência de interferência no método. Portanto, a determinação de Fe por ETAAS pode ser realizada apenas diluindo a amostra.

Tabela 15 – Concentração de Fe em água de coco natural diluída

	Concentração (µg L⁻¹)	Recuperação (%)
Diluída	129 ± 5	97

Os limites de detecção, de quantificação e as massas características para Al, Cu e Fe estão mostrados na Tabela 16. Os limites de detecção foram obtidos como sendo 3 vezes o desvio padrão do branco e os limites de quantificação como sendo 5 vezes o desvio padrão do branco. As massas características, que correspondem a ao sinal analítico de 1% de absorvância (0,0044), foram estimadas para cada um dos elementos acima relacionados.

Tabela 16 – Limite de detecção, quantificação e massa característica para Al, Cu e Fe

	Limite de Detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	massa característica (pg)
Al	1	1,7	30
Cu	0,7	1,2	20
Fe	2	3	10

4.2 Avaliação da influência dos processos de conservação na composição da água de coco

A investigação da influência dos processos de conservação na composição química da água de coco é de fundamental importância para a qualidade desse produto. Diversos procedimentos podem ser aplicados nesse tipo de investigação. Nesse trabalho, a influência dos processos de ultrafiltração, pasteurização e congelamento na composição química da água de coco foi avaliada por meio da determinação total de alguns elementos e de suas distribuições nas diferentes frações da água de coco.

A ultrafiltração é um procedimento que vem sendo estudado pela Embrapa a fim de promover a preservação da água de coco, uma vez que, utilizando filtros de membranas de porosidade específicas é possível reter enzimas que degradam a amostra, como a polifenoloxidase e a peroxidase. O uso de filtros de porosidades entre 0,01 e 0,1 μm está sendo avaliado²⁶. No entanto, como visto nos trabalhos propostos por Lange-Hesse et al^{52,53}, dependendo da porosidade do filtro, elementos associados às proteínas da semente de feijão podem ser separados. Portanto, cuidados devem ser tomados na utilização da ultrafiltração como um processo de conservação, uma vez que dependendo da escolha da porosidade do filtro de membrana é possível reter nutrientes essenciais

presentes nos alimentos, tais como vitaminas, carboidratos, proteínas e elementos associados à macro e micromoléculas⁵⁰.

A pasteurização é um procedimento largamente utilizado pelas indústrias para conservação de alimentos. Porém, estudos são realizados com intuito de melhorar os processos de pasteurização, procurando manter as características nutricionais e organolépticas de alimentos. Entretanto, trabalhos realizados por Caroli et al.⁴² e Trugo et al.⁴³ em amostras de leites comerciais e em leite materno, respectivamente, revelaram que a pasteurização afeta a distribuição de certos elementos nas diferentes frações do leite. E segundo os autores, as alterações são ocasionadas pelo efeito do aumento da temperatura que provoca a desnaturação de proteínas, liberando sítios ativos que interagem com as espécies de elementos.

O congelamento pode promover alterações da distribuição de elementos, devido ao crescimento de cristais, que pode liberar sítios ativos capazes de associar com os elementos de interesse. A influência dos fenômenos físicos e químicos na distribuição de elementos, durante o congelamento e a estocagem em temperaturas negativas, foi observada por Favell et al.⁴⁰ e Trugo et al.⁴³, para amostras de vegetais e leite materno, respectivamente.

4.2.1 Influência do processo de ultrafiltração na composição química elementar

A avaliação do efeito da ultrafiltração na composição química elementar da água de coco natural foi realizada analisando-se as concentrações de Al, Cu e Fe, por ETAAS e Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn, por ICP OES, no filtrado e resíduo que ficou retido na membrana.

Esse estudo foi realizado com água de coco natural (mistura de 90 cocos), utilizando filtro de membrana de 0,10 e 0,025 μm . As concentrações dos elementos de interesse no resíduo e no filtrado, bem

como a concentração total e a porcentagem de retenção estão apresentadas na Tabela 17.

Analisando os resultados obtidos nota-se que a maioria dos elementos de interesse, exceto Al e Cu, ficaram retidos nos filtros de diferentes porosidades, mesmo que em baixa concentração. A ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 μm consegue separar os elementos que estão associados com compostos de massa molecular acima de 200 kDa, enquanto que compostos de massa molecular acima de 50 kDa são retidos no filtro de 0,025 μm de porosidade.

Como esperado, com a diminuição da porosidade dos filtros, a porcentagem de retenção dos elementos de interesse aumenta. Sendo que, a ultrafiltração com filtro de membrana de 0,025 μm de porosidade pode reter concentração significativa, principalmente, de Fe (~50 %) e Zn (~30 %), que provavelmente podem estar associados, principalmente, a compostos de massa molecular de 50 a 200 kDa. Para os outros elementos de interesse, o processo de ultrafiltração não promove alteração significativa da concentração total.

A utilização da ultrafiltração como um procedimento de conservação pode ser muito interessante, principalmente por reter as enzimas que degradam e por manter as propriedades organolépticas da água de coco. No entanto, elementos essenciais, como Fe e Zn, podem ficar retidos, alterando as propriedades nutricionais do produto final. Por isso, é necessário encontrar o melhor procedimento de ultrafiltração de maneira a não afetar a composição química desses elementos essenciais.

Tabela 17 – Concentração total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado)

Concentração (mg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)					
		Ultrafiltração (0,10 µm)	Retenção (%)	Ultrafiltração (0,025 µm)	Retenção (%)
Ca	Resíduo	1,46 ± 0,04	0,6	5,3 ± 0,1	2
	Filtrado	274 ± 4		257 ± 4	
	F+R*	276 ± 4		262 ± 4	
	Total	259 ± 10		259 ± 10	
K	Resíduo	10,8 ± 0,4	0,8	41 ± 1	3,0
	Filtrado	1308 ± 13		1321 ± 13	
	F+R*	1319 ± 13		1362 ± 13	
	Total	1374 ± 10		1374 ± 10	
Mg	Resíduo	0,52 ± 0,03	0,5	1,7 ± 0,1	1,8
	Filtrado	97,4 ± 1,1		93 ± 1	
	F+R*	98 ± 1		95 ± 1	
	Total	98 ± 1		98 ± 1	
Mn	Resíduo	0,029 ± 0,003	0,6	0,12 ± 0,01	2,7
	Filtrado	4,9 ± 0,1		4,4 ± 0,1	
	F+R*	4,9 ± 0,1		4,5 ± 0,1	
	Total	4,6 ± 0,1		4,6 ± 0,1	
Na	Resíduo	1,13 ± 0,03	0,4	3,8 ± 0,1	1,5
	Filtrado	266 ± 1		242 ± 3	
	F+R*	267 ± 1		246 ± 3	
	Total	257 ± 10		257 ± 10	
Zn	Resíduo	0,003 ± 0,001	1,4	0,16 ± 0,01	48
	Filtrado	0,21 ± 0,02		0,17 ± 0,01	
	F+R*	0,21 ± 0,02		0,33 ± 0,01	
	Total	0,21 ± 0,01		0,21 ± 0,01	
Concentração (µg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)					
Al	Resíduo	<LD	0	<LD	0
	Filtrado	24 ± 4		27 ± 3	
	F+R*	24 ± 4		27 ± 3	
	Total	25 ± 2		25 ± 2	
Cu	Resíduo	<LD	0	<LD	0
	Filtrado	93 ± 17		129 ± 8	
	F+R*	93 ± 17		129 ± 8	
	Total	112 ± 13		112 ± 13	
Fe	Resíduo	7 ± 3	8	30 ± 8	27
	Filtrado	84 ± 4		88 ± 3	
	F+R*	91 ± 5		110 ± 13	
	Total	103 ± 18		103 ± 18	

*F+R - filtrado + resíduo

4.2.2 Influência do processo de pasteurização na composição química elementar total

A influência do processo de pasteurização na composição química elementar da água de coco foi verificada comparando a concentração total de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco (mistura de 40 cocos) sem pasteurizar e pasteurizada a 90 °C por 180 s. Os resultados estão mostrados na Figura 16.

Figura 16 – Efeito da pasteurização na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (/) e na água de coco pasteurizada (X)

O gráfico de barras mostra que o processo de pasteurização não afeta significativamente a concentração total da maioria dos elementos determinados. Sendo que os resultados concordam entre si quando aplicado o teste T pareado, considerando 95 % do limite de confiança. No entanto, na amostra pasteurizada, a concentração de Cu apresentou-se

bastante elevada, possivelmente devido a introdução de contaminações durante o processamento da água de coco.

É interessante ressaltar que em outras pasteurizações não foi verificada contaminação tão intensa por Cu, como nesse caso. Na pasteurização a 90 °C por 300 s, Figura 17, a concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco natural e em pasteurizada não apresentaram alteração significativa, sendo que os resultados concordaram entre si quando aplicado o teste T pareado considerando 95 % de limite de confiança.

Figura 17 – Efeito da pasteurização na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (/) e na água de coco pasteurizada (X)

4.2.3 Influência do processo de pasteurização na distribuição química elementar

O efeito da pasteurização na distribuição de elementos em água de coco foi realizado em amostras pasteurizadas em 90 °C por três diferentes tempos (180, 190 e 300 s). Estudos vêm sendo realizados com intuito de

se obter o procedimento de pasteurização mais adequado, que mantenha as características nutricionais e organolépticas da água de coco.

A influência do processo de pasteurização a 90 °C por 190 e 300 s na distribuição de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn foi verificada após a ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 µm de porosidade (Figuras 17 e 18). E o efeito da pasteurização a 90 °C por 180 s na distribuição de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn foi investigado após ultrafiltração com filtros de membrana de 0,10 e 0,025 µm (Figuras 19 e 20). A utilização desses parâmetros de processo, temperatura e tempo de retenção, são eficientes na inativação das enzimas que degradam a água de coco.

As concentrações dos elementos de interesse no resíduo e no filtrado foram obtidas (Apêndices 1 a 4) e comparou-se as concentrações dos elementos de interesse apenas nos filtrados, Figuras 18 a 21.

Figura 18 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (/) e pasteurizada (X) a 90 °C por 190 s

Figura 19 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (∕) e pasteurizada (X) a 90 °C por 300 s

Figura 20 – Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 µm de porosidade sem pasteurizar (∕) e pasteurizada (X) a 90 °C por 180 s

Figura 21 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,025 μm de porosidade sem pasteurizar ($\diagup$) e pasteurizada (X) a 90 °C por 180 s

Analisando as Figura 18 a 21, nota-se que o processo de pasteurização nas diferentes temperaturas não afeta a distribuição de alguns elementos, como o Al, Ca, Mg, Na e K. Pelos resultados obtidos nota-se que os valores concordam entre si em 95 % de limite de confiança quando aplicado o teste T pareado.

A não influência da pasteurização na distribuição desses elementos pode estar relacionada ao fato de que os mesmos estejam livres ou associados a pequenas moléculas, na forma iônica, constituindo a parte eletrolítica da água de coco.

Comparando as concentrações dos elementos em menores concentrações, Cu, Fe e Zn, os resultados concordam entre si em 95 % de limite de confiança quando aplicado o teste T pareado. No entanto, nota-se um aumento sistemático da concentração de Cu e Fe nas amostras pasteurizadas a 90 °C por 190 e 300 s e de Zn nas amostras pasteurizadas nas diferentes condições. Caso contrário foi observado para o Mn, o processo de pasteurização promoveu a diminuição de sua

concentração no filtrado. Para essas variações é possível que o aumento da temperatura tenha promovido a liberação de sítios ativos capazes de modificar a distribuição de certos elementos, uma vez que, podem liberar ou interagir com os elementos de interesse^{43,45}.

Finalmente, comparando as concentrações dos elementos de interesse nos filtrados da água de coco natural e pasteurizada a 90 °C por 180 s obtidos após ultrafiltração com 0,10 µm e com 0,025 µm, nota-se que as alterações na distribuição dos elementos é devido a mudanças em compostos de massa molecular acima de 200 kDa.

Para o Cu, os resultados experimentais não permitem uma conclusão uma vez que foi constatada contaminação durante o tratamento de pasteurização a 90 °C por 180 s.

4.2.4 Influência do processo de congelamento na composição química elementar total

A influência do processo de congelamento na concentração total de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn foi investigada comparando a concentração desses elementos em água de coco congelada por 0, 30 e 120 dias. Os resultados estão apresentados na Figura 22.

Avaliando a Figura 22 nota-se que o processo de congelamento não afeta significativamente a concentração total da maioria dos elementos determinados. Sendo que os resultados concordam entre si quando aplicado o teste T pareado, considerando 95 % o limite de confiança.

Figura 22 – Efeito do congelamento na composição química elementar da água de coco. Concentração dos elementos na água de coco natural (//), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.5 Influência do processo de congelamento na distribuição química elementar

A influência do processo de congelamento na distribuição de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn foi avaliado após determinação da concentração desses elementos no resíduo e no filtrado, obtidos por ultrafiltração com filtros de membrana de 0,10 e 0,025 μm de porosidades (Apêndices 5 a 6). Comparou-se as concentrações dos elementos de interesse no filtrado da água de coco congelada por 0, 30 e 120 dias a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, Figuras 23 e 24.

Figura 23 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,10 μm de porosidade sem congelamento (//), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Avaliando a Figura 23, observa-se que a concentração de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn no filtrado da água de coco congelada por 30 ou 120 dias sofreu uma diminuição quando comparado com a água de coco natural. O Zn apresentou uma maior diminuição da concentração conforme o aumentou do tempo de congelamento. Efeito oposto foi visto para a concentração de Cu. Al e Fe que não variaram após 30 dias de estocagem, porém comparando os resultados obtidos da água de coco natural e a congelada por 120 dias houve um aumento da concentração desses elementos no filtrado.

Figura 24 – Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em filtrados de água de coco obtidos após ultrafiltração com filtros de 0,025 μm de porosidade sem congelamento (//), congelada por 30 dias (X) e congelada por 120 dias (branco) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pela Figura 24, nota-se que Ca, Cu, K e Mg apresentaram uma redução da concentração em função do congelamento. As concentrações de Al, Fe, Na e Mn no filtrado da água de coco congelada apresentaram um aumento da concentração quando comparado com a água de coco não congelada. Comportamento diferente foi observado para a concentração de Zn, comparando a concentração na água de coco natural com as amostras congeladas por 30 e 120 dias, a concentração de Zn nos filtrados apresentaram um aumento e uma diminuição da concentração, respectivamente.

A alteração da distribuição dos elementos de interesse em macromoléculas (massa molecular $> 200\text{ kDa}$) e em micromoléculas (massa molecular $> 50\text{ kDa}$) pode ser resultado do efeito de fenômenos físicos e químicos promovidos pelo congelamento e estocagem. Primeiramente, o crescimento de cristais de gelo pode ter promovido a

ruptura de membranas celulares e a baixa temperatura pode ter ocasionado a desnaturação de proteínas, que, por consequência, levaram a liberação de sítios ativos que poderiam interagir ou liberar os elementos de interesse^{38,39}. Efeito semelhante foi observado em amostras de leite materno⁴³.

4.3 Determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de água de coco comerciais

A determinação da concentração total de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco comerciais foi realizada com intuito de avaliar as possíveis alterações das concentrações desses elementos nas amostras comerciais.

Foram adquiridas águas de coco comerciais de 5 marcas distintas (C1, C2, C3, C4 e C5) e para cada diferente marca comprou-se 5 amostras diferentes. As amostras foram submetidas à digestão total por forno de microondas focalizadas e os elementos foram analisados por ICP OES com configuração axial. Os resultados de concentração, média entre as cinco amostras de cada marca distinta, estão apresentados na Tabela 18.

Na Tabela 18 nota-se que as concentrações de Ca, K e Zn não variam significativamente, quando se compara a concentração desses elementos em água de coco natural com as existentes em amostras de água de coco comerciais.

No entanto, as concentrações de Fe, Mg e Mn variaram muito entre as diferentes amostras analisadas. Considerando que as amostras foram provenientes de diferentes regiões do Brasil (Norte, Nordeste e Sudeste), as variações na composição desses elementos podem estar associadas ao tipo de solo⁸⁴. Apesar de não ter sido uma amostragem representativa e também não dispor da água de coco natural proveniente dessas regiões, a

concentração desses elementos poderia ser utilizada como indicadores de origem da água de coco.

O Cu em água de coco natural está presente em concentração traço, enquanto que nas amostras comerciais a concentração é relativamente alta. As possíveis hipóteses levantadas podem estar relacionadas com contaminação durante o processo de conservação adotado ou também pode estar relacionado com a origem.

Por fim, a concentração de Na na água de coco natural é extremamente discrepante quando compara-se com o conteúdo existente nas amostras comerciais. A adição de conservantes nas amostras comerciais, geralmente metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), pode ser o responsável pelo elevado teor de Na encontrado nas amostras comerciais. O sulfito em alimento possui a função de inibir o escurecimento enzimático, pois desativa a ação de enzimas como a polifenoloxidase⁸⁵.

É oportuno comentar que alguns elementos (Cu, Fe e Zn) apresentaram uma grande variação na composição entre as amostras.

Tabela 18 – Concentração total de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em água de coco comercial

Concentração (mg L^{-1}) $\pm$ desvio padrão*						
	Natural	C1	C2	C3	C4	C5
Ca	193 $\pm$ 21	142 $\pm$ 30	176 $\pm$ 16	164 $\pm$ 11	166 $\pm$ 7	143 $\pm$ 12
K	1107 $\pm$ 101	1186 $\pm$ 294	1301 $\pm$ 118	1191 $\pm$ 73	1122 $\pm$ 42	1119 $\pm$ 87
Mg	48 $\pm$ 4	56 $\pm$ 18	98 $\pm$ 12	123 $\pm$ 9	77 $\pm$ 4	68 $\pm$ 6
Mn	3,0 $\pm$ 0,4	4 $\pm$ 1	1,3 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 0,4
Na	75 $\pm$ 11	189 $\pm$ 55	280 $\pm$ 27	566 $\pm$ 41	307 $\pm$ 17	304 $\pm$ 36
Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ desvio padrão*						
	Natural	C1	C2	C3	C4	C5
Cu	3,1 $\pm$ 0,5	70 $\pm$ 30	90 $\pm$ 30	75 $\pm$ 5	100 $\pm$ 10	120 $\pm$ 10
Fe	128 $\pm$ 9	220 $\pm$ 90	60 $\pm$ 30	110 $\pm$ 30	330 $\pm$ 80	90 $\pm$ 50
Zn	440 $\pm$ 40	510 $\pm$ 90	500 $\pm$ 100	580 $\pm$ 50	400 $\pm$ 50	450 $\pm$ 50

*incertezas expandidas ($n=5$ amostras) para ($n=3$ replicatas)

4.4 Especificação de Se^{4+} e Se^{6+} por HG ETAAS

A especificação de selênio é um assunto de grande interesse devido a sua importância nutricional^{32,67}.

Nesse trabalho de pesquisa foi feita uma exploração preliminar para avaliar a determinação de espécies de Se^{4+} e Se^{6+} livres na água de coco.

4.4.1 Determinação da concentração total de Se por ETAAS

A determinação total de Se em água de coco foi realizada segundo método proposto na literatura. O uso de Triton X-100 e mistura oxidante, como o procedimento adotado para a determinação de Al e Cu, foi imperativa. Além disso, a utilização de modificador químico (20 μg Pd + 10 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) foi necessária, pois na sua ausência, perdas de Se por volatilização ocorre a 200 $^{\circ}\text{C}$ ⁷⁴ e como no procedimento proposto, a amostra sofre pouca diluição, temperaturas elevadas de pirólise são essenciais, uma vez que os concomitantes presentes na matriz pode ocasionar interferências na fase condensada e na fase de vapor.

A perda de Se em baixas temperaturas de pirólise está relacionada a perdas desse elemento na forma de Se_2 , SeC_2 , $\text{Se}(\text{OH})_2$, SeO e SeO_2 , que são volatilizados em temperaturas entre 100 a 130 $^{\circ}\text{C}$ ⁸⁶. A presença de Pd promove a estabilização térmica do Se, devido à formação de soluções sólidas ($[\text{Pd},\text{Se},\text{O}]$) e compostos estequiométricos intermetálicos, $(\text{Se-Pd})_{(\text{ad})}$,

A reação 4 ocorre em temperatura de 1030 $^{\circ}\text{C}$ e a formação de (Se-

$\text{Pd}_{(\text{ad})}$ promove a adsorção de Se e Pd nos sítios do tubo de grafite. Subseqüentemente, em temperaturas entre 1280 e 1405 °C, Se sofre dessorção (reação 5)⁸⁶. Portanto, na presença de Pd como modificador químico consegue-se maiores temperaturas de pirólise, tão necessárias, principalmente quando a amostra praticamente não é submetida a um pré-tratamento de digestão ácida.

A adição de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ao Pd possui fundamental importância para auxiliar na estabilização térmica do Se. A presença dessa substância no modificador químico promove a quimiosorção dos óxidos de selênio no MgO, em temperatura acima de 500 °C, e também, facilita a interação do Se ao Pd, pois o $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ promove uma distribuição mais uniforme do Pd na superfície do tubo de grafite, durante as etapas de secagem e pirólise, favorecendo a formação de microgotículas que facilitam a difusão e volatilização do Se durante a atomização⁵⁷.

As curvas de temperatura de pirólise e atomização para Se estão apresentadas na Figura 24. Uma alíquota (15 µL) da solução analítica de referência ou da amostra foi coinjetada com 10 µL da mistura oxidante e 10 µL de modificador químico (20 µg Pd+ 10 µg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$). Na ausência de amostra, perdas de Se por volatilização ocorre em 1400 °C. Porém na presença da água de coco melhores perfis dos sinais analíticos são obtidos a partir de 1400 °C e a perda de Se por volatilização ocorre em 1500 °C. Diante disso, as temperaturas de pirólise e a de atomização adequadas correspondem a 1400 e 2300 °C, respectivamente.

Figura 25 – Curvas de temperaturas de pirólise (—) e atomização (--) para Se: (▲) 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v de Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural + 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

Para avaliar possíveis interferências na determinação de Se, obtiveram-se as curvas analíticas de calibração em meio aquoso e em meio da amostra de água de coco (Figura 25).

Os coeficientes angulares de ambas as curvas foram muito próximos, $0,00097 \pm 0,00003$ em meio aquoso e $0,0010 \pm 0,0003$ em meio de amostra, e os coeficientes de correlação foram 0,9988 e 0,9981 para a curva analítica de referência em solução analítica e em meio de amostra, respectivamente. Portanto, para Se, a determinação diretamente em água de coco pode ser efetuada mediante curva analítica de calibração aquosa.

Figura 26 – Curvas analíticas de calibração de Se: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO₃ e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO₃ e 0,1 % m/v Triton X-100

Os resultados de concentração de Se em água de coco natural e de adição e recuperação de 10 µg L⁻¹ de Se⁴⁺ estão mostrados na Tabela 19.

Tabela 19 – Concentração de Se em água de coco e resultados de recuperação

Concentração (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
<6,8*	101

*limite de detecção

O método proposto não permitiu a quantificação nas amostras de água de coco que se apresentaram abaixo do limite de detecção (6,8 µg L⁻¹). Uma alternativa para a determinação da concentração total de selênio

em água de coco seria a utilização do método proposto por Nóbrega et al⁸⁷. Nesse trabalho amostras de água de coco foram diluídas em uma mistura de aminas terciárias solúveis em água. O limite de detecção obtido foi de $0,41 \mu\text{g L}^{-1}$ e a concentração nas amostras variaram de 6,5 a $21 \mu\text{g L}^{-1}$.

O limite de detecção e a massa característica estão apresentados na Tabela 20. O limite de detecção foi obtido como sendo a razão entre 3 vezes o desvio padrão do branco. E a massa característica corresponde à massa do elemento de interesse responsável pelo sinal analítico de 0,0044.

Tabela 20 – Limite de detecção e massa característica para Se

	limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	massa característica (pg)
Se	6,8	68

4.4.2 Determinação de Se por HG ETAAS

Para a geração do hidreto volátil de Se utilizou-se 1,0 mL de amostra ou solução analítica de referência e 1,0 mL de $6,0 \text{ g L}^{-1}$ de Na_2BH_4 + $5,0 \text{ g L}^{-1}$ de NaOH. As condições foram otimizadas de acordo com trabalho proposto na literatura⁶⁸. Para avaliar possíveis interferências na determinação de Se por HG ETAAS, obtiveram-se as curvas analíticas de calibração em meio aquoso e em meio da amostra de água de coco (Figura 26).

Os coeficientes angulares de ambas as curvas foram muito discrepantes, $0,02789 \pm 0,00106$ em meio aquoso e $0,00244 \pm 0,00013$ em meio de amostra, e os coeficientes de correlação foram 0,9959 e 0,9874 para a curva analítica de referência em solução analítica e em meio de amostra, respectivamente.

A baixa sensibilidade para Se em meio da amostra indica uma pobre eficiência de geração do hidreto de selênio (SeH_2). Esses resultados são indicativos de que a matriz da água de coco provoca uma interferência na geração do hidreto. Compostos orgânicos, bem como de elementos químicos, podem promover interferências na geração do hidreto de selênio⁸⁸. É também possível de ser levantada a hipótese de que o Se adicionado interagiu com espécies presentes na água de coco, formando compostos estáveis que não foram decompostos em presença do borohidreto de sódio.

Figura 27 – Curvas analíticas de calibração de Se: (■) soluções analíticas de referência em 0,1% v/v HNO_3 e 0,1% m/v Triton X-100; (●) amostra de água de coco natural em 0,1 % v/v de HNO_3 e 0,1 % m/v Triton X-100

4.4.3 Otimização da etapa de pré-redução do Se^{6+}

Para a determinação das espécies inorgânicas de Se por HG ETAAS, etapa prévia de redução do Se^{6+} a Se^{4+} foi necessária, uma vez que, a

formação do hidreto volátil ocorre a partir de Se^{4+} . O uso de HCl, HBr ou mistura HCl + KBr, como misturas redutoras, associado ao aquecimento por microondas focalizadas, vem sendo explorado a fim de promover a redução. A mistura redutora, HCl + KBr, foi utilizada nesse trabalho com base em sua eficiência de redução⁶⁵. A utilização de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl + 1 mol L^{-1} de KBr para a redução de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{6+} foi necessária, pois comparando os sinais de absorbância de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} por HG ETAAS, com o sinal analítico do Se^{6+} reduzido a Se^{4+} , concentrações inferiores do redutor apenas promovia a redução de cerca de 50 % do Se^{6+} .

O aquecimento foi realizado por microondas focalizadas, utilizando sistemas de microfrascos de polipropileno de 2,0 mL, proposto para a decomposição de amostras biológicas⁷⁷. A maior vantagem em se utilizar microfrascos deve-se ao princípio do frasco único, onde há a minimização da manipulação da amostra e de contaminações, pois a amostra é submetida ao pré-tratamento e o elemento de interesse é determinado em um único recipiente. No método proposto neste projeto, a redução do Se^{6+} é realizada em 1,0 mL, justamente o volume utilizado para a geração de hidreto. Em um microfrasco de 2,0 mL, utiliza-se 600 μL de amostra ou solução analítica de referência e 400 μL de mistura redutora de HCl e KBr. Para a completa redução do Se^{6+} fez-se à otimização do programa de aquecimento, para tanto, potência de 30 W foi aplicada por 1 minuto e para tempos superiores houve a necessidade de intercalar etapas sem a incidência de radiação por 5 minutos. Estudou-se tempos de 1 a 4 minutos de incidência de radiação e os resultados estão apresentados na Figura 27.

Na Figura 27, observa-se que a partir de 3 minutos de incidência de radiação ocorre a completa redução de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{6+} , logo o programa de aquecimento utilizado está mostrado na Tabela 21.

Figura 28 – Otimização do tempo de incidência de radiação. Sinais de absorbância de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{6+} reduzido (—) e de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} (--).

Tabela 21 – Programa de aquecimento para redução do Se^{6+} a Se^{4+}

Etapa	Potência (W)	Tempo (s)
1	30	1
2	0	5
3	30	1
4	0	5
5	30	1

Com a otimização do programa de aquecimento, submeteram-se soluções analíticas de referência de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{6+} , $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{1+} e $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de $\text{Se}^{6+} + 1 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} , na presença e na ausência de amostra de água de coco, em triplicata. Os sinais analíticos obtidos estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 – Sinais de absorvância obtidos para Se^{4+} , Se^{6+} e $\text{Se}^{4+} + \text{Se}^{6+}$ após etapa de pré-redução.

Sinal de absorvância $\pm$ desvio padrão (n=3)		
	Solução aquosa*	Amostra**
1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{6+}	0,056 $\pm$ 0,009	0,018 $\pm$ 0,007
1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+}	0,059 $\pm$ 0,009	0,019 $\pm$ 0,008
1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de $\text{Se}^{6+} +$ 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+}	0,118 $\pm$ 0,009	0,014 $\pm$ 0,008

*descontado o valor do branco (solução contendo 2,0 mol L^{-1} HCl + 1,0 mol L^{-1} KBr)

**descontado o valor do branco (amostra + 2,0 mol L^{-1} HCl + 1,0 mol L^{-1} KBr)

Os resultados obtidos (Tabela 23) mostram que, na ausência da amostra, soluções de Se^{4+} não sofrem alterações quando submetidas a procedimentos de pré-redução, pois comparando o sinal analítico obtido do Se^{4+} por HG ETAAS sem a etapa de redução do Se^{6+} (0,063 $\pm$ 0,004), tem-se recuperação de 94 %. Além disso, obteve-se 95 % de redução do Se^{6+} . Entretanto, na presença de amostra, observa-se à supressão do sinal analítico. Tal qual ocorreu na tentativa de se determinar o Se total por geração de hidretos, o efeito da matriz na geração do hidreto volátil já foi verificado com os resultados obtidos de curvas de calibração analítica em meio aquoso e em meio de amostra para o Se por HG ETAAS.

5. CONCLUSÕES

A determinação da concentração total de Ca, K, Mg, Mn, Na e Zn por ICP OES em água de coco pode ser realizada diretamente após diluição da amostra (3x) para 0,1 % v/v de HNO₃. A calibração do equipamento pode ser feita com solução aquosa.

A determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn em águas de coco comerciais revelaram que a variação nas concentrações de Ca, K e Zn não são significativas. No entanto, as concentrações de Cu, Fe, Mg, Mn e Na apresentaram uma grande variabilidade entre as amostras. Para o Na acredita-se que os elevados valores encontrados estejam associados a introdução de conservantes a base do íons sódio, como o bissulfito de sódio. Já para os demais, a hipótese que pode ser levantada é que as variações nas concentrações estejam relacionadas com a origem, uma vez que, no rótulo das embalagens tinham indicado diferentes estados brasileiros (Amazonas, Alagoas e Ceará).

A determinação da concentração total de Al e Cu por ETAAS pode ser realizada com um mínimo de tratamento da amostra, apenas diluição para 0,1 % v/v HNO₃ e 0,1% m/v Triton X-100. Para Al recomenda-se o uso de curva analítica de calibração em meio de água de coco e para Cu a calibração pode ser feita em meio de solução aquosa. A adição de Triton X-100 é necessária para minimizar erros durante a amostragem e possibilitar a homogeneização da água de coco. A utilização da mistura oxidante de 15 % v/v de H₂O₂ e 1 % v/v HNO₃ também é necessária para minimizar a formação de resíduos carbonáceos no interior do tubo de grafite, melhorando a precisão, exatidão e aumentando a vida útil do tubo de grafite.

A determinação da concentração total de Fe por ETAAS também pode ser realizada com um mínimo de tratamento da amostra, apenas diluição (15 x) para 0,1% v/v de HNO₃. A calibração do espectrômetro pode ser feita com solução aquosa.

O processo de ultrafiltração pode alterar a composição química elementar da água de coco natural, pois dependendo da porosidade do filtro de membrana é possível reter elementos associados a macro e micromoléculas. Como esperado, a diminuição da porosidade leva ao aumento da concentração dos elementos de interesse no resíduo retido, sendo que a utilização de filtros de 0,025 μm de porosidade reteve cerca de 30 e 50 % de Fe e Zn, respectivamente, possivelmente associados a compostos de massa molecular entre 50 a 200 kDa. Os demais elementos de interesse não apresentaram alterações significativas das concentrações totais. Portanto, os resultados obtidos são indicativos de que esse procedimento pode não ser uma boa alternativa para a conservação de água de coco.

O processo de pasteurização a 90 °C, nos diferentes tempos de retenção não promoveu mudanças significativas nas concentrações totais dos elementos analisados. Apenas o Cu apresentou elevada concentração nas amostras pasteurizadas. Porém, avaliando a influência desse procedimento na distribuição dos elementos de interesse, notou-se um aumento sistemático da concentração de Cu, Fe e Zn e uma diminuição da concentração de Mn nas amostras pasteurizadas.

O congelamento também não alterou a concentração total dos elementos de interesse, no entanto a distribuição de todos os elementos foi alterada. Essas variações nas distribuições podem estar relacionadas aos processos físicos e químicos que ocorrem durante a etapa de congelamento e a estocagem.

Podemos concluir que entre os processos de conservação de água de coco o que menos afetou a distribuição dos elementos de interesse foi a pasteurização. Evidentemente essa é uma conclusão focalizada apenas na determinação de alguns elementos. Para uma avaliação mais completa da influência desses processos na composição química da água de coco outros tipos de análises são necessários.

A determinação total de Se pode ser realizada como procedimento similar ao adotado para Al e Cu, porém o uso de 20 μg de Pd + 10 μg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ é necessário para a estabilização térmica do Se. A calibração do instrumento pode ser realizada em meio aquoso. As concentrações encontradas nas amostras de água de coco ficaram abaixo do limite de quantificação do método.

Os estudos preliminares para especiação de Se^{6+} e Se^{4+} mostrou que é possível a redução do Se^{6+} a Se^{4+} , utilizando HCl e KBr como mistura redutora e aquecimento assistido por microondas focalizadas em microfrascos. Porém, os estudos indicaram que essa especiação não é possível na presença de água de coco devido à provável interferência da matriz ou a presença de compostos estáveis de Se, comprometendo a reação de formação do hidreto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cruz, G. D., Coco ecologicamente correto, *Revista Ecologia e Desenvolvimento*, 89 (2001) 1-5.
2. Ferrari, E., Tonci, R.M.; Coco, disponível em: www.agrocasa.com.br, acesso em: Out. 2003.
3. Aragão, W.A.; A importância do coqueiro-anão verde, disponível em: www.embrapa.br, acesso em: Out. 2003.
4. A cultura do coqueiro; Origem da cultura, disponível em: www.geocities.com/coqueiroanao/origem.htm, acesso em: Maio 2004.
5. Unesp – Hidráulica e irrigação, Ilha Solteira, Produção de coco aumenta 25 % em São Paulo, disponível em: www.agr.feis.unesp.br/FSP281100.htm, acesso em: Maio 2004.
6. Aragão, W. M., Tupinambá, E. A., Ângelo, P. C. S., Ribeiro, F. E.; Seleção de cultivares de coqueiro para diferentes ecossistemas do Brasil, disponível em: www.cpatia.embrapa.br; acesso em: Out. 2003.
7. Abreu, F. A. P., Rosa, M. F.; Água de coco - métodos de conservação, disponível em: www.embrapa.br, acesso em: Out. 2003.
8. Campos, C. F., Souza, P.E.A., Coelho, V., Glória, M.B.A.; Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water, *Journal of Food Processing and Preservation*, 20 (1996) 487-500.
9. Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T., Maekawa, A.; Nutrient composition of *kopyor coconuts* (*Cocos nucifera* L.), *Food Chemistry*, 57/2 (1996) 299-304.
10. Fennema, O. R.; "Food Chemistry", Marcel Dekker, Inc., New York, USA, 3ª edição, 1996.

11. Pummer, S., Heil, P., Maleck, W., Tetroianu, G.; Influence of coconut water on hemostasis, *American Journal of Emergency Medicine*, 19/4 (2001) 287-289.
12. Campbell-Fack, D., Thomas, T., Falck, T. M.; The intravenous use of coconut water, *American Journal of Emergency Medicine*, 18/1 (2000) 108-111.
13. Cardoso, R. C. S., Silva, A. R., Uchoa, D. C., Silva, L. D. M.; Criopreservação de sêmen canino com um diluidor à base de água de coco, *Ciência Rural*, 32/4 (2002) 657-661.
14. Ministério da Fazenda - Secretaria de acompanhamento econômico, Ofício n. 155/2002/SDE/GAB, de 15 de janeiro de 2002, disponível em: www.fazenda.org.br, acesso em: Out. 2003.
15. Ministério do meio ambiente e da Amazônia Legal; Coco verde, disponível em: www.irrigar.org.br/frutiseries.php, acesso em: Maio 2004.
16. Rosa, M. F., Bezerra, F. C., Correia, D., Santos, F. J. S., Abreu, F. A. P., Furtado, A. A. L., Brígido, A. K. L., Norões, E. R. V.; Utilização da casca de coco como substrato agrícola, disponível em: www.embrapa.br, acesso em: Nov. 2003.
17. Rosa, M. F., Bezerra, F. C.; Utilização do pó da casca de coco verde como substrato para produção de mudas de alface, disponível em www.embrapa.br, acesso em: Nov. 2003.
18. Abreu, F.; Novidade: Água de coco sem conservantes, disponível em: www.embrapa.br, acesso em: Nov. 2003.
19. Fatibello-Filho, O., Ramos, L. A., Lupetti, K. O.; Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*), *Química Nova*, 26/2 (2003) 197-201.
20. Bubacco, L., van Gastel, M., Benfatto, M., Tepper, A. W. I. W., Canter, G. W.; What are the structural features of the active site

- that define binuclear copper proteins function?, *Micron*, 35 (2004) 143-145.
21. Sánchez-Ferrer, A., Rodríguez-López, J. N., García-Cánovas, F., García-Carmona, F.; Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1247 (1995) 1-11.
22. Brown, C. R.; Banana polyphenol oxidase, *School Science Review*, 64 (1983) 691-695.
23. Banci, L.; Structural properties of peroxidases, *Journal of Biotechnology*, 53 (1997) 253-263.
24. Haem peroxidases, disponível em: www.metallo.scripps.edu/PROMISE/PEROXIDASES.html, acesso em: Maio 2004.
25. Leite, S. G. F., Duarte, A. C. P., Coelho, M. A. Z.; Identification of peroxidase and Tyrosinase in green coconut water, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3/5 (2002) 266-270.
26. Cabral, L.; Saborosa por mais tempo, disponível em: www.revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC404706-1932,00.html, acesso em: Out. 2003.
27. Cardoso, M. H., Moreira, R. S., Merçon, F., Rodrigues, S. L. C.; Efeito da ultrafiltração sobre a atividade enzimática de polifenoloxidase em suco de banana (*Musa sapientum*, Schum.), disponível: www2.estacio.br/graduacao/eng_alimentos, acesso em: Maio 2004.
28. Goyer, R. A., Klaassen, C. D., Waalkes, M. P.; "Metal Toxicology", Academic Press, San Diego, 1995.
29. Tsalev, D. L.; "Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice", v. III, CRC Press, New York, 1994.
30. Kendrick, M. J., May, M. t., Plishka, M. J., Robinson, K. D.; "Metals in Biological Systems", Ellis Horwood Limited, 1992.

31. Ensminger, A. H., Ensminger, M. E., Konlande, J. E., Robson, J. R. K.; "The Concise Encyclopedia of Food & Nutrition", CRC Press, London, 1980.
32. Ellis, D., Salt, D. E.; Plants, selenium and human health, *Current Opinion in Plant Biology*, 6 (2003) 273-279.
33. Michalke, B.; Element speciation definitions, analytical methodology, and some examples, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56 (2003) 122-139.
34. Dissertação de mestrado: Determinação sultânea de manganês/selio e cobre/zinco em soro sanguíneo por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, Correia, P.R.M., 2001.
35. Olivas, R. M., Donard, O. F. X.; Microwave assisted reduction of Se^{VI} to Se^{IV} and determination by HG/FI-ICP/MS for inorganic selenium speciation, *Talanta*, 45/5 (1998) 1023-1029.
36. E. Olszerwer, B Smithe S. Laganá, Manual de Interpretação do miniralograma: exame do cabelo, São Paulo: Tecnopress, 1998.
37. GE Osmonics; disponível em: www.osmonics.com/library/zoom-sp.htm, acesso em: Maio 2004.
38. Karel, M., Nickerson, J. T. R.; "Preservation of Food by Freezing", The AVI Publishing Company, INC., 1961.
39. Tressler, D. K., Arsdel, W. B. V., Copley, M. J.; "The Freezing Preservation of Foods", The AVI Publishing Company, INC., 1968.
40. Favell, D. J.; A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables, *Food Chemistry*, 62/1 (1998) 59-64.
41. Arya, S. A., Mahajan, M., Jain, P.; Photometric methods for the determination of vitamin C, *Analytical Sciences*, 14 (1998) 889-895.
42. Caroli, S, Alimonti, a., Coni, E., Bocca, A., La Torre, F., Pizzuti, D.; "Chemical Analysis", John Wiley & Sons, INC., 1996.
43. Trugo, N. M. F, Góes, H. C. A., Torres, A. G., Donangelo, C. M.; Nutrient composition of banked human milk in Brazil and influence

- of processing on zinc distribution in milk fractions, *Applied Nutritional Investigation*, 18/7 (2002) 591-594.
44. A Scientific Status Summary by Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety & Nutrition, Effects of food processing on nutritive values, *Food Technology*, dez. (1986) 109-116.
45. Watzke, H. J.; Impact of processing on bioavailability examples of minerals in food, *Trends in Food Science & Technology*, 9 (1998) 320-327.
46. Tannenbaum, S. R.; "Nutritional and Safety Aspects of food Processing", Marcel Dekker, INC., 1968.
47. Das, A. K., Chakraborty, R., Cervera, M.L., la Guardia, M.; Metal speciation in solid matrices, *Talanta*, 42 (1995) 1007-1030.
48. Templenton, d. M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, G., Muntaiu, H., van Leeuwem, H. P., Lobinski, R.; Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches, *Pure Applied Chemistry*, 72 (2000) 1453-1470.
49. Ibañez, E., Cifuentes, A.; New analytical techniques in food science, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41/6 (2001) 412-450.
50. Buldini, P.L., Ricci, L., Sharma, J.L., Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, *Journal of Chromatography A*, 975 (2001) 47-70.
51. Guardia, M., Cervera, M. L., Morales-Rubio, A.; "Speciation Studies by Atomic Spectroscopy", 1999.
52. Lange-Hesse, K.; Investigations of properties and binding forms of cadmium and nickel in protein extracts by ultr-/diafiltration, photometry and atomic absorption spectrometry, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 340 (1994) 68-73.
53. Lange-Hesse, K., Dunemann, L., Schwedt, G.; Properties and binding forms of cadmium and nickel in proteins extracts from bean

- seeds (*Phaseolus vulgaris* L.), *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 349 (1994) 460-464.
54. Montaser, A., Golightly, D. W.; "Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry", 2ª edição, VCH Publishers, New York, 1992.
55. Barnes, K. W., Debrah, E.; Determination of nutrition labeling education act minerals in food by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy, *Atomic Spectrometry*, 18/2 (1997) 41-54.
56. Barnes, K. W.; Trace metal determinations in fruit, juice, and juice products using an axially viewed plasma, *Atomic Spectrometry*, 18/3 (1997) 84-101.
57. Welz, B., Sperling, M.; "Atomic Absorption Spectrometry", Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemanha, 1999.
58. Gardiner, P. E.; Considerations in the preparation of biological and environmental reference materials for use in the study of the chemical speciation of trace elements, *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, 345 (1993) 287-290.
59. Jackson, K. W.; "Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry", John Willey & Sons Ltda, Chichester, England, 1999.
60. Iyengar, G. V.; Subramanian, K. S.; Woittiez, J. R. W.; "Element analysis of Biological Samples - Principle and Practice", CRC Press, Boca Raton, New York, USA, 1998.
61. Tsalev, D.; Vapor generation or electrothermal atomic absorption spectrometry? - Both!, *Spectrochimica Acta*, 55B (2000) 917-933.
62. Sturgeon, R. E., Mester, Z.; Analytical applications of volatile metal derivatives, *Applied Spectroscopy*, 56/8 (2002) 202A-213A.
63. Pohl, P.; Recent advances in chemical vapour generation via reaction with sodium tetrahydroborate, *Trends in Analytical Chemistry*, 23/1 (2004) 21-27.
64. Gallignani, M., Valero, M., Brunetto, M. R., Burguera, J. L., Burguera, M., Peña, Y. P.; Sequential determination of Se(IV) and

- Se(VI) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry with HCl/HBr microwave aided pre-reduction of Se(VI) to Se(IV), *Talanta*, 52 (2000) 1015-1024.
65. Brindle, I. D., Lugowska, E.; Investigations into mild conditions for reduction of Se(VI) to Se(IV) and for hydride generation in determination of selenium by direct current plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta*, 52B (1997) 163-176.
66. Burguera, J. L., Carrero, P., Burguera, M., Rondon, C., Brunetto, M. R., Gallignani, M.; Flow injection for the determination of Se(IV) and Se(VI) by hydride generation atomic absorption spectrometry with microwave oven on-line prereduction of Se(VI) to Se(IV), *Spectrochimica Acta*, 51B (1996) 1837-1847.
67. Navarro-Alarcón, M., López-Martínez, M. C.; Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases, *The Science of the Total Environment*, 249 (2000) 347-371.
68. Naozuka, J., Oliveira, P. V., Pedrotti, J.J; Eletrodeposição de irídio em tubo de grafite como modificador químico permanente em espectrometria de absorção atômica, *Química Nova*, 26/6 (2003) 934-937.
69. Síma, J., Kychlovsky, P.; Electrochemical selenium hydride generation with in situ trapping in graphite tube atomizers, *Spectrochimica Acta*, 58B (2003) 919-930.
70. Moreno, R. G. M., Oliveira, E., Oliveira, P. V., Pedrotti, J. J.; An electrochemical flow-cell for permanent modification for mercury determination by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta*, 57B (2002) 769-778.
71. Sherrill, M. S., Izard, E. F.; The reduction potential of selenous acid and the free energy of aqueous selenic acid, *Journal of the American Chemical Society*, 50 (1928) 1665-1675.
72. Krivan, W., Petrick, K., Welz, B, Melcher, M.; Radiotracer error-diagnostic investigation of selenium determination by hydride-

- generation atomic absorption spectrometry involving treatment with hydrogen peroxide and hydrochloric acid, *Analytical Chemistry*, 57 (1985) 1703-1706.
73. Pinta, M.; "Spectrometrie d'absorption atomique", volume I e II, Masson Paris, 1980.
74. Correia, P. R. M., Oliveira, E., Oliveira, P.V.; Simultaneous determination of manganese and selenium in serum by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 57 (2002) 527-535.
75. Moreno, R. G. M., Oliveira, E., Oliveira, P. V., Pedrotti, J. J.; Uma célula eletroquímica de fluxo para modificação permanente de tubo de grafite empregado em absorção atômica, *Química Nova*, 24/3 (2001) 404-407.
76. Flores, E. M. M., Mortari, S. R., Martins, A. F.; Microbatch venturi-type system for determination of selenium (IV) by hydride generation atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12 (1997) 379-381.
77. Dissertação de mestrado: *Uso de microfrascos de digestão em forno de microondas como uma alternativa para a preparação de amostras*, Shan, T.C., 2002.
78. Subramanian, K. S.; Determination of metals in biofluids and tissues: sample preparation methods for atomic spectroscopic techniques, *Spectrochimica Acta*, 51B (1996) 291-319.
79. Collins, M. L. P.; Salton, M.R.J.; Solubility characteristics of *Micrococcus lysodeikticus* membrane components in detergents and chaotropic salts analyzed by immunoelectrophoresis, *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 533/1 (1979) 40-53.
80. Viñas, P., Campillo, N., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.; Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of molybdenum, aluminium, chromium and manganese in milk, *Analytica Chimica Acta*, 356 (1997) 267-276.

-
81. Campillo, N., Viñas, P., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.; Rapid determination of lead and cadmium in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry using Zeeman correction, *Analytica Chimica Acta*, 390 (1990) 207-215.
 82. Campillo, N., Viñas, P., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.; Determination of arsenic in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analyst*, 125 (2000) 313-316
 83. Campillo, N., Viñas, P., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.; Selenium determination in biological fluids using Zeeman background correction electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytical Biochemistry*, 280 (2000) 195-200.
 84. Serviço geológico do Brasil - CPRM; Perspectivas do meio ambiente do Brasil - Uso do subsolo, disponível em: www.cprm.gov.br, acesso em: Out. 2003.
 85. Warner, C. R., Diachenko, G. W., Bailey, C. J.; Sulfites: an important food safety issue, *Food Testing & Analysis*, Agosto/setembro, (2000) 1-3.
 86. Volynsky, A. B.; Mechanisms of action of platinum group modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta*, 55B (2000) 103-150.
 87. Aleixo, P.C., Nóbrega, J. A.; Santos, D.J., Muller, R. C. S.; Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite, *Química Nova*, 23/3 (2000) 310-312.
 88. Bolea, E., Laborda, F., Belarra, M. A., Castillo, J. R.; Interferences in electrochemical hydride generation of hydrogen selenide, *Spectrochimica Acta*, 56B (2001) 2347-2360.

7. APÊNDICE

7.1 Apêndice 1

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 μm de porosidade de água de coco natural e pasteurizada a 90 °C por 180 s.

		concentração (mg L^{-1}) $\pm$ desvio padrão (n = 3)	
		Natural	Pasteurizada
Ca	Resíduo	1,2 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,1
	Filtrado	153 $\pm$ 2	151 $\pm$ 1
	F+R*	154 $\pm$ 2	153 $\pm$ 1
	Total	150 $\pm$ 1	152 $\pm$ 1
K	Resíduo	10,4 $\pm$ 2,7	16,4 $\pm$ 0,4
	Filtrado	1184 $\pm$ 14	1152 $\pm$ 9
	F+R*	1194 $\pm$ 15	1168 $\pm$ 9
	Total	1166 $\pm$ 7	1187 $\pm$ 8
Mg	Resíduo	0,55 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,02
	Filtrado	50,6 $\pm$ 0,4	49,6 $\pm$ 0,2
	F+R*	51,2 $\pm$ 0,4	50,1 $\pm$ 0,2
	Total	53,8 $\pm$ 0,5	55,3 $\pm$ 0,4
Mn	Resíduo	0,027 $\pm$ 0,005	0,026 $\pm$ 0,01
	Filtrado	2,70 $\pm$ 0,02	2,62 $\pm$ 0,04
	F+R*	2,73 $\pm$ 0,02	2,65 $\pm$ 0,04
	Total	2,87 $\pm$ 0,04	2,95 $\pm$ 0,03
Na	Resíduo	4,12 $\pm$ 0,32	0,54 $\pm$ 0,02
	Filtrado	67,5 $\pm$ 1,2	63,2 $\pm$ 0,5
	F+R*	71,6 $\pm$ 1,2	63,7 $\pm$ 0,5
	Total	65,6 $\pm$ 0,4	64,3 $\pm$ 0,4
Zn	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	0,144 $\pm$ 0,013	0,149 $\pm$ 0,015
	F+R*	0,144 $\pm$ 0,013	0,149 $\pm$ 0,015
	Total	0,162 $\pm$ 0,015	0,160 $\pm$ 0,015
		concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ desvio padrão (n = 3)	
Al	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	26 $\pm$ 1	26 $\pm$ 2
	F+R*	26 $\pm$ 1	26 $\pm$ 2
	Total	23 $\pm$ 4	27 $\pm$ 1
Cu	Resíduo	<LD	29 $\pm$ 1
	Filtrado	3 $\pm$ 1	164 $\pm$ 2
	F+R*	3 $\pm$ 1	193 $\pm$ 2
	Total	5 $\pm$ 1	198 $\pm$ 11
Fe	Resíduo	49 $\pm$ 15	35 $\pm$ 13
	Filtrado	104 $\pm$ 6	90 $\pm$ 12
	F+R*	153 $\pm$ 16	125 $\pm$ 18
	Total	138 $\pm$ 11	125 $\pm$ 7

*F+R - filtrado + resíduo

7.2 Apêndice 2

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,025 μm de porosidade de água de coco natural e pasteurizada a 90 °C por 180 s.

		concentração (mg L^{-1}) $\pm$ desvio padrão (n = 3)	
		Natural	Pasteurizada
Ca	Resíduo	0,81 $\pm$ 0,06	1,3 $\pm$ 0,1
	Filtrado	143 $\pm$ 2	153 $\pm$ 2
	F+R*	144 $\pm$ 2	154 $\pm$ 2
	Total	150 $\pm$ 1	152 $\pm$ 1
K	Resíduo	17 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1
	Filtrado	1104 $\pm$ 8	1178 $\pm$ 16
	F+R*	1121 $\pm$ 8	1192 $\pm$ 16
	Total	1166 $\pm$ 7	1187 $\pm$ 8
Mg	Resíduo	0,61 $\pm$ 0,02	0,44 $\pm$ 0,03
	Filtrado	47 $\pm$ 1	51 $\pm$ 1
	F+R*	48 $\pm$ 1	51 $\pm$ 1
	Total	54 $\pm$ 1	55 $\pm$ 1
Mn	Resíduo	0,033 $\pm$ 0,003	0,022 $\pm$ 0,006
	Filtrado	2,5 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1
	F+R*	2,5 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,1
	Total	2,9 $\pm$ 0,1	2,95 $\pm$ 0,03
Na	Resíduo	4,1 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,5
	Filtrado	68 $\pm$ 1	65 $\pm$ 1
	F+R*	72 $\pm$ 1	66 $\pm$ 1
	Total	66 $\pm$ 1	64 $\pm$ 1
Zn	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	0,15 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,01
	F+R*	0,15 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,01
	Total	0,16 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02
		concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ desvio padrão (n = 3)	
Al	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	30 $\pm$ 5	35 $\pm$ 2
	F+R*	30 $\pm$ 5	35 $\pm$ 2
	Total	23 $\pm$ 4	27 $\pm$ 1
Cu	Resíduo	<LD	6 $\pm$ 1
	Filtrado	4 $\pm$ 1	171 $\pm$ 3
	F+R*	4 $\pm$ 1	177 $\pm$ 3
	Total	5 $\pm$ 1	198 $\pm$ 11
Fe	Resíduo	30 $\pm$ 7	28 $\pm$ 1
	Filtrado	90 $\pm$ 12	97 $\pm$ 12
	F+R*	120 $\pm$ 14	125 $\pm$ 12
	Total	138 $\pm$ 11	125 $\pm$ 7

*F+R - filtrado + resíduo

7.3 Apêndice 3

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 µm de porosidade de água de coco natural e pasteurizada a 90 °C por 190 s.

		concentração (mg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)	
		Natural	Pasteurizada
Ca	Resíduo	0,65 ± 0,03	0,43 ± 0,07
	Filtrado	217 ± 2	211 ± 2
	F+R*	218 ± 2	211 ± 2
	Total	199 ± 6	201 ± 3
K	Resíduo	11,7 ± 0,4	12,9 ± 0,4
	Filtrado	1181 ± 14	1084 ± 9
	F+R*	1193 ± 14	1097 ± 9
	Total	1076 ± 21	1084 ± 14
Mg	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	54,8 ± 0,1	56,2 ± 0,3
	F+R	54,8 ± 0,1	56,2 ± 0,3
	Total	53 ± 2	54 ± 1
Mn	Resíduo	0,15 ± 0,02	0,35 ± 0,03
	Filtrado	2,76 ± 0,1	2,52 ± 0,06
	F+R*	3,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1
	Total	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Na	Resíduo	0,41 ± 0,01	0,37 ± 0,02
	Filtrado	98 ± 2	94 ± 4
	F+R*	98 ± 2	94 ± 4
	Total	97 ± 2	96 ± 2
Zn	Resíduo	0,020 ± 0,001	0,010 ± 0,001
	Filtrado	0,31 ± 0,01	0,38 ± 0,01
	F+R*	0,33 ± 0,01	0,39 ± 0,01
	Total	0,34 ± 0,01	0,39 ± 0,01
		concentração (µg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)	
Cu	Resíduo	0,010 ± 0,01	0,08 ± 0,01
	Filtrado	21 ± 3	25 ± 3
	F+R*	21 ± 3	25 ± 3
	Total	25 ± 1	25 ± 1
Fe	Resíduo	114 ± 19	103 ± 18
	Filtrado	140 ± 20	180 ± 20
	F+R*	254 ± 24	273 ± 23
	Total	250 ± 30	250 ± 30

*F+R - filtrado + resíduo

7.4 Apêndice 4

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 µm de porosidade de água de coco natural e pasteurizada a 90 °C por 300 s.

		concentração (mg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)	
		Natural	Pasteurizada
Ca	Resíduo	0,35 ± 0,02	0,51 ± 0,03
	Filtrado	170 ± 1	173 ± 2
	F+R	170 ± 1	174 ± 2
	Total	192 ± 2	193 ± 1
K	Resíduo	8 ± 1	12 ± 1
	Filtrado	701 ± 1	709 ± 2
	F+R*	709 ± 1	721 ± 4
	Total	953 ± 3	925 ± 3
Mg	Resíduo	<LD	<LD
	Filtrado	75 ± 1	76 ± 1
	F+R*	75 ± 1	76 ± 1
	Total	77 ± 1	76 ± 1
Mn	Resíduo	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,01
	Filtrado	3,1 ± 0,2	2,8 ± 0,2
	F+R*	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,2
	Total	3,2 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Na	Resíduo	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,1
	Filtrado	106 ± 1	95 ± 1
	F+R*	107 ± 1	96 ± 1
	Total	108 ± 1	96 ± 3
Zn	Resíduo	0,013 ± 0,003	0,012 ± 0,003
	Filtrado	0,110 ± 0,010	0,120 ± 0,020
	F+R*	0,123 ± 0,010	0,132 ± 0,020
	Total	0,150 ± 0,020	0,110 ± 0,010
		concentração (µg L ⁻¹) ± desvio padrão (n = 3)	
Cu	Resíduo	3,5 ± 0,1	3,3 ± 0,1
	Filtrado	19 ± 2	20 ± 2
	F+R*	23 ± 2	23 ± 2
	Total	20 ± 1	24 ± 4
Fe	Resíduo	5,6 ± 0,1	5,8 ± 0,4
	Filtrado	290 ± 20	305 ± 16
	F+R*	296 ± 20	311 ± 16
	Total	323 ± 23	296 ± 24

*F+R - filtrado + resíduo

7.5 Apêndice 5

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,10 µm de porosidade de água de coco natural e congelada a -30 °C por 30 e 120 dias.

		Concentração (mg L ⁻¹) ± desvio padrão (n=3)		
		Congelada		
		Natural	30 dias	120 dias
Ca	Resíduo	1,46 ± 0,04	1,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1
	Filtrado	274 ± 4	230 ± 2	237 ± 2
	F+R*	275 ± 4	232 ± 2	240 ± 2
	Total	259 ± 4	240 ± 1	239 ± 2
K	Resíduo	10,8 ± 0,4	11,2 ± 0,5	20 ± 1
	Filtrado	1558 ± 17	1308 ± 13	1362 ± 10
	F+R*	1568 ± 17	1319 ± 13	1382 ± 10
	Total	1374 ± 2	1350 ± 1	1385 ± 12
Mg	Resíduo	0,52 ± 0,03	0,54 ± 0,04	1,0 ± 0,1
	Filtrado	103 ± 2	81 ± 2	92 ± 1
	F+R*	103 ± 2	82 ± 2	93 ± 1
	Total	91 ± 2	83 ± 1	99 ± 1
Mn	Resíduo	0,029 ± 0,003	0,030 ± 0,004	0,050 ± 0,006
	Filtrado	4,9 ± 0,1	3,99 ± 0,03	4,4 ± 0,1
	F+R*	4,9 ± 0,1	4,02 ± 0,03	4,5 ± 0,1
	Total	4,6 ± 0,1	4,16 ± 0,01	4,8 ± 0,1
Na	Resíduo	0,80 ± 0,03	1,0 ± 0,1	3,0 ± 0,3
	Filtrado	308 ± 3	241 ± 3	243 ± 2
	F+R*	309 ± 3	242 ± 3	246 ± 2
	Total	257 ± 1	256 ± 1	247 ± 3
Zn	Resíduo	0,003 ± 0,001	0,008 ± 0,001	<LD
	Filtrado	0,21 ± 0,02	0,175 ± 0,003	0,16 ± 0,01
	F+R*	0,21 ± 0,02	0,183 ± 0,003	0,16 ± 0,01
	Total	0,212 ± 0,002	0,192 ± 0,002	0,19 ± 0,02
		Concentração (µg L ⁻¹) ± desvio padrão (n=3)		
Al	Resíduo	<LD	<LD	<LD
	Filtrado	24 ± 4	22 ± 5	32 ± 1
	F+R*	24 ± 4	22 ± 5	32 ± 1
	Total	25 ± 2	22 ± 2	28 ± 5
Cu	Resíduo	<LD	<LD	5 ± 1
	Filtrado	93 ± 17	112 ± 16	119 ± 4
	F+R*	93 ± 17	112 ± 16	124 ± 4
	Total	112 ± 13	116 ± 2	130 ± 6
Fe	Resíduo	7 ± 3	11 ± 2	20 ± 4
	Filtrado	84 ± 4	84 ± 15	90 ± 15
	F+R*	91 ± 5	95 ± 15	110 ± 16
	Total	103 ± 18	92 ± 13	114 ± 21

*F+R - filtrado + resíduo

7.6 Apêndice 6

Concentração de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn total e nas diferentes frações (resíduo e filtrado) obtidos após ultrafiltração com filtro de membrana de 0,025 μm de porosidade de água de coco natural e congelada a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 e 120 dias.

		Concentração (mg L^{-1}) $\pm$ desvio padrão (n=3)		
		Congelada		
		Natural	30 dias	120 dias
Ca	Resíduo	$5,3 \pm 0,1$	$7,5 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,1$
	Filtrado	257 ± 4	231 ± 2	241 ± 5
	F+R*	262 ± 4	238 ± 3	243 ± 5
	Total	259 ± 4	240 ± 1	239 ± 2
K	Resíduo	46 ± 1	56 ± 3	21 ± 1
	Filtrado	1876 ± 10	1299 ± 9	1386 ± 9
	F+R*	1922 ± 10	1335 ± 9	1407 ± 9
	Total	1374 ± 2	1350 ± 1	1385 ± 12
Mg	Resíduo	$1,1 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,1$
	Filtrado	134 ± 1	77 ± 1	95 ± 1
	F+R*	135 ± 1	80 ± 12	96 ± 1
	Total	91 ± 2	83 ± 1	99 ± 1
Mn	Resíduo	$0,12 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,02$	$0,053 \pm 0,008$
	Filtrado	$3,4 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1$
	F+R*	$3,5 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,1$
	Total	$4,6 \pm 0,1$	$4,16 \pm 0,01$	$4,8 \pm 0,1$
Na	Resíduo	$1,2 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,5$
	Filtrado	226 ± 3	241 ± 3	249 ± 4
	F+R*	228 ± 3	247 ± 3	252 ± 4
	Total	257 ± 1	256 ± 1	247 ± 3
Zn	Resíduo	$0,16 \pm 0,01$	$0,031 \pm 0,012$	<LD
	Filtrado	$0,17 \pm 0,01$	$0,201 \pm 0,018$	$0,18 \pm 0,01$
	F+R*	$0,33 \pm 0,01$	$0,232 \pm 0,022$	$0,18 \pm 0,01$
	Total	$0,212 \pm 0,002$	$0,192 \pm 0,002$	$0,19 \pm 0,02$
		Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ desvio padrão (n=3)		
Al	Resíduo	<LD	<LD	<LD
	Filtrado	25 ± 7	25 ± 4	35 ± 5
	F+R*	25 ± 7	25 ± 4	35 ± 5
	Total	25 ± 2	22 ± 2	28 ± 5
Cu	Resíduo	<LD	<LD	3 ± 1
	Filtrado	129 ± 8	122 ± 8	111 ± 2
	F+R*	129 ± 8	122 ± 8	114 ± 2
	Total	112 ± 13	116 ± 2	130 ± 6
Fe	Resíduo	30 ± 8	29 ± 9	<LD
	Filtrado	88 ± 3	78 ± 8	98 ± 17
	F+R*	110 ± 9	107 ± 12	98 ± 17
	Total	103 ± 18	92 ± 13	114 ± 21

*F+R - filtrado + resíduo

CURRICULUM VITAE

1. Dados pessoais

Nome: Juliana Naozuka

Filiação: Marcelo Haruo Naozuka e Júlia Shirasu Naozuka

Data de nascimento: 04/08/1978

Idade: 25 anos

Estado civil: Solteira

Nacionalidade: Brasileira/São Paulo (SP)

2. Formação acadêmica

Fundamental: EEPG Domingos Mignoni, São Paulo (SP), 1993.

Médio: Colégio Guilherme Dumont Vilares, São Paulo (SP), 1996.

Superior: Bacharelado em Química, Instituto de Química – USP/São Paulo (SP), 2001.

Mestrado: Instituto de Química – USP/São Paulo (SP), 2004.

3. Ocupação

Bolsista Fapesp (02/05091-0) desde agosto de 2002.

4. Artigos publicados

1. Naozuka, J., Pedrotti, J.J., Oliveira, P.V.; *“Eletrodeposição de Irídio em tubo de grafite como modificador químico permanente em espectrometria de absorção atômica”*, Química Nova, n. 26, 2003, p.934-937

2. Naozuka, J., Veiga, M. A. M. S., Oliveira, E., Oliveira, P. V.; *"Determination of Chlorine, Bromine and Iodine in Milk Samples by ICP OES"*, Journal Analytical Atomic Spectrometry. n. 18, 2003, 917-921.

5. Artigos submetidos e em redação

1. *"Determination direct of Al and Cu in coconut water by atomic absorption spectrometry"*. Juliana Naozuka e Pedro V. Oliveira. **Food Chemistry**. (submetido)
2. *"Determination of cátions and anions in natural and commercial coconut water"* Juliana Naozuka, Pedro V. Oliveira, Márcia A. M. S. da Veiga, Elisabeth de Oliveira, Eduardo Mathias Richter. **Food Chemistry**.
3. *"Effect of conservation processes in the elemental composition of coconut water"* Juliana Naozuka, Pedro V. Oliveira, Carmen C. Tadini and Nathalia C. Murasaki. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.