

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
Departamento de Química Analítica

“USO DA ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA EM PLASMA DE
ARGÔNIO COM ACOPLAMENTO INDUTIVO NA DETERMINAÇÃO DE
NUTRIENTES E CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ÁGUA DE COCO
NATURAL E INDUSTRIALIZADA”

Rafael Arromba de Sousa

Orientadora: Prof^a Dr^a Solange Cadore

Campinas, São Paulo
Julho de 2003

***Dedico esta dissertação aos meus pais,
Suseli e Antonio.***

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Solange Cadore, pela oportunidade de realizar este projeto, pela orientação e apoio;

A todos os professores do Instituto de Química da UNICAMP, pela contribuição na minha formação e, em especial, ao Prof. Nivaldo Baccan pela valiosa colaboração neste trabalho;

Ao Paulo, técnico do laboratório, pelo apoio e companheirismo. À técnica Helena, por ter me auxiliado nas inúmeras análises que realizei e também pelo apoio e bom humor;

Ao Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim e à Gislaine Ghiselli, por viabilizarem as análises de carbono orgânico total.

Ao Pimpim, e funcionários da CPG, faxina, informática, vidraria, vigilância, do desenho e xerox;

Ao pessoal do laboratório (Aline, Aloísia, Anderson, Antenor, Érika, Gisele, Greice, Helena, Josiane, Luiz, Martha, Regina, Rita, Vilarinho), pelo agradável ambiente de trabalho e auxílio e, em especial, ao Júlio e à Tereza pelas sugestões durante a realização deste trabalho e auxílio na operação do ICP;

Ao Waldomiro, pelo suporte na realização das análises quimiométricas.

À minha tia Carmem e à Irmã Marlene Mendonça, por terem me ajudado na aquisição dos cocos de diferentes estados;

À FAPESP, à CAPES e ao FAEP, pelo apoio financeiro;

Ao Instituto de Química, pelas facilidades durante a realização do trabalho.

Aos meus avós, Dirce e Antonio, ao meu irmão Lucas, tio “Alemão” e à Iara, ao Dr. Carlos, à Dulce e aos meus amigos Vicente, Ney, César e Flor, Lê, Fábio, Graça, Marci, Marli, Fred, Laura, Ângela, Dani e Sandro, Alessandra e pessoal do GECC, pelo incentivo e apoio;

E a todos que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho.

“Bom mesmo é passar uma tarde na praia, sentir a preguiça no corpo, olhar para o encontro do céu e do mar e beber uma água de coco.”

(Vinícios de Moraes; “Tarde em Itapoã”)

SÚMULA CURRICULAR

Rafael Arromba de Sousa

Formação

Bacharelado em Química – UNICAMP, 1997 – 2001.

Atividades acadêmicas

Instituto de Química, UNICAMP

Monitoria acadêmica - Programa de Apoio Didático do Instituto de Química
Disciplina de Laboratório de Química Geral, 08/2000 a 01/2001

Monitoria acadêmica - Programa de Apoio Didático do Instituto de Química
Disciplina de Laboratório de Química Geral, 03/2001 a 07/2001

Iniciação Científica; 09/1999 a 08/2000

“Separação e Determinação de Níquel em Amostras de Interesse Ambiental e Alimentos, Utilizando Espectrometria de Absorção Atômica por Chama Combinada com a Pré-concentração Usando Ditiooxamida Suportada em Naftaleno Microcristalino”. Orientação: Prof. Dr. Nivaldo Baccan.

Iniciação Científica; 09/1998 a 08/1999

“Síntese de Polianilina em Escala Pré-Piloto e Tratamento dos Resíduos”. Orientação: Prof. Dr. Marco-Aurélio De Paoli.

Publicações

De Sousa, R. A.; Silva, J. C. J.; Baccan, N.; Cadore, S. "Direct Determination of Metals in Bottled Coconut Water Using a Double - View Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer"; J. Food Comp. Anal., submetido.

De Sousa, R. A.; Araújo, A. O.; De Freitas, P. S.; De Paoli, M. A. "Tratamento de Resíduos Gerados na Síntese de Polianilina em Escala Pré-piloto"; Química Nova, 26 (6), 938-942, 2003.

Trabalhos em Congressos

a) Congressos Internacionais

De Sousa, R. A.; Silva, J. C. J.; Cadore, S.; Baccan, N. "Direct determination of Ca, Mg, Mn and Fe in industrialized coconut water using Inductively Coupled

Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES)". Painel apresentado no "Euroanalysis 12"- Dortmund, Alemanha, 8 - 13/09/2002.

De Sousa, R. A.; Lopes, A.; Cadore, S.; Bueno, M. I. M. S. "Coconut Elemental Analysis by XRF - Comparing Water and Edible Pulp". Painel apresentado no "European Conference on Energy Dispersive X-Ray Spectrometry" (EDXRS 2002) - Berlim, Alemanha, 16 - 21/06/2002.

De Sousa, R. A.; Mendes, T. M. F. F.; Cadore, S.; Baccan, N. "Study of metals determination in industrialized coconut water using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES)". Painel apresentado no "Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry" - Florianópolis, Brasil, 7 - 12/04/2002.

b) Congressos Nacionais

De Sousa, R. A.; Baccan, N.; Cadore, S. "Uso de ICP OES na Determinação de Metais em Água de Coco Natural e Industrializada". Painel apresentado no "13^o Encontro Nacional de Analistas de Alimentos" (13^o ENAAL) – Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 22 - 25/06/2003.

De Sousa, R. A.; Baccan, N.; Cadore, S. "Determinação Direta de Metais em Água de Coco Natural Utilizando a Espectrometria de Emissão em Plasma". Painel apresentado na "26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química" (26^a RASBQ) - Poços de Caldas, MG, Brasil, 26 - 29/05/2003.

De Sousa, R. A.; Bortoleto, G. G.; Baccan, N.; Cadore, S. "Metais na Composição de Água de Coco Industrializada". Painel apresentado no "VIII Encontro Nacional Sobre Contaminantes Inorgânicos e III Simpósio Sobre Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana" (ENCI - INCQS 2002) - Rio de Janeiro, Brasil, 23 - 25/10/2002.

De Sousa, R. A.; Baccan, N. "Estudo Analítico da Extração de Ni(II) Utilizando Dítiooxamida". Painel apresentação no "VIII Congresso Interno de Iniciação Científica" – UNICAMP, 19 – 20/09/2000.

De Sousa, R. A.; De Freitas, P. S.; De Paoli, M. A. " Tratamento dos Resíduos Gerados pela Síntese de Polianilina em Escala Pré-Piloto" (Parte II). Painel apresentado na "22^a Reunião Anual da SBQ" (22^a RASBQ), Poços de Caldas/ MG, 25 – 28/05/1999.

De Sousa, R. A.; De Freitas, P. S.; De Paoli, M. A. "Tratamento dos Resíduos Gerados pela Síntese de Polianilina em Escala Pré-Piloto" (Parte I). Painel apresentado no "I Workshop Científico dos Pós-Graduandos da Unicamp", UNICAMP, 01 – 03/09/1998.

RESUMO

Uso da Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma de Argônio com Acoplamento Indutivo na Determinação de Nutrientes e Contaminantes Inorgânicos em Água de Coco Natural e Industrializada

Autor: Rafael Arromba de Sousa

Orientador: Prof^ª Dr^ª Solange Cadore

O coco é um fruto bastante popular nas regiões tropicais de todo o mundo, por apresentar uma água saborosa, hidratante e com propriedades terapêuticas.

Considerando a escassez de informações sobre a composição da água de coco brasileiro e visando estabelecer valores médios para a concentração de alguns metais, determinou-se Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu por Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma de Argônio com Acoplamento Indutivo em amostras de água de coco natural (ACN) e industrializada (ACI).

As amostras foram filtradas, diluídas a 20 % m/v em HNO₃ 2 % v/v, introduzidas diretamente no espectrômetro e analisadas em condições experimentais otimizadas (potência do plasma, vazão de nebulização, comprimentos de onda, configuração de tocha – radial/axial – e uso de padrão interno). As determinações apresentaram precisão e exatidão satisfatórias; nos experimentos de adição e recuperação de analitos, as recuperações ficaram entre 90 e 110 %, indicando um efeito de matriz praticamente desprezível.

As concentrações dos analitos, em mg L⁻¹ e expressas em intervalos com 95 % de confiança, para as amostras de ACI e ACN foram, respectivamente: Ca (205 ± 27; 172 ± 65), Mg (108 ± 21; 69 ± 19), Mn (2,8 ± 0,9; 2,9 ± 1,9), Zn (0,28 ± 0,08; 0,11 ± 0,07), Fe (0,13 ± 0,05) e Cu (0,14 ± 0,05). Fe e Cu, em baixas concentrações, foram encontrados apenas nas amostras de ACI.

Os métodos analíticos empregados permitiram determinar macro e microconstituintes minerais em ACI e ACN, sem a mineralização das amostras, tornando-os adequados para análises de rotina, como as de controle de qualidade.

ABSTRACT

Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry for the Determination of Inorganic Nutrients and Contaminants in Natural and Bottled Coconut Water

Author: Rafael Arromba de Sousa

Supervisor: Prof. Dr. Solange Cadore

Coconut is a popular fruit in tropical regions over all the world, due to its tasteful water which has also medicinal properties.

Considering the lack of information of Brazilian coconut water composition the objective of this work was to establish medium values for the concentration of Ca, Mg, Mn, Fe, Zn and Cu in natural (ACN) and bottled (ACI) coconut water using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.

The samples were filtered, diluted to 20 % w/v in 2% v/v HNO₃, directly introduced into the spectrometer and analyzed under optimized conditions (plasma power, nebulizer flow rate, wave length, torch configuration - radial/axial - and internal standard solution). The determinations showed good precision and accuracy with recoveries between 90 and 110 %, indicating a negligible matrix effect in the experiments using analyte addition.

The medium concentrations (mg L⁻¹), expressed with 95 % of confidence level for ACI and ACN samples were, respectively: Ca (205 ± 27; 172 ± 65), Mg (108 ± 21; 69 ± 19), Mn (2,8 ± 0,9; 2,9 ± 1,9), Zn (0,28 ± 0,08; 0,11 ± 0,07), Fe (0,13 ± 0,05) and Cu (0,14 ± 0,05). Fe and Cu were found only in ACI samples.

With the proposed methods it was possible to determine macro and microconstituents in natural and bottled coconut water without sample pretreatment.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE FIGURAS.....	XV
1.1. 1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1. A espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo.....	4
2.2. O coco e a água de coco.....	8
2.3. Características dos metais que podem ser encontrados na água de coco.....	11
2.4. A determinação de constituintes minerais em água em coco.....	13
2.5. Métodos quimiométricos para reconhecimento de padrões.....	14
3. OBJETIVOS	
3.1. Objetivos gerais.....	17
3.2. Objetivos específicos.....	17
4. PARTE EXPERIMENTAL	
4.1. Instrumentação, limpeza de materiais e reagentes.....	18
4.2. Aquisição e estocagem de amostras.....	19
4.3. Estudo preliminar - determinação de carbono orgânico total (TOC).....	20
4.4. Procedimento geral.....	20
4.5. Otimização da potência do plasma e vazão de nebulização para amostras de água de coco industrializada e natural.....	21

4.5.1. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco industrializada.....	21
4.5.1.1. Figuras de mérito (análise de água de coco industrializada).....	22
4.5.2. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco natural.....	23
4.5.2.1. Figuras de mérito (análise de água de coco natural).....	23
4.6. Aplicação analítica	
4.6.1. Análise de amostras de água de coco industrializada.....	24
4.6.2. Análise de amostras de água de coco natural.....	24
4.6.3. Avaliação dos resultados das análises das amostras de água de coco natural e industrializada empregando PCA e HCA.....	25
4.7. Avaliação do desempenho analítico do nebulizador “cone spray”.....	25
4.8. Estudo complementar: estimativa das concentrações de Na e K em água de coco industrializada e natural.....	26
4.9. Tratamento dos resíduos gerados.....	26

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo preliminar - determinação de carbono orgânico total.....	27
5.2. Procedimento geral.....	28
5.3. Otimização da potência do plasma e fluxo de nebulização para a análise de água de coco industrializada e natural	
5.3.1. Água de coco industrializada.....	29
5.3.2. Água de coco natural.....	32
5.4. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco industrializada.....	35
5.4.1. Figuras de mérito (água de coco industrializada).....	39

5.5. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco natural.....	41
5.5.1. Figuras de mérito (água de coco natural).....	44
5.6. Aplicação analítica	
5.6.1. Análise de amostras de água de coco industrializada e contribuição nutricional da bebida.....	46
5.6.2. Análise de amostras de água de coco natural e contribuição nutricional da bebida.....	48
5.6.3. Avaliação dos resultados das análises de água de coco natural e industrializada empregando PCA e HCA.....	50
5.7. Avaliação do desempenho do nebulizador <i>cone spray</i>	54
5.8. Estudo complementar: estimativa das concentrações de Na e K em água de coco industrializada e natural.....	58
6. CONCLUSÕES.....	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
8. APÊNDICES	
. Ilustração dos nebulizadores <i>cross-flow</i> e <i>cone spray</i>	66
. Composição da amostra “Mixed Food Diet”.....	67
. Valores de BEC nas condições experimentais para a análise de água de coco industrializada.....	68
. Valores de BEC nas condições experimentais para a análise de água de coco natural.....	69
. Limites de detecção e quantificação para a análise de água de coco natural e industrializada empregando-se o nebulizador <i>cone spray</i>	70
. Protocolo analítico.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS

- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
- ATP:** trifosfato de adenosina;
- BEC:** do inglês *Background Equivalent Concentration* (Concentração Equivalente de Fundo);
- HCA:** do inglês *Hierarchical Cluster Analysis* (Análise Hierárquica de Agrupamentos);
- ICP:** do inglês *Inductively Coupled Plasma* (Plasma com Acoplamento Indutivo);
- ICP OES:** do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (Espectrometria de Emissão em Plasma com Acoplamento Indutivo);
- KNN:** do inglês *K – Nearest Neighbour* (K – Vizinho mais Próximo);
- LD:** Limite de detecção;
- LDA:** do inglês *Linear Discriminant Analysis* (Análise de Discriminate Linear);
- LQ:** Limite de quantificação;
- PC:** do inglês *Principal Components* (Componentes Principais);
- PCA:** do inglês *Principal Components Analysis* (Análise de Componentes Principais);
- RF:** Rádio frequência;
- RSD:** do inglês *Relative Standard Deviation* (Desvio Padrão Relativo);
- SBR:** do inglês *Signal to Background Ratio* (Razão Sinal/Ruído);
- SCD:** do inglês *Segmented Array Charge Coupled Device* (Dispositivo de Arranjo Segmentado de Carga Acoplada);
- SNR:** do inglês *Signal to Noise Ratio* (Razão Sinal/Ruído);
- TOC:** do inglês *Total Organic Carbon* (Carbono Orgânico Total);
- USDA:** do inglês *United States Agriculture Departament* (Departamento da Agricultura dos Estados Unidos);
- VD:** Valor diário.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição orgânica da água de coco verde brasileiro [5].....	10
Tabela 2: Macroelementos da água do coco indonês [10].....	11
Tabela 3: Micronutrientes minerais da água do coco indonês [10].....	11
Tabela 4: Condições experimentais utilizadas no ICP OES.....	19
Tabela 5: Massa dos analitos adicionados às amostras “A” e “B”, em mg.....	22
Tabela 6: Concentrações de carbono orgânico total para as amostras utilizadas na etapa de otimização dos parâmetros instrumentais.....	27
Tabela 7: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L ⁻¹ , determinadas nas amostras "A" e "B" e valores de recuperação.....	38
Tabela 8: Porcentagem de recuperação para Ca e Fe determinados em condições otimizadas e não otimizadas.....	38
Tabela 9: Limites de detecção e de quantificação, em mg L ⁻¹ , para a determinação de metais em água de coco industrializada e valores de LD declarados pelo fabricante [20]. Condições instrumentais: potência do plasma (1,3 kW), fluxo de nebulização (0,6 L min ⁻¹), ítrio como padrão interno (2 mg L ⁻¹).....	39
Tabela 10: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L ⁻¹ , determinados na amostra “Mixed Food Diet” nas condições experimentais para a análise de água de coco industrializada e n= 2.....	40
Tabela 11: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L ⁻¹ , determinadas nas amostras "SP" e "PB" e valores de recuperação para a adição dos analitos em dois níveis de concentração.....	43
Tabela 12: Limites de detecção e quantificação para a determinação de metais em água de coco natural e valores de LD declarados pelo fabricante [20]. Condições instrumentais: potência do plasma (1,4 kW) e fluxo de nebulização (0,6 L min ⁻¹).....	44
Tabela 13: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L ⁻¹ , determinadas na amostra “Mixed Food Diet” nas condições experimentais para a análise de água de coco natural e n= 2.....	45

Tabela 14: Concentrações, em mg L^{-1} , dos metais determinados em amostras (“C” a “I”) de água de coco industrializada.....	46
Tabela 15: Concentração média, em mg L^{-1} , para um intervalo com 95% de confiança, dos elementos determinados em amostras de água de coco industrializada.....	47
Tabela 16: Concentrações, em mg L^{-1} , para metais determinados em lotes diferentes (“L1” a “L5”) da amostra “A”	47
Tabela 17: Concentração, em mg L^{-1} , dos metais determinados em amostras (“PA”, “BA”, “MG”, “BA-A”, “RN”, “RD”) de água de coco natural.....	49
Tabela 18: Concentração média, para um intervalo com 95% de confiança dos elementos determinados em amostras de água de coco natural.....	49
Tabela 19: Concentrações e valores de recuperação, em mg L^{-1} , para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nas amostras “A” e “MG”.....	55
Tabela 20: Concentrações, em mg L^{-1} , obtidas com o uso das amostras “A” e “MG” a 40 % e empregando-se o nebulizador <i>cone spray</i> , e concentrações obtidas com as amostras a 20 % e empregando-se o nebulizador <i>cross-flow</i>	56
Tabela 21: Sensibilidades das curvas analíticas obtidas com o uso do nebulizador <i>cone spray</i> e com o uso do nebulizador <i>cross-flow</i> sob as condições de análise de água de coco industrializada.....	57
Tabela 22: Sensibilidades das curvas analíticas obtidas com o uso do nebulizador <i>cone spray</i> e com o uso do nebulizador <i>cross-flow</i> sob as condições de análise de água de coco natural.....	58
Tabela 23: Concentrações médias, em mg L^{-1} , de Na e K em amostras de água de coco industrializada e natural.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tocha de quartzo e o gradiente de temperatura do plasma [20].....	5
Figura 2: Sistema de detecção para a leitura do sinal analítico nos modos de observação axial e radial em um instrumento de dupla visão [20].....	6
Figura 3: Coco em fase de desenvolvimento (casca verde) e ao final do processo (casca marrom) [13].....	13
Figura 4: Decomposição da matriz de dados X em outras menores, de escores (T), pesos das variáveis (P) e resíduos (E), na PCA.....	15
Figura 5: Perfis das emissões de Ca, semelhantes aos de Mg, Mn e Fe, em função da potência do plasma e do fluxo de nebulização obtidos para a amostra “A” enriquecida.....	30
Figura 6: Relações entre as razões sinal/ruído e sinal/fundo em função da potência do plasma obtidas para os elementos Mn e Fe na amostra “A” enriquecida.....	31
Figura 7: Perfis das emissões de Ca, semelhante aos de Mg, Mn e Fe, em função da potência do plasma e da vazão de nebulização obtidos para a amostra “SP” enriquecida.....	33
Figura 8: Relações entre as razões sinal/ruído e potência do plasma e sinal/fundo e potência do plasma obtidas para os elementos Mn e Fe da amostra “SP”.....	34
Figura 9: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “A”. (a) Curvas analítica e de adição de Ca, visão axial, 2 mg L ⁻¹ de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Mg, visão radial, 2 mg L ⁻¹ de ítrio.....	36
Figura 10: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “A”. (a) Curvas analítica e de adição de Mn, visão axial, 2 mg L ⁻¹ de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Fe, visão axial, 2 mg L ⁻¹ de ítrio.....	37
Figura 11: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “B”. (a) Curvas analítica e de adição de Zn; visão axial; 2 mg L ⁻¹ de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Cu; visão axial; 2 mg L ⁻¹ de ítrio.....	37

Figura 12: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “SP”. (a) Curva de adição de Ca; visão radial. (b) Curva de adição de Mg; visão radial.....	42
Figura 13: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “SP”. (a) Curva de adição de Mn; visão radial. (b) Curva de adição de Fe; visão radial.....	42
Figura 14: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “PB”. (a) Curva de adição de Zn; visão axial. (b) Curva de adição de Cu; visão axial.....	43
Figura 15: Dendrograma correspondente à classificação de 34 amostras de água de coco, entre industrializadas e naturais, sendo 16 pertencentes à classe 1, 16 à classe 2 e 2 à classe 3.....	51
Figura 16: Gráfico dos escores (“Scores Plot”) correspondentes à classificação de 34 amostras de água de coco, entre industrializadas e naturais.....	52
Figura 17: Gráfico dos pesos (“Loads Plot”) para as variáveis Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nos três primeiros componentes principais.....	53

1. Introdução

Nutrição é o conjunto dos processos biológicos através dos quais os seres vivos utilizam, transformam e incorporam em seus organismos substâncias procedentes do meio em que vivem, garantindo a sua subsistência [1].

Os processos nutritivos possibilitam obter: (i) energia, para satisfazer o metabolismo basal e o gasto de energia devido às atividades, e (ii) materiais necessários para a formação e renovação das estruturas orgânicas e regulação dos processos metabólicos [1].

O funcionamento dos organismos vivos depende dos nutrientes que chegam às suas células. Existem cinco tipos de nutrientes: carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais. Os carboidratos, lipídeos e proteínas são denominados macronutrientes, enquanto as vitaminas e os minerais são denominados micronutrientes [1].

Depois do carbono, oxigênio e nitrogênio, as espécies químicas que devem estar presente em maior quantidade na alimentação humana são: Ca, P, S, K, Na, Cl e Mg. Estes elementos são denominados **macroelementos**, devido às quantidades relativamente altas dos mesmos, que são necessárias para cobrir as necessidades corporais, e por serem encontrados em concentrações altas nos alimentos. Existem também os **micronutrientes minerais**, que são: Fe, Zn, Cu, Mn, I, Se, Mo, Co, Cr, Si, Ni, V, Li, Sn, As e F. Estes elementos são componentes minerais minoritários dos alimentos e da água potável [1], e devem ser considerados sob dois aspectos: (i) essencialidade, onde são necessários para a realização do metabolismo humano e formação das partes constituintes do corpo [1,2]; e (ii) toxidez, quando alteram o metabolismo, provocando disfunções orgânicas. Enquanto os elementos tóxicos podem ser ingeridos apenas em pequenas quantidades, aqueles considerados essenciais (Fe, Zn, Cu, Mn, I, Se, Mo, Co e Cr) também prejudicam a saúde e podem causar até mesmo a morte quando ingeridos em altas concentrações [2,3]. Em outras palavras, o caráter tóxico ou essencial dos micronutrientes pode ser definido por um intervalo de concentração; os elementos que apresentam um intervalo entre essencialidade e

toxidez mais estreito são normalmente considerados sob o aspecto tóxico e aqueles que apresentam um intervalo mais extenso são considerados sob o aspecto essencial.

Infelizmente, não existem muitas informações no Brasil sobre a composição de nossos alimentos. As tabelas de composição de alimentos utilizadas são, geralmente, desatualizadas, pouco confiáveis (em função da metodologia utilizada), incluem produtos que não são mais consumidos e, muitas vezes, só consideram a composição dos alimentos no estado cru, sem levar em conta possíveis modificações durante o seu preparo [3].

A água de coco é uma bebida saborosa, bastante popular no Brasil e em outros países tropicais e intensamente utilizada como alimento terapêutico; apresenta alto valor nutricional (contém vários sais minerais e açúcares) e possui uma composição química adequada para a reidratação de pacientes com problemas gastro-intestinais [4-14].

No Brasil, além do seu consumo diretamente do fruto, nos últimos anos tem-se verificado um aumento na industrialização desta bebida [13] e, neste caso, pode ocorrer uma alteração no seu valor nutricional devido a fontes de perda e/ou contaminação inerentes ao processo [15].

Tendo em vista esses aspectos, estudos relacionados à monitoração de espécies presentes nessa bebida são importantes para investigar a composição química e nutricional da água de coco. Os poucos trabalhos publicados dão maior ênfase aos macronutrientes e aos macroelementos [5,10-11]. Além disso, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) [16] exige das indústrias apenas a indicação dos teores de Ca, Fe e Na, nos rótulos dos alimentos. Logo, estudos sobre as espécies inorgânicas, incluindo micronutrientes minerais, também devem ser considerados, pois estas espécies possuem um valor tóxico ou essencial, dependendo da concentração em que se encontram [2].

A determinação de elementos minerais na água de coco utilizando técnicas de análise multielementares, como a espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES), viabiliza procedimentos rápidos e simples

para monitorar macromelementos e micronutrientes minerais nessa bebida podendo ser empregados em estudos sobre a sua composição química. Pode ser usada também para um controle de qualidade mais minucioso, quando da industrialização da água de coco.

Neste trabalho, estudou-se a determinação de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Al e Se em água de coco natural e industrializada, por serem possíveis constituintes da matriz [10,11,13,14], além de Cd e Pb, para avaliar eventuais contaminações das amostras por metais potencialmente tóxicos. A presença de Na e K também foi avaliada nas amostras, porém, com menor ênfase, pois a presença destes macromelementos na matriz é bastante explorada na literatura [6-11,13].

As concentrações de diferentes metais que foram determinados em amostras de água de coco natural e industrializada constituem dados multivariados, que foram interpretados utilizando-se a Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) e a Análise de Componentes Principais (PCA), que são métodos quimiométricos de reconhecimento de padrões [17].

Os métodos de reconhecimento de padrões possibilitam encontrar e/ou prognosticar uma propriedade de um conjunto de amostras, a qual não é diretamente mensurável, mas que se relaciona com as medidas analíticas que são obtidas [17].

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo

O plasma é um gás parcialmente ionizado a altas temperaturas, variando em um gradiente de ~ 10000 a 6000 K, e apresenta a capacidade de conduzir corrente elétrica e de interagir com campos magnéticos [18,19,20].

A técnica de ICP OES baseia-se nas observações de emissões radioativas dos elementos constituintes da amostra, em um plasma, geralmente de argônio. No plasma obtém-se átomos e íons livres que podem ser detectados e determinados quantitativamente em função das intensidades de emissão em comprimentos de onda específicos. A vantagem do uso de um plasma como fonte de excitação, quando comparado com uma chama, é a obtenção de temperaturas mais altas e ambientes quimicamente menos reativos [18,19,20].

Um espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio com acoplamento indutivo constitui-se, basicamente, de um gerador de rádio frequência, um sistema para introdução da amostra, uma tocha, um sistema de gás argônio, um sistema óptico para a detecção do sinal analítico e um sistema computacional para controle do equipamento [18,19,20].

O gerador de rádio-frequência (RF) é um dispositivo elétrico empregado como fonte de potência. Tem a função de sustentar o plasma [18].

O sistema de nebulização é composto, em geral, por um nebulizador e uma câmara de nebulização. O nebulizador produz um aerossol da amostra que é conduzido ao plasma pela câmara, a qual favorece a introdução apenas das gotas de menor volume [20]. Existem dois tipos de nebulizadores usualmente empregados nos equipamentos de plasma com acoplamento indutivo (ICP): os pneumáticos e os ultra-sônicos, sendo os primeiros os mais comuns. Dentre as variedades de nebulizadores pneumáticos os mais eficientes são os concêntricos e, por isso, os mais populares. Entretanto, são suscetíveis de entupimento. Ao

contrário, os nebulizadores *cross-flow* e *cone spray* são menos suscetíveis, uma vez que apresentam um diâmetro maior do capilar de amostra [20].

No nebulizador *cross-flow* o fluxo do gás nebulizador (Ar) é perpendicular ao fluxo da amostra e, no *cone spray* a amostra flui sobre um orifício por onde passa o gás nebulizador, sendo mais adequado para amostras viscosas e com elevadas concentrações de sais e/ou sólidos não dissolvidos [20]. Neste trabalho, empregaram-se dois nebulizadores diferentes: um nebulizador de fluxo cruzado (*cross-flow*) e um nebulizador *cone spray*, que estão ilustrados no Anexo 1.

A tocha é um dispositivo de quartzo onde se forma o plasma. É constituída por três tubos concêntricos por onde passam os fluxos do argônio principal, auxiliar e nebulizador. O fluxo do argônio principal é responsável pela manutenção do plasma e proteção das paredes da tocha contra a fusão; o fluxo nebulizador introduz a amostra no plasma e o fluxo auxiliar tem a função de direcionar o aerossol da amostra para dentro do plasma [18]. A Figura 1 mostra uma tocha, com o plasma formado em sua extremidade, e o gradiente de temperatura do mesmo.

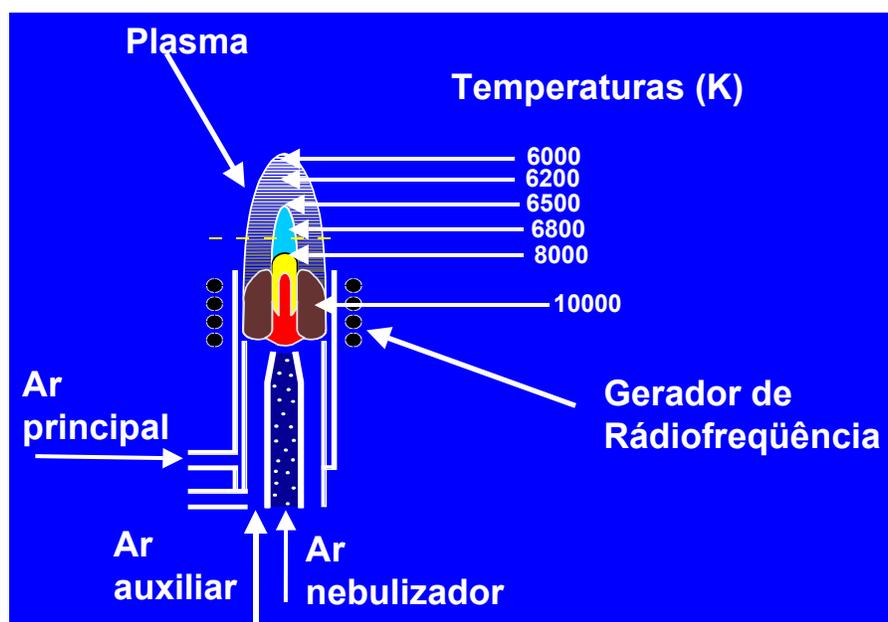


Figura 1: Tocha de quartzo e o gradiente de temperatura do plasma [20].

Entre as partes constituintes do espectrômetro, a mais complexa é o sistema óptico. Existem dois tipos de sistemas: um para medidas seqüenciais do sinal e outro para medidas simultâneas, e a observação do sinal pode ser realizada de duas formas: na configuração radial ou axial da tocha [18,19,20].

Quanto aos modos de observação da radiação emitida pelo plasma, existem instrumentos que fazem a leitura do sinal apenas em uma das configurações, e instrumentos dupla visão, que realizam medidas em ambas as configurações. Na configuração radial são captadas as emissões que ocorrem no raio da tocha, em uma dada altura de observação, enquanto as emissões que ocorrem no eixo da tocha são captadas na configuração axial, como ilustrado na Figura 2. Os instrumentos que fazem a leitura do sinal apenas em uma das configurações operam de maneira seqüencial ou simultânea, enquanto os instrumentos de dupla visão operam de maneira seqüencial/simultânea, em relação ao modo de observação do sinal e à realização da leitura [18,19,20].

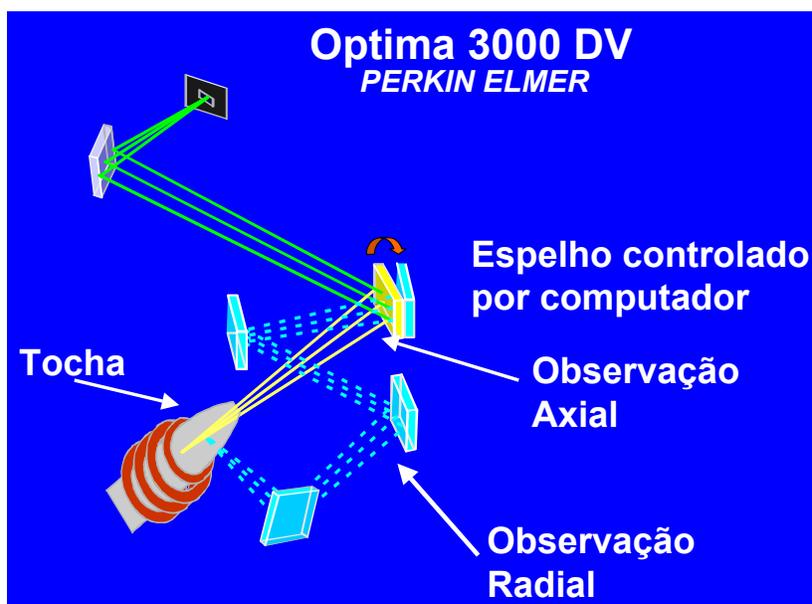


Figura 2: Sistema de detecção para a leitura do sinal analítico nos modos de observação axial e radial em um instrumento de dupla visão [20].

As diferenças entre as configurações radial e axial, além da posição de observação do sinal, em relação à tocha, são: o comprimento da região do plasma

que é observada e o desempenho analítico. Quanto maior a região de observação, maiores são as intensidades dos sinais obtidos [18,19,20].

Como na configuração axial toda a região ao longo do eixo do plasma é observada, obtém-se, em geral, maiores sensibilidades e melhores limites de detecção (LD) em relação à configuração radial [18,19,20]. Entretanto, o uso da configuração axial é mais suscetível a interferências, devidas, em especial, aos processos de auto-absorção e recombinação que ocorrem na extremidade do plasma [21]. Nos instrumentos comercialmente disponíveis existe um recurso para eliminar a região mais fria do plasma, que é o uso de uma interface gasosa, de N₂ ou Ar, posicionada a 90° em relação à tocha. Porém, as interferências são apenas minimizadas e não eliminadas [22].

Logo, o desempenho analítico das configurações radial e axial pode variar com o tipo de amostra e com os elementos a serem determinados, sendo desejável avaliar experimentalmente a configuração mais adequada, de acordo com os objetivos da análise.

Atualmente, existem aplicações para a técnica de ICP OES em praticamente todas as áreas de análise química (amostras geológicas, agronômicas, biológicas, águas, cosméticos, polímeros, aço, entre outros) [23]. Seu sucesso maior deve-se à capacidade multielementar, rapidez analítica e simplicidade de operação, razões pelas quais muitos laboratórios de análise estão equipados com um instrumento de emissão óptica [18].

Outras características da técnica são: excelente fonte de emissão, relativamente livre de interferências químicas, devido à alta temperatura alcançada; curvas de calibração lineares com até seis ordens de grandeza; limites de detecção geralmente baixos, na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$; satisfatórias precisão (desvios relativos na faixa de 1 %) e exatidão; a maioria dos elementos pode ser determinada, exceto H, N, O, C, halogênios e elementos radioativos [18].

2.2. O coco e a água de coco

O coqueiro (*Cocos nucifera*) é uma planta que se desenvolve e produz frutos até os 60-70 anos [4,5]. A sua origem é ainda desconhecida, embora muitos botânicos acreditem que é nativo da Polinésia. Existem muitas variedades de coqueiro, entretanto três delas são consideradas as mais importantes: o coqueiro-anão, o coqueiro-gigante ou comum e o coqueiro-híbrido. A segunda é a mais cultivada em escala comercial, começa a produzir os frutos entre 6 e 9 anos, estabilizando-se aos 12 anos, e tem uma produtividade de 50 a 80 frutos/pé/ano [24].

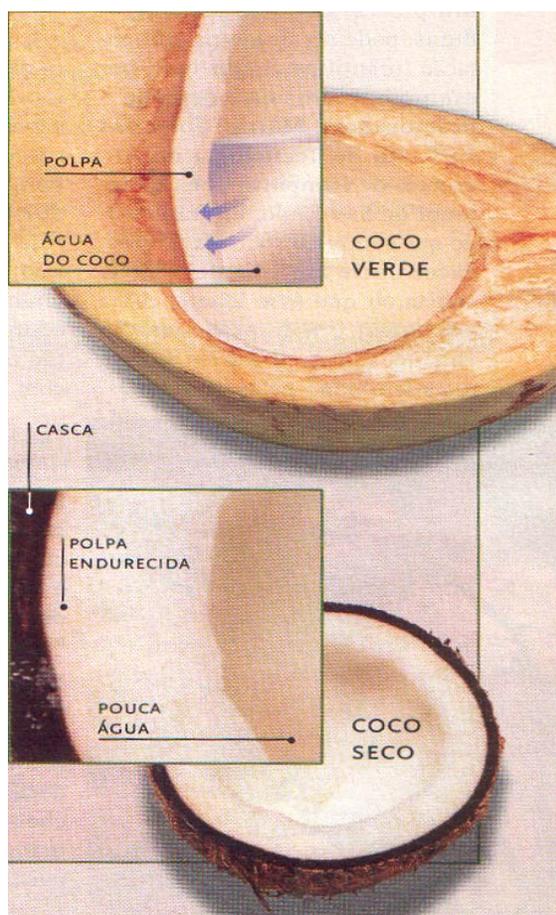


Figura 3: Coco em fase de desenvolvimento (coco verde) e ao final do processo (coco seco) [13].

O coco é o fruto do coqueiro. Como ilustrado na Figura 3, ao lado, o coco tem um formato oval, apresenta uma parte dura, denominada endocarpo (casca) e um mesocarpo fibroso [13]. No interior do endocarpo a água de coco é formada, a partir do 3^o mês de desenvolvimento, e esta atinge um volume máximo no 8^o mês [24]. Sua composição química varia durante o processo de maturação [10,24], que se finaliza no 12^o mês. O endosperma do coco, conhecido como polpa, forma-se quando o coco possui 5 meses e se desenvolve até o 10^o mês, utilizando como substrato a água de coco, que é considerada uma porção líquida do endosperma do fruto [24]; por isso, o coco “maduro” contém menos água do que o fruto “verde”.

Os coqueiros são cultivados em regiões litorâneas, em todo o mundo, em uma faixa de 20° acima e abaixo da linha do Equador. Filipinas, Indonésia, sudoeste da Índia, Sri Lanka e África Equatorial são os principais produtores de coco [4,5,24].

O Brasil também cultiva o coqueiro para fins comerciais e a região nordeste é a principal produtora [5,24,25]. A boa aceitação do produto no mercado interno está aumentando a produção de cocos, e existe a previsão de um aumento acentuado no consumo da água de coco, que deve aumentar de 1,25 para 4 ou 5 % em relação ao consumo de refrigerantes [25].

No Brasil, 75 % da produção, aproximadamente, é utilizada nas indústrias. O coco maduro tem sua polpa empregada na produção de copra (polpa desidratada), leite de coco e bolo de coco. O coco verde, com 6-7 meses de desenvolvimento, contém, em média, 400 mL de água nutritiva e biologicamente estéril, que é consumida diretamente do fruto [5,13] e, mais recentemente, após o envasamento industrial [13], em embalagens plásticas ou Tetra Pak®.

A água de coco vem ganhando popularidade, mundialmente, devido às suas propriedades medicinais [6-9,24] e aplicações no cultivo de células microbiológicas e plantas [5,26,24] (onde outras partes do coco também têm sido empregadas) [27]. No primeiro caso, é utilizada como líquido de reidratação oral ou intravenoso, no combate a problemas gastro-intestinais, principalmente em áreas sem recursos [6-8,24], e como solvente para a dissolução de pedra urinária, em procedimentos de endoscopia renal [9].

Em seus países de origem a água de coco verde tem sido usada sozinha ou misturada com leite de coco no combate a verminoses e também para alívio de problemas estomacais, por ter o efeito de suspender o vômito. Pode aliviar os sintomas de ressaca, causada por ingestão excessiva de bebida alcoólica, ao repor a água que o álcool retira, e realizar a reposição de água e de sais minerais para quem pratica exercícios.

Em estudos recentes, realizados na Universidade Estadual do Ceará, observou-se que a água de coco verde pode ser utilizada na manutenção de sêmen de bode, como diluente para inseminação artificial de cabras [24].

Também no aspecto de preservação ambiental o coco apresenta características interessantes. A casca do coco, que até recentemente constituía-se como um rejeito, está sendo empregada de diversas formas. É utilizada na confecção de pisos, mesas, armários, cabeceiras de cama, revestimento de banheiros [28], e também objetos decorativos, como as cascas utilizadas para cultivar folhagens, que substituem os xaxins (espécie que deve ser preservada nas matas brasileiras). Além disso, algumas indústrias automobilísticas estão substituindo materiais usados na confecção dos bancos dos veículos pelas fibras da casca do coco. No Brasil, a Mercedes-Benz começou a usar, em 1994, a fibra de coco em encostos de cabeça para bancos de caminhões e, desde maio de 1999, o produto também compõe os assentos dianteiros do modelo Classe A [29].

As diversas aplicações do coco, tanto da polpa quanto da água, justificam-se pela sua composição química, adequada para tais fins. A Tabela 1 apresenta a composição orgânica da água de coco verde brasileiro [5] e as Tabelas 2 e 3 mostram alguns dos constituintes minerais da água do coco indonês [10].

Tabela 1: Composição orgânica da água de coco verde brasileiro [5].

<i>Substância</i>	<i>Concentração (mg/100 mL)</i>
açúcares	5300 ± 110
proteínas	19,50 ± 0,50
lipídeos	11,00 ± 0,60
fenóis	6,86 ± 0,55
ác. cítrico	131,20 ± 2,80

Os dados da Tabela 1 mostram que os açúcares são os principais macronutrientes da água do coco brasileiro, sendo o seu teor muito maior que o de lipídeos. Esta característica concorda com estudos realizados com o coco indonês, que indicaram que a proporção de açúcares/lipídeos encontrada na água inverte-se na polpa; além disso, foram estudados os tipos de açúcares presentes, sendo os principais a glucose e a frutose, em uma proporção de aproximadamente 1:1 [10].

Tabela 2: Macroelementos da água do coco indonês [10].

<i>Amostra de Água</i>	<i>% Matéria Seca</i>					
	Ca	Mg	K	Na	P	S
Coco verde	0,47	0,11	3,5	0,03	0,08	0,01

Tabela 3: Micronutrientes minerais da água do coco indonês [10].

<i>Amostra de Água</i>	<i>mg L⁻¹</i>					
	Mn	Fe	Zn	Cu	B	Al
Coco verde	20,3	4,06	11,3	0,96	8,49	12,8

Dos macromelementos presentes na água de coco indonês os elementos Ca, Mg, K e Na também foram encontrados na água de coco de "Gilbert Islands" [6] e do Sri Lanka [7]. Dentre os micronutrientes minerais o boro e o alumínio são não essenciais e praticamente atóxicos; além disso, níveis elevados de alumínio podem afetar o sistema neurológico [15]. Por outro lado, o manganês, o ferro, o zinco e o cobre são considerados essenciais [1]. Logo, também sob o aspecto inorgânico, a bebida pode ser considerada benéfica e adequada para o consumo humano.

2.3. Características dos metais que podem ser encontrados na água de coco

- **Alumínio:** É pouco absorvido pelo organismo, sendo eliminado pelas fezes. É um elemento presente em alimentos por ser abundante na litosfera [15].
- **Cálcio:** É necessário para o crescimento e desenvolvimento normal do esqueleto e dentes. Está envolvido em vários processos metabólicos como a coagulação sanguínea e a contração muscular. A ingestão elevada de Ca pode levar à calcificação excessiva dos ossos e de tecidos moles como os rins [3]. O valor diário (VD) de ingestão recomendado* para Ca é de 1000 mg [31].
- **Cobre:** Participa da síntese da hemoglobina na oxidação do ferro, no plasma sanguíneo, através da ferroxidase. Está presente nas enzimas responsáveis pela

síntese de elastina e colágeno e na enzima citocromo oxidase, que catalisa a redução do oxigênio molecular para água, na célula. Intoxicação por este elemento é caracterizada pelo seu acúmulo no fígado, causando náuseas e vômitos [28]. O VD recomendado para ingestão de Cu é de 2 mg [31].

- **Ferro:** Atua principalmente sobre a hemoglobina, prevenindo a anemia, e sobre as enzimas citocromo oxidases, envolvidas na produção oxidativa de energia (ATP). É metabolizado na presença de cobre [28] e o VD é de 18 mg [31].

- **Magnésio:** Participa de vários processos bioquímicos e fisiológicos, como o metabolismo da glicose, síntese de proteínas, atividade e transmissão neuromuscular [3]. O VD de Mg recomendado para ingestão é de 400 mg [31].

- **Manganês:** Atua como cofator de várias enzimas, como a carboxilase. É necessário para a síntese de mucopolissacarídeos, relacionados com a síntese de polissacarídeos e glicoproteínas. A deficiência de manganês inibe a síntese do colesterol, e pode causar infertilidade. Além disso, tanto o excesso quanto a carência de Mn pode afetar o cérebro [28]. O VD para ingestão é de 2 mg de Mn [31].

- **Potássio:** É o principal cátion do líquido intracelular. Regula a pressão osmótica e a transmissão de impulsos nervosos [3]. O VD é de 3500 mg [31].

- **Selênio:** Interage com metais pesados, como cádmio e mercúrio, reduzindo o efeito toxicológico dos mesmos [3]. O VD para ingestão é de 70 µg [31].

- **Sódio:** Está presente em todos os líquidos corporais e tecidos e é o componente principal do líquido extracelular. Mantém a pressão osmótica dos líquidos corporais, preserva a irritabilidade dos músculos e a permeabilidade das células [3]. O VD recomendado para a ingestão é de 2400 mg de Na [31].

- **Zinco:** É um dos constituintes da anidrase carbônica, fosfatase alcalina e de uma série de desidrogenases e peptidases. É necessário para a síntese de RNA e outras proteínas. É essencial para o crescimento e desenvolvimento normal do esqueleto [3]. O VD para ingestão é de 15 mg [31].

* **OBS:** A ANVISA refere-se aos valores diários recomendados para ingestão de nutrientes utilizando como fonte de referência os valores estabelecidos pela USDA (“United States Agriculture Department”).

2.4. A determinação de constituintes minerais em água de coco

Observou-se que a maioria dos estudos publicados sobre a presença de metais em água de coco foi realizada na área médica e, em geral, destacam os teores de Na e K encontrados em água de coco [6-9,24]. Os demais estudos são, geralmente, da área agrícola e investigam a composição nutricional da água de coco, por ser largamente empregada como alimento, nas áreas de produção. Dentre estes, aqueles que foram considerados mais relevantes, são citados a seguir.

Jeganathan [11] determinou macroelementos diretamente em amostras de água de coco de duas regiões do Sri Lanka. Adicionou misturas fertilizantes de K_2O e MgO ao solo de alguns coqueiros e monitorou a variação dos teores de Na, K, Ca e Mg durante 5 anos. Na e K foram determinados por espectrometria de emissão em chama, e as amostras foram diluídas 20 vezes; Ca e Mg foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama e as amostras foram diluídas 100 vezes. Foi observado que o teor de K aumenta com o aumento da quantidade dos fertilizantes, enquanto a concentração de Na diminuiu.

Santoso et al. [10] determinaram macroelementos (Na, K, Ca e Mg) e micronutrientes minerais (Mn, Fe, Zn, Cu e Al) na água de coco indonês por ICP OES, tratando previamente as amostras com aquecimento e ácido nítrico. Foram utilizadas amostras de coco verde e de coco maduro. Os teores dos macroelementos foram maiores na água dos cocos maduros do que na água dos cocos verdes. O mesmo comportamento foi observado para Cu, B e Al. Em contraste, as concentrações de Mn, Fe e Zn foram menores nas amostras de água de cocos maduros. Avaliando as concentrações dos elementos determinados, concluiu-se que o K é o principal componente mineral da água de coco e esta pode ser considerada uma boa fonte nutricional deste elemento.

Aleixo et al. [14] determinaram Se diretamente na água de coco brasileiro usando a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, empregando Pd como modificador químico e uma suspensão de amostra e aminas terciárias solúveis em água; o teor de Se encontrado foi considerado útil como fonte do micronutriente.

Recentemente, Naozuka et al. [33] estudaram os teores de Na, K, Ca e Mg em água de coco por ICP OES antes e após a ultrafiltração da bebida, utilizada na indústria alimentícia para separar microorganismos. Os resultados obtidos mostraram que a utilização do processo de ultrafiltração pode afetar a composição eletrolítica final da água de coco.

2.5. Métodos quimiométricos para reconhecimento de padrões

A quimiometria consiste na aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e de lógica formal no tratamento e interpretação de dados multivariadas, gerados por instrumentos analíticos, e tem o objetivo de extrair o maior número possível de informações dos dados experimentais [33].

Os métodos quimiométricos mais conhecidos para o reconhecimento de padrões são: a Análise de Componentes Principais (PCA), a Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA), a Análise de Discriminante Linear (LDA) e a Regra do Vizinho Mais Próximo (KNN) [17], e dentre estes, os dois primeiros foram considerados adequados para o tratamento dos dados obtidos neste trabalho.

O método de HCA possibilita encontrar agrupamentos nos dados multivariados. A partir de uma matriz de dados originais, um algoritmo atribui valores de similaridade às amostras, através de cálculos de distância entre as mesmas, no espaço multidimensional, e se obtém uma matriz de similaridade. Os dados da matriz de similaridade são inspecionados e as amostras de similaridade máxima são selecionadas, somadas e formam um centro de gravidade. Em seguida, outro par de amostras com maior similaridade é selecionado, e o processo continua até que todas as amostras sejam contidas num único

agrupamento. O resultado da HCA é representado na forma de um gráfico bidimensional chamado dendograma [17].

No método de PCA os dados multivariados também são agrupados de acordo com as similaridades encontradas, porém outros recursos matemáticos são empregados. Os dados multivariados (ou multidimensionais) são projetados em dimensões menores, através de combinações lineares das variáveis originais, formando os Componentes Principais (PC). Para isto, a matriz de dados originais \mathbf{X} , com m linhas (amostras) e n colunas (variáveis), é aproximada para duas matrizes menores: as matrizes de escores \mathbf{T} , com m linhas e d colunas (igual ao número de PC) e de pesos \mathbf{P} , com n colunas e d linhas, mais uma matriz de resíduos (\mathbf{E}), com m linhas e n colunas, correspondente à parte não modelada [33,34]. O princípio matemático da PCA está ilustrado na Figura 4.

O diagrama ilustra a decomposição da matriz de dados \mathbf{X} em matrizes de escores \mathbf{T} , pesos \mathbf{P}^t e resíduos \mathbf{E} . A matriz \mathbf{X} é representada por um retângulo com m linhas e n colunas. Ela é igual a uma matriz \mathbf{T} com m linhas e d colunas multiplicada por uma matriz \mathbf{P}^t com d linhas e n colunas, mais uma matriz \mathbf{E} com m linhas e n colunas.

$$\begin{matrix} & & n \\ & \boxed{\mathbf{X}} & \\ m & & \end{matrix} = \begin{matrix} & & d \\ & \boxed{\mathbf{T}} & \\ m & & \end{matrix} \begin{matrix} & & n \\ d & \boxed{\mathbf{P}^t} & \\ & & \end{matrix} + \begin{matrix} & & n \\ & \boxed{\mathbf{E}} & \\ m & & \end{matrix}$$

Figura 4: Decomposição da matriz de dados \mathbf{X} em outras menores, de escores (\mathbf{T}), pesos das variáveis (\mathbf{P}) e resíduos (\mathbf{E}), na PCA.

Desta forma, como resultado da PCA são obtidos gráficos bi ou tridimensionais de escores ou pesos. O escore corresponde à coordenada de cada amostra nos PC; amostras com valores de escores semelhantes podem ser consideradas semelhantes entre si, pois possuem as mesmas coordenadas no espaço multivariado. Os valores dos pesos indicam a contribuição da variável (ou peso da variável) no PC e, portanto, quanto maior o peso de uma variável, maior é a importância da variável para explicar a variabilidade das amostras [34].

O número de PC a ser utilizado em um modelo de PC é determinado pela variância máxima explicada por um certo número de PC. Cada PC subsequente descreve um máximo de variância que não é modelado pelos componentes anteriores; o máximo de variância dos dados é contido no primeiro PC e no

segundo componente há mais informação do que no terceiro, e assim sucessivamente. Em geral, a maior porção da variância dos dados é descrita pelo primeiro, segundo e terceiro componentes e, por isso, os dados podem ser visualizados no sistema de PC graficando-se os escores de um componente contra outro [34].

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver um método de análise para determinar, por espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo, macro e micro constituintes da água de coco natural e industrializada.

3.2. Objetivos específicos

Otimizar os parâmetros instrumentais (vazão de nebulização, potência do plasma, comprimentos de onda e configuração de tocha) de modo tal que, se possível, seja realizada a introdução direta da amostra, isto é, sem utilizar tratamentos para sua mineralização.

Comparar o desempenho analítico obtido para o nebulizador cross-flow acoplado em uma câmara de nebulização “Scott” com aquele de um nebulizador cone spray.

Estabelecer uma faixa de concentração para os elementos determinados nas amostras de água de coco natural (ACN) e água de coco industrializada (ACI).

Avaliar os resultados das análises de ACN e ACI através de programas estatísticos empregando métodos de reconhecimento de padrões, como PCA e HCA.

Identificar semelhanças e diferenças entre os dois grupos de amostras e avaliar a possibilidade do processo de industrialização da água de coco alterar a composição química desta matriz, em relação aos elementos estudados.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Instrumentação, limpeza de materiais e reagentes

Todas as análises foram realizadas em um espectrômetro de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo (Perkin-Elmer, modelo Optima 3000 DV), dupla visão (configurações de tocha axial e radial), equipado com uma fonte de rádio frequência (RF) de 40 MHz, um detector multielementar simultâneo de estado sólido do tipo SCD (Segmented Array Charge Coupled Device), uma bomba peristáltica, câmara de nebulização duplo-passo do tipo “Scott”, um nebulizador cross-flow e tubo injetor da tocha com 2,0 mm de diâmetro interno. No modo de observação axial o gás de purga (N_2) foi usado perpendicularmente ao plasma, de modo a remover a região de menor temperatura. O sistema é totalmente controlado por computador, com o software “PE Winlab”. No ICP foi utilizado argônio com pureza de 99,996 % (White Martins, SP, Brasil). As condições experimentais de operação do ICP OES estão descritas na Tabela 4.

Os materiais utilizados (balões volumétricos, béqueres, pipetas, frascos de plástico, etc.) foram limpos antes de sua utilização, deixados em banho de HNO_3 10 % (v/v) por 24 h, no mínimo, e, em seguida, enxaguados com água desionizada pelo sistema Milli-Q (Milipore, Bedford, MA, USA), apresentando condutividade de 18,2 $M\Omega$ cm.

Soluções-estoque na concentração de 1000 $mg\ L^{-1}$ em HNO_3 2 % v/v de Na (preparada a partir de NaCl 99 % - Carlo Erba), K (preparada a partir de KCl 99,97 % - Nuclear), Ca (preparada a partir de solução padrão Titrisol – Merck), Mg (preparada a partir de MgO 99,6 % - Baker), Mn (preparada a partir de Mn metálico 99,9 % - Riedel De Haën), Fe (preparada a partir de Fe metálico 99,5 % - ACS), Zn (preparada a partir de Zn metálico 99,8 % - Baker), Cu (preparada a partir de Cu metálico 99,96 % - Baker), Al (preparada a partir de Al metálico 99,7 % - Belmetal), Cd (solução padrão - Assurance), Pb (preparada a partir de Pb

metálico 99,5 % - Baker) e Se (preparada a partir de SeO_2 99,59 % - Riedel De Haën) foram empregadas no preparo de padrões multielementares, que foram diluídos em HNO_3 2 % v/v, usando-se HNO_3 concentrado (Carlo Erba, grau analítico) e água desionizada.

Utilizou-se também a amostra de referência “Mixed Food Diet” (High Purity Standards, CRM-MFD, diluída em HNO_3 2 % v/v).

Tabela 4: Condições experimentais utilizadas no ICP OES.

Potência de RF (kW)	1,0 -1,5
Fluxo de nebulização (L min^{-1})	0,4 - 1,0
Fluxo do argônio auxiliar (L min^{-1})	0,5
Fluxo do argônio principal (L min^{-1})	15
Vazão de bombeamento (mL min^{-1})	1,0
Altura da visão radial (mm)	15
Correção de fundo	2 pontos
Tempo de integração (s) e de leitura (s)	1-5; 30
Número de replicatas	3
Elementos (λ /nm)	Ca (II 317,933; I 430,253 ^a), Mg (II 280,270), Mn (II 257,610), Fe (II 238,204), Zn (I 213,856), Cu (I 324,754), Al (I 308,215), Pb (II 220,353), Cd (II 214,438), Se (I 196,026); Y ^b (II 371,030)

(a) Comprimento de onda utilizado apenas na quantificação de Ca em água de coco industrializada.

(b) Elemento utilizado como padrão interno (2 mg L^{-1}) nas análises de água de coco industrializada.

(I) Linha de emissão atômica.

(II) Linha de emissão iônica.

4.2. Aquisição e estocagem de amostras

As amostras de água de coco industrializada e natural foram adquiridas no mercado varejeiro, em Campinas, sendo obtidas nove amostras industrializadas e oito naturais (fruto). As primeiras, de marcas diferentes, foram designadas como “A”, “B”,..., “I”. Analogamente, os cocos procedentes de diferentes Estados do

Brasil foram designados de acordo com o Estado de origem: São Paulo (SP), Paraíba (PB), Pará (PA), Bahia (BA), Minas Gerais (MG), Rio Grande do Norte (RN) e Rondônia (RD). Do Estado da Bahia foram analisadas águas de dois cocos, sendo um deles do tipo amarelo (BA-A), variedade do coqueiro anão [24], muito comum na Bahia.

As amostras de água de coco industrializada (ACI) foram mantidas em geladeira e as análises foram realizadas antes do vencimento dos prazos de validade das mesmas. As amostras de água de coco natural (ACN) foram armazenadas em frascos de plástico, em refrigerador, até o momento de preparo das amostras e realização das análises.

4.3. Estudo preliminar - determinação de carbono orgânico total (TOC)

Duas alíquotas das amostras “A”, “B”, “SP” e “PA” foram submetidas à análise de TOC (Total TOC-5000, Shimadzu). A solução da amostra foi preparada diluindo-se 0,5 mL da amostra para 50 mL, em água desionizada. Cada determinação foi realizada em triplicata.

4.4. Procedimento geral

As amostras de ACI foram retiradas das embalagens (caixas Tetra Pak[®] ou garrafas PET) e filtradas em funil de gooch de porosidade G3. As amostras de ACN foram extraídas do fruto através de um orifício aberto com uma faca comum, de aço inox e, em seguida, filtradas da mesma maneira que as anteriores. Soluções de estudo contendo 20 % (m/v) das amostras foram preparadas em HNO₃ 2 % (v/v). As análises foram feitas em duplicata e as determinações foram realizadas nas configurações axial e radial, para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu e, na axial para Al, Pb, Cd e Se. Os demais parâmetros instrumentais utilizados estão descritos na Tabela 4.

4.5. Otimização da potência do plasma e da vazão de nebulização para a análise de água de coco industrializada e natural

A otimização dos parâmetros vazão de nebulização e potência do plasma foi realizada para Ca, Mg, Mn e Fe. Neste estudo foram empregadas soluções das amostras "A" e "SP", após o enriquecimento de 5 g das mesmas com: 0,48 mg de Ca, 0,3 mg de Mg e 0,03 mg de Mn e de Fe. As amostras foram analisadas em diferentes potências (de 1,0 a 1,5 kW) e vazões de nebulização (de 0,4 a 1,0 L min⁻¹), de forma univariada. Os resultados foram avaliados comparando-se as intensidades de emissão e as razões sinal/ruído (SNR) e sinal/fundo (SBR) obtidas para os elementos estudados nas diferentes condições. A SNR foi calculada dividindo-se o sinal do analito (intensidade de emissão), na amostra, pelo desvio padrão (n= 10) da solução do branco; a SBR é a intensidade do sinal do analito, na amostra, subtraída do branco e dividida pelo sinal do branco [35,36].

4.5.1. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu em água de coco industrializada

Utilizando-se soluções de 25 mL da amostra "A" e empregando-se uma potência de RF de 1,3 kW e vazão de nebulização de 0,6 L min⁻¹, realizaram-se experimentos de adição e recuperação de analitos para Ca, Mg, Mn e Fe, com e sem ítrio na concentração de 2 mg L⁻¹, como padrão interno. As massas dos analitos adicionados à amostra estão descritas na Tabela 5. As determinações foram realizadas em ambas as configurações de tocha e nos seguintes comprimentos de onda, em nm: Ca - 317,933; 422,670; 315,890 e 430,253; Mg - 280,270 e 285,213; Mn - 257,610 e Fe - 238,204. As interferências da matriz nas diversas condições (com e sem padrão interno, comprimentos de onda e configurações de tocha diferentes) foram avaliadas comparando-se as inclinações das curvas analítica e de adição de analito referentes a cada condição. Utilizando

a curva analítica como referência, foi calculada a porcentagem de recuperação para os analitos adicionados. Em seguida, foi realizado um experimento de adição e recuperação de analitos com a amostra “B”, procedendo-se do mesmo modo; porém, verificou-se a recuperação de mais dois analitos, Cu e Zn. As massas adicionadas desses analitos, na amostra “B”, foram iguais à do Fe.

Tabela 5: Massa dos analitos adicionados às amostras “A” e “B”, em mg.

<i>Analito</i>	m_1	m_2	m_3
Ca	0	0,16	0,48
Mg	0	0,1	0,3
Mn	0	0,01	0,03
Fe	0	0,01	0,03

m = massa do analito adicionado à amostra

4.5.1.1. Figuras de mérito (análise de água de coco industrializada)

Os limites de detecção e de quantificação foram calculados como 3 vezes o desvio padrão do branco (para 10 determinações) dividido pela sensibilidade da curva analítica [32] e 100 vezes o desvio padrão do branco (para 10 determinações) dividido pela sensibilidade da curva, respectivamente. Experimentalmente, empregou-se as seguintes condições instrumentais: potência do plasma de 1,3 kW, vazão de nebulização de 0,6 L min⁻¹, ítrio como padrão interno (2 mg L⁻¹) e configuração de tocha radial para Mg e axial para Ca, Mn, Fe, Zn, Cu, Al, Pb, Cd e Se; os comprimentos de onda utilizados foram aqueles descritos na Tabela 4. Nessas condições, a exatidão do método foi avaliada para analisar ACI, utilizando-se a amostra de referência “Mixed Food Diet”, cuja composição inorgânica encontra-se descrita no Apêndice 2. Para isto, preparou-se duas alíquotas da amostra adicionando-se volumes apropriados de uma solução de 100 mg L⁻¹ de Y em HNO₃ 2 % v/v, de modo a resultar uma solução contendo 2 mg L⁻¹ de Y. Os resultados obtidos foram comparados com os valores de referência, fornecidos pelo fabricante do material.

4.5.2. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco natural

Foram realizados experimentos de adição e recuperação de analitos para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, com e sem ítrio como padrão interno (2 mg L^{-1}), utilizando-se soluções de 25 mL das amostras “SP” e “PB” e empregando-se a potência de 1,4 kW e vazão de nebulização de $0,6 \text{ L min}^{-1}$. Com a amostra “SP” foram realizados os experimentos de adição e recuperação para Ca, Mg, Mn e Fe. Em seguida, todo o procedimento foi repetido para a amostra “PB”, porém avaliando-se também o comportamento dos elementos Zn e Cu. As massas dos analitos adicionados às amostras foram iguais às apresentadas na Tabela 5 e as leituras também foram realizadas nos mesmos comprimentos de onda empregados nos estudos com as amostras de ACI. As interferências da matriz, nas condições estudadas, foram avaliadas comparando-se os coeficientes angulares das curvas analítica e de adição de analito e calculando-se a porcentagem de recuperação para os analitos adicionados.

4.5.2.1. Figuras de mérito (análise de água de coco natural)

Os limites de detecção e quantificação foram calculados de modo similar ao realizado para o método de análise de ACI (item 4.5.1.1). As condições instrumentais utilizadas foram: potência do plasma de 1,4 kW, vazão de nebulização de $0,6 \text{ L min}^{-1}$, configuração de tocha radial para Ca, Mg, Mn e Fe e axial para Zn, Cu, Al, Pb, Cd e Se; os comprimentos de onda utilizados são apresentados na Tabela 4. A exatidão do método para analisar ACN foi avaliada utilizando-se a amostra de referência “Mixed Food Diet”, de maneira análoga à realizada anteriormente, com a diferença de que as análises foram feitas sem o emprego de padrão interno.

4.6. Aplicação analítica

4.6.1. Análise de amostras de água de coco industrializada

Além das duas amostras empregadas nos estudos de otimização, mais sete amostras de ACI foram preparadas conforme descrito no item "Procedimento geral". As condições instrumentais utilizadas foram aquelas citadas no item 4.5.1.1.

Os valores das concentrações obtidas para os metais que foram determinados, nas diferentes amostras, foram utilizados para estabelecer uma faixa de concentração dos mesmos, considerando-se um intervalo com 95 % de confiança.

Em seguida, cinco lotes diferentes da amostra "A" foram analisados. Considerando as médias das concentrações dos analitos determinados e os desvios padrões das mesmas, avaliou-se a variação da concentração dos elementos determinados entre os diferentes lotes.

4.6.2. Análise de amostras de água de coco natural

Além das duas amostras utilizadas nos estudos de otimização, mais seis amostras de ACN foram preparadas, conforme descrito no item "Procedimento geral". A potência do plasma e a vazão de nebulização empregadas foram, 1,4 kW e 0,6 L min⁻¹, respectivamente. Utilizou-se configuração de tocha radial para Ca, Mg, Mn e Fe e axial para Zn, Cu, Al, Pb, Cd e Se. Os valores de concentração obtidos foram empregados no cálculo de intervalos com 95 % de confiança para a média das concentrações dos metais determinados.

4.6.3. Avaliação dos resultados das análises de água de coco natural e industrializada empregando PCA e HCA

Considerando-se os resultados de todas as análises, isto é, utilizando-se individualmente os valores de cada replicata, construiu-se uma matriz de dados, em que as amostras foram dispostas em linhas e as concentrações dos diferentes metais (variáveis) em colunas. Os dados foram pré-processados, através do autoescalamamento e, em seguida, submetidos aos métodos de HCA e de PCA, contidos no “PLS_Toolbox” do Matlab 6.1.

4.7. Avaliação do desempenho analítico do nebulizador *cone spray*

O desempenho analítico de um nebulizador *cone spray* acoplado em uma câmara de nebulização do tipo *cyclone* foi avaliado. Utilizando-se os parâmetros instrumentais para a análise de ACI, para a amostra “A”, e os parâmetros para a análise de ACN, para a amostra “MG”, preparou-se, em balões de 25 mL, curvas de adição de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu para essas amostras, de forma que as soluções de amostra contivessem 40 % de matriz em HNO₃ 2 %. As massas dos analitos adicionados estão descritas na Tabela 5. Os elementos Al, Pb, Cd e Se também foram determinados nessas amostras, empregando-se as condições experimentais otimizadas anteriormente. As sensibilidades das curvas de adição foram comparadas com as sensibilidades das curvas analíticas, verificando-se os coeficientes angulares das mesmas; as sensibilidades para determinar Al, Pb, Cd e Se também foram avaliadas e os resultados obtidos foram comparados com os anteriores, obtidos com o uso do nebulizador *cross-flow*.

4.8. Estudo complementar: estimativa das concentrações de Na e K em água de coco industrializada e natural

As concentrações de Na e K foram estimadas em todas as amostras anteriormente estudadas. As amostras de ACI foram analisadas utilizando-se as condições instrumentais descritas no item 4.5.1.1. As amostras de ACN foram analisadas sob as condições descritas no item 4.6.2, sendo o Na e o K determinados, em ambos casos, em configuração radial de tocha e nos seguintes comprimentos de onda (nm), respectivamente: 589,592 e 766,491. Os resultados obtidos foram usados no cálculo da média para as estimativas de concentração de Na e K nos dois grupos de amostras.

4.9. Tratamento dos resíduos gerados

As soluções de amostras enriquecidas e os resíduos das soluções-padrão foram estocados em galões de polipropileno para que o tratamento e o descarte fossem feitos de uma única vez, ao término deste trabalho. O procedimento utilizado é adotado em nosso laboratório para tratar resíduos aquosos que contêm vários metais e consiste em separá-los da fase aquosa, por precipitação controlada. Em pH 7 a 8 Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Al, Pb e Cd foram tratados com solução de NaOH (1 mol L^{-1}) e FeCl_3 (1 mol L^{-1}) e co-precipitaram com o Fe(OH)_3 (s) formado [37]. Os sais precipitados são separados da fase aquosa por filtração comum, empregando papel de filtro qualitativo. A solução restante é acondicionada em pH 7, aproximadamente, com o auxílio de H_2SO_4 1 mol L^{-1} e a ela se adiciona uma solução de Na_2S (78 g L^{-1}). Nesta etapa, é precipitado o selênio [37] que, por filtração, é retirado da fase aquosa, a qual é posteriormente descartada em esgoto. Os resíduos sólidos obtidos são mantidos nos papéis de filtro utilizados e enviados para o depósito de resíduos sólidos do Instituto de Química da UNICAMP.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo preliminar - determinação de carbono orgânico total

Ao determinar metais em água de coco por ICP OES a matéria orgânica presente na amostra pode constituir-se no principal fator de possíveis interferências [36,38]. Além disso, na espectrometria de emissão óptica em plasma a presença de compostos orgânicos na amostra pode levar a um baixo desempenho analítico [19], pois as emissões do carbono e de seus compostos aumentam a radiação de fundo [39].

Desta forma, as amostras “A”, “B”, “SP” e “PB”, utilizadas para a otimização dos parâmetros experimentais, foram submetidas à análise de carbono orgânico total (TOC), com o objetivo de estimar a concentração de carbono orgânico que estaria sendo introduzida no plasma. Isto possibilitaria compreender eventuais problemas durante as análises e, também, diferenças no comportamento de amostras de um mesmo tipo. A Tabela 6 apresenta os valores obtidos de TOC nestas amostras.

Tabela 6: Concentrações de carbono orgânico total para as amostras utilizadas na etapa de otimização dos parâmetros instrumentais.

<i>Amostra</i>	<i>Concentração/ mg L⁻¹</i>
“A”	21500 ± 393
“B”	25000 ± 318
“SP”	20190 ± 89
“PB”	21100 ± 74

A concentração de TOC variou pouco entre as amostras, aproximadamente 6 %. Por isso, não foi necessário preparar as soluções de amostra de forma diferenciada, com o intuito de controlar o teor de TOC a ser introduzido no plasma.

5.2. Procedimento geral

A etapa de filtração das amostras foi realizada para retirar partículas de polpa e de fibra do coco, que poderiam entupir o nebulizador *cross-flow* [19,20,38].

Para as amostras de ACI esta etapa não se mostrou necessária, pois não foram observadas, no funil, partículas retidas. Para amostras de ACN ocorreu o contrário, embora tenha sido pequena a quantidade de material separado, o qual foi desconsiderado na continuidade do procedimento de análise.

Para as amostras de ACN, a filtração é um procedimento prudente e não altera a concentração dos elementos estudados. Com a amostra de “MG” realizou-se um teste em que alíquotas filtradas e não filtradas foram analisadas no ICP. Os valores para as concentrações dos metais determinados (Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu) foram concordantes, nas diferentes alíquotas. Neste teste, para utilizar a alíquota não filtrada, os sólidos foram previamente separados por decantação, durante 30 minutos, de forma que apenas o sobrenadante foi empregado no preparo da solução de amostra.

As amostras foram diluídas em ácido nítrico 2 % (v/v) para evitar principalmente a decomposição, mas também a precipitação de sais durante o período de realização dos experimentos [20]. A diluição da amostra apenas com água desionizada é inadequada devido ao rápido crescimento de fungos [11] na solução, que pode ser observado a partir de 24 h após o seu preparo.

A proporção amostra/ácido nítrico 2 % (v/v) utilizada nas soluções foi estipulada em 20 % (m/v) considerando-se: (i) a elevada turbidez de algumas amostras não diluídas ou diluídas a 50 %, o que indica a presença de sólidos não dissolvidos e que poderiam entupir o nebulizador, e (ii) o teor de TOC, que é desejável em níveis de concentração baixos, na solução de amostra. Nesta diluição, a maioria das soluções de amostra apresentou baixa turbidez e o teor de TOC introduzido no plasma, considerado adequado, foi de aproximadamente 0,44 % (m/m).

Quanto à configuração de tocha, os elementos Al, Pb, Cd e Se foram medidos somente em configuração axial, por ser a mais empregada para a sua

determinação devido à melhor sensibilidade que promove [40]. Para os demais analitos, as determinações foram feitas nas configurações axial e radial, para avaliar qual delas proporcionaria os melhores resultados.

No instrumento, a correção de fundo com dois pontos foi utilizada para todos os elementos estudados, com o objetivo de evitar interferências espectrais [18]. Um tipo de interferência espectral muito comum em espectrometria de emissão em plasma é designada *sloping background shift* (deslocamento oblíquo de fundo), em que o pico de emissão do analito é sobreposto pela cauda do pico de emissão de um outro elemento, cuja linha (atômica ou iônica), próxima à linha do analito, é muito intensa. Esse tipo de interferência pode acontecer também devido a bandas de emissão moleculares. Experimentalmente, a correção do sinal de fundo é feita utilizando-se dois pontos de correção, um em cada extremidade do pico de emissão do analito [20]. Para isso, utiliza-se uma solução padrão dos elementos de interesse e obtêm-se os espectros de emissão dos analitos. Através de um recurso computacional, do *software* do espectrômetro, os limites de integração para os picos obtidos são selecionados manualmente e através dos dois pontos que definem os limites do pico, na linha de base, é aplicada a correção de fundo, subtraindo dos valores de emissão do analito os valores da intensidade de emissão medidos nesses pontos.

5.3. Otimização da potência do plasma e vazão de nebulização para a análise de água de coco industrializada e natural

5.3.1. Água de coco industrializada

Os comprimentos de onda utilizados para as determinações de Ca, Mn e Fe são os recomendados pelo fabricante do espectrômetro, segundo o banco de dados disponível no software do equipamento; para o Mg utilizou-se outro comprimento de onda, visando um sinal de maior intensidade.

Os resultados da análise da amostra “A”, enriquecida com Ca, Mg, Mn e Fe, está apresentado na Figura 5.

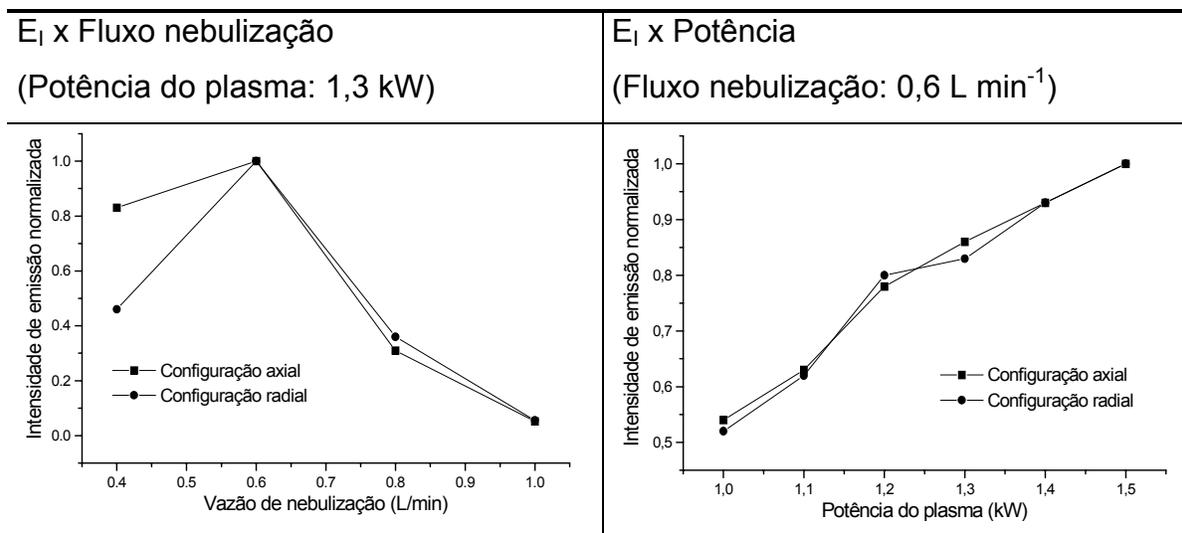


Figura 5: Perfis das emissões de Ca, semelhantes aos de Mg, Mn e Fe, em função da potência do plasma e do fluxo de nebulização obtidos para a amostra “A” enriquecida.

Os perfis das emissões obtidas para o Ca foram semelhantes àqueles obtidos para o Mg, Mn e Fe, quando a vazão de nebulização foi variada, mantendo-se a potência do plasma em 1,3 kW. Da mesma forma, os quatro elementos mostraram o mesmo comportamento quando a potência do plasma foi estudada entre 1,0 e 1,5 kW, mantendo a vazão de nebulização em 0,6 L min⁻¹.

Observando-se os gráficos da Figura 5 nota-se que os maiores valores de intensidade de emissão foram obtidos para uma vazão de nebulização de 0,6 L min⁻¹, em ambas as configurações de tocha. Em relação às potências aplicadas, observou-se que quanto maiores os valores de potência, maiores foram os sinais de emissão obtidos.

Considerando esses resultados, o uso de uma vazão de nebulização de 0,6 L min⁻¹ e uma potência de 1,5 kW mostrou-se adequado para a obtenção de sinais de emissão mais intensos. Esta condição é especialmente importante para a quantificação de elementos presentes em baixas concentrações. Por outro lado, o emprego do plasma com potências altas, como 1,5 kW, pode aumentar

significativamente o ruído e o sinal de fundo, o que seria desfavorável para a determinação dos microconstituintes na matriz de interesse [40].

Dessa forma, as condições experimentais utilizadas no ICP foram estabelecidas de modo a favorecer a determinação dos elementos Mn e Fe, que são microconstituintes da água de coco [10]; além disso, o Mn é o elemento de referência recomendado pelo fabricante do instrumento para otimizar as condições instrumentais [41]. Assim, foram avaliadas as razões SNR e SBR em cada potência, com o objetivo de verificar, entre as potências que proporcionaram os maiores sinais de emissão (de 1,3 a 1,5 kW) aquela que produziria menores índices de ruído e sinal de fundo. Além disso, essas potências são recomendadas pelo fabricante para a análise de soluções que contêm substâncias orgânicas [20]. Os resultados estão apresentados na Figura 6.

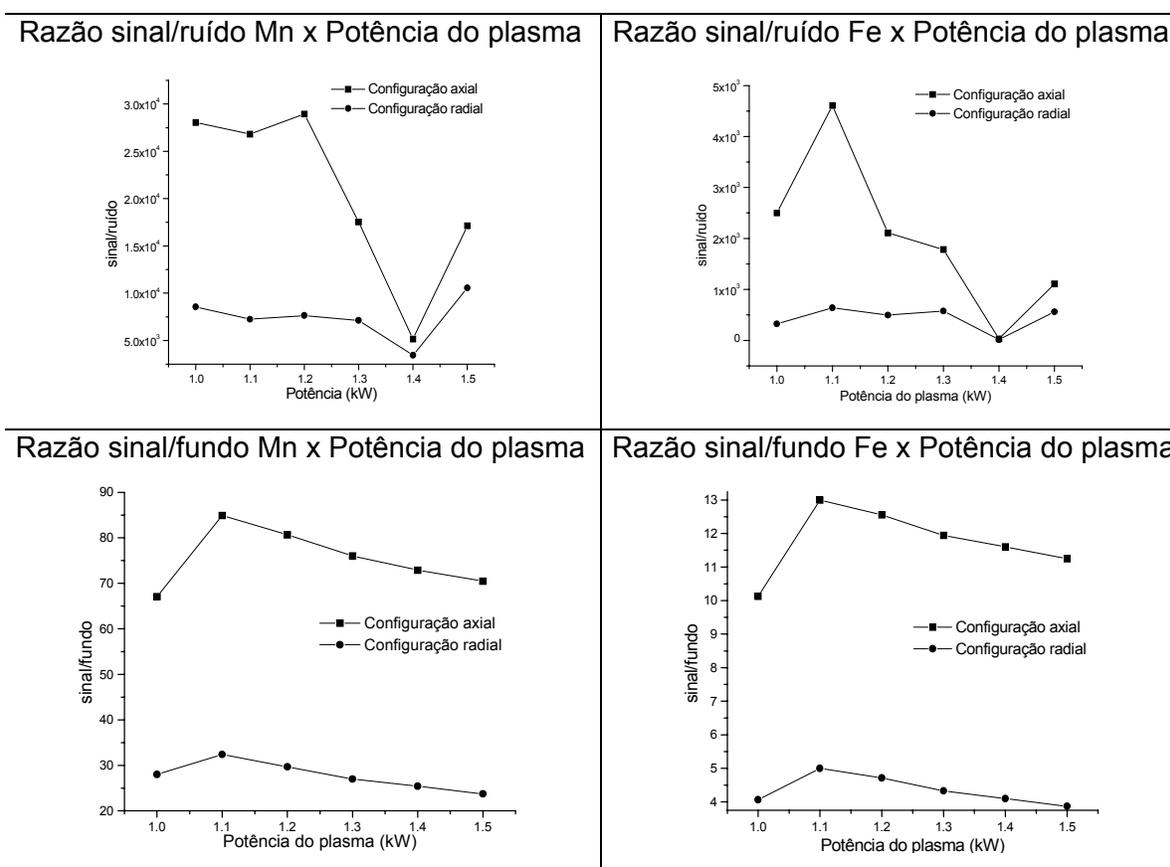


Figura 6: Relações entre as razões sinal/ruído e sinal/fundo em função da potência do plasma obtidas para os elementos Mn e Fe na amostra “A” enriquecida.

Os perfis dos gráficos da Figura 6 mostram que a relação entre SNR e as potências de 1,3 a 1,5 kW foram semelhantes para o Mn e o Fe em ambas as configurações de tocha. Os valores altos para a razão sinal/ruído correspondem às condições em que o sinal analítico é mais intenso ou em que o ruído é baixo. Logo, em 1,3 ou 1,5 kW os ruídos são menores do que em 1,4 kW. Analogamente, valores maiores para a razão sinal/fundo correspondem a condições em que as emissões do analito são mais intensas e as emissões de fundo são menos intensas. Observando-se a relação entre a SBR e essas potências, obteve-se em 1,3 kW o menor sinal de fundo para o Mn e o Fe e, por isso, essa potência foi escolhida para todas as determinações realizadas nas amostras de ACI.

Para os macroconstituintes Ca e Mg [10,11] as relações entre SNR e SBR em função da potência aplicada também apresentaram a mesma tendência, considerando-se as potências de 1,3 a 1,5 kW.

5.3.2. Água de coco natural

O estudo da potência do plasma e da vazão de nebulização foi realizado também para a ACN, utilizando-se, neste caso, a amostra “SP”. De forma análoga à ACI, os resultados obtidos para Ca, Mg, Mn e Fe também foram semelhantes, em relação ao comportamento apresentado nas diferentes potências do plasma e vazões de nebulização. Os perfis das emissões de Ca estão apresentados na Figura 7.

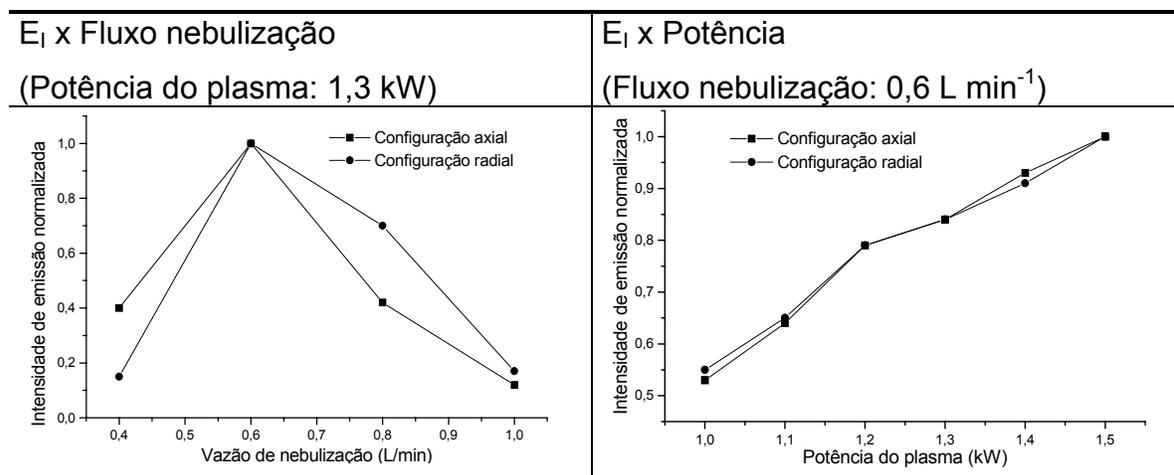


Figura 7: Perfis das emissões de Ca, semelhante aos de Mg, Mn e Fe, em função da potência do plasma e da vazão de nebulização obtidos para a amostra “SP” enriquecida.

Observando-se os gráficos da Figura 7, nota-se que os maiores valores de intensidade de sinal foram obtidos para 0,6 L min⁻¹ e 1,5 kW como vazão de nebulização e potência do plasma, respectivamente, em ambas as configurações de tocha. Com relação à potência, quanto maiores as potências aplicadas, maiores foram os sinais de emissão.

Para a seleção das condições de operação do ICP mais favoráveis para a determinação dos microconstituintes Mn e Fe [10], foram avaliadas as razões SNR e SBR entre as potências de 1,3 a 1,5 kW. Novamente, o objetivo foi estabelecer a potência que conferiria menores índices de ruído e sinal de fundo. Os resultados são apresentados na Figura 8.

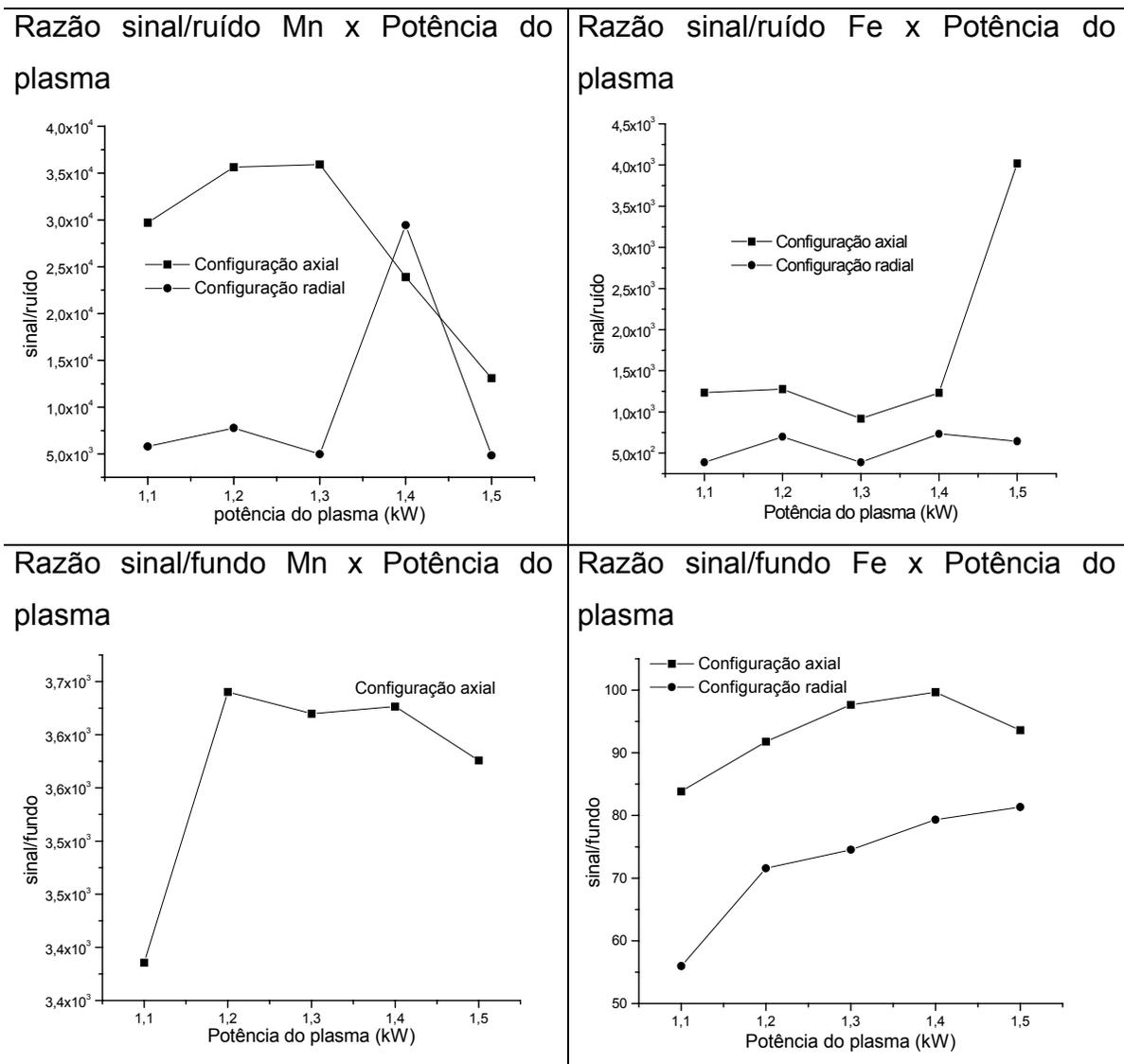


Figura 8: Relações entre as razões sinal/ruído e potência do plasma e sinal/fundo e potência do plasma obtidas para os elementos Mn e Fe da amostra “SP”.

Os gráficos da Figura 8 mostraram a mesma tendência para a relação entre SNR e a potência do plasma para o Mn e o Fe, no modo de observação radial. Considerando-se a relação entre SNR e as potências de 1,3 a 1,5 kW, nesse modo de observação, notou-se que o ruído foi menor em 1,4 kW para o Mn e, em 1,4 e 1,5 kW para o Fe, apresentando valores próximos. Observando-se a relação entre SBR e as potências de 1,3 a 1,5 kW para o Mn e o Fe, obteve-se o menor sinal de fundo em 1,4 kW, na configuração axial. No modo radial, não foi possível determinar as relações para o Mn, porque a solução do branco não

produziu sinal de emissão. Para o Fe, os menores sinais de fundo foram obtidos em 1,4 e 1,5 kW. Logo, para analisar a amostra de ACN a utilização da potência de 1,4 kW mostrou-se adequada para determinar os microconstituintes Mn e Fe com baixos ruído e sinal de fundo. Nesta potência também foi observado o menor fundo para Ca, em ambas as configurações de tocha. Para o Mg não se obteve sinal de emissão para o branco e a relação entre SBR e a potência não pôde ser avaliada. Em relação ao ruído, o Ca e o Mg apresentaram comportamentos distintos entre si e os elementos Mn e Fe.

5.4. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em amostras de água de coco industrializada

Comparando-se os coeficientes angulares das curvas analítica e de adição de analito obtidas, foram selecionadas as condições que permitiram determinar Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu diretamente nas soluções das amostras “A” e “B”. Para isto, considerou-se que em condições otimizadas o coeficiente angular de uma curva analítica deve estar numericamente próximo do coeficiente da respectiva curva de adição, devido à baixa interferência da matriz.

A escolha do ítrio como padrão interno deve-se ao fato de ser um elemento inexistente na matriz, além de ser eficiente na correção de interferências provocadas por elementos facilmente ionizáveis, como Na, K e Ca [22] (que estão presentes na água de coco) e, também, por corrigir variações no processo de nebulização [41].

Para a amostra “A” enriquecida, as condições que apresentaram menor interferência da matriz foram aquelas em que o ítrio foi empregado como padrão interno, mostrando-se adequado para melhorar a exatidão das determinações, principalmente, de Fe e Mn. Os demais parâmetros que se mostraram adequados para a análise direta de amostras de ACI foram: configuração de tocha radial para

Mg (280,270 nm) e axial para Ca (430,253 nm), Mn (257,610 nm) e Fe (238,204 nm).

Nas condições otimizadas para a amostra “A”, obteve-se as curvas de adição de analito para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu na amostra “B”, com o intuito de verificar se os parâmetros otimizados eram válidos para uma outra amostra de ACI. Além disso, avaliou-se a possibilidade de estender a aplicação do método para os elementos Zn e Cu.

As curvas analítica e de adição de analito obtidas, nas condições otimizadas, estão apresentadas nas Figuras 9 a 11 e os valores de recuperação dos analitos adicionados nas amostras estão na Tabela 7, juntamente com as concentrações determinadas para os diferentes analitos nas amostras “A” e “B”.

Observando-se os gráficos das Figuras 9 e 10, nota-se que os coeficientes angulares das curvas de adição de analito estão numericamente próximos dos coeficientes das curvas analíticas, para todos os elementos, na amostra “A” enriquecida. Isto indica que o efeito de matriz não foi significativo com o ICP operando em condições otimizadas, tornando possível a determinação direta desses analitos.

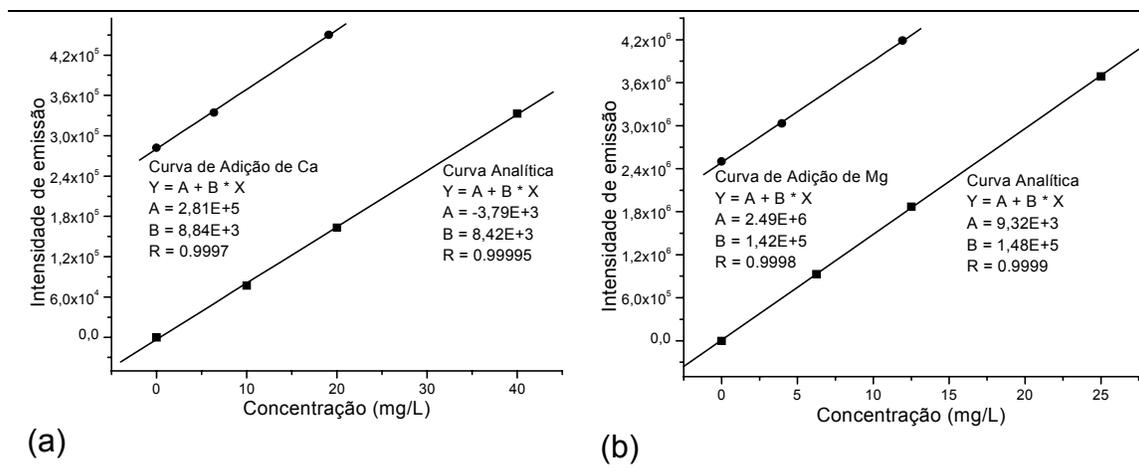


Figura 9: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra “A”. (a) Curvas analítica e de adição de Ca, visão axial, 2 mg L⁻¹ de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Mg, visão radial, 2 mg L⁻¹ de ítrio.

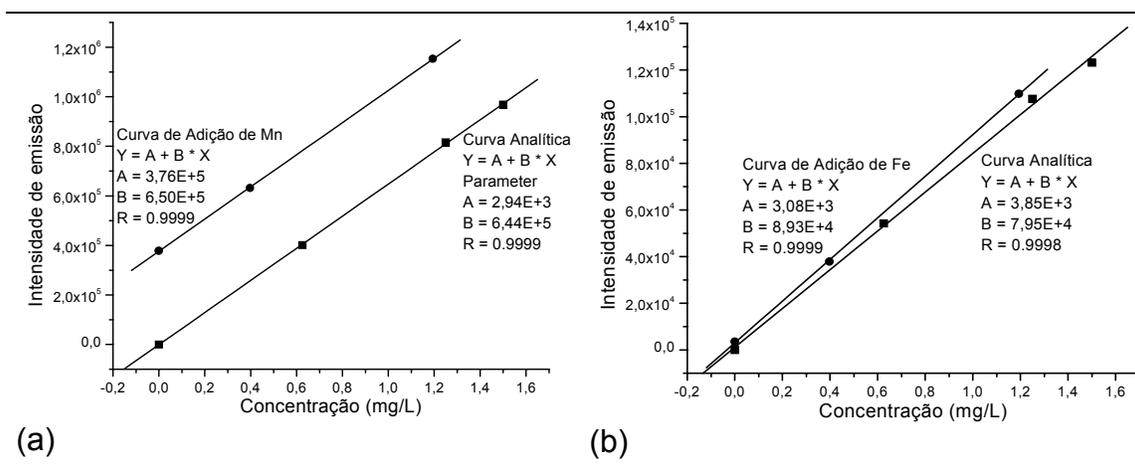


Figura 10: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra "A". (a) Curvas analítica e de adição de Mn, visão axial, 2 mg L^{-1} de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Fe, visão axial, 2 mg L^{-1} de ítrio.

O comportamento de Ca, Mg, Mn e Fe na amostra "A" enriquecida foi semelhante ao observado na amostra "B", cujos resultados para Zn e Cu estão mostrados na Figura 11.

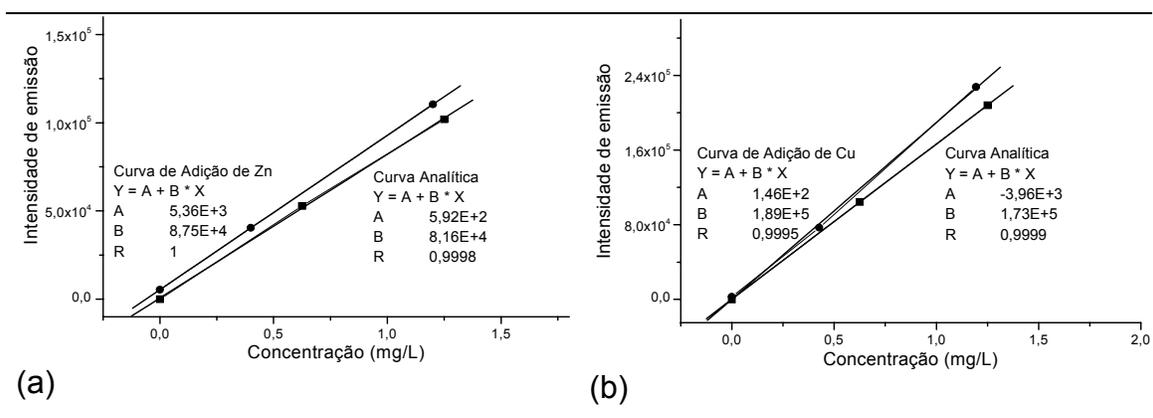


Figura 11: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra "B". (a) Curvas analítica e de adição de Zn; visão axial; 2 mg L^{-1} de ítrio. (b) Curvas analítica e de adição de Cu; visão axial; 2 mg L^{-1} de ítrio.

Tabela 7: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L⁻¹, determinadas nas amostras "A" e "B" e valores de recuperação.

<i>Metal</i>	<i>Concentração (RSD)</i>	<i>% Recuperação (RSD)</i>	
<i>Massa adicionada</i>		<i>0,16 mg</i>	<i>0,48 mg</i>
Ca	A: 170 (0,2) B: 229 (0,1)	A: 98 (0,4) B: 106 (0,6)	A: 104 (0,8) B: 104 (0,1)
<i>Massa adicionada</i>		<i>0,1 mg</i>	<i>0,3 mg</i>
Mg	A: 85 (0,7) B: 149 (0,4)	A: 89,9 (1,6) B: 105 (1,9)	A: 96 (0,7) B: 105 (1,1)
<i>Massa adicionada</i>		<i>0,01 mg</i>	<i>0,03 mg</i>
Mn	A: 3,0 (0,6) B: 5,2 (0,2)	A: 99,5 (0,6) B: 105 (0,7)	A: 101 (0,7) B: 103 (0,4)
Fe	A: 0,3 (2,8) B: —	A: 97 (1,2) B: 102 (0,1)	A: 100 (0,9) B: 102 (0,3)
Zn	A: — B: 0,3 (1,1)	— B: 108 (0,2)	— B: 107 (0,3)
Cu	A: — B: 0,2 (1,9)	— B: 107 (0,1)	— B: 108 (0,3)

Utilizando parâmetros otimizados, as recuperações para macro (Ca e Mg) e microconstituintes (Mn, Fe, Zn e Cu) ficaram entre 90 e 110 %, indicando, em termos quantitativos, que o método empregado tem boa exatidão [43]. Além disso o método apresentou precisão satisfatória, com RSD menor que 2 % para a maioria das determinações.

Como exemplo da importância de se empregar parâmetros instrumentais otimizados, são mostrados, na Tabela 8, os resultados para os experimentos de adição e recuperação dos analitos Ca e Fe, realizados em condições otimizadas e não otimizadas.

Tabela 8: Porcentagem de recuperação para Ca e Fe determinados em condições otimizadas e não otimizadas.

<i>Massa adicionada / Metal</i>	<i>Condições otimizadas</i>	<i>Condições não otimizadas*</i>
0,16 mg de Ca	98 ± 0,4	79,7 ± 0,3
0,48 mg de Ca	104 ± 0,8	92,3 ± 1
0,01 mg de Fe	97 ± 1,2	93 ± 3
0,03 mg de Fe	100 ± 0,9	96 ± 1

(*) Condições experimentais: Ca ($\lambda = 317,933$ nm, configuração axial, 2 mg L⁻¹ de Y); Fe ($\lambda = 238,204$ nm, configuração radial, 2 mg L⁻¹ de Y).

Os dados apresentados na Tabela 8 mostram que para o Ca, principalmente, mas também para o Fe o uso de condições otimizadas melhorou a exatidão das determinações, em especial nos níveis de concentração mais baixos.

Outro aspecto importante do procedimento de análise de amostras de ACI é o fator de diluição da amostra, como será mostrado adiante (item 5.7, pg. 54).

5.4.1. Figuras de mérito (água de coco industrializada)

Os valores para os limites de detecção e quantificação constam na Tabela 9.

Tabela 9: Limites de detecção e de quantificação, em mg L^{-1} , para a determinação de metais em água de coco industrializada e valores de LD declarados pelo fabricante [20]. Condições instrumentais: potência do plasma (1,3 kW), vazão de nebulização ($0,6 \text{ L min}^{-1}$), ítrio como padrão interno (2 mg L^{-1}).

<i>Metal</i>	<i>Configuração de tocha</i>	<i>LD experimental</i>	<i>LD fabricante</i>	<i>LQ</i>
Ca	axial	0,06	0,00002	2,10
Mg	radial	0,007	0,0001	0,24
Mn	axial	0,0003	0,0004	0,01
Fe	axial	0,0015	0,002	0,05
Zn	axial	0,0009	0,001	0,03
Cu	axial	0,0018	0,0004	0,06
Al	axial	0,02	0,003	0,7
Pb	axial	0,0096	0,01	0,32
Cd	axial	0,001	0,001	0,03
Se	axial	0,02	0,05	0,66

Os limites de detecção obtidos para a maioria dos elementos foram próximos aos limites declarados pelo fabricante; entretanto, o LD é um parâmetro estatístico [36], sendo, na prática, o LQ o parâmetro mais importante. Neste trabalho o LQ foi determinado considerando-se as recomendações do fabricante [20], os desvios padrões relativos (RSD), visando-se obter valores abaixo de 10 %

para as determinações, e os valores das concentrações equivalentes de fundo (BEC), de forma que os limites de quantificação não ficassem muito abaixo dos valores de BEC.

Os valores de BEC considerados foram os valores obtidos experimentalmente, realizando-se medidas da solução do branco sem e com correção de fundo e utilizando-se a seguinte equação [31,32] para o cálculo das concentrações:

$$\text{BEC} = I_B/S; \quad \text{onde:}$$

I_B = (intensidade de emissão do branco sem correção de fundo) – (intensidade de emissão do branco com correção de fundo);

S = coeficiente angular da curva de calibração.

Os valores de BEC obtidos estão apresentados no Apêndice 3.

Com relação à avaliação da exatidão do método empregando a amostra de referência “Mixed Food Diet”, os resultados obtidos para a análise da amostra são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L^{-1} , determinados na amostra “Mixed Food Diet” nas condições experimentais para a análise de água de coco industrializada e $n = 2$.

Metal	Concentração obtida	Concentração declarada
Ca	$41,1 \pm 0,2$	40
Mg	$15,5 \pm 0,1$	12
Mn	$0,212 \pm 0,001$	0,2
Fe	$0,85 \pm 0,01$	0,8
Zn	$0,33 \pm 0,01$	0,3
Cu	$0,069 \pm 0,002$	0,06

Os valores de concentração obtidos para os analitos, na amostra de referência, concordaram com os valores declarados, exceto para o Mg, onde foi

obtida uma diferença entre os mesmos. Como os valores declarados não são acompanhados dos respectivos desvios-padrão, a diferença observada para o Mg pode não ser tão grande. Além disso, existem diferenças de comportamento desta amostra, no plasma, em comparação com a água de coco, para a qual as condições instrumentais foram otimizadas. Desta forma, considerando-se os resultados obtidos para a maioria dos analitos, nesse experimento, e os resultados dos experimentos de adição e recuperação (item 5.4), concluiu-se que o método para análise de ACI apresentou exatidão satisfatória.

5.5. Avaliação de comprimentos de onda, configuração de tocha e uso de padrão interno para a determinação direta de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em amostras de água de coco natural

As curvas de adição de analito obtidas para cada elemento foram comparadas com as respectivas curvas analíticas e as condições em que os coeficientes angulares das curvas ficaram mais próximos, indicando baixa interferência da matriz, foram selecionadas como as mais adequadas para a determinação dos elementos estudados, mesmo na ausência do ítrio.

Ao contrário das amostras de ACI, o emprego de ítrio como padrão interno não foi necessário, sendo possível obter recuperações próximas de 100 % para todos os analitos.

Para a amostra "SP" os parâmetros que se mostraram mais adequados para a análise direta da amostra foram: configuração de tocha radial para Ca (317,933 nm), Mg (280,270 nm), Mn (257,610 nm) e Fe (238,204 nm). As curvas analítica e de adição de analito, nestas condições, estão apresentadas nas Figuras 12 a 14, e os valores de recuperação dos analitos adicionados estão na Tabela 11.

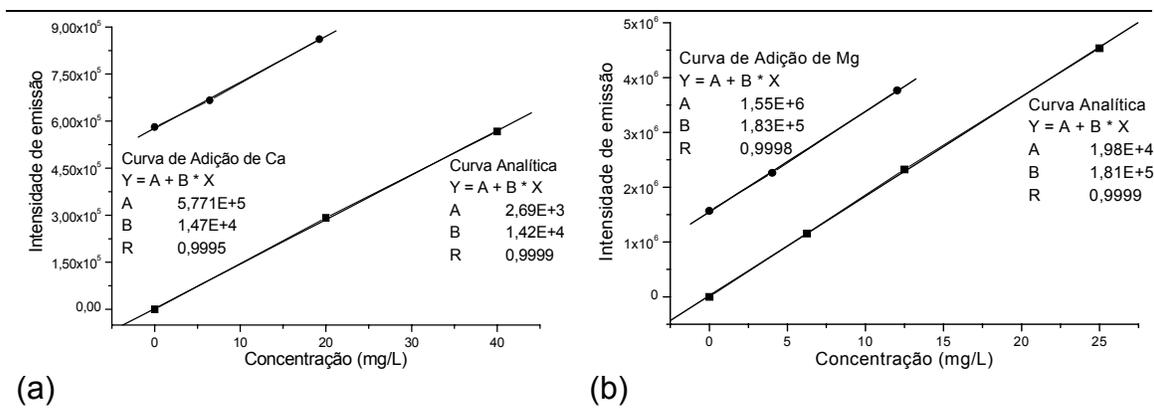


Figura 12: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra "SP". (a) Curva de adição de Ca; visão radial. (b) Curva de adição de Mg; visão radial.

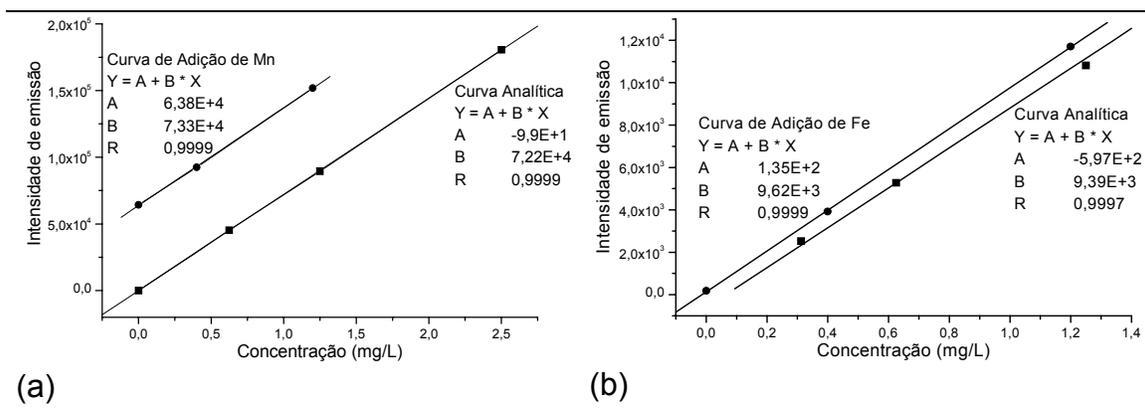


Figura 13: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra "SP". (a) Curva de adição de Mn; visão radial. (b) Curva de adição de Fe; visão radial.

Observando-se os gráficos das Figuras 12 e 13, nota-se que os coeficientes angulares das curvas de adição de analito ficaram próximos dos coeficientes das curvas analíticas, para todos os elementos, na amostra "SP" enriquecida.

Nas condições otimizadas para a amostra "SP", o comportamento dos analitos Ca, Mg, Mn e Fe na amostra "PB" enriquecida foi semelhante àquele observado na amostra "SP", ou seja, não se observou efeito de matriz significativo considerando-se os perfis das curvas analítica e de adição de analito obtidas. Os resultados obtidos para Zn e Cu, na amostra "PB", são mostrados na Figura 14.

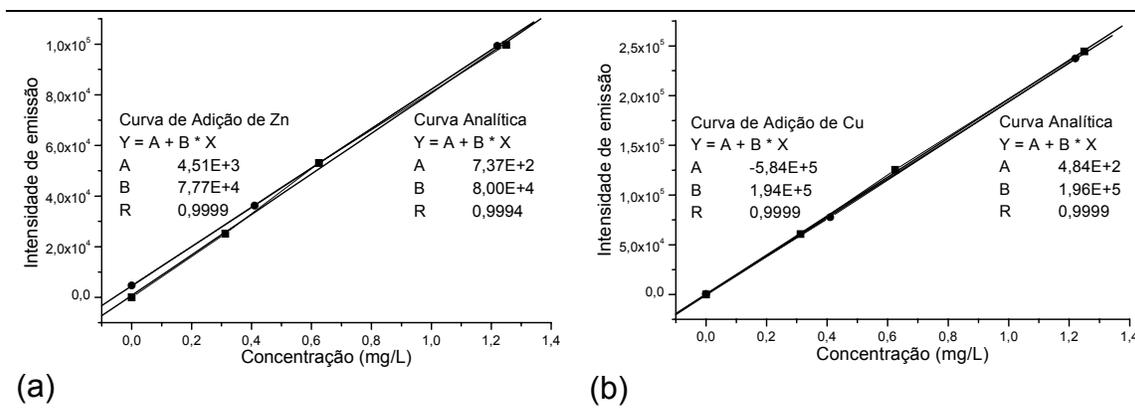


Figura 14: Experimento de adição e recuperação de analitos na amostra "PB". (a) Curva de adição de Zn; visão axial. (b) Curva de adição de Cu; visão axial.

Avaliando-se os resultados apresentados na Figura 14, nota-se que também é possível determinar Zn e Cu, diretamente, na água de coco natural com o ICP operando em condições otimizadas.

Tabela 11: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L⁻¹, determinadas nas amostras "SP" e "PB" e valores de recuperação para a adição dos analitos em dois níveis de concentração.

Metal	Concentração (RSD)	% Recuperação (RSD)	
Massa adicionada		0,16 mg	0,48 mg
Ca	A: 204 (0,1) B: 195 (0,1)	A: 94 (0,4) B: 94 (0,2)	A: 103 (0,5) B: 93 (0,1)
Massa adicionada		0,1 mg	0,3 mg
Mg	A: 43 (0,1) B: 71 (0,04)	A: 96 (0,7) B: 96 (0,2)	A: 103 (0,5) B: 96 (0,2)
Massa adicionada		0,01 mg	0,03 mg
Mn	A: 4,5 (0,2) B: 2,3 (1,9)	A: 96 (0,5) B: 98 (0,1)	A: 101 (1,6) B: 95 (0,7)
Fe	A: --- B: ---	A: 98,2 (1,4) B: 93 (2,5)	A: 97 (1,2) B: 95 (0,2)
Zn	A: 0,15 (9,8) B: 0,2 (1,1)	----- B: 100 (1,8)	----- B: 99 (0,9)
Cu	A: --- B: ---	----- B: 97 (0,2)	----- B: 99 (0,9)

Na Tabela 11, observa-se que as recuperações para os macro (Ca e Mg) e microconstituintes (Mn, Fe, Zn e Cu) ficaram em torno de 100 %, mostrando boa exatidão [38], e que o método apresentou precisões satisfatórias, com RSD menor que 2 % para a maioria das determinações. Portanto, o método proposto é adequado para análises quantitativas e pode ser usado para determinar esses elementos em amostras de ACN sem nenhum tratamento prévio.

5.5.1. Figuras de mérito (água de coco natural)

Os limites de detecção e quantificação obtidos para cada analito estão na Tabela 12.

Tabela 12: Limites de detecção e quantificação para a determinação de metais em água de coco natural e valores de LD declarados pelo fabricante [20]. Condições instrumentais: potência do plasma (1,4 kW) e vazão de nebulização (0,6 L min⁻¹).

Metal	Configuração de tocha	LD experimental	LD fabricante	LQ
Ca	radial	0,022	0,00002	0,72
Mg	radial	0,001	0,0001	0,03
Mn	radial	0,0005	0,0004	0,02
Fe	radial	0,0051	0,002	0,17
Zn	axial	0,0007	0,001	0,02
Cu	axial	0,0015	0,0004	0,05
Al	axial	0,017	0,003	0,58
Pb	axial	0,011	0,01	0,37
Cd	axial	0,0006	0,001	0,02
Se	axial	0,013	0,05	0,43

Os limites de detecção obtidos para a maioria dos analitos ficaram acima dos valores declarados pelo fabricante, ao contrário do que se observou para o método de análise de ACl. Como na prática o LQ é o parâmetro mais importante, este foi calculado considerando-se as recomendações do fabricante [20], os desvios padrões relativos das determinações e os valores experimentais de BEC

para os analitos. Estes aspectos foram avaliados do mesmo modo que o realizado para o método de análise de ACI. Os valores de BEC obtidos, nas condições de análise de ACN constam no Apêndice 4.

Quanto à avaliação da exatidão do método, através da análise da amostra de referência “Mixed Food Diet”, os resultados obtidos são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13: Concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, em mg L⁻¹, determinadas na amostra “Mixed Food Diet” nas condições experimentais para a análise de água de coco natural e n= 2.

Metal	Concentração obtida	Concentração declarada
Ca	38,6 ± 0,4	40
Mg	15,7 ± 0,1	12
Mn	0,2 ± 0	0,2
Fe	0,82 ± 0,01	0,8
Zn	0,27 ± 0,01	0,3
Cu	0,06 ± 0	0,06

Os valores de concentração obtidos para os analitos, na amostra de referência, concordaram com os valores declarados, exceto para o Mg. Novamente, obteve-se para o Mg uma diferença maior entre a concentração encontrada e a declarada, provavelmente devido a um comportamento do Mg, nesta amostra, diferente do comportamento observado na água de coco. Logo, considerando-se os resultados para a maioria dos analitos determinados e também os resultados dos experimentos de adição e recuperação (item 5.5) é possível concluir que o método estudado para análise de ACN possui boa exatidão.

5.6. Aplicação analítica

5.6.1. Análise de amostras de água de coco industrializada e contribuição nutricional da bebida

Os parâmetros experimentais (potência do plasma, vazão de nebulização e uso de padrão interno) utilizados para determinar Al, Pb, Cd e Se foram estabelecidos baseando-se nos resultados dos estudos realizados para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, nas amostras “A” e “B”. Os comprimentos de onda e as configurações de tocha empregados devem-se às recomendações do fabricante e da literatura, discutidos no item 5.2.

Os resultados das análises das amostras (“C” a “I”) são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Concentrações, em mg L⁻¹, dos metais determinados em amostras (“C” a “I”) de água de coco industrializada.

Metal	C	D	E	F	G	H	I
Ca	232	253	212	232	180	188	153
Mg	116	142	117	78	108	105	73
Mn	1,8	3,3	2,0	4,4	1,5	1,9	2,1
Fe	0,11 ^a	0,11 ^a	0,21 ^a	0,18 ^a	0,17 ^a	0,21 ^a	0,09 ^a
Zn	0,35	0,21 ^a	0,39	0,21 ^a	0,30	0,43	0,27 ^a
Cu	0,13	0,23	0,14	0,13	0,13	0,13	0,19
Al, Pb, Cd, Se	< LD						

- Todas as análises realizadas apresentaram RSD próximo ou inferior a 2 %.
- (a) Valores correspondentes a concentrações que estão abaixo de limite de quantificação.

Os valores de concentração obtidos para o Fe e o Zn, que estão abaixo do LQ, podem ser considerados estimativas da concentração, por estarem acima de 5LD (cinco vezes o valor do LD) [20].

As concentrações médias dos elementos determinados, para um intervalo com 95 % de confiança [44], são apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15: Concentração média, em mg L^{-1} , para um intervalo com 95 % de confiança, dos elementos determinados em amostras de água de coco industrializada.

Metal	Concentração
Ca	205 ± 27
Mg	108 ± 21
Mn	$2,8 \pm 0,9$
Fe	$0,13 \pm 0,05$
Zn	$0,28 \pm 0,08$
Cu	$0,14 \pm 0,05$

Considerando-se os resultados obtidos para as amostras estudadas pode-se concluir que Ca e Mg são macroconstituintes da água de coco industrializada, enquanto Mn, Fe, Zn e Cu são microconstituintes. Dentre os elementos estudados, apenas aqueles que são considerados essenciais para a dieta humana [1] estão presentes nas amostras.

As concentrações obtidas para os metais estudados em cinco lotes da marca “A” constam na Tabela 16.

Tabela 16: Concentrações, em mg L^{-1} , para metais determinados em lotes diferentes (“L1” a “L5”) da amostra “A”.

Metal	L1	L2	L3	L4	L5	Média	RSD (%)
Ca	182	202	170	185	165	180	8
Mg	83	91	91	86	84	87	4
Mn	2,8	3	2,5	2,9	2,8	2,8	7
Fe	0,17 ^a	0,16 ^a	0,14 ^a	0,26	< LD	0,14	64
Zn	0,01 ^a	0,09 ^a	0,16 ^a	0,09	0,08	0,1	30
Cu	0,11 ^a	0,15 ^a	0,08 ^a	0,3 ^a	< LD	0,13	93,5
Al, Pb, Cd, Se	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	---	---

(a) Valores correspondentes a estimativas de concentração, por estarem abaixo do LQ, mas cinco vezes acima do LD [20].

Observando os resultados, nota-se que os teores dos macroconstituintes (Ca, Mg e Mn) variaram menos do que 10 %, o que pode ser considerado adequado. Ao contrário, os teores dos microconstituintes (Fe, Cu e Zn) variaram bastante, sendo a menor variação obtida para o Zn (30 %).

Este tipo de investigação é importante para validar as informações químicas declaradas pelos fabricantes e, também, para avaliar se existe alteração no valor nutricional dos alimentos. Considerando-se todas as amostras de ACI que foram analisadas neste trabalho, houve casos em que as concentrações declaradas não concordaram com as concentrações encontradas, empregando-se o método estudado.

Comparando-se os teores médios dos metais encontrados nos lotes da amostra “A” com os encontrados no conjunto das sete marcas analisadas, nota-se que correspondem a dados de uma mesma população.

Utilizando-se os dados da Tabela 15 como referência, as doses de ingestão diárias recomendadas para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu (item 2.3) e considerando-se a ingestão de 300 mL de água de coco, que é o conteúdo médio das embalagens das diferentes marcas, a contribuição nutricional da bebida é: Ca (6 % do VD), Mg (8 % do VD), Mn (56 % do VD), Fe (0,5 % do VD), Zn (0,6 % do VD) e Cu (2 % do VD). Desta forma, é justificável o crescente consumo de água de coco, uma vez que auxilia na ingestão de nutrientes essenciais ao organismo, na forma de uma bebida saborosa.

5.6.2. Análise de amostras de água de coco natural e contribuição nutricional da bebida

Para os elementos Al, Pb, Cd e Se os parâmetros experimentais potência do plasma e vazão de nebulização utilizados foram estabelecidos baseando-se nos resultados obtidos para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu, nas amostras “SP” e “PB”.

Os resultados das análises das amostras são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Concentração, em mg L^{-1} , dos metais determinados em amostras (“PA”, “BA”, “MG”, “BA-A”, “RN”, “RD”) de água de coco natural.

Metal	PA	BA	MG	BA - A	RN	RD
Ca	149	167	331	146	65	122
Mg	57	101	60	104	73	49
Mn	1,7	7,9	2,2	3,6	0,2	1,1
Fe	< LD	< LD	0,18 ^a	< LD	< LD	< LD
Zn	0,25	< LD	0,22	0,13	< LD	0,12
Cu	< LD	< LD	0,04 ^a	< LD	< LD	< LD
Al, Pb, Cd, Se	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

- Todas as análises foram realizadas com boas precisões, com um RSD inferior a 3 % para a maioria das determinações.
- (a) O valor de concentração está abaixo do limite de quantificação.

Os valores de concentração de Fe e de Cu, na amostra “MG” ficaram abaixo do limite de quantificação, mas podem ser considerados estimativas das concentrações, por estarem acima de 5LD [20]. Experimentalmente, Fe e Cu foram encontrados apenas nesta amostra. Assim como nas amostras de ACI as espécies Al, Pb, Cd e Se não foram encontradas.

A concentração média dos elementos determinados, exceto para o Fe e o Cu, que só foram encontrados na amostra “MG”, é apresentada na Tabela 18.

Tabela 18: Concentração média, para um intervalo com 95 % de confiança, dos elementos determinados em amostras de água de coco natural.

Metal	Concentração/ mg L^{-1}
Ca	172 ± 65
Mg	69 ± 19
Mn	$2,9 \pm 1,9$
Zn	$0,11 \pm 0,07$

Avaliando os resultados obtidos para as amostras analisadas nota-se que Ca e Mg são macroconstituintes da água de coco natural, enquanto Mn e Zn são microconstituintes.

Comparando-se os intervalos de confiança para as médias de Ca, Mg, Mn e Zn nas amostras de ACN, com os intervalos obtidos para as amostras de ACI, observou-se que existe sobreposição dos mesmos, indicando similaridades na composição química entre os dois grupos de amostras.

Utilizando-se os dados da Tabela 18 como referência, as doses de ingestão diárias recomendadas para Ca, Mg, Mn e Zn (item 2.3) e considerando-se a ingestão de 400 mL de água de coco, volume aproximado de um coco, a contribuição nutricional da bebida é: Ca (7 % do VD), Mg (7 % do VD), Mn (58 % do VD) e Zn (0,3 % do VD).

5.6.3. Avaliação dos resultados das análises de água de coco natural e industrializada empregando PCA e HCA

Para uma melhor avaliação dos resultados obtidos nas análises de água de coco, foi feito um tratamento quimiométrico dos mesmos. Para isso os dados foram autoescalados, isto é, centrados na média e divididos pela variância [17]. No caso dos dados em questão, foi necessário realizar este pré-processamento para “normalizar” os valores de concentração. Entre os elementos determinados existem os que estão em baixa concentração e os que estão em alta concentração e, para atribuir-lhes a mesma importância (peso), inicialmente o pré-processamento é utilizado.

Empregaram-se os métodos de HCA e PCA, porque ambos os métodos fornecem o mesmo tipo de informação, ou seja, o agrupamento das amostras em classes, porém de formas diferentes [17], permitindo que os resultados obtidos com um método sejam comparados com os resultados fornecidos pelo outro.

O dendograma obtido para a HCA está representado na Figura 15, onde é possível identificar e agrupar as amostras com os mesmos níveis de similaridade.

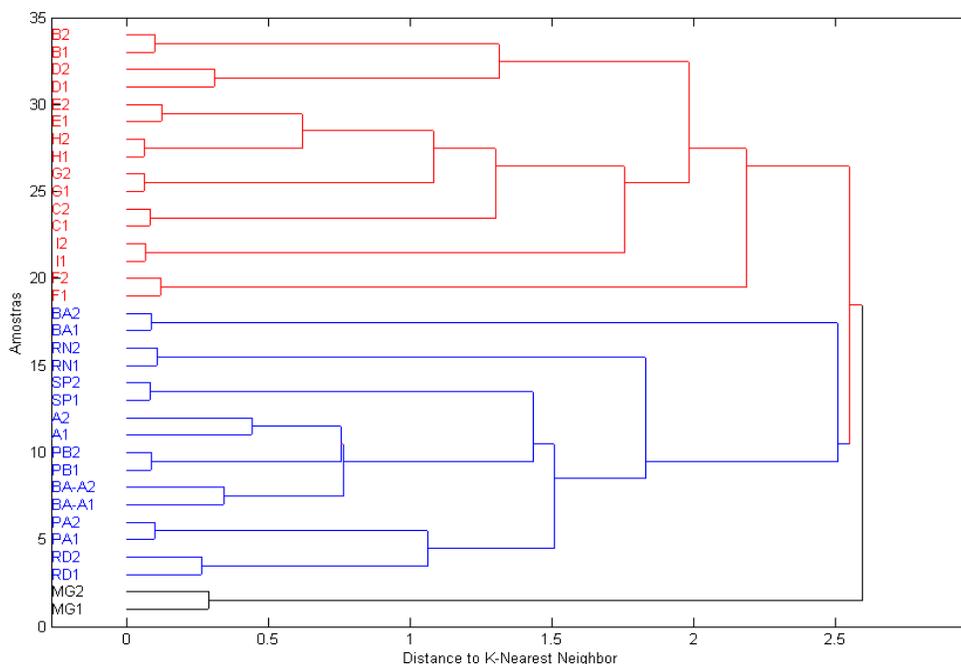


Figura 15: Dendrograma correspondente à classificação de 34 amostras de água de coco, entre industrializadas e naturais, sendo 16 pertencentes à classe 1, 16 à classe 2 e 2 à classe 3.

Através do dendrograma, pôde-se observar na distância para o vizinho mais próximo (no gráfico “Distance to K-Nearest Neighbor”) de 2,5, que é uma medida da similaridade entre as amostras analisadas, a classificação das 34 amostras, das quais as 16 representadas em vermelho pertencem à classe 1 (correspondente às águas de coco industrializadas), as 16 amostras em azul pertencem à classe 2 e as 2 em preto pertencem à classe 3, (ambas correspondentes às águas de coco naturais).

As amostras de água de coco industrializada “A1” e “A2” foram classificadas como água de coco natural. Isto significa que, embora seja industrializada, sua composição química é similar à de uma água de coco natural, em relação aos elementos estudados. No rótulo deste produto está escrito que a bebida é 100 % natural, tendo passado apenas pelos processos de pasteurização e envasamento. Vale ressaltar que o preço desta água de coco é maior que as demais existentes no mercado e, além disso, é também comercializada para exportação. Talvez em função disso, ela apresente uma qualidade maior, com uma composição mais

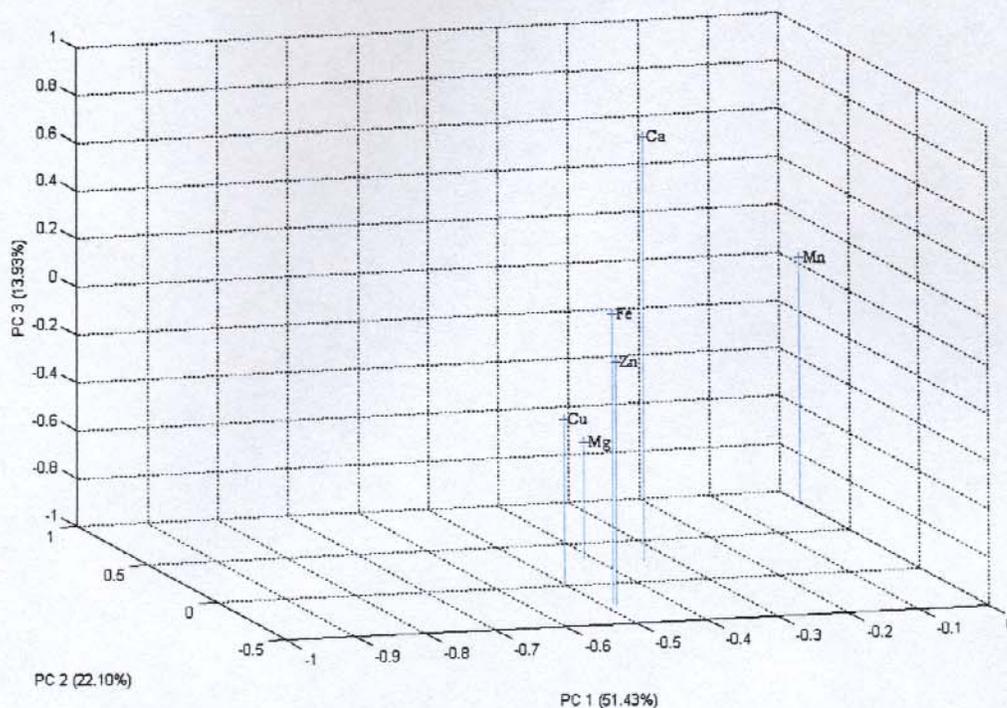


Figura 17: Gráfico dos pesos para as variáveis Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nos três primeiros componentes principais.

O gráfico dos pesos mostrou que a concentração de Mn influencia o componente principal 1 (PC1), que explica 51,43 % da variância, e o PC2, que explica 22,10 % da variância; logo, a concentração de Mn influencia em 73,53 % as informações explicadas pelo modelo, sendo a variável mais relevante para a distinção entre as amostras.

Esta informação é interessante porque os teores médios de Mn são praticamente os mesmos para as amostras de ACI e ACN ($2,8 \pm 0,9$ e $2,9 \pm 1,9$), porém os intervalos de concentração são diferentes; as concentrações de Mn variam muito mais nas amostras de ACN do que nas de ACI.

Outra informação relevante que pode ser extraída do gráfico de pesos é a influência da concentração de Ca, que tem maior importância no PC3 e que contém 13,93 % da variância explicada. Desta forma, comparando-se os gráficos de scores com o de pesos é possível concluir que a concentração de Ca é o principal fator responsável pela classificação das amostras "MG1" e "MG2" em uma classe diferente das demais amostras. Este aspecto esclarece a classificação

obtida através da HCA e da PCA e está coerente com os resultados da Tabela 17, onde são mostradas as concentrações de Ca para as amostras de ACN, sendo a média da concentração para as amostras de MG praticamente o dobro das demais.

De uma maneira geral, os resultados obtidos através da HCA e da PCA indicam que embora os intervalos de concentração para os metais encontrados nas amostras de ACI e ACN se sobreponham, as amostras de grupos diferentes são estatisticamente diferentes, com exceção das amostras “A” e “MG”.

Com relação aos modelos obtidos com a HCA e a PCA, estes se mostraram eficazes para a classificação de amostras de ACI e ACN, considerando-se as amostras utilizadas. Portanto, podem ser considerados conjuntos de treinamento, isto é, podem ser utilizados para classificar amostras desconhecidas, pertencentes a um conjunto teste e também em análises de controle de qualidade, para detectar possíveis adulterações.

5.7. Avaliação do desempenho do nebulizador *cone spray*

Considerando que o modo de introdução da amostra é um dos fatores que mais influencia as características do plasma durante a análise, o desempenho do nebulizador *cone spray* foi avaliado com o objetivo de introduzir no plasma uma maior quantidade de amostra, ou seja, soluções com mais de 20 % m/v de amostra, buscando assim favorecer a determinação de microconstituintes na ACI e na ACN. Para isto, foram utilizadas soluções das amostras “A” e “MG” a 40 % m/v e, através de curvas de adição de analito, verificou-se se haveria, nesta diluição, efeitos de matriz. As recuperações que ficaram entre 90 e 110 % [43] para os dois níveis de adição foram consideradas adequadas para este estudo.

A porcentagem de recuperação para os analitos adicionados às amostras é mostrada na Tabela 19.

Tabela 19: Concentrações e valores de recuperação, em mg L⁻¹, para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nas amostras "A" e "MG".

Metal	Concentração (RSD)	% Recuperação (RSD)	
Massa adicionada		0,16 mg	0,48 mg
Ca	A: 190 (1,6) MG: 333 (0,3)	A: 85 (0,7) MG: 49 (0,8)	A: 97 (1,3) MG: 74 (2)
Massa adicionada		0,1 mg	0,3 mg
Mg	A: 87,8 (0,4) MG: 60 (0,3)	A: 91 (0,5) MG: 79 (1)	A: 100 (1,6) MG: 85,7 (2)
Massa adicionada		0,01 mg	0,03 mg
Mn	A: 3,1 (1,2) MG: 2,3 (0,2)	A: 98,8 (0,4) MG: 91,5 (0,9)	A: 99,2 (0,6) MG: 88,9 (1,4)
Fe	A: 0,15 (4,6) MG: 0,27 (0,3) ^a	A: 99,8 (1,5) MG: 93 (2)	A: 99,5 (1,7) MG: 91,3 (1,7)
Zn	A: 0,12 (1,5) MG: 0,47 (6) ^a	A: 107 (1) MG: 90 (0,8)	A: 105,7 (1,6) MG: 92 (0,1)
Cu	A: 0,1 (5) MG: < LD	A: 105 (1,2) MG: 93,6 (0,1)	A: 105,7 (2) MG: 92,2 (0,6)

(a) Valores de concentração que estão abaixo do LQ (vide Apêndice 4).

Observando-se os valores de recuperação, nota-se que as condições experimentais apresentaram restrições para determinar Ca e Mg na amostra "MG" e Ca na amostra "A", pois as recuperações não foram adequadas, nos dois níveis de adição. Entretanto, para os microconstituintes Mn, Fe, Zn e Cu os valores de recuperação obtidos, para ambas as amostras, foram satisfatórios, demonstrando que a utilização dos parâmetros otimizados anteriormente (com soluções de amostra a 20 % m/v e usando o nebulizador cross-flow) possibilitaram a determinação desses elementos em soluções de amostra a 40 % m/v sob um efeito de matriz praticamente desprezível.

Com relação às concentrações de Fe e de Zn, na amostra "MG", os valores obtidos ficaram abaixo do LQ e podem ser considerados uma estimativa dos teores destes elementos, pois as concentrações são superiores a 5LD [20]. Neste experimento, os limites de detecção e quantificação foram calculados do mesmo modo que o realizado anteriormente (itens 4.5.1.1 e 4.5.2.2) e são apresentados no Apêndice 5.

Para verificar se a utilização da amostra a 40 % m/v favoreceu a determinação dos microconstituintes Mn, Fe, Zn e Cu, comparou-se as concentrações dos elementos (que ficaram acima do LQ) com as concentrações determinadas utilizando-se a amostra a 20 % m/v e o nebulizador cross-flow. As concentrações que foram comparadas constam na Tabela 20.

Tabela 20: Concentrações, em mg L⁻¹, obtidas com o uso das amostras “A” e “MG” a 40 % m/v e empregando-se o nebulizador cone spray, e concentrações obtidas com as amostras a 20 % m/v e empregando-se o nebulizador cross-flow.

Metal	Amostra a 40 % m/v	Amostra a 20 % m/v
Mn	A: 3,10 ± 0,04	A: 2,84 ± 0,01
	MG: 2,30 ± 0,01	MG: 2,20 ± 0,01
Fe	A: 0,153 ± 0,001	A: 0,170 ± 0,002
Zn	A: 0,116 ± 0,002	A: 0,11 ± 0,02
Cu	A: 0,104 ± 0,005	A: 0,10 ± 0,01

Comparando-se os teores médios para Mn, Fe, Zn e Cu, determinados na solução de amostra a 40 % m/v, notou-se que estes concordam com os teores obtidos na amostra a 20 % m/v. Logo, considerando-se estes resultados e também o fato de que os elementos Al, Pb, Cd, e Se não terem sido detectados, da mesma forma que nos experimentos anteriores (itens 5.6.1 e 5.6.2), não há vantagens em se usar a amostra a 40 % m/v e empregar um nebulizador cone spray para determinar esses elementos em ACI ou ACN.

As Tabelas 21 e 22 mostram os valores obtidos para as sensibilidades das curvas analíticas, sob as condições de análise de ACI e ACN, respectivamente, na presença de um nebulizador do tipo cross-flow e um do tipo cone spray.

Tabela 21: Sensibilidades das curvas analíticas obtidas com o uso do nebulizador cone spray e com o uso do nebulizador cross-flow sob as condições de análise de água de coco industrializada

Metal	Cross-flow	Cone spray	Aumento (%)
Ca	4059,5	4269,9	5
Mg	118454	148379,6	20
Mn	387608	440417	12
Fe	51386	57460,4	10
Zn	47275,5	52600,7	10
Cu	126696	145627,8	13
Al	8922,3	8378,9	- 6,5
Pb	2545,6	2795,1	9
Cd	68255	66367,2	- 2,8
Se	1310,7	1439,9	9

Para a análise de ACI, a sensibilidade do método aumentou em aproximadamente 11 %, para a maioria dos elementos. O maior aumento foi de 20 % para o Mg, mas o experimento de adição e recuperação demonstrou que a sua determinação não apresentou boa exatidão ao empregar a amostra a 40 % v/v e o nebulizador cone spray.

Para o método de análise de ACN, a sensibilidade não aumentou para nenhum dos analitos, diminuindo em 5 %, em média, para Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu. Para os elementos Al, Pb, Cd e Se, que são elementos mais difíceis de serem determinados em baixas concentrações, especialmente Al, Pb e Se, a diminuição na sensibilidade foi maior, de aproximadamente 15 %.

Tabela 22: Sensibilidades das curvas analíticas obtidas com o uso do nebulizador cone spray e com o uso do nebulizador cross-flow sob as condições de análise de água de coco natural

Metal	Cross-flow	Cone spray	Aumento (%)
Ca	13325,6	13055,4	- 2,1
Mg	169097	164301,8	- 3
Mn	72169,1	71023,1	- 1,6
Fe	9810,8	9387,2	- 4,5
Zn	56649,4	50619,8	- 12
Cu	148688	139196,4	- 6,8
Al	8599	7650,1	- 12,4
Pb	3131,9	2651,2	- 18
Cd	76011,8	65410	- 16
Se	1598,2	1389,5	-15

Em termos de sensibilidades das curvas analíticas obtidas com o cone spray observou-se melhores resultados apenas para o método de análise de ACI, porém não foram consideradas significativas, em relação aos valores obtidos com o uso do cross-flow.

5.8. Estudo complementar: estimativa das concentrações de Na e K em água de coco industrializada e natural

Para a avaliação da concentração de Na e K em água de coco industrializada e natural, foi utilizado ítrio como padrão interno, nas análises de ACI, e os valores das potências do plasma e das vazões de nebulização utilizados correspondem às condições otimizadas para Ca, Mg, Mn e Fe para a análise de ACI ou ACN. Os comprimentos de onda empregados foram os recomendados pelo fabricante [42], e a realização das determinações em configuração radial de tocha deveu-se ao fato desta configuração ser menos susceptível a interferências [21] e também porque ocorreu saturação do K, quando a configuração axial foi utilizada. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 23.

Tabela 23: Concentrações médias, em mg L⁻¹, de Na e K em amostras de água de coco industrializada e natural.

Metal	Industrializada	Natural
Na	185 ± 87	24 ± 18
K	1723 ± 754	1663 ± 417

A concentração média de Na estimada para as amostras de ACI diferiu, significativamente, da estimativa para as amostras de ACN, o que sugere a adição de Na nas amostras industrializadas. Por outro lado, as concentrações de K ficaram na mesma ordem de grandeza. O que foi observado e está de acordo com os dados da literatura [10,13, 32], é que o teor de K é significativamente maior que o de Na.

6. CONCLUSÕES

Os métodos de análise propostos para investigar a presença de constituintes inorgânicos em água de coco, industrializada e natural, mostraram-se adequados; apresentaram precisões e exatidões satisfatórias e puderam ser empregados em amostras de ambos os tipos.

A aplicação dos métodos permitiu calcular intervalos de confiança para as médias das concentrações de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nessas matrizes, permitindo comparar a composição mineral dos dois grupos de amostras. Os intervalos de concentração para as amostras industrializadas foram diferentes daqueles obtidos para as amostras naturais. Entretanto, possuem faixas de sobreposição e isto indica que existem semelhanças na composição química dessas amostras. Por outro lado, Fe e Cu foram detectados apenas nas amostras industrializadas, com exceção para a amostra procedente de Minas Gerais.

A utilização de métodos quimiométricos para reconhecimento de padrões auxiliou na interpretação dos resultados obtidos para as amostras estudadas. Foi possível diferenciá-las, estatisticamente, em dois grupos principais, industrializadas e naturais, em função das concentrações das espécies estudadas, dentre as quais o Mn foi a mais importante para realizar esta diferenciação.

De uma maneira geral, os resultados sugerem que o processo de industrialização da água de coco altera algumas das características da bebida, talvez pelo enriquecimento com aditivos, contaminação por elementos como Fe e Cu ou outras substâncias.

Comparando-se os resultados obtidos para as amostras industrializadas e naturais, concluiu-se que Ca e Mg são macroconstituintes, enquanto Mn e Zn são microconstituintes dessas matrizes. Além disso, os intervalos de concentração obtidos para esses elementos são uma contribuição importante para o conhecimento da composição química da água de coco brasileira.

Os elementos Al, Pb, Cd e Se não foram detectados, em nenhum dos grupos de amostras. Mas, para uma avaliação mais segura, sobre a possível

presença desses elementos é interessante que outros estudos sejam realizados. Sugere-se a introdução de uma etapa de pré-concentração ou a utilização de uma outra técnica analítica, como a absorção atômica com atomização eletrotérmica, que apresenta limites de detecção melhores para esses elementos.

Os experimentos com o nebulizador cone spray mostraram que os parâmetros instrumentais otimizados (com o uso do nebulizador cross-flow) podem ser utilizados para determinar Mn, Fe, Zn e Cu em água de coco natural e industrializada empregando-se soluções de amostra mais concentradas, em comparação com as soluções empregadas quando foi utilizado o nebulizador cross-flow. Por outro lado, os testes realizados com ambos os nebulizadores forneceram respostas semelhantes para os teores dos analitos em uma amostra industrializada e em uma natural. Com relação à sensibilidade das determinações desses elementos e também de Ca, Mg, Al, Pb, Cd e Se não foram observadas alterações significativas que justificassem uma preferência para o uso do cone spray.

Considerando-se os resultados obtidos com o estudo, a aplicação dos métodos de análise, e vantagens como a determinação direta de macro e microconstituintes em uma mesma solução de amostra, os métodos propostos mostram potencialidade para serem aplicados a outros elementos e para utilização em análises de rotina, como as de controle de qualidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LEÓN, M. C.; BURGOS, A.; HERNÁNDEZ-VELAZQUEZ, A.; HARDISSON, A. "Alimentation, Nutrition Y Salud". *Alimentaria*, **34**(278), 1996, 29-39.
2. MERTZ, W. (Ed) Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 5th ed, vol. 1, Academic Press, San Diego, 1987, cap. 1.
3. PEDRO, N. A. R. Determinação de Nutrientes Minerais em Alguns Alimentos por ICP OES. Tese de Doutorado, IQ-USP, São Paulo, 1998.
4. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 5th ed, vol. A10, VCH Publishers, Weinheim, 1987, 221 – 222.
5. CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V.; GLÓRIA, M. B. A. "Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water". *J. Food Process. Preserv.*, **20**, 1996, 487 - 500.
6. KUBERSKY, T.; ROBERTS, A.; LINEHAN, B.; BRYDEN, R. N.; TEBURARE, M. "Coconut water as a rehydration fluid". *New Zeal. Med. J.*, **90**, 1979, 98-100.
7. ACHARYA, V. N.; GREPTA, K. C.; GOLWALA, A. F.; STORE, S. D.; SHETH, U. K. "Comparative study of intravenous use of natural coconut water, synthetic coconut water and glucose saline in acute gastro-enteritis". *Ind. J. Med. Res.*, **53**, 11, 1965, 1069 - 1073.
8. COOPER, E. S. "Coconut water". *Lancet*, **2**, 1986, 281.
9. MACALALAG, E. V. "Bukolysis: Young coconut water renoclysis for urinary stone dissolution". *Int. Surg.*, **72**, 1987, 247.
10. SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T., TADOKORO, T.; MAEKAVA, A. "Nutrient composition of Kopyor coconuts". *Food Chem.*, **57**, 1996, 299-304.
11. JEGANATHAN, M. "Nut water analysis as a diagnostic tool in coconut nutrition studies". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **23** (17-20), 1992, 2667-2686.
12. NADANASABAPATHY, S.; KUMAR, R. "Physico-chemical constituents of tender coconut (*Cocos nucifera*) water". *Indian J. Agric. Sci.*, **69** (10), 1999, 750-751.
13. PEREIRA, R. "O que é que essa água tem". *Revista Saúde*, **208**, 2001, 22-29.
14. ALEIXO, P. C.; NÓBREGA, J. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; 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”. *Quim.Nova*, **23** (3), 2000, 310-312.

15. REILLY, C. Metal Contamination of Food, Elsevier, 1991, New York.

16. http://www.anvisa.gov.br/rotulos/manual_industrial_es.pdf; consultado em 28/01/03.

17. BORGES NETO, W. Aplicação de Métodos de Reconhecimento de Padrões para Classificação de Óleos Vegetais. Dissertação de Mestrado, UFG, Goiânia, Goiás, 2001.

18. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. e NIEMAN, T. A. Principles of Instrumental Analysis. 5th ed., Harcourt Brace College Publishers, Philadelphia, 1998, 230 - 252.

19. GINÉ, M. F. Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente, série didática, vol. 3, CENA/USP, Piracicaba, 1998, cap. 2.

20. BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, 2nd ed, Perkin-Elmer Corp., USA, 1999, cap. 2, 3, 4.

21. GARCIA, E. E.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOGUEIRA, J. A. “Matrix effects on the determination of dysprosium, europium and ytterbium used as animal faecal markers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially- and radially-viewed configurations”, *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**(8), 2001, 825-830.

22. BRENNER, I. B.; ZANDER, A. T. “Axially and radially viewed inductively coupled plasmas – a critical review”. *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 2000, 1195-12400.

23. BOUMANS, P. W. J. M. (Ed) Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy, Parte 2, John Wiley, New York, 1987.

24. SREBERNICH, S. M. Caracterização Física e Química da Água de Fruto de Coco (COCOS NUCIFERA), Variedades Gigante e Híbrido PB-121, Visando o Desenvolvimento de uma Bebida com Características Próximas às da Água de Coco. Tese de Doutorado, FEA - UNICAMP, Campinas, São Paulo, 1998.

25. BRITO, N. M.; NAVICKIENE, S.; POLESE, L.; JARDIM, E. F. G.; ABAKERLI, R. B; RIBEIRO, M. L. “Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection”. *J. Chromatogr. A*, **957**, 2002, 201-209.

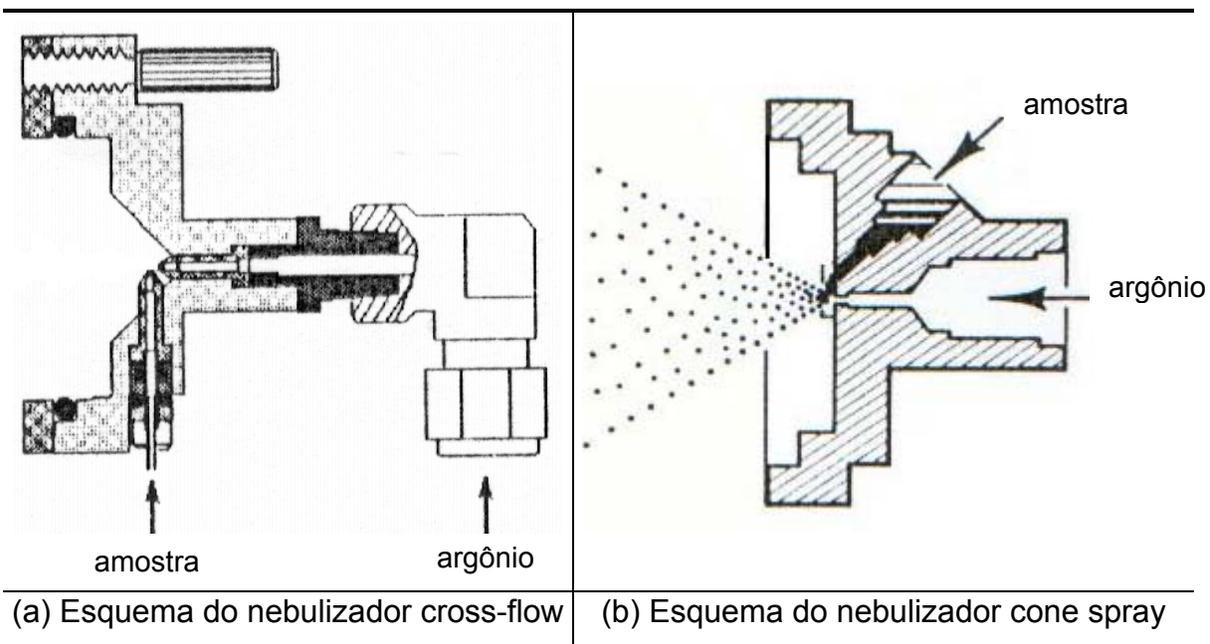
26. “Água de coco contra a malária”, *Pesquisa Fapesp*, **58**, 2000, 20.

27. "Substrato de coco verde ajuda plantações", *Ciência Hoje*, **31**(186), 2002, 51.
28. "Casca de coco e cereais revestem móveis", *Pesquisa FAPESP*, **79**, 2002, 64.
29. <http://www.isri.com.br/detal02htm>; consultado em 04/06/03.
30. NEWBERNE, P. M. *Traces Substances and Health - A Handbook, Part I*, Marcel Dekker Inc., New York, 1976.
31. ALTMAN, T. A. *FDA and USDA Nutrition Labeling Guide – Decision Diagrams, Checklists and Regulations* Tecomic Publishing Co., Pennsylvania, 1998.
32. NAOZUKA, J.; OLIVEIRA, P. V.; VEIGA, M. A. M. S.; OLIVEIRA, E. "Influência dos processos de conservação na distribuição de metais em água de coco por ICP-OES com vista axial". *Livro de resumos da "26ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química"*, Poços de Caldas, MG, 2003, QA-023.
33. POPPI, R. J. *Construção de um Espectrofotômetro com Transformada de Hadamard e sua Aplicação na Análise por Injeção em Fluxo*. Tese de Doutorado, IQ - UNICAMP, Campinas, São Paulo, 1993.
34. BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. "Chemometrics: A Practical Guide", John Willey & Sons, New York, 1998.
35. THOMSEN, V.; ROBERTS, G.; BURGESS, K. "The concept of background equivalent concentration in spectrochemistry". *Spectrosc.*, **15**(1) 2000, 33-36.
36. MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D. W. *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2nd ed, VHC Publishers, New York, 1992.
37. *Committee on Hazardous Substances in the Laboratory; Commission on Physical Sciences; Mathematics and Resources e National Research Council Prudent Practices for Disposal of Chemicals from Laboratories, National Academy Press, Washington DC, 1983, 247-249.*
38. KRUG, F. J. *Métodos de Decomposição de Amostras*. Apostila. 11^o Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), Campinas, 2001.
39. PAN, C.; ZHU, G.; BROWNER, R. F. "Role of auxiliary gas flow in organic sample introduction with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *J. Anal. Atomic. Spectrom.*, **7**, 1992, 1231-1237.
40. BRENNER, I. B.; ZANDER, A.; Cole, M.; Wiseman, A. "Comparision of axially and radially viewed inductively coupled plasmas for multi-element analysis: effect of sodium and calcium". *J. Anal. Atomic Spectrom.*, **12**, 1997, 897-906.

41. BELCHAMBER, R. M.; HORLICK, G. Correlation study of internal standardization in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **17**(12), 1982, 1037-1046.
42. Optima 3000 Family Hardware Guide, Perkin Elmer.
43. JENNISS, S. W.; KATZ, A. S.; LYNCH, R. W. Applications of Atomic Spectrometry to Regulatory Compliance Monitoring, 2nd ed, Willey-VCH, New York, 1997.
44. MILLER, J. C.; MILLER, J. N. Statistics for Analytical Chemistry, 3rd ed., Ellis Horwood, Chichester, 1993.

APÊNDICE 1

Ilustração dos nebulizadores cross-flow e cone spray [20]



APÊNDICE 2

Composição da amostra “Mixed Food Diet”

Metal	Concentração (mg L ⁻¹)
Al	0,1
As	0,02
Cd	0,08
Ca	40
Cr	0,002
Co	0,0008
Cu	0,06
Fe	0,80
Mg	12
Mn	0,20
Mo	0,006
Ni	0,02
P	60
K	160
Se	0,005
Na	60
Zn	0,30

APÊNDICE 3

Valores experimentais obtidos para a concentração equivalente de fundo (BEC), em mg L^{-1} , nas condições instrumentais para análise de amostras de água de coco industrializada e empregando-se o nebulizador cross-flow.

Metal	BEC
Ca	17,9
Mg	0,06
Mn	0,04
Fe	0,17
Zn	0,08
Cu	0,37
Al	2,03
Pb	1,37
Cd	0,07
Se	2,02

APÊNDICE 4

Valores experimentais obtidos para a concentração equivalente de fundo (BEC), em mg L^{-1} , nas condições instrumentais para análise de amostras de água de coco natural e empregando-se o nebulizador cross-flow.

Metal	BEC
Ca	0,83
Mg	0,03
Mn	0,06
Fe	0,25
Zn	0,09
Cu	0,23
Al	1,32
Pb	1
Cd	0,04
Se	1,41

APÊNDICE 5

Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), em mg L⁻¹, para a análise de água de coco industrializada empregando-se o nebulizador cone spray.

Metal	LD	LQ
Ca	0,064	2,13
Mg	0,0072	0,24
Mn	0,0003	0,01
Fe	0,0015	0,05
Zn	0,0009	0,03
Cu	0,0018	0,06
Al	0,02	0,67
Pb	0,0096	0,32
Cd	0,001	0,03
Se	0,02	0,67

Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), em mg L⁻¹, para a análise de água de coco natural empregando-se o nebulizador cone spray.

Metal	LD	LQ
Ca	0,022	0,72
Mg	0,001	0,03
Mn	0,0005	0,017
Fe	0,005	0,17
Zn	0,0007	0,023
Cu	0,0015	0,05
Al	0,0174	0,58
Pb	0,0111	0,37
Cd	0,006	0,2
Se	0,013	0,43

APÊNDICE 6

Protocolo analítico

Procedimento experimental para a determinação de Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Al, Pb, Cd e Se em água de coco natural e industrializada.

1) Filtrar a água de coco em funil de placa porosa (G3);

2) Preparar uma solução da amostra filtrada diluindo a mesma a 20 % em HNO_3 2 % v/v. No caso de amostras industrializadas, adicionar ítrio (padrão interno), antes de realizar a diluição da amostra, de maneira que a sua concentração final seja de 2 mg L^{-1} ;

3) Ajustar os parâmetros instrumentais do ICP (Perkin-Elmer, Optima 3000 DV) conforme especificado na Tabela abaixo:

Parâmetros instrumentais para a análise de água de coco natural e industrializada.

Potência de RF (kW)	1,4 ^a ; 1,3 ^b
Fluxo de nebulização (L min^{-1})	0,6
Fluxo do argônio auxiliar (L min^{-1})	0,5
Fluxo do argônio principal (L min^{-1})	15
Vazão de bombeamento (mL min^{-1})	1,0
Altura da visão radial (mm)	15
Correção de fundo	2 pontos
Tempo de integração (s) e de leitura (s)	1-5; 30
Número de replicatas	3
Elementos (λ /nm ; configuração de tocha)	Ca (II 317,933 ^a ; radial; I 430,253 ^b ; axial) Mg (II 280,270; radial) Mn (II 257,610; radial ^a ; axial ^b) Fe (II 238,204; radial ^a ; axial ^b) Zn (I 213,856; axial) Cu (I 324,754; axial) Al (I 308,215; axial) Pb (II 220,353; axial) Cd (II 214,438; axial) Se (I 196,026; axial) Y ^b (II 371,030; axial e radial)

(a) parâmetro específico para a análise de água de coco natural;

(b) parâmetro específico para a análise de água de coco industrializada.