



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA**

LUCIANE BRITO DA PAIXÃO

**Estratégias para determinação de cádmio e chumbo em
água e leite de coco por espectrometria de absorção
atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de
grafite**

SALVADOR - BAHIA

2016

LUCIANE BRITO DA PAIXÃO

**Estratégias para determinação de cádmio e chumbo em
água e leite de coco por espectrometria de absorção
atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de
grafite**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de mestre em Ciências. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof^a Dr^a Maria das Graças Andrade Korn
Co-orientador: Dr^o Geovani Cardoso Brandão

SALVADOR - BAHIA

2016

Eu sou aquela mulher que fez a
escalada da montanha da vida,
removendo pedras e plantando flores.

(Cora Coralina)

AGRADECIMENTOS

A Deus, que têm sempre guiado os meus passos e iluminado os meus caminhos.

A minha família, pelo apoio e carinho de sempre, em especial a minha mãe Lucineide, aos meus irmãos e minha voinha.

A Vinícius pelo amor e paciência.

À Profa. Maria das Graças A. Korn pela oportunidade, confiança e compreensão.

Ao Dr. Geovani Cardoso Brandão pela disposição, apoio e valiosas contribuições no desenvolvimento desse trabalho.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, e aos órgãos de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), financiadores do projeto PRONEX: Núcleo De Excelência em Química Analítica da Bahia: Química E Qualidade em Alimentos e Bebidas – NQA

Ao Programa de Pós – Graduação em Química da UFBA pela oportunidade, e aos seus funcionários pelo apoio.

Aos professores da UFBA pela contribuição à minha formação.

Aos colegas do grupo GPQA pelo convívio diário, boas risadas e colaboração.

Ao GRPQQ pelo auxílio e cooperação.

Aos amigos queridos que torcem pelo meu sucesso, em especial a Luana Machado e Ana Rosa pela amizade e carinho.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Obrigada!

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver método analítico para a determinação de Cd e Pb em amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite (HR-CS GF AAS). Os modificadores químicos selecionados foram Pd e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, e as temperaturas de pirólise de 900°C e atomização de 1700°C , para a determinação de Cd e Pb, respectivamente. A exatidão foi avaliada com o material de referência certificado IRMM BCR-713 e com os testes de adição e recuperação. Os percentuais obtidos de recuperação variaram entre: 98,2 e 105,9 % para Cd e 93,7 e 99,9% para Pb para a amostra de água de coco industrializada, 97,7 e 110% para Cd e 91,3 a 95% para Pb na amostra de leite de coco. Os limites de detecção e quantificação estimados para os métodos propostos foram: (a) diluição em HNO_3 1% v v⁻¹, em $\mu\text{g L}^{-1}$: Cd (LD 0,02 e LQ 0,06); Pb (LD 0,2 e LQ 0,7); (b) extração ácida assistida por ultrassom, em ng g^{-1} : Cd (LD 0,03 e LQ 0,1); Pb (LD 0,26 e LQ 0,85). Os métodos foram aplicados em 46 amostras, sendo em 14 amostras de água de coco natural e 16 amostras de água de coco industrializada e 16 amostras de leite de coco, comercializadas em Salvador, Bahia. As faixas de concentração encontradas, em $\mu\text{g L}^{-1}$, foram: Cd (0,42 -18,72) e Pb (4,41 – 36,32) para água de coco natural; Cd (0,24 – 1,49) e Pb (6,57 – 29,02) para água de coco industrializada; e para as amostras de leite de coco, em ng g^{-1} : Cd (0,33 – 5,93) e Pb (3,00 – 22,41). Os resultados encontrados estão abaixo do máximo tolerado de acordo com resolução nº 42 de 2013, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Palavras-chave: água de coco, leite de coco, análise direta, HR-CS GF AAS.

ABSTRACT

The objective of this work was to develop an analytical method for the determination of Cd and Pb in natural coconut water samples and industrialized coconut water samples and coconut milk by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS). The chemical modifiers were selected Pd and $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pyrolysis temperatures of 900°C and atomization 1700°C for the determination of Cd and Pb, respectively. The accuracy was verified by making use of certified reference material (IRMM BCR-713) and addition and recovery test. The range for recovery test percentage: 98,2 and 105,9% for Cd e Pb 93,7 and 99,9% for the industrialized water coconut sample; 97,7 and 110% for Cd and 91,3 and 95% for Pb for the coconut milk sample. The limits of detection and quantification were: (a) dilution in HNO_3 1% v v⁻¹, in $\mu\text{g L}^{-1}$: Cd (LD 0,02 e LQ 0,06); Pb (LD 0,2 e LQ 0,7); (b) ultrasonic acid extraction, in ng g^{-1} : Cd (LD 0,03 e LQ 0,1); Pb (LD 0,26 e LQ 0,85). The methods were applied to 46 samples, 14 natural coconut water samples and 16 of industrialized coconut water samples and 16 samples of coconut milk, traded in Salvador, Bahia. The range of the concentrations were, in $\mu\text{g L}^{-1}$: Cd (0,42 -18,72) e Pb (4,41 – 36,32) for 14 natural coconut water samples; Cd (0,24 – 1,49) e Pb (6,57 – 29,02) for industrialized water coconut sample ; and for coconut milk sample, in ng g^{-1} : Cd (0,33 – 5,93) e Pb (3,00 – 22,41). The results are below the maximum tolerated value according to resolution nº 42 de 2013 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Keywords: coconut water, coconut milk, direct analysis,HR-CS GF AAS

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Variedades de coqueiro: A) gigante, B) anão e C) híbrido. Fotos: Humberto Rollemberg Fontes. 17
- Figura 3. Representação do HR-CS AAS: 1. Lâmpada de arco curto de xenônio; 2. Lâmpada de neônio 3. Espelhos focalizadores; 4. Atomizador (chama ou forno de grafite); 5. Fenda de entrada; 6. Espelhos parabolóides; 7. Prisma; 8. Espelhos de deflexão e fenda intermediária; 9. Rede echelle e 10. Detector. Fonte: DESSUY (2007). 24
- Figura 4. Espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite, Modelo ContrAA 700 da Analytik Jena AG (Jena, Alemanha), com amostrador automático MPE 60 (Analytik Jena AG). 32
- Figura 5. Curvas de temperatura pirólise e atomização obtidas para Cd na amostra de água de coco A3A fortificada com $2 \mu\text{g L}^{-1}$, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg ($5 \mu\text{g} + 3 \mu\text{g}$), Mg ($3 \mu\text{g}$) e Pd ($5 \mu\text{g}$) 43
- Figura 6. Perfil dos picos de atomização obtidos para Cd na amostra de água de coco A3B fortificada com Cd $2 \mu\text{g L}^{-1}$ usando modificador químico Pd em diferentes temperaturas de atomização. 44
- Figura 7. Curvas de pirólise e atomização de Cd obtidas para uma amostra de leite de coco LV3T, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg ($5 \mu\text{g} + 3 \mu\text{g}$) e Pd ($5 \mu\text{g}$). 46
- Figura 8. Perfil dos picos de atomização para Cd obtidos para amostra de leite de coco com modificador químico Pd em diferentes temperaturas de atomização. 47
- Figura 9. Curvas de temperatura de pirólise e atomização de Pb obtidas para uma amostra de água de coco A3A fortificada com $20 \mu\text{g L}^{-1}$, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg ($5 \mu\text{g} + 3 \mu\text{g}$) e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($50 \mu\text{g}$) 49

Figura 10. Perfil dos picos de atomização para Pb obtidos para amostra de água de coco com o modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ nas diferentes temperaturas de atomização.....	49
Figura 11. Curvas de pirólise e atomização para Pb obtidas na amostra de leite de coco LV3T fortificada com $20 \mu\text{g L}^{-1}$, com e sem modificador.	52
Figura 12. Perfil dos picos de atomização obtidos para Pb a amostra de leite de coco LV3T fortificada com $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ com o modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ nas diferentes temperaturas de atomização.	52
Figura 13. Espectros 3D para amostra de água de coco fortificada com Pb $20 \mu\text{g L}^{-1}$ com modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ $T_p= 900^\circ\text{C}$ (fixa) e T_a de 1500°C (a) , 1600°C (b), 1700°C (c) e 1800°C (d).....	53
Figura 14. Espectros de contorno e espectro de absorvância versus <i>pixel</i> para Pb na amostra de água de coco na presença do $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$) :(a e c) Amostra não fortificada, (b e d) Amostra fortificada com $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb.	54
Figura 15. Espectros 3D de Pb ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$) : a) Amostra de água de coco com fortificação de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ sem a utilização de modificador, b) Modificador puro - $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ c) Padrão Pb de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ com modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, d) Amostra de água de coco com fortificação de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ com a utilização de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	55
Figura 16. Espectro de absorvância versus <i>pixel</i> para amostra de água de coco diluída sem adição de Pb na presença do $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$), e padrão de P de 4000 mg L^{-1} na presença de Ca ($T_p=900^\circ\text{C}$ e $T_a= 2000^\circ\text{C}$).	56
Figura 17. Espectro de absorvância versus <i>pixel</i> e 3D sem correção de interferência das moléculas de PO (a e c) e corrigidos (b e d) da amostra de água de coco fortificada com $25 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb na presença do $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$).	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas exigidas pelo MAPA para estabelecimento da qualidade de água de coco.	18
Tabela 2. Condições instrumentais e operacionais para as condições STPF e suas implicações (CORREIA, 2001).	23
Tabela 3. Trabalhos determinação de macro, micronutrientes e contaminantes em água de coco e leite de coco por técnicas espectrométricas.	29
Tabela 4. Códigos e descrição das amostras de água de coco natural adquiridas na cidade de Salvador – Ba entre outubro e novembro de 2015.	33
Tabela 5. Códigos e descrição das amostras de água de coco industrializadas adquiridas na cidade de Salvador, Bahia, entre outubro e novembro de 2015.	34
Tabela 6. Códigos e descrição das amostras de leite de coco industrializadas adquiridas na cidade de Salvador – Ba entre outubro e novembro de 2015.	35
Tabela 7. Programa de temperatura para determinação de Cd com e sem a utilização de modificadores nas amostras de água de coco e leite de coco.	37
Tabela 8. Programa de temperatura para determinação Pb nas amostras de água de coco e leite de coco com e sem a utilização de modificadores.	37
Tabela 9. Concentração de padrão adicionada às amostras de água de coco e leite de coco.	40
Tabela 10. Temperaturas de pirólise e de atomização para Cd obtidos na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos.	45
Tabela 11. Temperaturas de pirólise e de atomização para Cd obtidas na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos.	47
Tabela 12. Temperaturas de pirólise e de atomização para Pb com diferentes modificadores.	50

Tabela 13. Programa de temperatura otimizado para determinação de cádmio e chumbo utilizando como modificadores respectivamente, Pd e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, nas amostras de água de coco e leite de coco.	58
Tabela 14. Estimativa para os limites de detecção e quantificação para os métodos de diluição da água de coco e extração do leite de coco por HR-CS GF AAS.	59
Tabela 15. Valores médios de concentração característica obtidas experimentalmente para Cd e Pb e concentração característica fornecida pelo equipamento (Analytik Jena AG, Alemanha).....	59
Tabela 16. Equações da reta e valores de R^2 para os elementos Pb e Cd e a razão entre os coeficientes angulares da curva no meio da matriz e da curva aquosa.	60
Tabela 17. Média, desvio padrão (SD) e coeficiente de variação para a determinação de cinco réplicas da amostra de água de coco industrializada (A4A) e leite de coco (LV1).	61
Tabela 18. Percentagens de recuperação (%) para Cd e Pb nas amostras de água de coco e leite de coco industrializados. (média \pm sd, n=3)	62
Tabela 19. Determinação de Cd e Pb no material de referência certificado IRMM BCR-713 águas residuais por HR-CS GFAAS. (média \pm IC, n=3).	62
Tabela 20. Concentração de Cd e Pb nas amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco (média \pm desvio padrão, n=3).....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	do inglês <i>Atomic absorption spectrometry</i> (Espectrometria de Absorção Atômica)
ANVISA	Agência nacional de vigilância sanitária
AOAC	do inglês <i>Association of official analytical chemists</i>
CCD	do inglês <i>Charge-Coupled Device</i> (Dispositivo de carga acoplada)
CRM	do inglês <i>Certified reference material</i> (Material de Referência certificado)
F AAS	do inglês <i>Flame atomic absorption spectrometry</i> (Espectrometria de absorção atômica com chama)
GF AAS	do inglês <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i> (Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite)
HR- CS AAS	do inglês <i>High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry</i> (Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua)
HR- CS GF AAS	Do inglês <i>High resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry</i> (Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite)
ICP – MS	do inglês <i>Inductively coupled plasma – mass spectrometry</i> (Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente)
ICP OES	do inglês <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> (Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente).
INMETRO	Instituto nacional de metrologia, normalização e qualidade industrial
IUPAC	do inglês <i>International union of pure and applied chemistry</i> (União

internacional de química pura e aplicada)

- LOD** do inglês *Limit of detection* (Limite de detecção)
- LOQ** do inglês *Limit of quantification* (Limite de quantificação)
- LS AAS** do inglês line source *Atomic Absortion Spectrometry*
(Espectrometria de Absorção Atômica com Fonte de Linha)
- MAPA** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Água e Leite de coco	16
1.2 Aspectos toxicológicos para os elementos Cd e Pb	19
1.3 Procedimentos para o preparo de amostra de alimentos.....	21
1.4 Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução (HR-CS AAS).....	22
1.5 Aplicações das técnicas espectrométricas atômicas para determinação da composição química de água e leite de coco.....	26
1.6 Objetivos.....	30
1.6.1 Objetivo Geral	30
1.6.2 Objetivos específicos.....	30
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
2.1 Reagentes e Soluções.....	31
2.2 Equipamentos e materiais.....	31
2.3 Amostras e material de referência certificado	32
2.4 Preparo de Amostras.....	36
2.4.1 Água de Coco.....	36
2.4.2 Leite de Coco	36
2.5 Determinação de cádmio e chumbo por HR-CS GF AAS	36
2.5.1 Avaliação do uso de modificadores químicos	36

2.5.2	Programas de aquecimento do forno de grafite	37
2.5.3	Validação do método analítico para quantificação de Cd e Pb	38
3.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	40
3.1	Estratégias para análise de água de coco por simples diluição	40
3.2	Estudo dos efeitos dos modificadores químicos nas temperaturas de pirólise e atomização de cádmio e chumbo.....	41
3.2.1	Cádmio	42
3.2.1.1	Curvas de temperatura de pirólise e atomização de Cd na amostra de água de coco	42
3.2.1.2	Curvas de pirólise e atomização do Cd na amostra de leite de coco	45
3.2.2	Chumbo.....	48
3.2.2.1	Curvas de pirólise e atomização de Pb na água de coco	48
3.2.2.2	Curvas de temperatura de pirólise e de atomização de Pb na amostra de leite de coco.....	51
3.4	Validação do método para quantificação de Cd e Pb	58
3.4.1	Limite de detecção e limite de quantificação.....	58
3.4.2	Concentração característica	59
3.4.3	Faixa linear de trabalho	60
3.4.4	Efeito de Matriz.....	60
3.4.5	Precisão	60
3.4.6	Exatidão	61

3.4.6.1 Avaliação da exatidão através de teste de adição e recuperação	61
3.5 Aplicação dos métodos nas amostras de água de coco natural e industrializada e para leite de coco	63
5. Considerações Finais	68
Referências	69

1. INTRODUÇÃO

1.1 Água e Leite de coco

A água de coco é extraída da cavidade do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), rica em nutrientes sendo uma alternativa saudável aos refrigerantes e bebidas calóricas, uma vez que possui baixos teores de carboidratos e gorduras. (FROEHLICH, 2015). Corresponde a 25% do peso do fruto, sendo composta por 93% de água, 5% de açúcares, além de vitaminas, sais minerais e proteínas (CARVALHO *et al.*, 2012). Além do seu uso tradicional, a água de coco tem sido utilizada em áreas médicas e biotecnológicas, como meio de cultivo para vírus e bactérias, conservante de sêmen e córneas humanas para transplante, entre outras utilidades (PENHA, CABRAL e MATTA, 2010).

O coqueiro pertence à família Arecaceae (Palmae) e sub-família Coccoideae (DEBMANDAL e MANDAL, 2011). Teve sua origem no sudeste asiático, tendo sido trazido para o Brasil na metade do século XVI. Atualmente, encontra-se em mais de 200 países diferentes em grandes plantios (FOALE e HARRIES, 2009).

O Brasil é o quarto maior produtor mundial, com uma produção aproximada de 2,8 milhões de toneladas, em uma área colhida de 287 mil ha de coqueiros. Em relação aos países da América do Sul, a produção brasileira é responsável por mais de 80% do total produzido (MARTINS e JESUS, 2014). Estima-se que o cultivo de coqueiros no Brasil tenha sido iniciado na Bahia, espalhando-se para o litoral nordestino principalmente em áreas de clima tropical, adaptando-se também em outras regiões do país. Na década de 90, o cultivo era limitado às regiões Norte e Nordeste, e nos dias atuais em quase todos os estados do país (MARTINS e JESUS, 2014).

No Brasil a área cultivada está distribuída entre as variedades de coqueiro gigante, anão e híbrido (resultante do cruzamento entre o anão e o gigante) (WANDERLEY e LOPES, 2010). Na Figura 1 estão apresentadas fotos das variedades dos coqueiros.

Figura 1. Variedades de coqueiro: A) gigante, B) anão e C) híbrido. Fotos: Humberto Rollemberg Fontes.



A

B

C

Para a produção de água, o coco anão-verde é o mais utilizado comercialmente, pois contém um maior volume de água na cavidade central, em um período de tempo relativamente curto, entre seis e sete meses de idade. Durante o processamento da água de coco, açúcares podem ser adicionados para correção e padronização do teor de sólidos totais dissolvidos, assim como conservantes, antioxidantes e acidulantes químicos (PENHA, CABRAL e MATTA, 2010).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução normativa nº 39, de 28 de maio de 2002 (BRASIL, 2002), define a água de coco como “a bebida obtida da parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocus nucifera* L.), por meio de processo tecnológico adequado, não diluído e não fermentado”. A classificação da água de coco está baseada nas diferentes formas de processamento, conforme descrito abaixo:

1. Água de coco “in natura”: que não tenha sido submetida a nenhum processo físico ou químico e que se destine para consumo imediato.

2. Água de coco esterilizada: que foi submetida a um processo adequado de esterilização “comercial”.

3. Água de coco congelada: que foi submetida a um processo adequado de congelamento, podendo ou não ser pasteurizado.

4. Água de coco resfriada: que foi submetida a um processo adequado de pasteurização e resfriamento.

5. Água de coco concentrada: que foi submetida a um processo adequado de concentração, cujo teor de sólidos solúveis, medidos em Brix, seja igual ou superior ao dobro da sua concentração natural.

6. Água de coco desidratada: que foi submetido a um processo adequado de desidratação, cujo teor de umidade seja igual ou inferior a 3% (três por cento).

O MAPA através da Instrução normativa nº 39 de 2002 estabelece também exigências com relação a características e composição físico-químicas. Na Tabela 1, estão dispostos os parâmetros e os valores recomendados.

Tabela 1. Características físico-químicas exigidas pelo MAPA para estabelecimento da qualidade de água de coco.

Parâmetros	Mínimo	Máximo
Acidez fixa em ácido cítrico (g/100mL)	0,03	0,18
pH	4,3	-
Sólidos solúveis em °Brix, a 20 °C	-	7,0

Neste contexto de busca por hábitos alimentares saudáveis, o consumo de água de coco vem crescendo, especialmente em regiões do litoral brasileiro, por ser uma bebida leve, refrescante, de ótimo sabor e principalmente por se de baixa caloria (CARVALHO *et al*, 2012). Além disso, a água de coco é um isotônico natural, ou seja, apresenta concentrações de minerais semelhantes às encontradas nos fluidos orgânicos, sendo rapidamente absorvida pelo organismo após o consumo, melhorando o desempenho em atividades físicas (MARTINS e JESUS, 2011). Apesar do crescimento do consumo de água de coco, poucos estudos têm sido desenvolvidos de forma a determinar os teores de nutrientes, em vários níveis de concentração.

Outro produto obtido do fruto do coqueiro (*cocos nucifera L*) é o leite de coco. O leite de coco é definido como uma emulsão, obtida através da extração da polpa do coco, composto por (em % m m⁻¹): 54,1 de umidade, 32,2 de gorduras, 4,4 de proteínas e 8,3 de carboidratos (SAIKHWAN *et al.*, 2015). O leite de coco possui cheiro e sabor particulares, caracteriza-se por uma emulsão viscosa e com aspecto branco leitoso e acidez máxima de 5% (mL/100g) (BRASIL, 2000).

Para a conservação do leite de coco precisam ser utilizados procedimentos que envolvem aquecimento: pasteurização e tratamentos com altas temperaturas. A pasteurização consiste em submeter o leite de coco a temperatura de 72 °C por 20 minutos, sendo que esse procedimento permite que o leite tenha uma vida útil de até 5 dias se conservado a 4°C, enquanto que tratamentos com altas temperaturas, do inglês *ultra-high temperature* (UHT), em temperaturas de 121 °C por 20 minutos o produto pode durar até 24 meses quando armazenado em condições ambientes (ARUMUNGHAN, BALACHANDRAN e SUNDARESAN, 1993).

1.2 Aspectos toxicológicos para os elementos Cd e Pb

O cádmio é um metal do grupo IIB da tabela periódica considerado como metal não-essencial, sendo extremamente tóxico mesmo em baixas concentrações (SANTOS, 2009).

Pode ser obtido como sub-produto da exploração do zinco e chumbo; e possui diversas aplicações industriais dentre elas pode-se citar (PINTO *et.al*, 2005) :

- Propriedade não corrosiva utilizada na indústria elétrica e galvânica,
- Como estabilizante na produção de cloreto de polivinila (PVC),
- Como pigmento nas indústrias de plástico e vidro,
- Material de cátodo na indústria de baterias de Ni-Cd ,
- Composição de várias ligas metálicas

A presença do cádmio no organismo pode lesar praticamente todas as células, bloqueando a respiração celular de alguns sistemas enzimáticos fundamentais. A sua dose letal é estimada em 1 µg g⁻¹; fixa-se nos pulmões, baço, glândulas endócrinas, fígado, rim, dentre outros (BRITO FILHO, 1988; PLUNKETT,

1987). A ingestão de 70% de cádmio pelo ser humano se dá principalmente pelo consumo de alimentos de origem vegetal (CARDOSO e CHASIN, 2001; WAGNER, 1993).

O elemento chumbo - pertence ao grupo IV-A da tabela periódica e também não possui nenhuma função biológica conhecida no organismo humano. Este metal é utilizado na confecção de diversos produtos, devido as suas propriedades físico-químicas, como baixo ponto de fusão e maleabilidade, tais como: munição, canos, proteção radiológica, folhas de chumbo, produtos de latão e bronze; além de pigmentos de tintas, verniz de cerâmicas, soldas, aditivos anti-detonantes em combustíveis etc. (MOREIRA e MOREIRA, 2004).

Apesar de sua ampla aplicação comercial, a presença de chumbo no organismo humano pode provocar sérias complicações. Este elemento pode afetar diversos órgãos e sistemas do organismo, pois tem a capacidade de inibir ou imitar a ação do cálcio e interagir com proteínas; induz a mudanças nos eletrólitos do sangue (Na, K, Ca, P), no metabolismo mineral (Zn, Cu, Mn, Al, Si) de carboidratos e de lipídeos (com inibição das enzimas contendo - SH), no metabolismo da síntese de proteínas, na utilização de vitaminas (B1, PP, B12, C), na produção de certos hormônios, no metabolismo de aminoácidos, etc. (PAOLIELLO e CHASIN, 2001; TSALEV e ZAPRIANOV, 1985).

O contato com o chumbo pode se dá através do solo (o minério galena PbS é o mais abundante e de onde é extraída a maior parte do chumbo obtido comercialmente), ar (devido as atividades antropogênica, fumaça liberadas pelos carros), AN (contaminação através do despejo de efluentes em águas superficiais e subterrâneas, ou presença de chumbo em tubos de canalização), alimentos (contaminação originada da água de preparo, plantas e animais criados em locais contaminado; alguns recipientes para acondicionamento de alimentos contendo chumbo) e tintas (algumas tintas contém chumbo na composição) (SARYAN e ZENZ, 1994).

1.3 Procedimentos para o preparo de amostra de alimentos

Convencionalmente as técnicas espectroanalíticas empregadas para a determinação de elementos químicos demandam a introdução da amostra na forma líquida. Desta forma, a amostra precisa ser submetida a procedimentos de tratamento no intuito de deixar o analito disponível em solução para que este possa ser determinado. Os procedimentos de decomposição por via seca ou por via úmida são os mais utilizados (KRUG, 2010).

Para os métodos de decomposição por via seca as amostras são submetidas a aquecimento em forno mufla na presença de ar (sistema a pressão atmosférica). A remoção da matéria orgânica é feita através da utilização de altas temperaturas (na faixa de 450°C a 800°C), e as cinzas resultantes são dissolvidas em solução ácida e analisadas (HOENIG, 2001; VASSILEVA *et al.*, 2001). As principais vantagens deste método de decomposição são a simplicidade (uma vez que são utilizados apenas cadinho de porcelana, platina e outros materiais), possibilidade de trabalhar com grandes quantidades de amostra. Porém, existem as desvantagens, podem-se citar a perda por volatilização de alguns elementos, possibilidade de contaminação, o de acordo como a metodologia empregada o procedimento pode demandar muito tempo (KORN *et al.*, 2008; MOMEN, *et al.*, 2006).

A decomposição por via úmida consiste no aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante (HNO_3 , H_2SO_4 ou HClO_4), ou misturas de ácidos e/ou agente oxidante auxiliar (H_2O_2). Os sistemas de decomposição podem ser abertos ou fechados, com aquecimento condutivo (placa de aquecimento ou bloco digestor) ou por radiação micro-ondas, com a utilização de forno de micro-ondas com cavidade ou focalizados (KRUG, 2010).

A utilização de procedimentos de decomposição ácida demanda o uso de reagentes de alta pureza, geram resíduos e podem ser dispendiosos e demorados de acordo com a metodologia empregada (VALE, OLESZCZUK e SANTOS, 2006). Assim, a análise direta e procedimentos de extração têm sido propostos como opção a estes procedimentos.

O uso da radiação ultrassônica é bastante frequente no preparo de diversos tipos de amostras. A interação da radiação com o meio líquido gera o fenômeno de cavitação acústica; este fenômeno é decorrente da formação de ciclos de expansão

e compressão e conseqüentemente cavidades na fase líquida (MARTINES, DAVOLOS, JAFELICCI, 2000). Sucessivos ciclos de expansão e compressão aumentam o tamanho da cavidade, que ao atingir um diâmetro crítico entram em colapso gerando temperaturas e pressões elevadas (KORN *et al.*, 2003). É uma alternativa simples, rápida e de baixo custo, e que pode ser aplicada na determinação de elementos por técnicas espectrométricas (SANTOS, 2012).

Alternativas de preparo de amostra através da diluição da amostra ou preparo por extração por ultrassom surgem como uma alternativa aos métodos convencionais uma vez que exige pouco ou quase nenhum tratamento prévio da amostra e como consequência aumento da frequência analítica, baixo risco de contaminação e perda de analito durante a etapa de preparo, e também é vantajoso devido a ausência ou baixo consumo de reagentes corrosivos (TORMEN *et. al.* , 2011).

1.4 Espectrometria de absorção atômica com fonte contínua de alta resolução (HR-CS AAS)

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é fundamentada na absorção de radiação eletromagnética emitida por uma fonte por átomos no estado gasoso gerados em um atomizador. O átomo no estado fundamental absorve radiação com comprimento de onda específico; a atenuação da intensidade de radiação (emitida pela fonte) é utilizada para quantificação, sendo proporcional à concentração do analito obedecendo a Lei de Beer (ROSINI *et al.*, 2006). Os componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica são: fonte de radiação, atomizador (chama, tudo de quartzo, filamento de tungstênio, forno de grafite), monocromador e sistema de detecção (SKOOG; HALLER e NIEMAN, 2006).

Em 1981 Slavin introduziu o conceito STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*) sendo uma gama de condições a serem utilizadas simultaneamente a fim de garantir a minimização de interferências nas determinações por GF AAS (CORREIA, 2001). Essas condições são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições instrumentais e operacionais para as condições STPF e suas implicações (CORREIA, 2001).

Condições STPF	Implicações
Tubo de Grafite com Plataforma de L'vov	Ambiente temporalmente isotérmico
Sinais de Absorvância integrado	Minimizar as variações cinéticas do processo atomização
Tubo de carbono pirolítico	Redução por perdas por difusão através das paredes do tubo
Aquecimento transversal do tubo	Ambiente espacialmente isotérmico
Correção de radiação de fundo por efeito Zeeman	Redução de interferências espectrais
Modificador Químico	Aumento da eficiência do tratamento térmico na pirólise
Interrupção do fluxo de gás na etapa de atomização	Aumento do tempo de residência da nuvem atômica no caminho óptico
Elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite	Redução de interferência na fase de vapor e formação de nuvem atômica densa
Software e dispositivos eletrônicos adequados para permitir a integração do sinal transiente	Permitir o registro dos sinais em tempo real

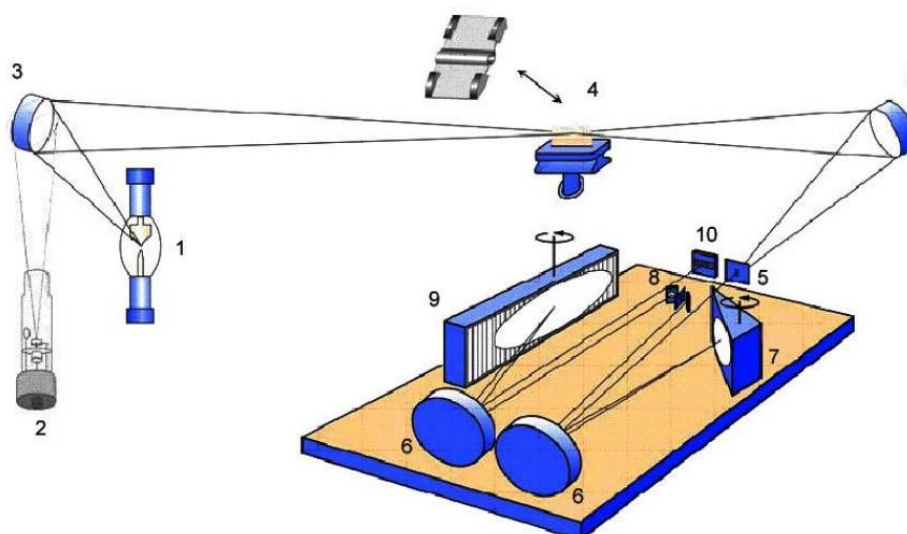
As principais características dos modificadores são (FROES, WINDMÖLLER e SILVA, 2006):

- i) Estabilizar o analito, pelo menos 1000°C, de forma a garantir eliminação total da matriz na etapa de pirólise;
- ii) Disponível em alto grau de pureza para evitar contaminações;
- iii) Não diminuir a vida útil do tubo de grafite;
- iv) Não contribuir para a radiação de fundo;

- v) Poder ser aplicado em diversos elementos, o mais universal possível;
- vi) Não afetar negativamente a sensibilidade da técnica

Em 1996, Heitmann *et. al.* descreveram o primeiro instrumento de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) com configuração próxima ao que utiliza-se hoje, representado na Figura 3 (BORGES *et al.*, 2005).

Figura 2. Representação do HR-CS AAS: 1. Lâmpada de arco curto de xenônio; 2. Lâmpada de neônio; 3. Espelhos focalizadores; 4. Atomizador (chama ou forno de grafite); 5. Fenda de entrada; 6. Espelhos parabolóides; 7. Prisma; 8. Espelhos de deflexão e fenda intermediária; 9. Rede echelle e 10. Detector. Fonte: DESSUY (2007).



As principais diferenças instrumentais em relação ao convencional espectrômetro de absorção atômica com fonte de linha (LS AAS) são (HEITMANN *et al.*, 1996; WELZ *et al.*, 2003; WELZ *et al.*, 2005):

i) Fonte de Radiação: diferente dos equipamentos convencionais que utilizam como fonte lâmpadas de cátodo oco, HR-CS AAS conta com uma única lâmpada de arco curto de xenônio operado a 300 W cuja emissão compreende a faixa contínua de 190 a 850 nm. Assim, a intensidade de emissão é cerca de 1 a 3 ordens de grandeza maior que a de uma lâmpada de cátodo oco, e por conta disso melhoras na razão sinal/ruído (S/N) e no limite de detecção (LOD) são esperadas.

ii) Monocromadores: O duplo monocromador de alta resolução denominado DEMON (Double-Echelle Monochromator) é constituído de um prisma (a radiação será dispersa e o espectro de interesse selecionado) e uma rede de difração echelle em arranjo Littrow (fornece a resolução do intervalo do espectro selecionado melhor que 2 pm por pixel). A rotação do prisma e da rede de difração é responsável pela seleção do comprimento de onda desejado.

iii) Detectores: São constituídos de um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD) sensível na região do ultravioleta com 512 x 58 pixels e dimensões individuais de 24 x 24 µm. O instrumento opera com 512 detectores completamente independentes, sendo cada pixel é equipado com um amplificador individual, e cerca de 200 destes são geralmente utilizados para propósitos analíticos. Assim, toda a vizinhança da linha analítica pode ser monitorada fornecendo informações valiosas sobre o ambiente espectral que não são obtidas nos modelos convencionais.

As seguintes vantagens ao se utilizar a HR-CS AAS podem ser destacadas (WELZ *et.al.*, 2005; BORGES *et al.*, 2005) :

- Uso de uma única fonte de radiação para todos os elementos;
- Melhora na razão sinal/ruído devido à alta intensidade de emissão da fonte, podem ser obtidas melhoras na precisão e baixos limites de detecção;
- Elementos em que fontes de linha não são disponíveis podem ser determinados;
- Linhas secundárias podem ser selecionadas sem implicações na razão sinal-ruído, uma vez que linhas fracas não são observadas, pois o espectro contínuo é emitido e aproximadamente uniforme em todas as regiões do espectro;
- Correção automática de absorção de fundo, ruído da lâmpada;
- Informações de toda a vizinhança espectral podem ser obtidas;

- O *software* permite o armazenamento de espectros de referência e é possível subtraí-lo do espectro da amostra, de forma que interferências espectrais podem ser eliminadas.

1.5 Aplicações das técnicas espectrométricas atômicas para determinação da composição química de água e leite de coco

Alguns trabalhos sobre procedimentos de tratamento de amostras e técnicas relacionadas a determinações de elementos em água de coco e leite de coco, estão apresentadas na Tabela 3.

Santoso *et al.* (1996) determinaram macroelementos (Na, K, Ca e Mg) e micronutrientes minerais (Mn, Fe, Zn, Cu e Al) na água de coco adquiridas na Indonésia por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Foram estudadas amostras de água de coco verde e maduro, que foram submetidas ao aquecimento com ácido nítrico. Os autores relataram que os teores dos macroelementos foram maiores na água de coco maduros do que na água dos cocos verdes. Um comportamento análogo foi observado para os elementos Cu e Al; em contrapartida as concentrações de Mn, Fe e Zn foram menores nas amostras de água de cocos maduros.

Aleixo *et al.* (2000) determinaram Se em água de coco e leite de coco utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Suspensões foram preparadas com as amostras de água e leite, utilizando uma mistura (1:4 v v⁻¹) de amins terciarias e uma solução de Pd (10% v v⁻¹) como modificador químico. As concentrações de Se variaram entre 6,5 a 21,0 µg L⁻¹.

Em outro trabalho, os minerais Ca, Cu, Mg, Mn, Fe e Zn foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e K e Na por fotometria de chama, em amostras de água de coco comercializadas na cidade de Fortaleza, CE, a partir das cinzas (PINHEIRO *et al.*, 2005). Foram obtidas as seguintes faixas de concentração, em mg 100 mL⁻¹: para Ca (22,09-29,50), Mg (4,00-8,20), Fe (0,05-0,07), K (104,5-273,2), e Na (60,30-108,36).

De Sousa *et al.* (2006) quantificaram Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu em amostras de água de coco natural e industrializadas, comercializadas em Campinas/ SP, por ICP OES. As amostras foram diluídas (20% m v⁻¹) em ácido nítrico 2% (v v⁻¹) e introduzidas no sistema do ICP OES. As concentrações dos analitos, em mg L⁻¹, encontradas para as águas de coco naturais e industrializadas foram: Ca (205 ± 27; 172 ± 62), 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). Os elementos Al, Pb, Cd e Se não foram detectados em nenhuma das amostras.

Costa *et al.* (2006) estudaram os teores dos minerais em água de coco de acordo com a idade de maturação do fruto. Foram determinados Ca, Mg e P a partir das cinzas (AOAC, 1990) e quantificados FAAS, sendo K e Na por fotometria de chama. O potássio é o mineral mais abundante e seus teores variaram em 2572,11 a 3149,4 mg L⁻¹. Cálcio e Mg atingem sua concentração máxima no quinto mês de idade, 226,79 e 115,87 mg L⁻¹, e se mantiveram praticamente constante. Sódio e P estavam presentes em baixas concentrações e observou-se um aumento conforme a idade do fruto, as maiores concentrações encontradas foram 96,36 mg L⁻¹ (Na) e 53,54 mg L⁻¹ (P).

Tavares (2010) estudou os teores de Pb e Cd por GF AAS em amostras de água de coco industrializadas comercializadas em João Pessoa e Campina Grande na Paraíba. Foram escolhidas 3 marcas e 4 lotes, de cada marca, para análise. As amostras foram previamente diluídas 25% (v v⁻¹), em 2 mL de ácido nítrico e triton X-100 (10%). Das amostras analisadas apenas o 2º Lote da marca B foi quantificado o Pb (4,91 µg L⁻¹), e Cd não foi quantificado em nenhuma das amostras.

Procedimento de extração de micronutrientes em leite de coco assistida por ultrassom foi proposto por Santos *et al.* (2014) visando a determinação por ICP OES. Foi aplicado um planejamento fatorial e a matriz de Doehlert e as condições ótimas obtidas, para 1 g de leite de coco, foram: 10 minutos de tempo de sonicação, 20 mL de HNO₃ (1 mol L⁻¹) e 5 minutos de centrifugação a 2000 rpm. As concentrações encontradas foram (µg g⁻¹): Ca (5,8 – 131), Cu (< 0,27- 1,56), Fe (0,76 - 5,52), K (212 - 1781), Mg (14,9 - 201), Mn (<0,11- 3,88), Na (276 - 625), P (26 - 341) e Zn (< 0,74 - 3,2).

Existem poucos trabalhos na literatura sobre a determinação de elementos nas amostras de água de coco e leite de coco. Dessa forma, estudos sobre os elementos em baixas concentrações e potencialmente tóxicos são relevantes uma vez que podem ser identificadas possíveis contaminações, que podem ser atribuídas as diferentes etapas do processo de produção, que envolvem o cultivo, o processamento e a estocagem.

Tabela 3. Trabalhos determinação de macro, micronutrientes e contaminantes em água de coco e leite de coco por técnicas espectrométricas.

Amostra	Elementos	Preparo da Amostra	Técnica	Referência
Água de coco natural	Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Al	Digestão Ácida	ICP OES	SANTOSO <i>et al.</i> , 1996
Água de coco industrializada e Leite de coco	Se	Diluição com aminas terciárias	GF AAS	ALEIXO <i>et al.</i> , 2000
Água de coco industrializada	Ca, Cu, Mg, Mn, Fe e Zn	Combustão	AAS fotometria de chama	PINHEIRO <i>et al.</i> , 2005
Água de coco natural e industrializada	Ca, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu	Diluição (20% m v ⁻¹) em HNO ₃ 2% (v v ⁻¹)	ICP OES	DE SOUSA <i>et al.</i> , 2006
Água de coco natural	Ca, Mg, P, Na e K	Cinzas (AOAC,1990)	AAS fotometria de chama	COSTA <i>et al.</i> , 2006
Água de coco natural	Pb e Cd	Diluídas 25% (v v ⁻¹), em 2 mL de HNO ₃ e triton X-100 (10%)	GF AAS	TAVARES, 2010
Leite de Coco	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na , P e Zn	Extração ácida assistida por ultrassom	ICP OES	SANTOS <i>et al.</i> , 2014

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo Geral

Desenvolver método analítico para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite (HR-CS GF AAS).

1.6.2 Objetivos específicos

- Investigar as melhores condições em termos de temperaturas de pirólise e atomização para a determinação de cádmio e chumbo em amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco por HR-CS GF AAS;
 - Avaliar o efeito do uso de modificadores químicos na determinação de cádmio e chumbo neste tipo de amostra por HR-CS GF AAS;
- Validar o método analítico proposto para determinação de cádmio e chumbo em amostras em amostras de água de coco e leite de coco natural e industrializada por HR-CS GF AAS;
- Determinar e comparar as concentrações de cádmio e chumbo em amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco, visando fazer um perfil preliminar destes elementos;

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes e Soluções

Foram utilizados ácido nítrico destilado 16 mol L^{-1} (Merck, Alemanha), peróxido de hidrogênio $30 \% \text{ m m}^{-1}$ (Merck, Alemanha), soluções padrão 1000 mg L^{-1} de Pb, Mg e Cd (Specsol, Brasil), soluções de modificadores químicos: Pd $0,1\% \text{ m v}^{-1}$ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ $1\% \text{ m v}^{-1}$ (Specsol, Brasil), e água ultrapura com resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ de um sistema de purificação Purelab Elga® (Elga, Reino Unido).

Antes da realização dos experimentos, todo o material utilizado (vidrarias, frascos plásticos, etc.) foi previamente lavado com detergente neutro e submersos em solução de ácido nítrico $10\% \text{ v v}^{-1}$ por um período de 24 h. Em seguida lavados com água deionizada, e seco em temperatura ambiente.

2.2 Equipamentos e materiais

No procedimento de extração ultrassônica para leite de coco foram empregados banho ultrassônico VWR modelo 75D (Cortland, New York, USA) e centrífuga Marconi modelo MA-1810 (Piracicaba, Brasil).

Para a quantificação dos metais foi empregado espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite, Modelo ContrAA 700 da Analytik Jena AG (Jena, Alemanha), com amostrador automático MPE 60 (Analytik Jena AG), conforme Figura 5. A fonte de radiação do equipamento é uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta pressão XBO 301 (GLE, Berlim, Alemanha), operando com uma potência nominal de 300 W no modo *hot-spot*, o qual é caracterizado pela formação de um pequeno plasma com emissão de radiação de alta intensidade. Este equipamento possui um duplo monocromador *Echelle* constituído por um prisma para pré-dispersão da radiação e um monocromador *Echelle* que fornece a alta resolução. O sistema de detecção é composto por arranjo de dispositivos de carga acoplada (CCD). Gás argônio utilizado como gás de purga

e proteção, com pureza de 99,998% e vazão de $2,0 \text{ L min}^{-1}$, durante todas as etapas, exceto durante a atomização. As absorvâncias foram coletadas usando o CP ± 1 .

Figura 3. Espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite, Modelo ContraAA 700 da Analytik Jena AG (Jena, Alemanha), com amostrador automático MPE 60 (Analytik Jena AG).



Para as determinações nas amostras, brancos e padrões foram injetadas em tubos de grafite piroliticamente revestidos com plataforma integrada (Analytik Jena AG) $20 \mu\text{L}$ de amostra, $5 \mu\text{L}$ de modificador Pd para o Cd e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ para Pb e $5 \mu\text{L}$ de H_2O_2 (exceto na construção da curva analítica). Os comprimentos de ondas utilizados foram: $217,0005 \text{ nm}$ para o Pb e $228,8018 \text{ nm}$.

2.3 Amostras e material de referência certificado

Foram adquiridas 46 amostras entre os meses de outubro e novembro de 2015, sendo 14 amostras de água de coco natural, 16 amostras de água de coco industrializada e 16 amostras de leite de coco. As amostras de água de coco natural foram adquiridas em pequenos pontos comerciais, “carrinhos de água de coco” localizados em diversos pontos localizados no centro da cidade de Salvador/BA, numerados de 1 a 14. As amostras foram adquiridas em copos de descartáveis e imediatamente armazenadas em frascos de polietileno (50 mL), previamente

descontaminados, e armazenadas na geladeira até a realização da análise. Na Tabela 4 estão descritas as amostras e seus respectivos os códigos de identificação.

Não foi possível obter informações sobre a origem das amostras de água de coco natural adquiridas, uma vez que os comerciantes alegaram o desconhecimento dessas informações.

Tabela 4. Códigos e descrição das amostras de água de coco natural adquiridas na cidade de Salvador – Ba entre outubro e novembro de 2015.

Amostras	Descrição	Amostras	Descrição
AN1	Campo Grande	AN8	Garcia
AN2	Campo Grande	AN9	Garcia
AN3	Campo Grande	AN10	Barra
AN4	Canela	AN11	Barra
AN5	Canela	AN12	Barra
AN6	Canela	AN13	Piedade
AN7	Garcia	AN14	Piedade

Foram feitas pesquisas em alguns supermercados da cidade de Salvador/BA, com objetivo de obter o maior número de amostras de água de coco industrializada de diferentes marcas. Dessa forma, foram encontradas 8 diferentes marcas (numerados de 1 a 8) de água de coco, das quais foram adquiridas 2 amostras de diferentes lotes (designados de A e B). Na Tabela 5, encontram-se a codificação das amostras de água de coco industrializadas.

As informações que constam nos rótulos das amostras de água de coco industrializada constam apenas o local e indústria de envase, informações a respeito do local de cultivo e obtenção dos cocos não são informadas.

Tabela 5. Códigos e descrição das amostras de água de coco industrializadas adquiridas na cidade de Salvador, Bahia, entre outubro e novembro de 2015.

Amostras	Descrição	Amostras	Descrição
A1A	Fornecedor 1 lote A	A1B	Fornecedor 1 lote B
A2A	Fornecedor 2 lote A	A2B	Fornecedor 2 lote B
A3A	Fornecedor 3 lote A	A3B	Fornecedor 3 lote B
A4A	Fornecedor 4 lote A	A4B	Fornecedor 4 lote B
A5A	Fornecedor 5 lote A	A5B	Fornecedor 5 lote B
A6A	Fornecedor 6 lote A	A6B	Fornecedor 6 lote B
A7A	Fornecedor 7 lote A	A7B	Fornecedor 7 lote B
A8A	Fornecedor 8 lote A	A8B	Fornecedor 8 lote B

Os critérios utilizados para escolha das amostras de leite de coco foram semelhantes aos utilizados para água de coco industrializada. Foram adquiridas 16 amostras de leite de coco também em supermercados de Salvador/BA no mesmo período que as demais amostras de água de coco, sendo que 10 amostras estavam armazenadas em embalagens de vidro (simbolizadas na sigla da amostra pela letra V), 6 em embalagens de plásticos (simbolizadas pela letra P) em um total de 11 marcas diferentes (identificados nas siglas das amostras de 1 a 11); nas variedades tradicional (T), light (L), teor reduzido de gordura (R). Na Tabela 6, está disposta a codificação das amostras de leite de coco utilizadas.

Tabela 6. Códigos e descrição das amostras de leite de coco industrializadas adquiridas na cidade de Salvador – Ba entre outubro e novembro de 2015.

Amostras	Descrição	Amostras	Descrição
LV1T	Fornecedor 1, embalagem de vidro, tradicional	LV5R	Fornecedor 5, embalagem de vidro, teor reduzido
LV2 T	Fornecedor 2, embalagem de vidro, tradicional	LP6T	Fornecedor 6, embalagem de plástico, tradicional
LV3T	Fornecedor 3, embalagem de vidro, tradicional	LP7T	Fornecedor 7, embalagem de plástico, tradicional
LV3L	Fornecedor 3, embalagem de vidro, light	LP8T	Fornecedor 8, embalagem de plástico, tradicional
LV3R	Fornecedor 3, embalagem de vidro, teor reduzido	LP9T	Fornecedor 9, embalagem de plástico, tradicional
LV4L	Fornecedor 4, embalagem de vidro, light	LP9R	Fornecedor 9, embalagem de plástico, teor reduzido
LV4T	Fornecedor 4, embalagem de vidro, tradicional	LP10T	Fornecedor 10, embalagem de plástico, tradicional
LV5T	Fornecedor 5, embalagem de vidro, tradicional	LV11T	Fornecedor 10, embalagem de plástico, tradicional

Para avaliar a exatidão do procedimento proposto foi utilizado o material de referência certificado de águas residuais IRMM BCR-713 e foram realizados testes de adição e recuperação.

2.4 Preparo de Amostras

2.4.1 Água de Coco

Alíquotas de 5 mL das amostras de água de coco foram diluídas (1:1 v v⁻¹) com solução de ácido nítrico 1% v v⁻¹ para um volume final de 10 mL.

2.4.2 Leite de Coco

As amostras de leite de coco foram submetidas a um procedimento de extração proposto por Santos *et al.* (2014). O procedimento consistiu em pesar cerca de 1 g da amostra de leite de coco, avolumar com solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ para 20 mL e colocar em banho ultrassônico por 10 minutos; as amostras foram centrifugadas por 5 minutos numa rotação de 2000 rpm, e em seguida filtradas em papel de filtro quantitativo.

2.5 Determinação de cádmio e chumbo por HR-CS GF AAS

2.5.1 Avaliação do uso de modificadores químicos

Após a seleção do tratamento de amostra mais adequado, foi feita uma avaliação de diferentes modificadores químicos, a fim de otimizar as melhores temperaturas de pirólise e atomização. Foram avaliados os modificadores Pd (0,1 % m v⁻¹) e Mg (0,05 % m v⁻¹), individualmente e combinados para a determinação de Cd; e utilização NH₄H₂PO₄ (1 % m v⁻¹) e Pd + Mg para a determinação de Pb. Para isso, as determinações de Cd e Pb foram feitas com co-injeção de 5 µL da solução do modificadores, 5 µL de H₂O₂, e 20 µL de amostra.

Para a avaliação dos modificadores químicos foi escolhida a amostra A3A, de forma aleatória, sendo realizado um enriquecimento com os elementos Cd e Pb, nas concentrações 2 µg L⁻¹ e 20 µg L⁻¹, respectivamente. Já para o leite de coco a amostra utilizada foi a LV3T, que foi também enriquecida de forma similar.

2.5.2 Programas de aquecimento do forno de grafite

Para a construção das curvas de pirólise e atomização de cádmio e chumbo nas amostras de água de coco e leite de coco por HR-CS GF AAS foram utilizados os programas de aquecimento mostrados na Tabela 7 e 8.

Tabela 7. Programa de temperatura para determinação de Cd com e sem a utilização de modificadores nas amostras de água de coco e leite de coco.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Tempo (s)
Secagem	110	3	10
Secagem	140	5	20
Pirólise	400 - 900 ^a / 400-1200 ^b / 400 -700 ^c / 400-1200 ^d	100	20
Atomização	750-1700 ^a / 1300- 1900 ^b / 800 – 1600 ^c / 1300 – 1900 ^d	FP	3
Limpeza	2450	500	4

FP - FULL POWER ^a sem modificador, ^b Pd+ Mg, ^c Mg (somente de para água de coco) e ^d Pd

Tabela 8. Programa de temperatura para determinação Pb nas amostras de água de coco e leite de coco com e sem a utilização de modificadores.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Tempo (s)
Secagem	110	3	10
Secagem	140	5	20
Pirólise	400 - 900 ^a / 400-1000 ^b / 400 -1100 ^c (água de coco) 400- 1100 ^a / 400 -1300 ^c (leite de coco)	100	20
Atomização	1000-1800 ^a / 1100- 1900 ^b / 1200 – 1900 ^c (água de coco) 1100 - 1600 ^a / 1400 – 1800 ^c (leite de coco)	FP	3
Limpeza	2450	500	4

FP - FULL POWER ^a sem modificador, ^b Pd+ Mg (somente para água de coco) , ^c NH₄H₂PO₄

2.5.3 Validação do método analítico para quantificação de Cd e Pb

O método analítico proposto foi validado através da obtenção dos seguintes parâmetros de desempenho: limites de detecção e quantificação, faixa linear de trabalho, efeito de matriz, precisão e exatidão.

2.5.3.1 Limites de Detecção e Quantificação

Para obtenção dos limites de detecção e quantificação foram analisadas 10 soluções do branco analítico, submetidos aos procedimentos de preparo idênticos as amostras. Segundo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), o limite de detecção (LOD) é definido como a menor concentração do analito que pode ser detectada por determinado método, mas não necessariamente quantificada. É considerado como 3 vezes o desvio-padrão de uma série de medidas de branco (Equação 1) (INMETRO, 2007):

$$\text{LOD} = \frac{3 s}{S} \quad \text{Equação (1)}$$

Em que:

s: o desvio padrão das medidas do branco

S: o valor da sensibilidade (coeficiente angular da curva de calibração)

O limite de quantificação (LOQ) é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisão aceitável. O LOQ é considerado como 10 vezes o desvio-padrão de uma série de medidas de branco. Assim, conforme representado pela Equação 2 (INMETRO, 2007):

$$\text{LOQ} = \frac{10 s}{S} \quad \text{Equação (2)}$$

2.5.3.2. Concentração característica

Definida como a concentração do elemento que produz 1% de absorvância (0,0044). Sendo determinada pela razão entre 0,0044 e a inclinação da curva analítica (sensibilidade) (WELZ, 1999).

2.5.3.3. Faixa linear de trabalho

A faixa linear de trabalho foi obtida através do estudo da linearidade da curva de calibração na faixa de 0 a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd; e 0 a 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb.

2.5.3.4 Efeito de matriz

Para avaliar a especificidade do método, foram preparadas duas curvas analíticas de calibração, sendo uma curva em meio ácido nítrico e outra em meio das amostras de água de coco (A3B) e leite de coco (LV3T) nas faixas de concentração de 0 a 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0 a 4 $\mu\text{g L}^{-1}$, para Cd e Pb respectivamente. Através da razão dos coeficientes angulares das curvas analíticas foi possível avaliar a existência ou não do efeito de matriz (PINHO, 2009).

2.5.3.5 Precisão

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade, realizando-se cinco ensaios dos procedimentos propostos no mesmo dia para a amostra de água de coco A4A e a amostra de leite de coco LV1.

2.5.3.6 Exatidão

A exatidão foi estimada através da utilização do material de referência certificado de água (IRMM BCR-713) e através de teste de adição e recuperação.

O teste de adição e recuperação foi realizado através da adição de alíquotas de solução estoque dos elementos (em três níveis de concentração) na amostra de

água de coco A3B e a amostra de leite de coco LV3T em triplicata. Na Tabela 9, os níveis de concentrações empregados nos testes.

Tabela 9. Concentração de padrão adicionada às amostras de água de coco e leite de coco.

Elemento	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
Cd	1	2,5	4
Pb	5	7,5	25

As amostras de água de coco e leite de coco fortificadas foram submetidas ao procedimento descrito no item 2.4. As taxas de recuperação, R(%), foram calculadas conforme a Equação 3.

$$R (\%) = \frac{(C1 - C2) \times 100}{(C3)} \quad \text{Equação (3)}$$

Em que:

C1: concentração determinada na amostra adicionada;

C2: concentração determinada na amostra não adicionada;

C3: concentração adicionada

3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1 Estratégias para análise de água de coco por simples diluição

A água de coco é uma matriz complexa com alto teor de matéria orgânica. Na realização dos primeiros experimentos utilizando a amostra *in natura* observou-se deposição de grande quantidade de carbono na plataforma de grafite, que diminui a sua vida útil, além da geração de fuligem no interior do tubo; estes fatos também foram observados por Tavares (2010) e Aleixo *et al.* (2000), sendo atribuídos à baixa eficiência na eliminação da matriz, durante a etapa de pirólise.

Algumas estratégias para eliminação de resíduos carbonáceos, em análise de amostras com alto teor de matéria orgânica por GF AAS, têm sido relatadas na literatura. Dakukazu *et al.* (2001) utilizaram a pirólise assistida por fluxo de oxigênio na determinação de arsênio em açúcar com o intuito de promover uma oxidação eficiente da matriz, porém o emprego deste artifício tem a desvantagem de diminuir a vida útil do tubo devido as reações do oxigênio com o mesmo. Souza (2004) avaliou a adição de uma etapa de pré-pirólise para eliminação de resíduo na determinação direta de chumbo em soluções de açúcar obtendo redução na formação de resíduos. O uso de agentes oxidantes e diluição da amostra como alternativas para a determinação de cobre, manganês e cádmio, foi descrito por Paes (2007) sendo proposto à diluição da amostra duas vezes em ácido nítrico 0,2% v v⁻¹ e a co-injeção de 5 µL de peróxido hidrogênio para auxiliar na oxidação da matriz na etapa de pirólise.

Neste trabalho foi avaliada a diluição da amostra 1:1 v v⁻¹ em HNO₃ 1% v v⁻¹, e a co-injeção de 5 µL de peróxido de hidrogênio 30% m m⁻¹, a fim de promover uma oxidação efetiva da matriz na etapa de pirólise. Nos testes realizados sob estas condições, não foram observados a formação de fuligem, nem depósito de carbono no tubo de grafite indicando que a oxidação e eliminação da matriz foram eficientes.

Com base nos resultados obtidos, para estudos posteriores com a água de coco foi adotada a diluição de 5 mL da amostra com HNO₃ 1% v v⁻¹ para um volume final de 10 mL; e co-injeção de 5 µL de H₂O₂.

3.2 Estudo dos efeitos dos modificadores químicos nas temperaturas de pirólise e atomização de cádmio e chumbo

De acordo com os trabalhos publicados na literatura, para a determinação de Cd e Pb, em vários tipos de amostras, os modificadores químicos utilizados são Pd, Pd+Mg, Mg e NH₄H₂PO₄ (VOLYNSKY e WENNRICH, 2002; NÓBREGA *et al.*, 2004; VOLYNSKY, 2004; ORTNER *et al.*, 2002). Dessa forma, estes modificadores foram selecionados para estudo nesse trabalho.

3 2.1 Cádmió

3.2.1.1 Curvas de temperatura de pirólise e atomização de Cd na amostra de água de coco

A curva de temperatura de pirólise foi obtida através da variação da temperatura de pirólise mantendo fixa a temperatura de atomização, com o intuito de avaliar a estabilidade térmica do analito, ou seja, obtenção da temperatura máxima que poderá ser utilizada sem que ocorra perda de analito por volatilização. Para a obtenção da curva, devido ao baixo teor de cádmio na amostra empregada, foi feita a adição deste analito para uma concentração final de $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Em todos os estudos, foi utilizada a amostra de água de coco A3A, escolhida de forma aleatória (Tabela 4).

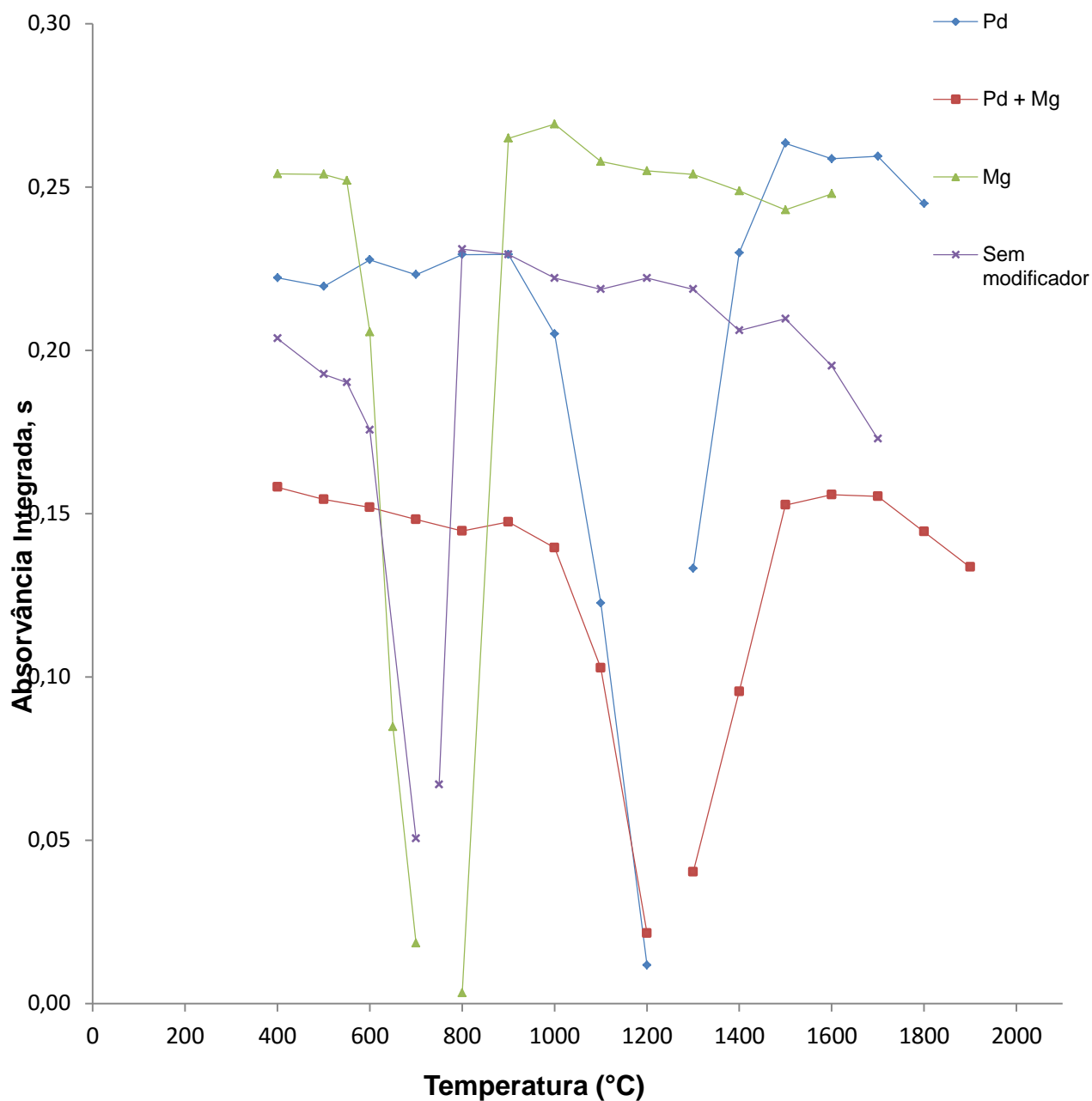
Os modificadores químicos são empregados com a finalidade de retardar a volatilização do analito e/ou aumentar a eficiência de eliminação da matriz na etapa de pirólise, proporcionando temperaturas mais adequadas para essa etapa (ROSINI, *et al.*, 2006). Neste sentido, os modificadores químicos Pd $0,1\% \text{ m v}^{-1}$ ($5,0 \mu\text{g}$ de Pd), Mg $0,5\% \text{ m v}^{-1}$ ($2,5 \mu\text{g}$ de Mg) e Pd+ Mg ($5,0 \mu\text{g}$ de Pd + $2,5 \mu\text{g}$ de Mg) em HNO_3 $0,5\% \text{ (v v}^{-1})$ foram avaliados. Para a obtenção das curvas de pirólise, a temperatura de atomização foi fixada em 1800°C .

Na Figura 5 são apresentadas as curvas de pirólise para Cd na amostra de água de coco com e sem modificador químico. . Pode-se observar que na curva de temperatura de pirólise sem modificador químico, a absorvância diminui de forma drástica com o aumento da temperatura, indicando perda de cádmio por volatilização alcançando temperatura máxima de pirólise de 550°C . Comportamento semelhante foi observado quando Mg foi utilizado como modificador (WELZ,1999).

Por outro lado, com a utilização dos modificadores Pd e Pd+Mg, verifica-se um aumento significativo da estabilidade térmica do analito, possibilitando o uso de temperaturas de pirólise mais elevadas. Neste caso a temperatura máxima de pirólise foi de 900°C , para ambos modificadores. Portanto, verifica-se um aumento de 400°C na temperatura de pirólise em comparação com a aquela obtida na ausência de modificador.

Desta forma, considerando os resultados obtidos para a etapa de pirólise (Figura 5), foram selecionadas as seguintes temperaturas de pirólise para obtenção das curvas de atomização, temperaturas de: 500°C para as curvas sem modificador e com Mg, e 900°C Pd+Mg.

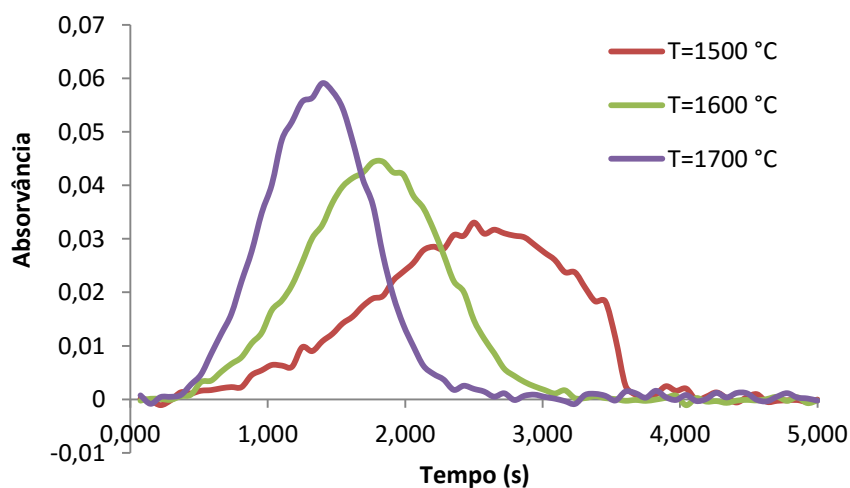
Figura 4. Curvas de temperatura pirólise e atomização obtidas para Cd na amostra de água de coco A3A fortificada com $2 \mu\text{g L}^{-1}$, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg ($5 \mu\text{g} + 3 \mu\text{g}$), Mg ($3 \mu\text{g}$) e Pd ($5 \mu\text{g}$).



Os estudos de otimização das temperaturas da etapa de atomização na presença e ausência de modificador também são apresentados na Figura 5. De acordo com Luz *et al.* (2003) a temperatura ótima de atomização pode ser definida como a menor temperatura em que o melhor sinal analítico é obtido.

Analisando as curvas e temperaturas de atomização contidas na Figura 5, maiores sinais de absorvância foram obtidos em temperaturas de atomização menores (observando a faixa de temperatura de 1500 a 1800°C para o Pd). Porém o perfil do sinal analítico também deve ser considerado. Para a amostra com modificador Pd, por exemplo, a temperatura de atomização de 1500°C apresenta um sinal analítico maior. No entanto, o perfil do pico nesta temperatura fica mais largo quando comparado com temperaturas de atomização mais elevadas, como pode ser observado na Figura 6, resultando menor precisão. Dessa forma, foi selecionada a temperatura de atomização de 1700°C para o modificador Pd, uma vez que apresentou um melhor perfil de pico (simétrico) sem mudar de forma significativa o valor do sinal analítico.

Figura 5. Perfil dos picos de atomização obtidos para Cd na amostra de água de coco A3B fortificada com Cd $2 \mu\text{g L}^{-1}$ usando modificador químico Pd em diferentes temperaturas de atomização.



As escolhas das temperaturas de atomização para os demais modificadores seguiram os mesmos critérios utilizados para o Pd. Os resultados são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10. Temperaturas de pirólise e de atomização para Cd obtidos na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos.

Modificador químico	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)
Sem modificador	500	1100
Pd	900	1700
Pd+Mg	900	1700
Mg	500	1200

Levando em consideração a complexidade da matriz da água de coco, a eficiência da etapa de pirólise é muito importante, uma vez que os concomitantes da matriz precisam ser eliminados. Assim, tanto o modificador Pd e a mistura Pd+Mg poderiam ser utilizados para a determinação de Cd nas amostras de água de coco, pois ambos estabilizam o Cd a temperaturas de até 900°C. Porém, a utilização do Pd como modificador implicou num aumento na sensibilidade, que pode ser observado nas curvas de pirólise e atomização, apresentadas na Figura 5.

Assim, para a determinação de Cd nas amostras de água de coco foram selecionadas as seguintes condições: temperaturas de pirólise e atomização de 900°C e 1700°C, respectivamente, e Pd como modificador químico.

3.2.1.2 Curvas de pirólise e atomização do Cd na amostra de leite de coco

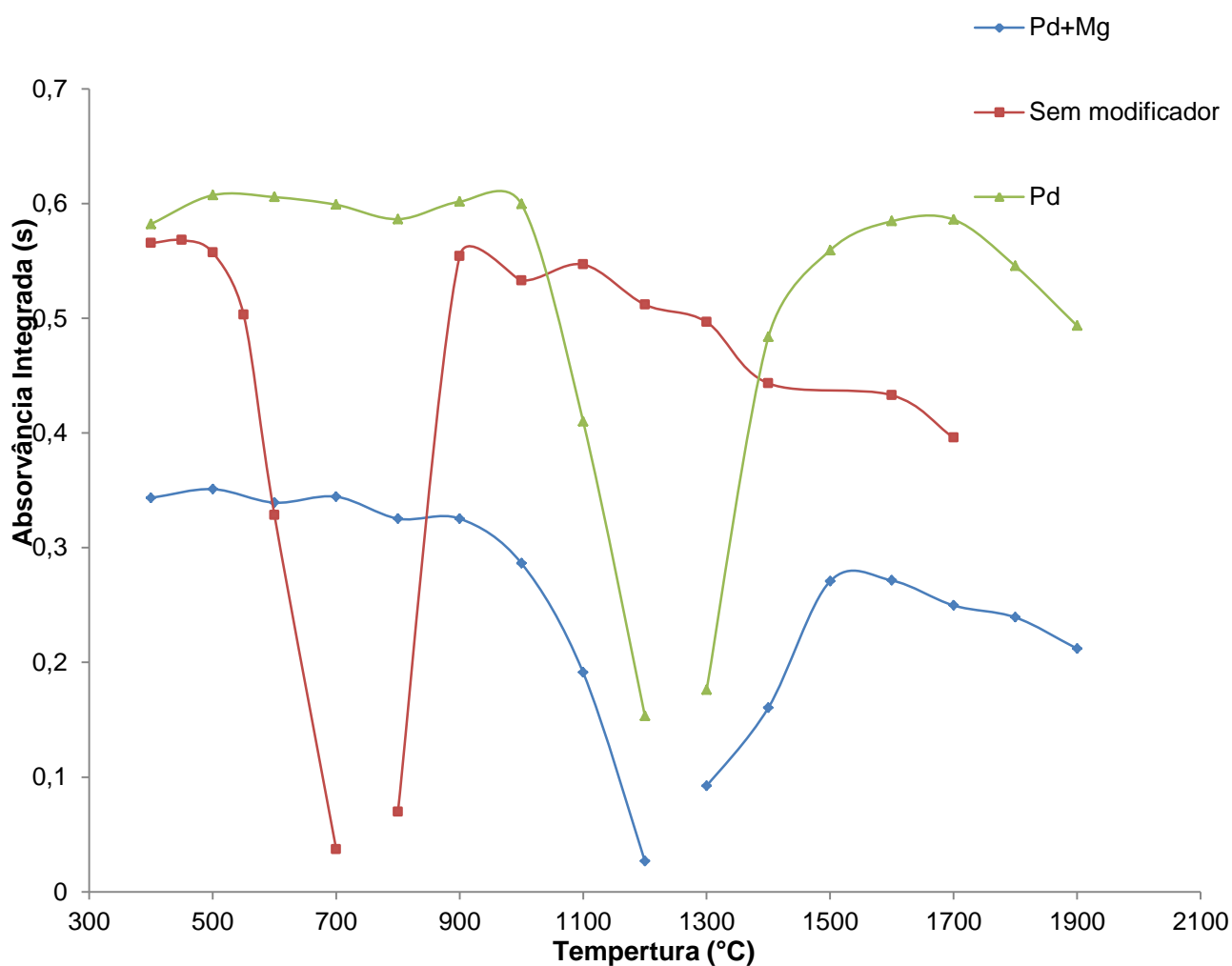
A amostra de leite de coco utilizada para os estudos de pirólise e atomização continha concentração de Cd adequada para o estudo, de forma que não foi necessária a sua adição. Em todos os estudos foi utilizada a amostra LV3T, também escolhida aleatoriamente (Tabela 5).

A temperatura de atomização foi mantida em 1700°C para a obtenção das curvas de pirólise para amostra sem modificador. Como foi observado no estudo anterior que a utilização do Mg como modificador não conferiu ao Cd uma estabilização efetiva, o mesmo não foi selecionado para este estudo. Assim, os modificadores Pd+Mg e Pd foram empregados. Os resultados desse estudo são apresentados na Figura 7.

Na Figura 7 estão mostradas as curvas de temperatura de pirólise obtidas para Cd na amostra de leite de coco. Pode-se observar um comportamento similar

ao obtido para a amostra de água de coco. A utilização do modificador químico confere uma estabilidade térmica ao Cd, uma vez que na amostra sem modificador a absorvância diminui bruscamente com o aumento de temperatura. Já com a utilização dos modificadores Pd+Mg e Pd, observa-se um aumento na temperatura de pirólise de 450°C para 900°C, para ambos os modificadores.

Figura 6. Curvas de pirólise e atomização de Cd obtidas para uma amostra de leite de coco LV3T, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg (5 µg + 3 µg) e Pd (5 µg).



Para a obtenção das curvas de temperatura de atomização, foram fixadas as seguintes temperaturas de pirólise: para amostra sem modificador (450 °C), Pd+Mg (800°C) e Pd (900°C). As curvas de temperatura de atomização também são

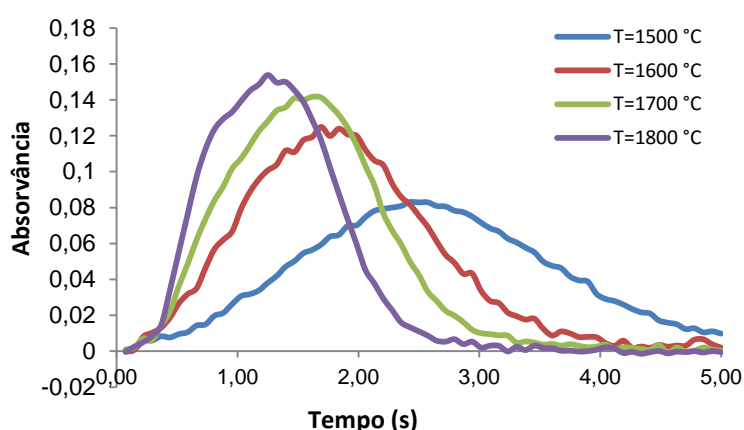
apresentadas na Figura 8. A temperatura de atomização foi escolhida também de acordo com o perfil do pico, além do máximo sinal de absorvância. Na Tabela 11, encontram-se os valores das temperaturas de pirólise e atomização para cada modificador químico estudado.

Tabela 11. Temperaturas de pirólise e de atomização para Cd obtidas na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos.

Modificador químico	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)
Sem modificador	450	1100
Pd	900	1700
Pd+Mg	900	1700

A escolha da temperatura de atomização, para a determinação de Cd na amostra de leite de coco utilizando Pd como modificador, foi feita baseado nos perfis dos picos apresentados na Figura 9. Nesta, pode-se observar que na temperatura de 1500°C obteve-se um pico bastante alargado; já para as temperaturas de 1700°C e 1800°C o perfil do sinal foi semelhante, sendo estes adequados para a determinação do analito. Portanto, foi selecionada a temperatura de atomização de 1700°C, considerando o perfil do sinal analítico, e a preservação do tubo de grafite.

Figura 7. Perfil dos picos de atomização para Cd obtidos para amostra de leite de coco com modificador químico Pd em diferentes temperaturas de atomização.



Analisando o comportamento do Cd frente à utilização dos modificadores químicos, considerando apenas a estabilidade térmica, tanto Pd quanto a mistura Pd+Mg poderiam ser empregados na determinação deste analito. Porém, ao se

observar as curvas de temperatura de pirólise e de atomização, percebe-se que houve um aumento significativo na sensibilidade quando Pd é empregado como modificador, fato também observado para a amostra de água de coco.

Assim, o Pd foi selecionado como modificador na determinação de Cd em leite de coco, para as temperaturas de pirólise e atomização de 900°C e 1700°C, respectivamente.

3.2.2 Chumbo

3.2.2.1 Curvas de pirólise e atomização de Pb na água de coco

Para a determinação de Pb na amostra de água de coco por HR-CS GF AAS, também foi necessário a seleção de modificador químico adequado. Dessa maneira, foram estudados: mistura de Pd 0,1% m v⁻¹ + Mg 0,05% m v⁻¹ e NH₄H₂PO₄ 1% m v⁻¹.

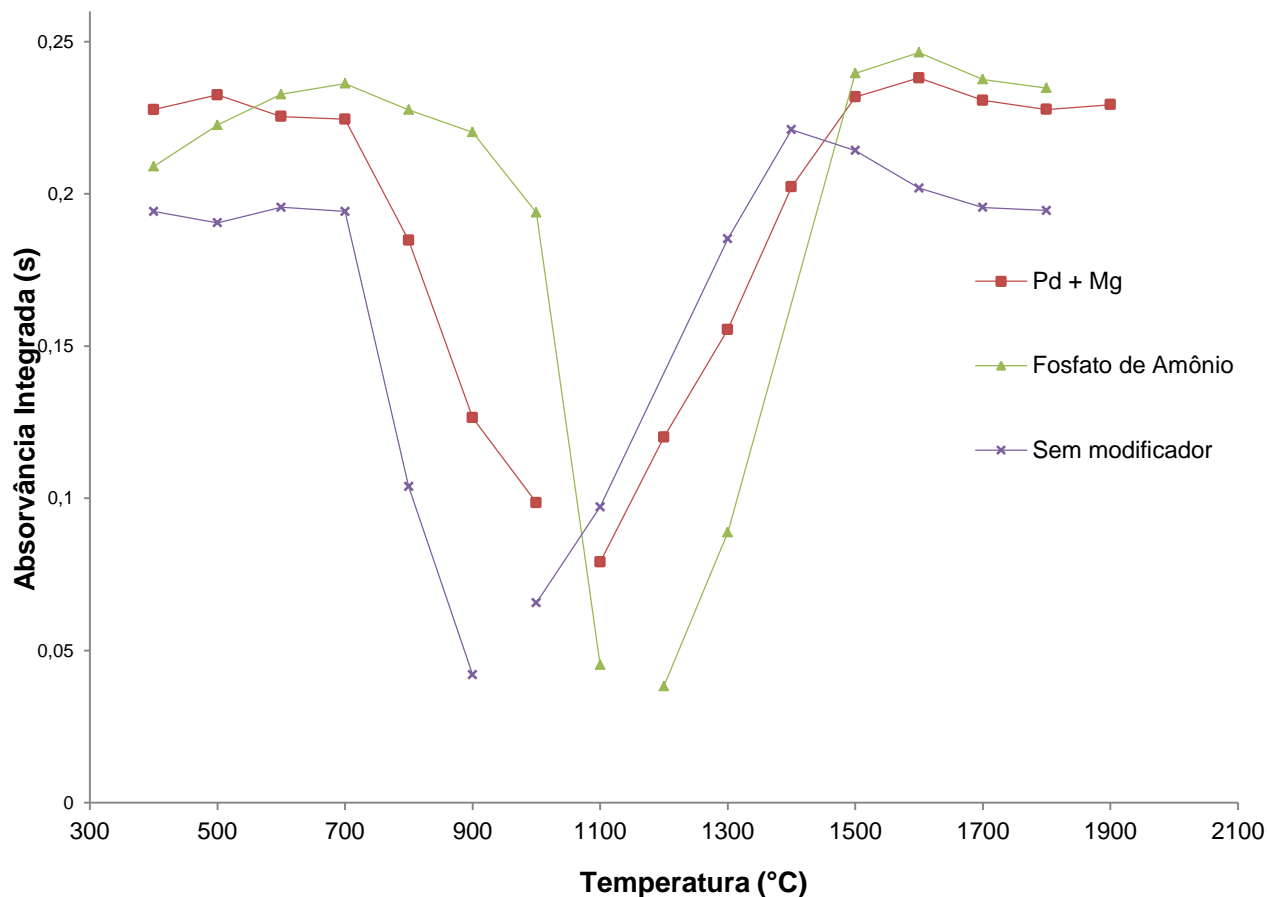
Para a obtenção das curvas de pirólise, a temperatura de atomização foi fixada em 1700°C para amostra sem modificador, e para os modificadores Pd+Mg e NH₄H₂PO₄. Na Figura 10 estão apresentadas as curvas de pirólise para amostra fortificada com 20 µg L⁻¹, na ausência e na presença dos diferentes modificadores químicos avaliados.

Na Figura 9 pode ser observado que o comportamento térmico do Pb na amostra sem modificador químico e com a mistura de Pd+Mg foi semelhante, sendo a temperatura máxima de pirólise de 600 °C.

Já com a utilização do NH₄H₂PO₄, observa-se uma maior estabilidade térmica para Pb, uma vez que ocorre o incremento de 300°C na temperatura de pirólise, quando comparada à amostra sem modificador e com Pd + Mg.

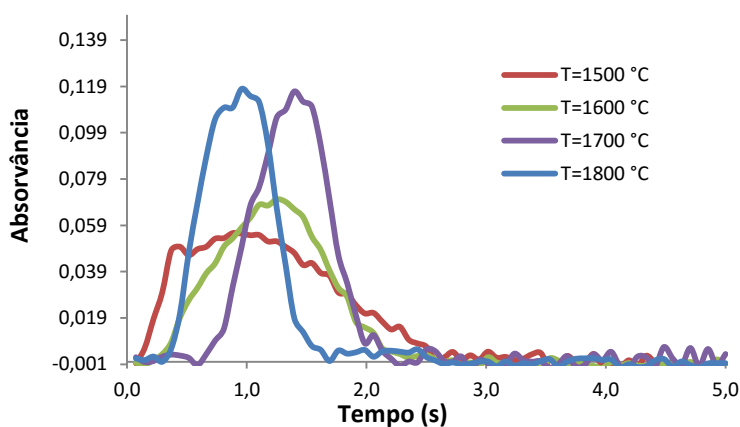
Então, foram fixadas as temperaturas de pirólise de 600 °C para a amostra sem modificador e a mistura de Pd+Mg, e 900 °C para a amostra com o modificador NH₄H₂PO₄, para a obtenção das curvas de atomização, as quais também estão apresentadas na Figura 9.

Figura 8. Curvas de temperatura de pirólise e atomização de Pb obtidas para uma amostra de água de coco A3A fortificada com $20 \mu\text{g L}^{-1}$, na ausência e na presença de modificadores químicos: Pd + Mg ($5 \mu\text{g} + 3 \mu\text{g}$) e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($50 \mu\text{g}$).



A escolha da temperatura de atomização seguiu os mesmos critérios já mencionados para o estudo do Cd. Na Figura 10, estão apresentados os perfis dos sinais analítico do Pb em presença do modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ em diferentes temperaturas.

Figura 9. Perfil dos picos de atomização para Pb obtidos para amostra de água de coco com o modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ nas diferentes temperaturas de atomização.



Apesar de possuir absorvância integrada semelhante em valor às demais temperaturas de atomização, em 1500°C apresenta um perfil de sinal analítico mais largo quando comparado com temperaturas de atomização mais elevadas, como pode ser observado na Figura 10. Já para as temperaturas de 1700°C e 1800°C, o perfil dos sinais é semelhante e se apresenta mais estreito, sendo estes adequados para a determinação do analito. Portanto, foi selecionada a temperatura de atomização de 1700°C, considerando o perfil do sinal analítico, e a preservação do tubo de grafite, para o modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

Os mesmos critérios utilizados para as escolhas da temperatura de atomização para $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ foram empregados para a definição das temperaturas de atomização para amostra sem modificador químico e com o Pd+Mg. Os resultados são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Temperaturas de pirólise e de atomização para Pb com diferentes modificadores.

Modificador químico	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização(°C)
Sem modificador	600	1500
Pd+Mg	700	1700
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	900	1700

O composto $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ foi selecionado como modificador químico para a determinação de Pb (temperatura de pirólise de 900°C e atomização igual a 1700°C) nas amostras de água de coco, devido a possibilidade de utilização de temperatura de pirólise mais alta quando comparado as demais situações. A eficiência deste modificador pode ser explicada devido a formação de compostos termicamente estáveis de pirofosfato de Pb que são favorecidos com o aumento da temperatura, sendo bastante empregado nas determinações do analito em várias matrizes (VOLYNSKY, 2003).

Durante a realização dos experimentos da curva de atomização, foi observada a formação de bandas próximas ao pixel central. Assim, estudos posteriores foram realizados para a identificação de um possível interferente. Estes estudos serão apresentados no item 3.2.2.3.

3.2.2.2 Curvas de temperatura de pirólise e de atomização de Pb na amostra de leite de coco

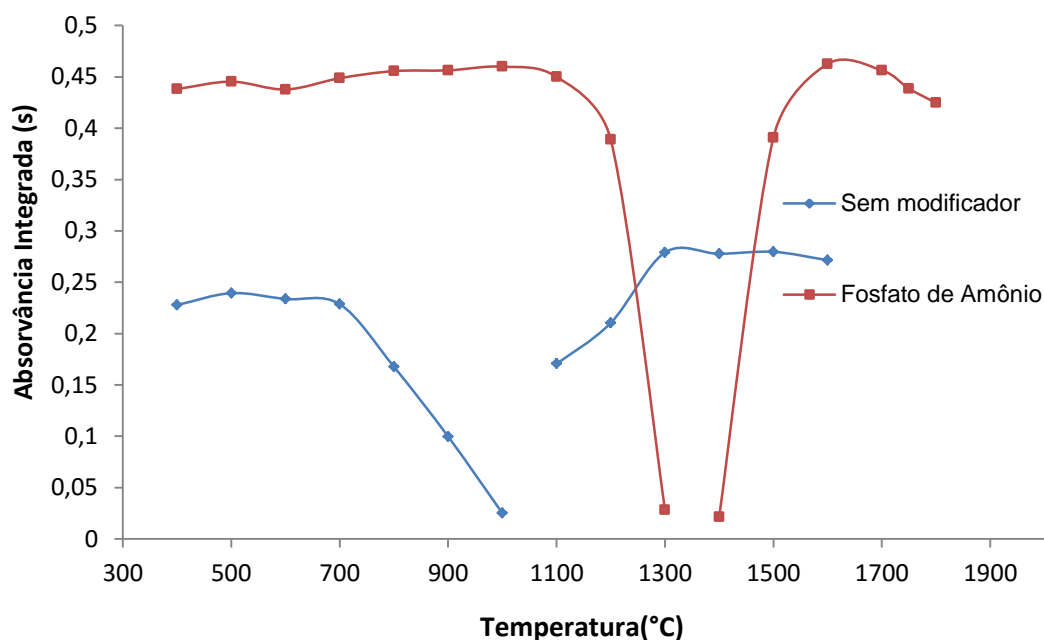
A amostra de leite de coco foi submetida a um procedimento de extração assistida por ultrassom proposto por Santos et al. (2014). Para a obtenção das curvas de pirólise e atomização para Pb em leite de coco, foram co-injetadas 20 μL de amostra, 5 μL peróxido de hidrogênio 30% m m^{-1} e 5 μL de modificador químico.

Para a obtenção da curva de temperatura de pirólise, a temperatura de atomização foi mantida em 1700°C para amostra sem modificador e com o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, e Pb foi adicionado na amostra de leite de coco na concentração final de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Na Figura 11, a utilização de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ confere ao Pb um aumento na estabilidade térmica, uma vez que a absorvância integrada não tem variação significativa até a temperatura de 1100°C, enquanto que para a amostra sem modificador observa-se um decréscimo a partir dos 700°C. Dessa forma, com o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, obteve-se um acréscimo de 400°C na temperatura de pirólise e um aumento significativo na sensibilidade.

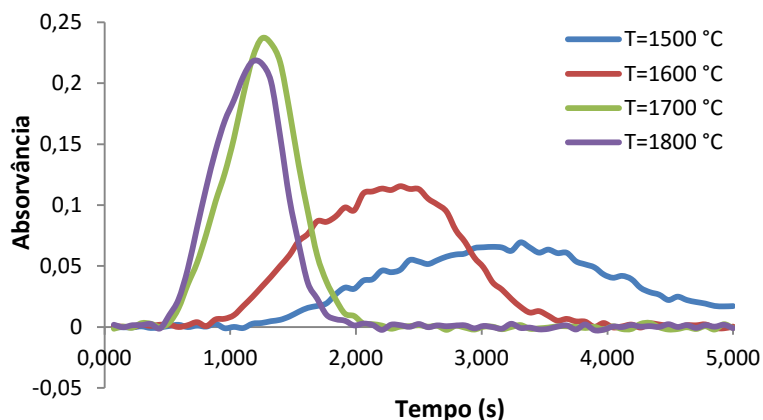
Para a obtenção da curva de temperatura de atomização (Figura 11), a temperatura de pirólise fixada foi 600 °C para amostra sem modificador e 1000°C com o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Com a utilização do modificador químico, pode-se observar que o sinal do Pb apresenta pouca variação com o aumento da temperatura indicando que Pb apresenta uma estabilidade térmica considerável, sob estas condições. Além disso, a utilização de modificador químico implica numa maior sensibilidade, sendo obtidos maiores valores de absorvância.

Figura 10. Curvas de pirólise e atomização para Pb obtidas na amostra de leite de coco LV3T fortificada com $20 \mu\text{g L}^{-1}$, com e sem modificador.



Para a escolha da temperatura de atomização, foram avaliados os perfis dos picos obtidos para Pb utilizando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador, em diferentes temperaturas de atomização. Apesar do maior valor de absorvância ter sido obtido na temperatura de 1600°C , o perfil do pico nesta temperatura foi alargado como pode ser observado na Figura 13. Dessa forma, a temperatura de atomização de 1700°C foi adequada, uma vez que o pico obtido foi estreito e simétrico, além de contribuir para uma maior vida útil do tubo de grafite.

Figura 11. Perfil dos picos de atomização obtidos para Pb a amostra de leite de coco LV3T fortificada com $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ com o modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ nas diferentes temperaturas de atomização.

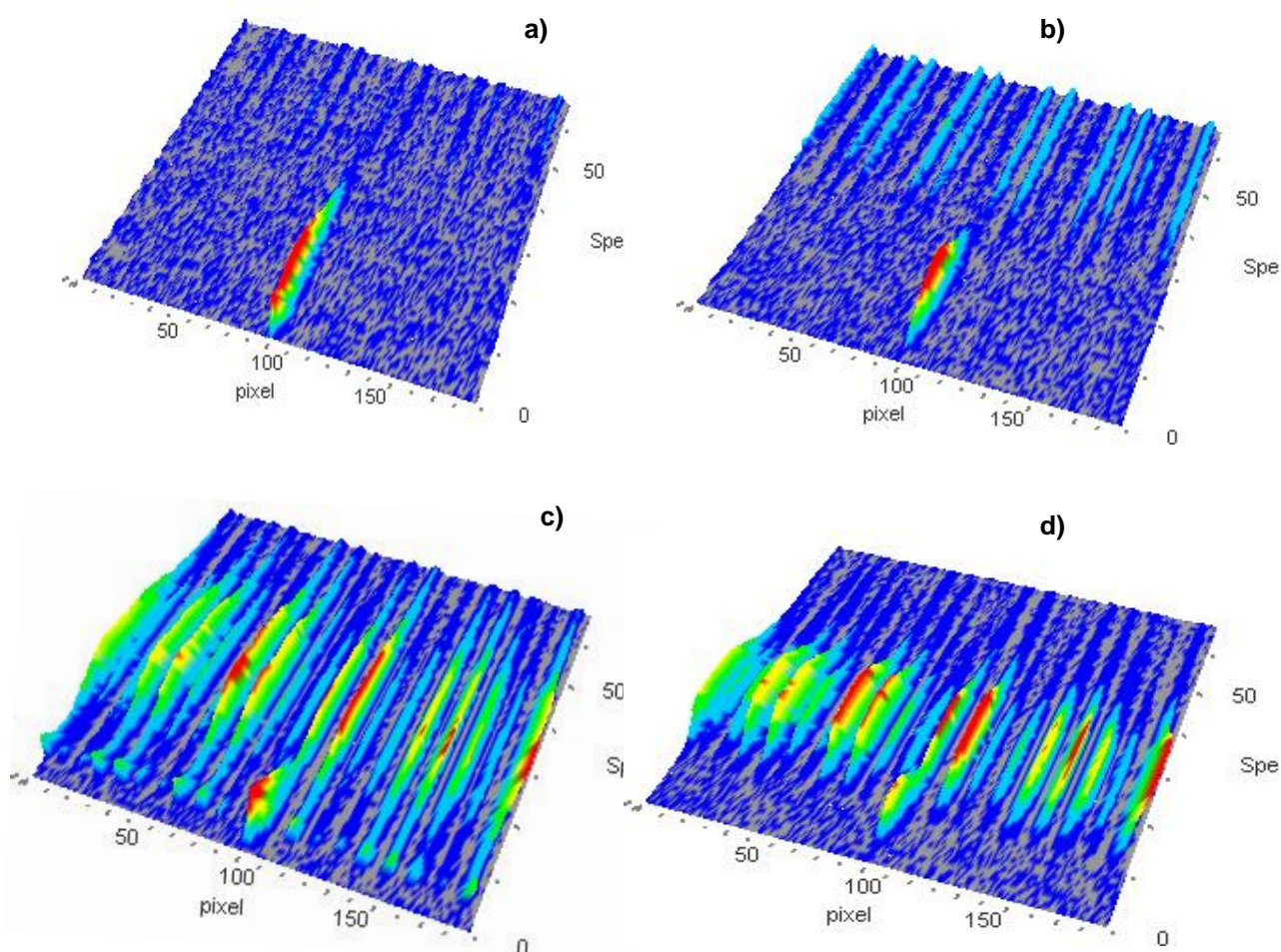


Assim, devido ao aumento considerável na temperatura de pirólise e na sensibilidade, o $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ foi escolhido para ser utilizado como modificador químico na determinação de Pb em amostras de leite de coco e as temperaturas de pirólise e atomização selecionadas foram $900\text{ }^\circ\text{C}$ e $1700\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente.

3.2.2.3 Estudo de interferência na determinação de Pb utilizando o fosfato de amônio como modificador químico

Durante a realização do estudo para definir a temperatura de atomização utilizando o modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ na amostra de água de coco, foi observado que o aumento da temperatura favoreceu a formação de estruturas finas próximas ao *pixel* central (CP), porém não foi observada a sobreposição ao sinal do analito. Na Figura 13 podem ser observados os espectros tridimensionais obtidos.

Figura 12. Espectros 3D para amostra de água de coco fortificada com Pb $20\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ com modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ $T_p = 900^\circ\text{C}$ (fixa) e T_a de 1500°C (a), 1600°C (b), 1700°C (c) e 1800°C (d).

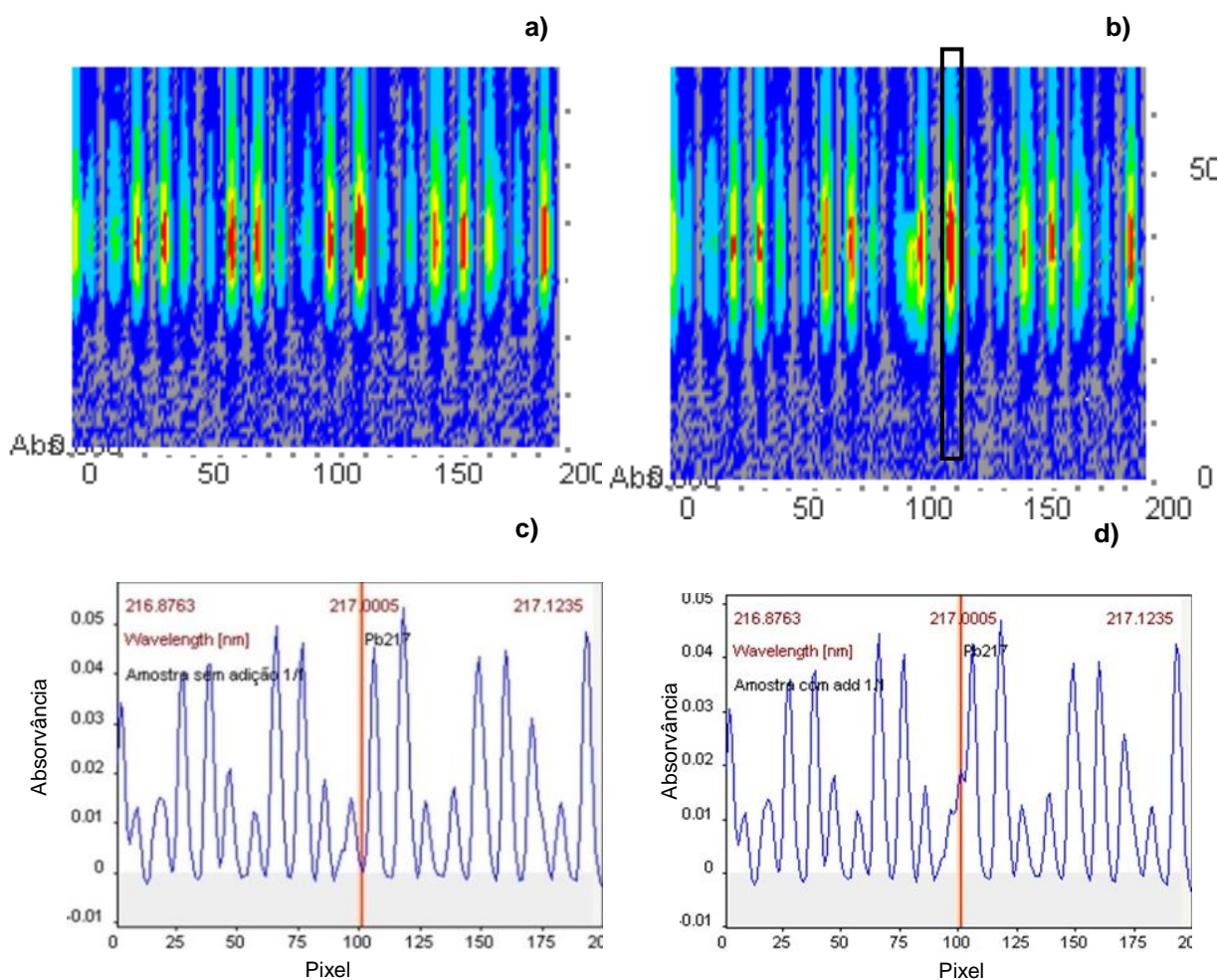


Na Figura 13, pode-se observar que o aparecimento de um fundo estruturado, a partir da temperatura de 1600°C, depende diretamente do aumento da temperatura de atomização uma vez que pode ocorrer o aumento da população dessas espécies no interior do tubo. Essas bandas podem ser atribuídas à excitação de moléculas diatômicas.

A priori essas bandas não atuam como interferente, uma vez que não há sobreposição ao sinal analítico, porém com o aumento da concentração de Pb na amostra, e conseqüentemente do aumento da intensidade do sinal analítico, essas bandas próximas ao CP passaram a sobrepor parcialmente o sinal correspondente ao analito.

Na Figura 14 estão apresentados os espectros de contorno referentes à amostra de água de coco diluída sem adição e com adição de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb utilizando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificador.

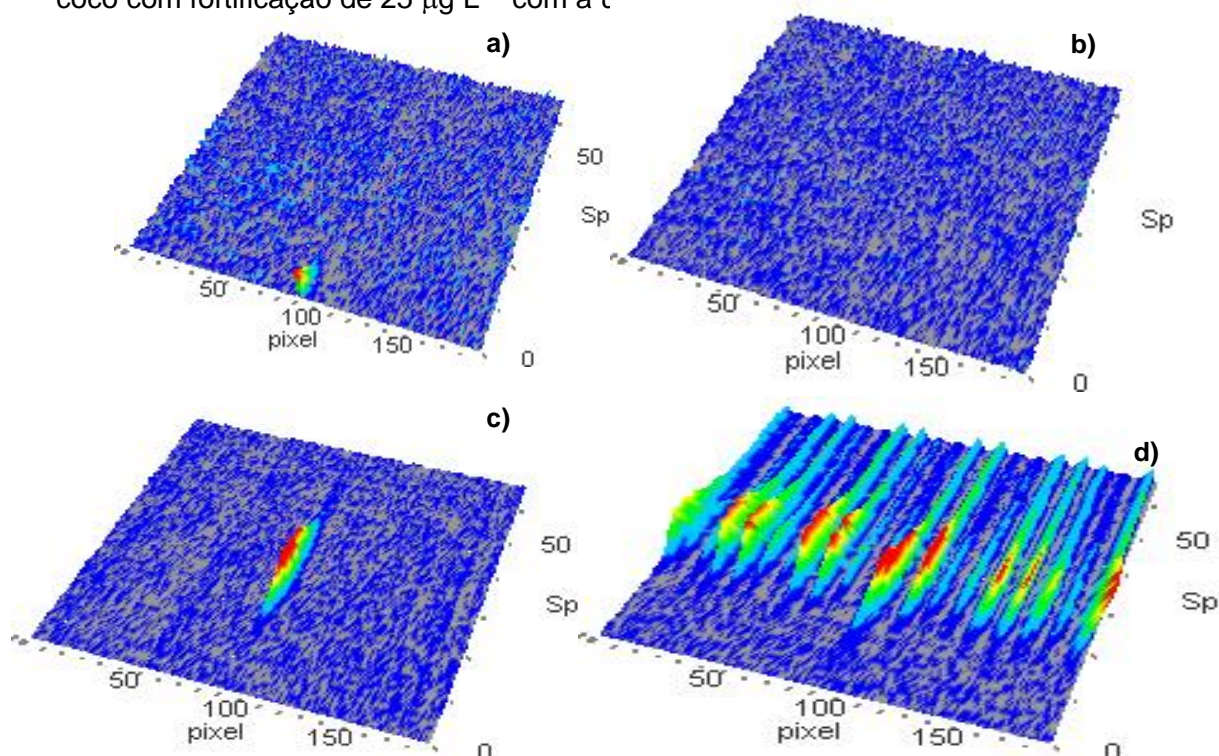
Figura 13. Espectros de contorno e espectro de absorvância versus *pixel* para Pb na amostra de água de coco na presença do $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p = 900^\circ\text{C}$ e $T_a = 1700^\circ\text{C}$): (a e c) Amostra não fortificada, (b e d) Amostra fortificada com 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb.



Ao comparar os espectros da Figura 14 para amostra com (b e d) e sem fortificação (a e c) na presença do modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, nota-se a sobreposição do sinal analítico no CP com as bandas de absorção do interferente. Neste caso, estratégias como a utilização de espectro de referência para a correção da interferência pode ser aplicado, desde que o composto interferente seja identificado (WELZ *et al.*, 2005)

A interferência poderia ser ocasionada por algum componente da matriz e/ou pela utilização do modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Estudos realizados por Dessuy *et al.* (2007) e Lepri *et al.* (2006), empregando HR-CS GF AAS, mostraram que fósforo tende a formar espécies voláteis que podem absorver na faixa de 200 nm a 350 nm; em comprimentos de onda mais baixos (213 nm). Nas temperaturas de pirólise igual a 400°C e de atomização de 2700°C são obtidos espectros com bandas referentes às transições eletrônicas das moléculas de PO. Assim, adotou-se a hipótese de que a interferência provavelmente seria ocasionada pela formação de moléculas de PO proveniente da matriz e/ou da utilização de fosfato de amônio como modificador. Na Figura 15 estão dispostos os espectros 3D dos estudos realizados para uma possível identificação do interferente.

Figura 14. Espectros 3D de Pb ($T_p = 900^\circ\text{C}$ e $T_a = 1700^\circ\text{C}$): a) Amostra de água de coco com fortificação de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ sem a utilização de modificador, b) Modificador puro - $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ c) Padrão Pb de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ com modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, d) Amostra de água de coco com fortificação de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ com a utilização de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$



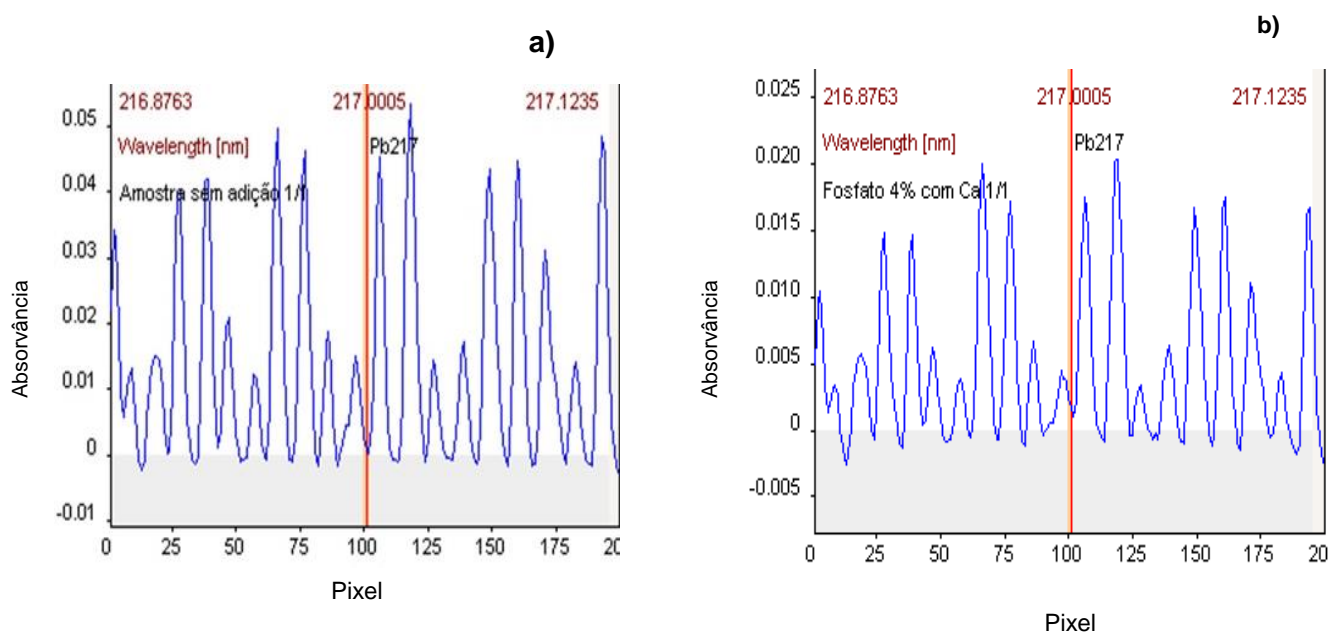
Para a elucidação da hipótese de que as moléculas de PO eram provenientes dos componentes da matriz foi realizada análise de uma amostra de água de coco fortificada com Pb ($25 \mu\text{g L}^{-1}$) sem a presença do modificador químico (Figura 15 a) nas $T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$, e apenas o pico do sinal analítico foi observado.

O modificador químico também foi analisado nas mesmas condições e nenhum sinal foi observado indicando que nessas condições térmicas moléculas de PO provenientes do grupo fosfato não são formadas (Figura 15 b). Também não foram observadas a formação de bandas na vizinhança do CP para o padrão de Pb (Fig. 14 c) em meio aquoso.

Esses resultados estão de acordo com o encontrado por Dessuy *et al.* (2007) que verificaram que a formação de PO sem a utilização de modificadores químicos ocorre em temperaturas de atomização superiores a 2000°C . No entanto, a água de coco é uma matriz bastante complexa e os seus constituintes podem também atuar como modificador químico favorecendo a formação de PO em temperaturas mais baixas que 2000°C estabelecidas pela literatura, como pode ser notado na Figura 15 d.

Para comprovação dessa hipótese, foram comparados os perfis dos espectros obtidos para as amostras sem adição de Pb na presença de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$) e na condição utilizada por Dessuy *et al.* (2007), para o padrão de P de 4000 mg L^{-1} e os resultados estão apresentados na Figura 16.

Figura 15. Espectro de absorvância versus *pixel* para amostra de água de coco diluída sem adição de Pb na presença do $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($T_p= 900^\circ\text{C}$ e $T_a= 1700^\circ\text{C}$), e padrão de P de 4000 mg L^{-1} na presença de Ca ($T_p=900^\circ\text{C}$ e $T_a= 2000^\circ\text{C}$).

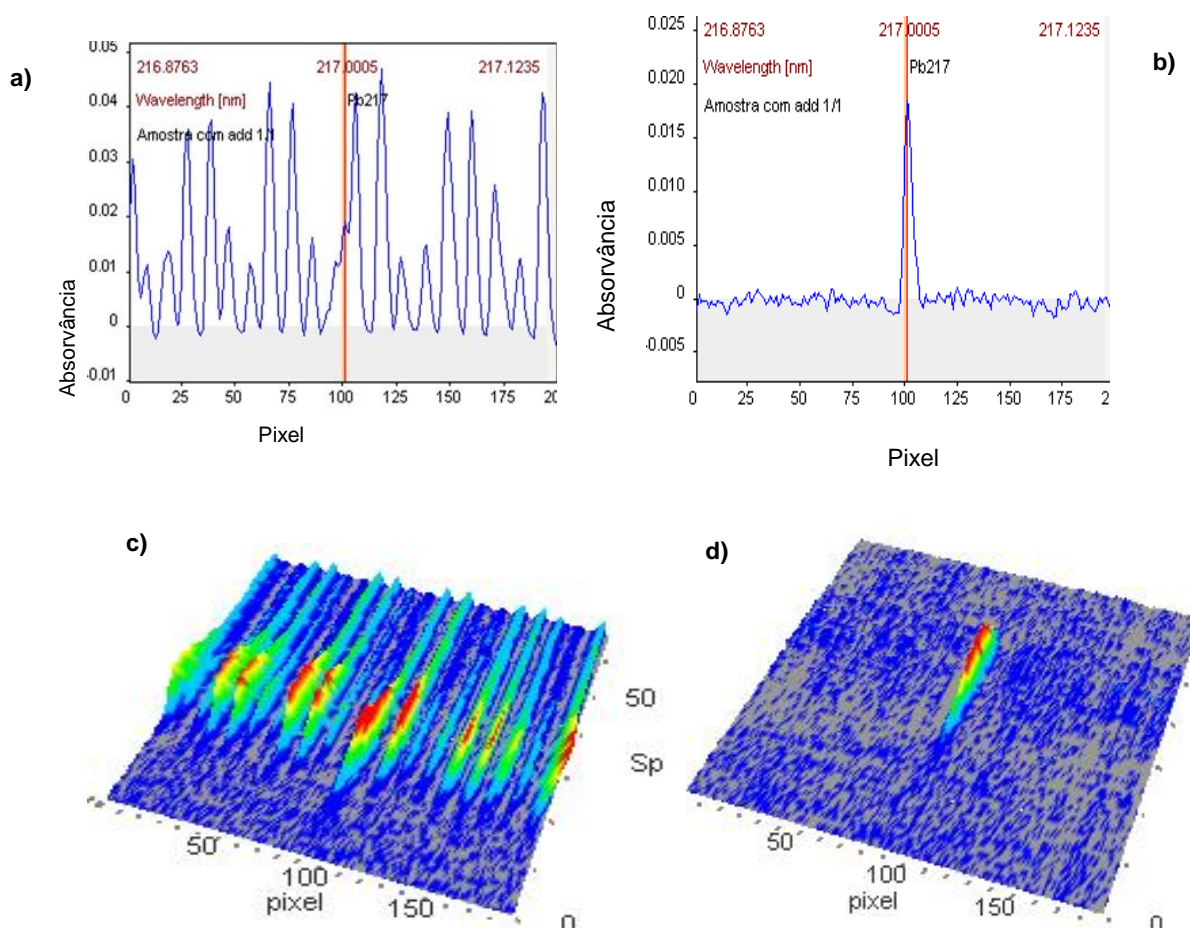


Confrontando o perfil do espectro da solução estoque de fósforo (Figura 16 b) com a amostra sem adição de Pb (Figura 16 a) pode-se perceber a grande semelhança entre eles, indicando que as bandas próximas ao CP correspondem à formação de PO. Além disso, pode-se confirmar a hipótese de que a matriz atua como modificador químico favorecendo a formação de PO a temperaturas mais baixas (1700°C), uma vez que nessa condição na ausência da matriz não ocorre à formação de PO (Figura 15 c).

O *software* do equipamento permite que o espectro da espécie interferente seja armazenado, e este pode ser subtraído do espectro da amostra obtendo-se assim, o espectro livre do interferente. Dessa forma, o espectro do padrão de fósforo (4000 mg L⁻¹) (Fig.15b) foi salvo como espectro de referência para ser subtraído dos espectros obtidos para as determinações de Pb.

Na Figura 17, estão apresentados os espectros da Figura 14 b e d após a correção das bandas de PO obtidos através da utilização do espectro de fósforo como espectro de referência.

Figura 16. Espectro de absorvância versus pixel e 3D sem correção de interferência das moléculas de PO (a e c) e corrigidos (b e d) da amostra de água de coco fortificada com 25 µg L⁻¹ Pb na presença do NH₄H₂PO₄ (Tp= 900°C e Ta= 1700°C).



Para a determinação de Pb nas amostras de leite de coco usando $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, não foram observadas estas interferências.

Assim, para a determinação de Cd e Pb nas amostras de água de coco e leite de coco por HR-CS GF AAS foi proposto o programa de aquecimento mostrado na Tabela 13.

Tabela 13. Programa de temperatura otimizado para determinação de cádmio e chumbo utilizando como modificadores respectivamente, Pd e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, nas amostras de água de coco e leite de coco.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (°C/s)	Tempo (s)
Secagem	110	3	10
Secagem	140	5	20
Pirólise	900	100	20
Atomização	1700	FP	3
Limpeza	2450	500	4

FP - FULL POWER Pd 5 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 50 μg

3.4 Validação do método para quantificação de Cd e Pb

O procedimento de validação confere a um novo método analítico a creditação de que os dados gerados a partir deste são confiáveis, seguros. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) “A validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados”.

Os parâmetros de desempenho analíticos normalmente empregados para validação de métodos são: limite de detecção e limite de quantificação; faixa linear de trabalho, efeito de matriz, precisão e exatidão.

3.4.1 Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores de limites de quantificação e detecção para os métodos de diluição da água de coco e extração ácida assistida por ultrassom do leite de coco, expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng g^{-1} , estão apresentados na Tabela 14, abaixo.

Tabela 14. Estimativa para os limites de detecção e quantificação para os métodos de diluição da água de coco e extração do leite de coco por HR-CS GF AAS.

Água de coco			Leite de coco	
Analitos	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD (ng g^{-1})	LOQ (ng g^{-1})
Cd	0,02	0,06	0,03	0,1
Pb	0,20	0,7	0,2	0,8

Comparando os limites dos dois procedimentos de extração e diluição, pode-se perceber que para ambos os elementos os limites estimados foram menores para o procedimento de diluição.

3.4.2 Concentração característica

As condições de operação dos instrumentos podem ser avaliadas através da comparação do valor de concentração característica ou massa característica com o valor fornecido pelo equipamento ou pela literatura (WELZ, 1999). Na Tabela 15, são apresentados os valores médios de concentração característica obtidos experimentalmente para os elementos Cd e Pb e os valores fornecidos pelo equipamento.

Tabela 15. Valores médios de concentração característica obtidas experimentalmente para Cd e Pb e concentração característica fornecida pelo equipamento (Analytik Jena AG, Alemanha).

Elemento	Concentração calculada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração equipamento ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd	0,06	0,06
Pb	0,50	0,65

Comparando os valores obtidos com os valores sugeridos pelo equipamento pode-se observar que eles possuem boa concordância entre si. Indicando que o equipamento teve uma boa performance durante a realização dos experimentos.

3.4.3 Faixa linear de trabalho

A faixa linear de trabalho para os elementos Cd e Pb considerando detecção por HR-CS GF AAS corresponde a faixa desde 0,06 a 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd; e 0,7 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb.

3.4.4 Efeito de Matriz

Na Tabela 16 encontram-se as equações da reta obtidas através da técnica de adição de analito (Pb e Cd) nas amostras de água de coco (A3A) e leite de coco (LV3T), escolhidas aleatoriamente, e das curvas preparadas em meio aquoso.

Tabela 16. Equações da reta e valores de R^2 para os elementos Pb e Cd e a razão entre os coeficientes angulares da curva no meio da matriz e da curva aquosa.

Analito	Pb	Razão	Cd	Razão
Curva Aquosa	$y = 0,0097x + 0,0056$ $R^2 = 0,9991$	-	$y = 0,1100x - 0,0007$ $R^2 = 0,9992$	-
Água de Coco	$y = 0,0096x + 0,0259$ $R^2 = 0,9993$	0,99	$y = 0,1176x + 0,0581$ $R^2 = 0,9999$	1,07
Leite de Coco	$y = 0,0099x + 0,0228$ $R^2 = 0,9996$	1,02	$y = 0,1028x + 0,0515$ $R^2 = 0,9995$	0,93

A razão entre os coeficientes angulares da curva no meio da matriz e da curva em meio aquoso variam de 0,99 a 1,02 para o Pb e 0,93 a 1,07 nas amostras de água de coco e leite de coco, respectivamente. Pode-se constatar que as razões ficaram próximas à unidade indicando, portanto que as determinações de Pb e Cd nas amostras de leite de coco e água de coco podem ser realizadas com curvas analíticas de calibração preparadas em meio aquoso.

3.4.5 Precisão

A precisão do método analítico foi avaliada em termos de repetitividade expressa com o desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV) de cinco réplicas da amostra de água de coco industrializada A4A e do leite de coco LV1. Os

valores de médias, desvio padrão e coeficiente de variação são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Média, desvio padrão (SD) e coeficiente de variação para a determinação de cinco réplicas da amostra de água de coco industrializada (A4A) e leite de coco (LV1).

Água de coco ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Leite de Coco (ng g^{-1})		
Amostras	Cd	Pb	Amostras	Cd	Pb
1	0,882	22,28	1	2,98	7,90
2	0,932	24,09	2	2,83	7,65
3	0,923	23,34	3	2,73	7,33
4	0,918	24,38	4	2,99	7,17
5	0,882	25,71	5	2,89	7,32
Média	0,918	24,09	Média	2,89	7,33
SD	0,024	1,14	SD	0,10	0,29
CV(%)	2,6	4,7	CV(%)	3,4	3,9

Os valores de desvio padrão relativo (Tabela 17) ficaram na faixa entre 2,6 e 3,4 % para as determinações de Cd e entre 3,9 e 4,7% para as determinações de Pb, todos abaixo de 5%. Indicando, portanto, que os métodos possuem boa precisão.

3.4.6 Exatidão

Neste trabalho, a exatidão foi estimada através dos ensaios de adição e recuperação e utilizando o material de referência certificado.

3.4.6.1 Avaliação da exatidão através de teste de adição e recuperação

Nos testes de adição e recuperação do analito, foram utilizadas três concentrações diferentes de Cd e Pb (Tabela 18) foram adicionadas às amostras de água de coco e leite de coco.

Tabela 18. Percentagens de recuperação (%) para Cd e Pb nas amostras de água de coco e leite de coco industrializados. (média \pm sd, n=3)

Taxa de recuperação Cd (%)			Taxa de recuperação Pb (%)		
Conc ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Água de Coco	Leite de coco	Conc ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Água de Coco	Leite de coco
1	98,2 \pm 2,2	110,0 \pm 3,5	5	99,9 \pm 0,5	91,3 \pm 2,3
2,5	105,9 \pm 1,4	97,7 \pm 0,4	7,5	93,7 \pm 2,3	95,0 \pm 1,0
4	101,7 \pm 3,1	99,2 \pm 2,0	25	98,4 \pm 2,5	93,2 \pm 0,3

As percentagens de recuperação variaram entre 98,2 e 105,9 % para Cd e 93,7 a 99,9% para Pb na amostra de água de coco industrializada; e na amostra de leite de coco entre 97,7 e 110 % e entre 91,3 e 95,0 %, para Cd e Pb respectivamente. Esses valores de taxas de recuperação são consideráveis aceitáveis, uma vez que faixa recomendada pela AOAC (2002) é de 70-125% para concentrações a nível de $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.4.6.2 Avaliação da exatidão usando Material de Referência Certificado

Devido à falta de material de referência certificado (CRM) para a amostra de água de coco, a exatidão do método analítico proposto para diluição da amostra por HR-CS GF AAS foi verificada através da análise de CRM de águas residuais IRM BCR-713. As réplicas do material certificado foram tratadas da mesma forma que as amostras e os resultados dos valores encontrados estão dispostos na Tabela 19.

Tabela 19. Determinação de Cd e Pb no material de referência certificado IRMM BCR-713 águas residuais por HR-CS GFAAS. (média \pm IC, n=3).

Elementos	Valor certificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Valor obtido ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concordância (%)
Cd	5,1 \pm 0,6	5,5 \pm 0,7	108 \pm 14
Pb	47 \pm 4	48 \pm 5	102 \pm 11

A concordância entre o valor certificado e o valor obtido experimentalmente foi de 108 % para Cd e 102 % para Pb. Os resultados da Tabela 19 são expressos em intervalo de confiança, para $n = 3$. O teste estatístico t pareado, a um nível de 95 % de confiança, foi aplicado para comparação dos valores obtidos experimentalmente e os valores certificados. O teste estatístico revelou não haver diferenças significativas entres as duas médias.

3.5 Aplicação dos métodos nas amostras de água de coco natural e industrializada e para leite de coco

O método analítico proposto para análise direta por HC-RS GF AAS foi aplicado para a determinação de Pb e Cd em 14 amostras de água de coco natural e 16 amostras de água de coco industrializada, descritas no item 2.3, comercializadas em Salvador, BA

No Brasil, em agosto de 2013, a ANVISA por meio da Resolução RDC N° 42: “Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos” revogou os limites máximos permitidos de arsênio, cádmio, chumbo, estanho e mercúrio em alimentos que constavam na Portaria nº 685 de agosto de 1998. Nota-se que para alguns elementos, a exemplo do chumbo, houve uma redução no teor permitido de 0,05 para 0,02 mg Kg⁻¹ no teor tolerado para o leite. Há também a inserção de outros alimentos que não haviam sido citados em resoluções/ portarias anteriores como sorvetes, leite condensando, creme de leite, dentre outros. Dessa forma, devido a ausência de valores de referência para as matrizes estudadas, para título de avaliação dos resultados serão adotados como referência os valores máximos permitidos para as bebidas não alcoólicas, de 0,02 e 0,05 mg L⁻¹, respectivamente para Cd e Pb; e dos máximos permitidos para o creme de leite 0,02 mg L⁻¹ para Cd e 0,10 mg L⁻¹ para Pb (ANVISA, 2013).

Os valores de concentração médias e desvio padrão para Cd e Pb determinados nas amostras estão apresentados na Tabela 20.

As concentrações obtidas para as amostras de água de coco natural estão compreendidas nas seguintes faixas de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$): 0,422 -18,72 para Cd e 4,41 – 36,32 para Pb. Apenas na amostra AN5 a concentração de Pb esteve abaixo do limite de quantificação ($< 0,7 \mu\text{g L}^{-1}$).

As concentrações de Pb determinadas foram maiores do que as concentrações de Cd em todas as amostras, com destaque para a amostra AN2 com concentração de $18,72 \mu\text{g L}^{-1}$, valor próximo do limite máximo tolerado $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Apesar disso, os valores encontrados estão abaixo do máximo tolerado para os dois elementos de acordo com a Resolução nº 42 2013 da ANVISA.

A faixa de concentração média, em $\mu\text{g L}^{-1}$, obtidas para amostras de água de coco industrializadas foram: Cd (0,244 – 1,493) e Pb (6,57 – 29,02). Apenas as amostras A3A e A3B estavam com concentrações de Cd abaixo do limite de quantificação do método ($< 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$).

Todos os valores de concentrações encontrados para as amostras de água de coco industrializadas estão abaixo do máximo tolerado para os dois elementos investigados, de acordo com a Resolução nº 42 de 2013 da ANVISA.

Para avaliar se houve diferença significativa entre os valores de concentrações obtidos para os lotes A e B, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) fator único com 95% de confiança (desconsiderando os valores de concentração de Pb para as amostras 2A e 2B que possuem visualmente valores discrepantes entre si). O teste estatístico indicou que não há diferença significativa entre os teores encontrados de Cd e Pb nos dois lotes.

Foram adquiridas 16 amostras de leite de coco em supermercados na cidade de Salvador Bahia. As amostras foram submetidas ao procedimento de extração já descrito (item 2.4.2) e os analitos Cd e Pb determinados por HC-RS GF AAS. Os resultados encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20. Concentração de Cd e Pb nas amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco (média \pm desvio padrão, n=3)

Água de coco natural ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Água de coco Industrializada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Leite de Coco (ng g^{-1})		
Amostras	Cd	Pb	Amostras	Cd	Pb	Amostras	Cd	Pb
AN1	0,486 \pm 0,016	5,52 \pm 0,28	A1A	1,007 \pm 0,007	16,59 \pm 0,15	LV1	2,89 \pm 0,10	7,33 \pm 0,29
AN2	18,72 \pm 0,32	28,38 \pm 1,31	A1B	0,900 \pm 0,097	17,15 \pm 0,65	LV2	< 0,0984	3,00 \pm 0,16
AN3	0,343 \pm 0,011	25,53 \pm 0,19	A2A	0,871 \pm 0,044	20,79 \pm 1,10	LV3T	5,930 \pm 0,001	<0,854
AN4	0,271 \pm 0,017	32,26 \pm 0,64	A2B	0,561 \pm 0,014	8,91 \pm 0,12	LV3L	1,014 \pm 0,015	<0,854
AN5	0,422 \pm 0,012	< 0,666	A3A	< 0,055	8,88 \pm 0,07	LV3R	2,359 \pm 0,14	5,59 \pm 0,02
AN6	1,72 \pm 0,06	9,58 \pm 0,26	A3B	< 0,055	6,57 \pm 0,09	LV4L	0,333 \pm 0,03	4,14 \pm 0,09
AN7	0,748 \pm 0,050	2,54 \pm 0,02	A4A	0,918 \pm 0,024	24,09 \pm 1,14	LV4T	< 0,0984	<0,854
AN8	0,719 \pm 0,032	6,46 \pm 0,22	A4B	0,688 \pm 0,045	22,01 \pm 0,04	LV5T	2,086 \pm 0,16	<0,854
AN9	0,704 \pm 0,010	9,15 \pm 0,06	A5A	0,271 \pm 0,008	18,25 \pm 0,16	LV5R	0,827 \pm 0,070	16,48 \pm 0,17
AN10	2,28 \pm 0,006	6,72 \pm 0,19	A5B	1,493 \pm 0,030	20,02 \pm 0,46	LP6	< 0,0984	13,34 \pm 0,02
AN11	0,609 \pm 0,032	4,41 \pm 0,22	A6A	0,548 \pm 0,015	24,34 \pm 0,26	LP7	< 0,0984	15,27 \pm 0,47
AN12	13,33 \pm 0,49	36,35 \pm 0,16	A6B	0,712 \pm 0,016	23,45 \pm 0,97	LP8	0,784 \pm 0,073	5,40 \pm 0,41
AN13	3,52 \pm 0,44	22,26 \pm 0,63	A7A	0,707 \pm 0,011	21,78 \pm 0,71	LP9T	2,204 \pm 0,218	<0,854
AN14	0,722 \pm 0,006	24,36 \pm 0,05	A7B	0,584 \pm 0,013	23,37 \pm 0,29	LP9R	1,542 \pm 0,298	22,41 \pm 0,96
			A8A	0,346 \pm 0,012	27,42 \pm 0,16	LP10	< 0,0984	<0,854
			A8B	0,244 \pm 0,014	29,02 \pm 0,80	LV11	1,020 \pm 0,067	9,07 \pm 0,14

Os valores de concentração determinados nas amostras de leite de coco encontram-se na seguinte faixa, em ng g^{-1} : Cd (0,333 – 5,930) e Pb (3,00 – 22,41). As concentrações para cádmio nas amostras LV2, LV4T, LP6, LP7, LP10 estavam abaixo do limite de quantificação ($< 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$); da mesma forma que as concentrações para chumbo nas amostras LV3T, LV3L, LV4T, LV5T, LP9T ($< 0,8 \mu\text{g L}^{-1}$). Os valores de concentrações encontrados para as amostras leite de coco para ambos os elementos estão abaixo do máximo tolerado de acordo com a Resolução nº 42 de 2013 da ANVISA.

Santos (2012) investigou as concentrações de Pb e Cd em amostras de leite de coco por ICP OES após decomposição em forno de micro-ondas com cavidade. As concentrações de Cd nas amostras estavam abaixo do limite de quantificação do método proposto ($< 0,334 \mu\text{g g}^{-1}$). Enquanto que as concentrações de Pb estiveram na faixa entre 0,022 e $0,27 \mu\text{g g}^{-1}$. Os valores de concentração de Pb são superiores aos encontrados neste estudo.

Tavares (2010) estudou as concentrações de Pb e Cd em 12 amostras de água de coco industrializadas por L AAS após diluição com triton X-100 (10%). As concentrações de Cd em todas as amostras estavam abaixo do limite de quantificação do método ($< 1,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Com relação ao Pb apenas uma amostra apresentou contaminação ($4,91 \mu\text{g L}^{-1}$) e as demais estavam abaixo do limite de quantificação do método ($< 2,0 \mu\text{g L}^{-1}$). A concentração de Pb é inferior as concentrações encontradas neste estudo.

Embora as concentrações encontradas nesse trabalho estejam abaixo do recomenda a ANVISA, os níveis encontrados servem de alerta. Pois, tanto o Cd quanto o Pb são bioacumulativos e causam efeitos adversos à saúde.

A presença desses contaminantes na água de coco industrializada e no leite de coco pode ser atribuída ao uso de fertilizantes durante o cultivo da plantação de coqueiros que podem ser transferidos ao fruto. Segundo Jiao et al. (2012) os fertilizantes podem conter contaminantes provenientes das matérias-primas e reagentes intermediários utilizados na sua fabrica o. Algumas agências, como o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece limites máximos para contaminantes em fertilizantes. Através da Normativa n  27 de Junho

de 2006 do MAPA os limites máximos permitidos para Cd é 4 mg Kg^{-1} e Pb 20 mg Kg^{-1} (BRASIL, 2006). Cientes dessa possibilidade de contaminação do solo e conseqüentemente alimentos, Souza et al. (2014) e Molina et. al (2009) desenvolveram métodos para a determinação de contaminantes, dentre eles Cd e Pb, em fertilizantes por ICP OES.

Atualmente, existem poucos trabalhos publicados sobre esses produtos consumidos em território nacional, e maioria deles tem como foco macronutrientes e espécies orgânicas, o que justifica a importância da realização deste trabalho.

5. Considerações Finais

Neste trabalho foram desenvolvidas estratégias para métodos analíticos aplicados a determinação de Cd e Pb em amostras de água de coco natural e industrializada e leite de coco por HR-CS GF AAS, utilizando procedimentos de preparo baseados em diluição e extração assistida por ultrassom.

O efeito dos modificadores químicos Pd e Mg, individualmente e combinados para a determinação de Cd; e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e Pd + Mg para a determinação de Pb foram avaliados. Como resultado, foram selecionados Pd e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ como modificadores químicos para Cd e Pb respectivamente. Para a determinação de Pb foi necessário fazer correção das bandas de PO através da utilização do espectro de fósforo como espectro de referência.

Os métodos propostos foram validados e apresentaram uma boa precisão e exatidão, com limites de detecção e de quantificação adequados, não foram observados efeitos de matriz para as determinações de Cd e Pb.

As concentrações encontradas para Cd e Pb nas amostras analisadas estavam abaixo do máximo tolerado de acordo com a resolução n° 42 da ANVISA de 2013. Na literatura, existem poucos trabalhos que tratam da determinação de contaminantes nas matrizes estudadas, dessa forma este trabalho contribui para a obtenção de um perfil preliminar desses contaminantes. Além disso, propõe a utilização de procedimento de diluição com o mínimo de manipulação, diminuindo os riscos de contaminação e perda de analito, resultando em baixo consumo de reagentes corrosivos e menor geração de resíduos.

Referências

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. **Química Nova**, **23** vol.3, São Paulo, 2000.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals: AOAC, 2002. Disponível em: www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/Standards_Development/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf .Acessado em: 22 de fevereiro de 2016.

ARUMUNGHAN, C.; BALACHANDRAN, C.; SUNDARESAN, A. Development of a process for coconut cream on comercial scale. **Journal of Food Science and Technology**, v 30, p. 408-412, 1983.

BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução Com Fonte Contínua. **Revista Analytica**, n. 18, p. 58-67, 2005.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013 Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **ANVISA Publicações Eletrônicas**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8100bb8040eac2e8b590b79cca79f4cf/RDC+n%C2%BA+42_2013_final.pdf?MOD=AJPERES >. Acesso em: 24/01/2016

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005. O Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. **ANVISA Publicações Eletrônicas**. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC_269_2005.pdf?MOD=AJPERES > Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 83, de 15 de setembro de 2000. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Leite de Coco. **ANVISA Publicações Eletrônicas**. Disponível: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4594038047457e2889fedd3fbc4c6735/RDC_83_2000.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 39, de 28 de maio de 2002. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade da Água de Coco. **MAPA Publicações Eletrônicas**. Disponível: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/pontofocal/..%5Cpontofocal%5Ctextos%5Cregulamentos%5CBRA_320_ADD_1.htm >. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014.

BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27 de Junho de 2006. Dispõe sobre fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes, para serem produzidos, importados ou comercializados. **MAPA Publicações Eletrônicas**. Disponível:< <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16951>>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2014

BORSOI, M. A. **Nutrição e dietética: noções básicas**. 10 ed. São Paulo: SENAC, 2004.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia Humana e Geral**, 2. ed., Rio de Janeiro e São Paulo: Livraria Atheneu, 1988.

CARDOSO, L.M.N.; CHASIN, A.A.M. Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos. **Cadernos de Referencia Ambiental**, 006, CRA, 2001.

CARVALHO, L. R.; PINHEIRO, B. E. C.; PEREIRA, S. R.; BORGES, M. A. S.; MAGALHÃES, J. T. Bactérias resistentes a antimicrobianos em amostras de água de coco comercializada em Itabuna, Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.36, n.3, p.751-763, 2012.

CORREIA, P.R.M. **Determinação simultânea de manganês/selênio e cobre/zinco em soro sanguíneo por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

COSTA, J. M, C.; ALVES, M. C.S.; CLEMENTE, E.; FELIPE, E.M.F. Características físico-químicas e minerais de água de coco de frutos da variedade anã amarelo em diferentes períodos de maturação. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 173-177, 2006.

DAKUKAZU, C.S.; FRESCHI, G.P.G.; MORAES, M.; NÓBREGA, J.A.; NETO, J.A.G. Direct determination of arsenic in sugar by GFAAS with transversely heated graphite atomizer and longitudinal Zeeman effect background correction. **Atomic Spectroscopy**, v.2, n.2, p.271-275, 2001.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S.Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4,n.3, p.241-247, 2011.

DESSUY; M.B. U. **Investigação do comportamento de modificadores químicos para fósforo em forno de grafite usando espectrometria de absorção atômica de fonte de linha e fonte contínua de alta resolução**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande Sul, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

DESSUY; M.B.; VALE, M. G; LEPRI, F. G. ; WELZ, B.; HEITMANN, U Investigation of phosphorus atomization using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta. Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, p.429-434,2007.

FOALE, M., HARRIES, H. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Coconut (*Cocos nucifera*). In: ELEVITCH, C. R. (Ed.). **Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry**, Holualoa, Hawai'i: Permanent Agriculture Resources (PAR), 2009. Disponível em: <<http://agroforestry.net/scps>>. Acesso em: 31 de outubro de 2014

FOOD INGREDIENTES BRASIL. **Dossiê: os minerais na alimentação**, nº8, 2008. Disponível em: www.revista-fi.com.

FROEHLICH, A. Água de coco: aspectos nutricionais, microbiológicos e de conservação. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 1, p. 175-181, 2015.

FROES, R. E. S.; WINDMÖLLER, C.C.; SILVA, J.B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. **Revista Analytica**, nº23,p.32 - 43 2006.

HEITMANN, U.; SCHÜTZ, M.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S. Measurements on the Zeeman-splitting of analytical lines by means of a continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer with a linear charge coupled device array. **Spectrochimica Acta Part B**, v.51, p.1095-1105, 1996.

INMETRO. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008 Revisão 02 – JUNHO/2007.

JIAO, W.; CHEN, W.; CHANG, A.C.; PAGE, A.L.. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review, **Environmental Pollution**, v.168 p. 44–53, 2012.

HOENIG, M. Preparation steps in environmental trace element analysis – facts and traps, **Talanta**, v. 54, p. 1021- 1038, 2001.

KORN, M; ANDRADE, M. V. A. S; BORGES, S. S., Procedimentos analíticos assistidos por ultra-som. **Revista Analytica**, n. 3, p. 34-39, 2003.

KORN, M. G. A., BOA MORTE, E. S., SANTOS, D. C. M. B., CASTRO, J. T., BARBOSA, J.T. P., TEIXEIRA, A. P., FERNANDES, A. P., WELZ, B., SANTOS, W. P. C., SANTOS, E.B. G. N., KORN, M., Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods - A Review, **Applied Spectroscopy Reviews**. v.43, p.67 – 92, 2008.

KRUG, F. J. Métodos de Preparo de Amostras - **Fundamentos Sobre Preparo de Amostras Orgânicas e Inorgânicas para Análise Elementar**. 1ª edição. Piracicaba/SP: Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP (2010).

LEAL, F.; CATARINO, R.; PIMENTA, A.; SOUTO, R. Importância da especificação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana – desenvolvimento de metodologias voltamétricas com eletrodos de filme de bismuto. **Revista de Faculdade de Ciências e Saúde**, v. 6, p. 220- 230, 2009.

LEPRI, F. G. DESSUY; M.B.; VALE, M. G; BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Investigation of chemical modifiers for phosphorus in a graphite furnace using highresolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta. Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, p. 934 - 944, 2006.

MARTINES, M. A. U. ; DAVOLOS, M. R.; JAFELICCI, M. J. J. O efeito do ultrassom em reações químicas. **Química Nova**, vol.23, p. 251 – 256, 2000.

MARTINS, C. R.; JESUS, L. A. J. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional: Panorama 2010 – Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2011.

MARTINS, C. R.; JESUS, L. A. J. Produção e Comercialização de Coco no Brasil Frente ao Comércio Internacional: Panorama 2014: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2014.

MOLINA, M. ; ABURTO, F.; CADERÓN, R.; CAZANGA, M. ; ESCUDEY, M. Trace element composition of selected fertilizers used in Chile: phosphorus fertilizers as a source of longterm soil contamination. **Soil Sediment Contamination**, vol.18, p.497–51, 2009.

MOMEN, A. A., ZACHARIADIS, G. A., ANTHEMIDIS, A. N., STRATIS, J. A., Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 565 p. 81 – 88, 2006.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. A. Importância da análise de especiação do chumbo em plasma para a avaliação dos riscos à saúde. **Química Nova**, vol. 27, p. 251-260, 2004.

NÓBREGA, J. A.; JENNIFER RUST, J.; CALLOWAY, C. P.; JONES , B. T. Use of modifiers with metal atomizers in electrothermal atomic absorption spectrometry: a short review. **Spectrochimica Acta Part B**, vol. 59, p. 1337– 1345, 2004.

ORTNER, H.M.; BULSKA, E.; ROHR, U. , SCHLEMMER, G.; WEINBRUCH. S.; WELZ, B. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry—mechanisms of action (A tutorial review). **Spectrochimica Acta Part B**, vol. 57, p. 1835–1853, 2002.

PAES, L. C.. **Determinação de cobre, manganês e cádmio em mel por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

PAOLIELLO, M.M. B.; CHASIN, A.A.M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. **Cadernos de Referencia Ambiental**, v.03, CRA, 2001.

PENHA, E. M.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Água de coco. **Bebidas não alcóolicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, v. 2, 2010.

PINHEIRO, A. M.; MACHADO, P.H.; COSTA, J.M.C.; MAIA, G.A; FERNADES, A.G.; RODRIGUES, M. C. P.; HERNANDEZ, F.F.H. Caracterização química, físico-química, microbiológica e sensorial de diferentes marcas de água de coco obtidas pelo processo asséptico. **Revista Ciência Agronômica**, vol. 36, n. 2, p.209 – 214 2005.

PINHO. G. P. **Efeito de componentes da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. 2009. 226 f. Tese (Doutorado em Química) –Universidade Federal de Viçosa, 2009.

PINTO, F. G.; REY, U. V., L. ANSALONI, M. S. D.; ANDRADA, J. B. B. S.. Determinação de cádmio em amostras de urina e soro humano por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando irídio como modificador permanente. **Eclética Química**, vol. 30, p. 59-65, 2005.

PLUNKETT, E.R. **Handbook of Industrial Toxicology**. Chemical Publishing Company Incorporation, vol. 3, p.95, 1987.

ROSINI, F.; MATOS, W. O. ; SANTOS, M.C.; NÓBREGA, J. et al. Resolução CONAMA nº 357 e técnicas espectroanalíticas: meios adequados aos fins?. **Revista Analytica**, n. 22,p. 74 -85, 2006.

SAIKHWAN, S.; THONGCHAN, S.; JUMWAN, N. THUNGSIABYUAN, P.; SAKDANUPHAP, J.; BOONSOM, S.;KRAITONG, P.; DANWANICHAKUL, P. Cleaning studies of coconut milk foulants formed during heat treatment process. **Food and Bioproducts Processing**, p. 166-175, 2015.

SANTOS, D.C.M.B. **Estratégias para determinação espectrométrica de ozônio em águas e de elementos traço em leite de coco**. Tese (Doutorado em Química) –

Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

SANTOS, D. C. M. B.; CARVALHO, L. S. B.; LIMA, D. C.; LEAO, D. J. ; TEIXEIRA, L. S. G. ; KORN, M. G. A. . Determination of micronutrient minerals in coconut milk by ICP OES after ultrasound-assisted extraction procedure. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, p. 75-80, 2014.

SANTOS, G.L. **Determinação de Cádmio e Chumbo em Tecidos de Cetáceos por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite**. Dissertação (mestrado) Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

SANTOSO, U.; KUBO, K.; OTA, T., TADOKORO, T.; MAEKAVA, A. Nutrient composition of Kopyor coconuts. **Food Chemistry**, vol. 57, p. 299-304, 1996.

SARYAN, L. A.; ZENZ, C.; **Occupational Medicine**, 3rd ed., Mosby - Year Book: St. Louis, 1994.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. Ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2006.

DE SOUSA, R. A.; SILVA, J. C. J.; BACCAN, N.; CADORE, S. Determination of metals in bottled coconut water using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 18, p.399–408, 2005.

SOUZA, P. F. **Determinação de chumbo em açúcar por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite tratado com tungstênio e ródio**. Dissertação (mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2004.

TAVARES, A. D. **Determinação de Cádmio e Chumbo em Alimentos e Bebidas Industrializados por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica**. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós Graduação em química, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

TORMEN, L.; TORRES, D. P.; DITTERT, I.M. ; ARAÚJO, R. G.O. ; FRESCURA, V. L.A. ; CURTIUS, A.J. Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 95-102, 2011.

VALE, M.G.R.; OLESZCZUK, N.; SANTOS, W.N.L. Current status of direct solid sampling for electrothermal atomic absorption spectrometry—a critical review of the development between 1995 and 2005, **Applied Spectroscopy Reviews**, vol.41, p. 377– 400, 2006.

VASSILEVA, E., DOCEKALOVA, H., BAETEN, H., VANHENTENRIJK, S., HOENIG, M. Revisitation of mineralization modes for arsenic and selenium determinations in environmental samples, **Talanta**, vol.54 , p. 187 – 196, 2001.

VOLYNSKY, A. B., Chemical Modifiers in Modern Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, vol. 58, p. 905-921, 2003.

VOLYNSKY, A. B., Comparative efficacy of platinum group metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, vol. 59 p. 1799 – 1821, 2004.

VOLYNSKY, A. B.; WENNRIC, R. Mechanisms of the action of platinum metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry: aims and existing approaches. **Spectrochimica Acta Part B**, vol. 57, p. 1301–1316, 2002.

WAGNER, G. J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. **Advances in Agronomy**, vol.51, p.173-212, 1993.

WANDERLEY, M.; LOPES, G. M. Importância sócio-econômica da produção de coco seco no Brasil. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2010. 232 p. p. 37-60.

WELZ, B. **Atomic absorption spectroscopy**. Springer Verlag, 3rd editon, 1999.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-resolution continuum-source AAS - the better way to do atomic absorption spectrometry**. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U; VALE, M.G.R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry - What can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.14, p.220-229, 2003.