



**Universidade Federal de Alagoas (UFAL)**  
**Instituto de Química e Biotecnologia (IQB)**  
Campus A.C. Simões, Cidade Universitária, Av. Lourival Melo Mota,  
Tabuleiro dos Martins, Maceió, Alagoas, CEP: 57072-970

---



MARIA DE FÁTIMA CORREIA DA SILVA NETA

**DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS PARA  
AVALIAR A DISTRIBUIÇÃO DE FÓSFORO EM SUCO DE LARANJA  
INDUSTRIALIZADO**

Maceió - AL  
2018

MARIA DE FÁTIMA CORREIA DA SILVA NETA

**DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS PARA  
AVALIAR A DISTRIBUIÇÃO DE FÓSFORO EM SUCO DE LARANJA  
INDUSTRIALIZADO**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado ao Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciada em Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniela Santos Anunciação

Maceió - AL  
2018



Universidade Federal de Alagoas (UFAL)  
Instituto de Química e Biotecnologia (IQB)  
Av. Lourival de Melo Mota, s/n, Campus A.C. Simões,  
Maceió-AL, 57072-970, Brasil.  
www.iqb.ufal.br // Tel: (82) 3214-1384/1189



### ATA DE APRESENTAÇÃO E DEFESA DE TCC - IQB

1. Data da apresentação do TCC: 17.07.2018

2. Aluno / matrícula: MARIA DE FÁTIMA CORRÊA DA SILVA NETO

3. Orientador(es) / Unidade Acadêmica:  
DANIELA SANTOS ANUNCIÇÃO / INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

4. Banca Examinadora (nome / Unidade Acadêmica):

<u>DANIELA SANTOS ANUNCIÇÃO</u>	(Presidente)	Nota: <u>9,7</u>
<u>ARACELIS JOSE PAMPHELE ADRIAN</u>	(1º avaliador)	Nota: <u>9,7</u>
<u>ANDRÉ GUSTAVO TIBÉRIO MENDONÇA</u>	(2º avaliador)	Nota: <u>9,7</u>
	(3º avaliador)	Nota: _____

5. Título do Trabalho: DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO DE AMOSTRAS PARA AVALIAR A DISTRIBUIÇÃO DE FÓSFORO EM SUCO DE LARANJA INDUSTRIALIZADO

6. Local: SALA DA PÓS-GRADUAÇÃO DO IQB

7. Apresentação: Horário início: 10:06 Horário final: 10:32  
Arguição: Horário início: 10:33 Horário final: 11:40

8. Nota final:

9. Justificativa da nota. Em caso de APROVAÇÃO COM RESTRIÇÕES, indicar as principais alterações que devem ser efetuadas no trabalho para que o mesmo venha a ser aprovado.

Em sessão pública, após exposição do seu trabalho de TCC por cerca de 26 minutos, o candidato foi arguido oralmente pelos membros da banca por \_\_\_\_\_ minutos, tendo como resultado:

- APROVADO  
 APROVADO COM RESTRIÇÕES – mediante modificações no trabalho que foram sugeridas pela banca como condicional para aprovação.  
 NÃO APROVADO.



Universidade Federal de Alagoas (UFAL)  
Instituto de Química e Biotecnologia (IQB)  
Av. Lourival de Melo Mota, s/n, Campus A.C. Simões,  
Maceió-AL, 57072-970, Brasil.  
www.iqb.ufal.br // Tel: (82) 3214-1384/1189



Na forma regulamentar foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da banca, na ordem acima determinada, e pelo candidato:

Maceió, 17 de JULHO de 2018

Presidente: Denelle Santos Almeida

1º Avaliador: [Assinatura]

2º Avaliador: [Assinatura]

3º Avaliador: \_\_\_\_\_

Candidato: Alencar de Brito Lima Rorival da Silva Neto

.

*Dedico esse trabalho aos meus pais  
Maria Cícera e José Roosevelt, por  
todo amor e carinho. Vocês são meu  
porto seguro.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente sou grata a Deus, por me ajudar em cada conquista e por sempre me ajudar em todos os momentos. Como está escrito em 1 Samuel 7:12b “Até aqui nos ajudou o Senhor” e foi graças a Ele que eu cheguei onde estou.

Sou grata também a minha mãe Maria Cícera e ao meu pai José Roosevelt, muito obrigado por todo o amor, carinho e compreensão, por sempre acreditarem e investirem em mim, e por se esforçarem pra sempre me dar o melhor, EU AMO VOCÊS! Deus não poderia ter me dado uma família melhor. Também sou grata ao meu irmão Roosevelt (Netto) pelo apoio, pela ajuda com figuras, sempre que eu pedia você sempre reclamava, mas ía lá e fazia.., Ah e pelo amor, eu sei que você me ama, do seu jeito, mas ama e eu também.

Sou muito grata ao meu noivo Flaviano Santos, obrigada pelo amor, carinho, compreensão e paciência. Você sempre me apoia em tudo, seja o que for que eu diga você sempre está ao meu lado, me dizendo que vai dar certo. E quando eu estou aperreada, quase sempre, ou até mesmo triste, você sempre arruma um jeito de me acalmar e me fazer sorrir, e as vezes me faz chorar ainda mais, só que de felicidade. Enfim, obrigada por estar comigo em todos os momentos, além de noivo, você é um grande amigo. Te amo, meu amor!

Agradeço também aos meus avós Luiz Pedro e Deuza Maria e aos meus tios, tio Juvino, Eduardo (tio Du), tia Ana, Quitéria (tia Quita), Anália (tia Nega), Joseane (tia Jô), Lourenço e Maíra (tia Chique), muito obrigada por sempre ajudarem e apoiarem em tudo, vocês são incríveis eu amo vocês.

Sou grata a Daniela, minha orientadora e minha Prof (como eu carinhosamente chamo, em qualquer lugar), você foi para além do papel de orientadora, hoje posso dizer com todo carinho que és uma amiga e até mesmo uma mãe, minha mãe científica. Te admiro não só como profissional, mas como pessoa. Obrigada por me orientar na vida, sinto-me lisonjeada em ser sua primogênita e em fazer parte da família Anunciação. Também gostaria de agradecer a Dona Eurides e a Luciana, essas duas pessoas maravilhosas, que conheci através da prof, vocês são maravilhosas, obrigada pelo carinho, preocupação e por torcerem por mim.

Agradeço aos meus irmãos, que fazem parte da família Anunciação, Raphael, que foi o primeiro, foi muito bom te conhecer irmão, obrigada pela amizade, foram muitos momentos compartilhados, lembro das nossas orações antes das provas de orgânica, graças a Deus, conseguimos passar. Sou grata ao Emerson, que veio logo depois, mas que eu já conhecia da graduação, Emerson é uma pessoa única, dono de uma inteligência admirável, sua inteligência é diretamente proporcional à sua humildade, sempre disponível pra ajudar a todos, obrigada por me tirar todas as dúvidas, por me ajudar em tudo e pela amizade. Também sou grata a minha irmã Ary, uma pessoa admirável, que está sempre está disposta a ajudar a todos, obrigada pelo carinho, pelo apoio, atenção (sempre me perguntando como estou) e pela amizade, eu até já falei que gostei de você desde o dia que te conheci, na aposição da placa.

Quero agradecer aos professores Dimas, Josué, Francine, Ísis, André e Júlio, que contribuíram com a minha formação ao longo do curso. Vocês são excelentes professores, admiro muito vocês. Professor Dimas, muito obrigada pela indicação, foi por você ter me notado que cheguei até a prof.

Sou grata também aos meus grandes amigos que fiz no curso, Jorginho e Pato (os irmão Boy), com os quais construí laços fraternais, vocês são como irmão pra mim, vocês são os caras mais desenrolados que eu conheço, inteligentes, estudiosos, dedicados, atenciosos e resenheiros, é claro. Obrigada pelos momentos vividos na graduação e por me apoiarem nos momentos triste e por me proporcionarem muitos momentos engraçados tanto nas aulas, quanto quando estávamos estudando. Quero agradecer a Simone, pela amizade, conversas e apoio, sua amizade é muito importante, sou grata por tê-la conhecido. Também quero agradecer aos meus amigos que fiz ao longo da graduação, Wanderson, Ícaro Michel, Ikaro Yann, Jhosy, Jojo, Matheus, Sandro, Larissa, Ívis, Simone, Eric, Silas e Stella foram muitos momentos divertidos, como as idas ao RU, ou quando estávamos para as provas no CA, era muita resenha, são muitas as lembranças, que guardo com carinho.

Agradeço ao pessoal do LINQA, laboratório que tenho a honra de fazer parte, o LINQA é como uma família, onde todos trabalham juntos sempre se ajudando. Agradeço a Marina pela amizade, você foi primeira pessoa com quem conversei no lab e desde então, viramos amigas, muito obrigada pelo carinho, pela amizade, apoio, por me ajudar com as apresentações. Quero agradecer ao Wood, por sempre tirar minhas dúvidas e me ajudar com o fósforo, sempre me perguntando se eu já tinha riscado o fósforo, né Wood? Obrigada pela ajuda, apoio e amizades. Agradeço ao Jaelson (Jaerson), pelas resenhas, e por me ajudar com o meu trabalho, ajeitando os tubos e conexões das colunas, valeu Jaerson.

Agradeço também a Isabella e Carol, amigas que fiz no LINQA e que levo pra vida, Carol toda fofinha (palavra que ela usa muito) e Isabella dona de uma personalidade forte, sempre bem decida, mas ao mesmo tempo uma pessoa tão delicada e gentil, vocês são muito especiais, obrigada por me ajudarem e apoiarem sempre, principalmente no Enqa, Isabella me ajudando a montar a minha apresentação e Carol a ensaiar, me ouviu tanto que decorou minha fala, o Enqa nos aproximou ainda mais, e sou grata por isso, foram bons momentos compartilhados com vocês e com Amanda e Duda. Que eu também agradeço, Amanda e a Duda, vocês são pessoas incríveis, batalhadoras, inteligentes e dedicadas, obrigada pelo carinho, apoio e amizade.

Agradeço ao Guimarães, migo, muito obrigada pela amizade, pelas caronas, resenhas, ajuda com os trabalhos (de inglês), e principalmente por sempre me manter informada...Sou grata também a Day, que conheci melhor quando estagiei com ela, foi muito bom conhece-la, aprendi muito com você, uma professora muito dedicada, obrigada pela oportunidade e pelo carinho e amizade. Também quero agradecer a Jana, obrigada por me dar força e apoiar e pelo carinho. A Mayara, Karol, e Edu, pela amizade e carinho. Enfim, sou grata a todos que fazem e fizeram parte do LINQA (Elysson, Alef, Thamilla, Allyson e João), que tornaram cada dia de trabalho mais alegre e descontraído.

*Deleita-te também no Senhor, e Ele te concederá o que deseja o teu coração.*

*(Salmos 37:4)*



## RESUMO

A avaliação do fósforo em sucos de frutas é de grande interesse devido à sua essencialidade e propriedades nutricionais. Este trabalho aplicou diferentes estratégias de tratamento de amostras para determinação de frações de fósforo em suco de laranja industrializado. Inicialmente, o fósforo total ( $P_{\text{total}}$ ) foi determinado a partir da digestão e da suspensão da amostra, explorando a análise direta por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). O fósforo livre ( $P_{\text{livre}}$ ) foi determinado através do método espectrofotométrico do azul de molibdênio e o fracionamento do mesmo segundo o tamanho de partícula, foi feito através da análise das amostras filtradas com membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . O fracionamento do fósforo baseado em sua carga também foi realizado mediante uso de duas colunas, a primeira um cartucho Sep-pack  $C_{18}$  (neutra) e a segunda empacotada com resina de troca iônica Dowex 50WX8 (catiônica). A determinação de  $P_{\text{total}}$  mostrou que não houve diferença significativa entre os procedimentos, para um nível de 95% de confiança.  $P_{\text{livre}}$  representou 30-90% do  $P_{\text{total}}$  com uma relação inversa em relação à concentração de  $P_{\text{total}}$ . O fracionamento segundo o tamanho das partículas evidenciou a maior fração de  $P_{\text{livre}}$  nas amostras após a filtração e os altos percentuais de P na fração aniônica (de 91,2 a 95,9%) estão relacionados ao fosfato inorgânico livre em equilíbrio com suas formas protonadas. Desta forma, foi possível ratificar o potencial nutricional do suco de laranja no que tange ao teor de fósforo, uma vez que se apresenta na forma disponível deste elemento para o organismo.

**Palavras-chave:** fósforo, fracionamento, suco de laranja, espectrofotometria, ICP OES

## ABSTRACT

Assessment of phosphorus in fruit juices is of great interest due to its essentiality and nutritional properties. This study applied different sample treatment strategies to determine phosphorus fractions in industrialized orange juice. Firstly, total phosphorus ( $P_{\text{total}}$ ) was determined from digestion and sample suspension exploring direct analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). Free phosphorus ( $P_{\text{free}}$ ) was determined through molybdenum blue spectrophotometric method and fractioning of this according to particle size was performed by analysis of filtered samples with 0.45  $\mu\text{m}$  membrane. Phosphorus fractioning based on its charge was also performed by using two columns, the first a Sep-pack  $C_{18}$  cartridge (neutral) and the second packaged with ionic change resin Dowex 50WX8 (cationic). Determination of  $P_{\text{total}}$  showed that there was no significative difference between procedures, for 95% of confidence level.  $P_{\text{free}}$  represented 30-90% of  $P_{\text{total}}$  with an inverse relation with respect to  $P_{\text{total}}$  concentration. Fractioning according to particles size evidenced the main fraction of  $P_{\text{free}}$  in the samples after filtration and the high percentages of P in anionic fraction (from 91.2 to 95.9%) are related to free inorganic phosphate in equilibrium with its protonated forms. Thus, it was possible to assure nutritional potential of orange juice with respect of phosphorus content once it is in the available form of this element for the organism.

**Keywords:** phosphorus, fractioning, orange juice, spectrophotometry, ICP OES

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Gráfico do número de publicações indexadas na base de dados Web of Science para o período dos últimos 10 anos (2008-2018): (a) com base nos termos “phosphorus” AND “determination” AND “soil”; (b) “phosphorus” AND “determination” AND “food” 19
- Figura 2.** Esquema de procedimentos analíticos aplicados às amostras de suco de laranja para fracionamento de fósforo 23
- Figura 3.** Colunas utilizadas no processo de extração e seus respectivos efluentes (efluente I - fração neutra e efluente II - fração aniônica) 28
- Figura 4.** Representação do sistema de extração em fase sólida. 29
- Figura 5.** Correlação dos procedimentos de digestão e suspensão para determinação de  $P_{total}$  em amostras de suco de laranja por ICP OES 32
- Figura 6.** Espectro de varredura de diferentes padrões de fósforo 35
- Figura 7.** Curvas analíticas obtidas a partir dos volumes de padrão (a) 0,2 mL; (b) 0,5 mL; (c) 1 mL 36
- Figura 8.** Correlações das frações de fósforo em amostras de suco de laranja: (a) concentração de  $P_{total}$  e  $P_{livre}$ ; (b) Concentração de  $P_{total}$  e porcentagem de  $P_{livre}$  37
- Figura 9.** Correlações das frações de fósforo em amostras de suco de laranja: (a) Concentração de  $P_{livre}$  e  $P_{livre} < 0,45 \mu m$ ; (b) Concentração de  $P_{livre}$  e porcentagem de  $P_{livre} > 0,45 \mu m$  39
- Figura 10.** Distribuição das frações de fósforo presentes nas amostras de suco de laranja. 41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Condições experimentais do ICP OES utilizado nas análises de $P_{total}$	25
<b>Tabela 2.</b> Concentrações de $P_{total}$ (digestão e suspensão) nas amostras de suco	31
<b>Tabela 3.</b> Comparação das concentrações de fósforo obtidas em diferentes amostras de suco após análise por diferentes técnicas	34
<b>Tabela 4.</b> Concentrações de $P_{total}$ (suspensão) e $P_{livre}$ em suco de laranja	37
<b>Tabela 5.</b> Frações de $P_{livre}$ em amostras de suco de laranja de acordo com o tamanho de partícula	38
<b>Tabela 6.</b> Distribuição de fósforo em amostras de suco de laranja de acordo com a carga das frações	41

## LISTA DE SIGLAS

$P_{\text{total}}$  - Fósforo total

$P_{\text{livre}}$  - Fósforo livre

$P_{\text{livre} < 0,45 \mu\text{m}}$  - Fósforo livre com tamanho inferior a 0,45  $\mu\text{m}$

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

LOD - Limite de detecção (do inglês *Limit of Detection*)

LOQ - Limite de quantificação (do inglês *Limit of Quantification*)

ICP AES - Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente

## SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA</b>	15
<b>2.1 - Química dos alimentos</b>	15
<b>2.1.1 - Sucos</b>	16
<b>2.1.1.1 - Sucos cítricos</b>	16
<b>2.2 - Fósforo</b>	17
<b>2.3 - Técnicas analíticas para determinação de fósforo</b>	18
<b>3 - OBJETIVOS</b>	21
<b>3.1 - Geral</b>	21
<b>3.2 - Específicos</b>	21
<b>4 - EXPERIMENTAL</b>	22
<b>4.1 - Reagentes, soluções e amostras</b>	22
<b>4.2 - Equipamentos utilizados</b>	23
<b>4.3 - Procedimentos analíticos</b>	23
<b>4.4 - Determinação de fósforo total</b>	24
<b>4.5 - Otimização do método espectrofotométrico para determinação de fósforo livre</b>	25
<b>4.5.1 - Avaliação do comprimento de onda de máxima absorção</b>	26
<b>4.5.2 - Avaliação do volume de amostra</b>	27
<b>4.5.3 - Limites de detecção e quantificação</b>	27
<b>4.6 - Determinação de fósforo livre</b>	27
<b>4.7 - Distribuição das frações de fósforo</b>	27
<b>4.7.1 - Fracionamento de fósforo com base no tamanho de partícula</b>	27
<b>4.7.2 - Fracionamento de fósforo baseado em sua carga</b>	28
<b>4.7.2.1 - Escolha das colunas e montagem do sistema para procedimento de extração</b>	28
<b>4.7.2.2 - Avaliação do sistema de extração em fase sólida</b>	29
<b>4.7.2.3 - Determinação das frações de fósforo baseadas em sua carga</b>	29
<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	31
<b>5.1 - Determinação de fósforo total</b>	31
<b>5.2 - Otimização do método espectrofotométrico para determinação de fósforo livre</b>	35

<i>5.2.1 - Avaliação do comprimento de onda de máxima absorção</i>	35
<i>5.2.2 - Avaliação do volume de amostra</i>	35
<b>5.3 - Determinação de fósforo livre e comparação com as concentrações de <math>P_{total}</math></b>	37
<b>5.4 - Distribuição das frações de fósforo</b>	38
<i>5.4.1 - Fracionamento de fósforo com base no tamanho de partícula</i>	38
<i>5.4.2 - Fracionamento de fósforo baseado em sua carga</i>	39
<i>5.4.2.1 - Avaliação do sistema de extração em fase sólida</i>	39
<i>5.4.2.2 - Determinação das frações de fósforo baseadas em sua carga</i>	40
<b>6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	43
<b>7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	44
<b>APÊNDICE</b>	49
<b>ANEXOS</b>	52

## 1 - INTRODUÇÃO

Os alimentos têm sido objetos de diversos estudos devido à característica de essencialidade à vida (VALLS et al, 2010; SANCHO et al, 2010 e KÜSTERS et al, 2010). A avaliação nutricional de alimentos consumidos na dieta humana tem sido cada vez mais frequente de maneira que a determinação de nutrientes orgânicos e inorgânicos pode revelar o potencial nutricional de alimentos, bem como contribuir para a formulação de tabelas de composição alimentar utilizadas por médicos e nutricionistas (TACO, 2011).

Embora se saiba que a concentração de elementos pode afetar a qualidade de um alimento, a mobilidade e a disponibilidade nos diferentes componentes do ecossistema, a biodisponibilidade desses elementos presentes em alimentos está condicionada às formas químicas em que se apresentam (MOREDA-PIÑEIRO et al, 2011). Sendo assim, a demanda por estudos de especiação em amostras de alimentos tem-se elevado no intuito de proporcionar melhor entendimento desses sistemas químicos.

Os minerais, com destaque para os nutrientes essenciais, têm recebido atenção especial em estudos de avaliação nutricional devido ao uso crescente de técnicas analíticas que permitem o desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis, rápidos e precisos, atendendo às demandas de quantificação e especiação que dão suporte a essa área do conhecimento (CARDOSO et al, 2010 e ZACCONE et al, 2010).

Dentre os minerais presentes nos alimentos, destaca-se o fósforo por sua essencialidade a plantas e animais, uma vez que desempenha funções reguladoras no organismo de seres vivos em geral (COZZOLINO, 2009), participando de processos metabólicos e de absorção de nutrientes, estando assim associado a funções vitais como a fotossíntese e a distribuição de energia no organismo. Nas plantas, o P se apresenta na forma inorgânica, considerada forma livre por ser mais facilmente disponibilizada em solução; ou na forma orgânica, que está mais fortemente associada a macromoléculas, e em geral apresenta uma solubilidade bastante reduzida (FURTINI NETO et al, 1998).

Grande parte dos métodos analíticos aplicados à determinação do teor total de elementos em amostras complexas, como alimentos, requer uma etapa de tratamento da amostra a fim de disponibilizar estes elementos em uma forma adequada à medida



analítica. A escolha do procedimento de tratamento da amostra ocorre em função das características da técnica analítica a ser empregada, da matriz da amostra, dos analitos e da disponibilidade de materiais no laboratório sendo que, a maior parte das técnicas analíticas requer que as amostras estejam na forma de solução. Em geral, os procedimentos de tratamento variam de acordo com a temperatura, pressão, formas de aquecimento (fonte de energia), tipos e quantidades de reagentes, tempo de operação, tipos de analitos, dentre outros, sendo normalmente aplicados dissolução, extração, derivatização e decomposição (PRIEGO-CAPOTE e CASTRO, 2004).

A despeito de uma série de trabalhos envolvendo a especiação de elementos químicos em alimentos, ainda há poucos estudos dessa natureza (MENDONÇA FILHO et al, 2012) que contemplem nutrientes como o fósforo, tanto na forma livre como na forma orgânica (associado à fração fenólica, açúcares ou outras), em amostras de bebidas como sucos naturais e à base de soja. Como os sucos de fruta são amplamente consumidos em todo o mundo por diferentes faixas etárias e sua ingestão tem aumentado rapidamente nas últimas duas décadas, estudos envolvendo essa matriz apresentam preocupação e interesse para muitos pesquisadores, analistas de alimentos e nutricionistas, que querem determinar a sua qualidade nutricional e segurança (SZYMCZYCHA-MADEJA et al, 2014).

Ainda hoje se verifica uma carência de trabalhos envolvendo o fracionamento de fósforo em amostras de alimentos, onde os mesmos são restritos a matrizes geológicas, como por exemplo os trabalhos desenvolvidos por Katsaounosa et al, 2007 e Laakso, J. et al, 2016; onde é feita a especiação de fósforo em amostras de sedimento. Em se tratando de alimentos, tais estudos têm se restringido apenas à determinação do total de fósforo, ou apenas à sua forma livre (inorgânica) (ANDRÉS et al, 2015 e SCHRODER et al, 2005), não elucidando a que tipo de moléculas esse elemento está associado. Dessa forma, estudos como o apresentado neste trabalho se fazem necessários, para se avaliar melhor as formas nas quais este elemento se apresenta.

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 - Química dos alimentos

Os alimentos são matrizes complexas que fornecem componentes essenciais à vida humana, suas características nutricionais definem a qualidade de uma dieta. A saúde sofre influência direta dos componentes presentes nos alimentos, onde os mesmos podem ser componentes alimentares benéficos e não benéficos (DURAZZO et al, 2018).

Alimentos contêm nutrientes (como minerais, proteínas, vitaminas, carboidratos e gorduras), não nutrientes (substâncias sem função e valor nutricional, com ação bioativa ou com propriedades farmacológicas, como substâncias antioxidantes e fitoestrogênios) e antinutrientes (substâncias que interferem negativamente na absorção ou ação de nutrientes, por exemplo ácido fítico, ácido oxálico e avidina). Por fim, os alimentos podem conter ainda compostos indesejáveis oriundos de contaminação química ou biológica (DURAZZO et al, 2018). Informações a respeito das propriedades nutricionais, podem revelar potencial nutricional de um determinado alimento. Dessa maneira, é de suma importância conhecer a composição dos alimentos consumidos, pois, tais informações contribuem para a segurança alimentar e nutricional, controle da qualidade dos alimentos e para a educação nutricional (TACO, 2011). Como exposto por Waltner-Towes e Lang (2000) e adaptado por Durazzo et al (2018) “os alimentos são também as entidades que constituem os elos entre agricultura, alimentação, saúde, meio ambiente e sociedade”.

No Brasil, o projeto TACO (Tabela Brasileira de Composição de Alimentos), desenvolvido no intuito de gerar dados sobre a composição dos principais alimentos consumidos no país, vem contribuindo significativamente para a construção desse banco de dados que contempla 597 alimentos e estabelece valores de referência para uma série de nutrientes dos quais se destacam os macromelementos P, Ca, Na, Mg, K e os microelementos Mn, Fe, Cu e Zn (TACO, 2011).

Atualmente, há uma demanda crescente por alimentos saborosos, que sejam simultaneamente nutritivos, seguros e saudáveis e que ajudem na prevenção de doenças. Nesse sentido, os produtos à base de frutas estão implicitamente inseridos nesta concepção, a exemplo de diversos produtos aos quais tem sido agregadas frutas,

processadas ou não, a fim de aumentar seu valor nutricional e funcional, uma vez que as frutas são um tipo de alimento com versatilidade e potencial reconhecidos. No caso de sucos e bebidas em geral à base de frutas, o consumo elevado se deve ao fato dos consumidores possuírem uma imagem saudável das frutas, além da praticidade destas bebidas (OLIVEIRA et al, 2018).

### **2.1.1 - Sucos**

A ingestão de suco de frutas aumentou nos últimos anos (SZYMCZYCHA-MADEJA et al, 2014) e a ideia de consumir produtos das “frutas líquidas” tem atraído o interesse e atenção dos consumidores. Essa crescente demanda é atribuída à percepção de saúde, conveniência e praticidade (OLIVEIRA et al, 2018). Além disso, devido às propriedades benéficas dos sucos de frutas, seu consumo é recomendado.

O suco de frutas é um produto versátil, que pode ser facilmente consumido por diferentes faixas etárias para atender às suas necessidades nutricionais além de proporcionar degustação agradável em função à grande variedade de sabores, especialmente no Brasil. Os nutrientes estão envolvidos em diversos processos bioquímicos, a ingestão adequada de certos nutrientes está relacionada à prevenção de doenças por deficiência dos mesmos (HARMANKAYA et al, 2012). Dentre os sucos mais ingeridos, há destaque aos sucos cítricos.

#### **2.1.1.1 - Sucos cítricos**

As frutas cítricas são consideradas um dos importantes grupos de frutas sendo consumidas como frutas frescas ou como suco (NIKOLAOU et al, 2017). Essas bebidas têm sido muito apreciadas, pois fornecem uma ampla gama de nutrientes essenciais para a saúde humana, como vitaminas, folato, fibra dietética, e minerais, bem como muitos fitoquímicos, incluindo flavonóides, glucaratos, terpenos, ácidos fenólicos e carotenóides (STAHL et al. 2002; STAHL e SIES 2013). O consumo de suco cítrico tem sido relacionado à promoção da saúde como prevenção de doenças coronarianas e asma crônica e, não só por isso, mas também por outros aspectos benéficos, tem aumentado nos últimos anos em todo o mundo (GHAFAR et al. 2010 e SZYMCZYCHA-MADEJA et al. 2014).

Entre os sucos cítricos, a laranja merece atenção devido ao seu alto consumo em relação aos sucos de outras frutas cítricas. A produção de laranja é um dos setores mais

importantes do agronegócio brasileiro, que tem sido acima de 16 milhões de toneladas, correspondendo quase a 13% das culturas permanentes no Brasil nos últimos três anos. Cerca de 80% da produção brasileira é destinada à indústria de suco (SILVA et al, 2017; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2018; IBGE, 2018).

## 2.2 - Fósforo

Entre os elementos que têm significado nutricional e são essenciais para a saúde das pessoas, o fósforo é destacado, devido a sua essencialidade à vida (PANTANO et al, 2016). O fósforo pode se encontrar de duas formas orgânica e inorgânica. Na forma inorgânica é encontrado na natureza principalmente como fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) que se encontra em equilíbrio com suas formas hidrogenadas ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$ ). O fosfato covalentemente ligado a açúcares e proteínas, fosfato orgânico (Po), compõe 85% do fosfato corpóreo (COZZOLINO, 2009 e THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 1997).

O fósforo participa de diversas funções estruturais, juntamente com o cálcio em uma proporção apropriada são importantes para a deposição mineral nos ossos e dentes, na forma de hidroxiapatita (SHAPIRO e HEANEY, 2003). Também encontra-se presente nos fosfolipídios e fosfoproteínas e nas estruturas dos ácidos nucleicos DNA e RNA. Além dessas funções o fósforo, participa da ativação de enzimas, armazenamento de energia, na forma de ATP; e com um destaque especial para a participação no crescimento de tecidos (COZZOLINO, 2009 e THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 1997).

Em dietas mistas 55 a 70% do fósforo total ingerido é absorvido. Na maior parte dos alimentos o fósforo está relacionado a aspectos positivos, exceto quando encontra-se na forma de ácido fítico (em alimentos como cereais, sementes oleaginosas e legumes) quando o mesmo está associado a fatores antinutricionais, impedindo a absorção de alguns nutrientes (COZZOLINO, 2009; THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 1997; RAVINDRAN, 1994). Altos níveis desse mineral no organismo podem causar danos, como por exemplo hiperfosfatemia (RITZ, et al, 2012), que tem como sintomas: calcificação, principalmente nos rins; maior porosidade dos ossos e redução da absorção de cálcio. É importante ressaltar que, de acordo com o Comitê Permanente

do Instituto de Medicina (EUA) sobre a Avaliação Científica das Ingestões Dietéticas de Referência, a recomendação diária da ingestão de fósforo por um indivíduo adulto é de 700 mg/dia (THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 1997).

A presença de fósforo nos sucos e, conseqüentemente, em seus derivados, está relacionada a diferentes fontes. Entre fertilizantes do solo e foliares, o cultivo convencional de frutas faz uso de compostos de fósforo, como ácido fosfórico, fosfato diamônico e fosfato de potássio (BARBOUR et al, 2005). Os polímeros de fosfato são comumente usados pela indústria alimentícia como conservantes de carne ou aditivos em bebidas não alcoólicas aromatizadas (BELTRÁN-GONZÁLEZ, 2008).

O fósforo inorgânico é a forma mais disponível e (ST-JULES et al, 2016) por isso, o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de estimar a distribuição de fósforo em sucos de fruta é de grande interesse para promover estudos adicionais de biodisponibilidade desse mineral.

### **2.3 - Técnicas analíticas para determinação de fósforo**

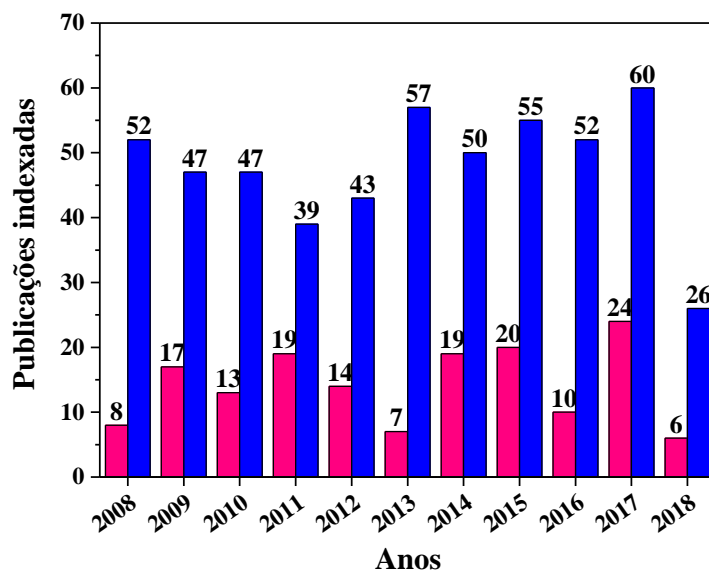
O teor de fósforo nos sucos de frutas é determinado em nível total ( $P_{total}$ ) principalmente por espectrometria atômica (SZYMCZYCHA-MADEJA e WELNA, 2013; AKPINAR-BAYIZIT, 2010 e HARMANKAYA et al, 2012). Para fósforo livre ( $P_{livre}$ ), também conhecido como fósforo inorgânico ou fosfato, é comum o uso de cromatografia iônica (EISELE e DRAKE, 2005) e espectrofotometria. Neste contexto, o método espectrofotométrico do azul de molibdênio é um dos mais antigos, bem estabelecido e amplamente empregado para determinação de  $P_{livre}$  em diferentes amostras (FISKE e SUBBAROW, 1925 e NAGUL et al, 2015). Entretanto, estudos sobre frações de P foram conduzidos quase que totalmente para matriz geológica conforme descrito a seguir.

Neste tipo de matriz, diversos autores (SCHMITT et al, 2013 e COSTA et al, 2016) utilizaram a técnica de fracionamento de P proposta por Hedley et al (1982), que utiliza extratores de menores a maiores forças de extração, que removem  $P_{livre}$  (inorgânico) e orgânico das formas mais disponíveis às mais estáveis. Com as modificações propostas por Condron et al (1985), os extratores utilizados no fracionamento foram, sequencialmente, resina de troca aniônica,  $NaHCO_3$  0,5 mol L<sup>-1</sup> a pH 8,5, NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e  $H_2SO_4 + H_2O_2 + MgCl_2$ . O fósforo orgânico é determinado

pela diferença entre  $P_{total}$  e o  $P_{livre}$  em cada extrator. Şahin e colaboradores (2012) determinaram quatro frações de P sedimentar, incluindo fração de fósforo orgânica ligada, fração de fósforo ligada ao cálcio, fração de fósforo ligada a Fe + Al e fósforo ligado a carbonato. Os resultados indicaram que a proporção da fração orgânica do fósforo foi estimada em 90,20%. Esses trabalhos, em geral, determinam fósforo orgânico e inorgânico em solos e amostras derivadas, mas o fracionamento baseado no tamanho de partícula e carga de fósforo em amostras de alimentos ainda não foi estudado.

Como pode ser observado nos gráficos da Figura 1, comparando as publicações que envolvem a determinação de fósforo, a grande maioria dos trabalhos é realizada em amostras de solo, sendo 528 artigos nos últimos 10 anos, enquanto que os trabalhos com alimentos são 157.

**Figura 1.** Gráfico do número de publicações indexadas na base de dados Web of Science para o período dos últimos 10 anos (2008-2018): Barras azuis para os termos “phosphorus” AND “determination” AND “soil”; e Barras em rosa para “phosphorus” AND “determination” AND “food”.



Fonte: *Web of Science*, 2018.

Em uma busca mais detalhada, pode-se observar ainda que a maioria dos trabalhos que determinam fósforo em alimentos, apenas o fazem para fósforo total ou inorgânico ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), não elucidando as formas nas quais esse elemento encontra-se distribuído. Estudos dessa natureza se fazem necessários, pois a depender da sua forma pode-se inferir com mais precisão acerca de sua disponibilidade.

### 3 - OBJETIVOS

#### 3.1 - Geral

Empregar diferentes estratégias de tratamento de amostras para avaliação da distribuição de fósforo em amostras de suco de laranja industrializado.

#### 3.2 - Específicos

- ✚ Comparar procedimentos de digestão ácida em bloco digestor e análise de suspensão para determinação de fósforo total ( $P_{total}$ ) por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES);
- ✚ Determinar fósforo inorgânico livre ( $P_{livre}$ ) nas amostras de suco, através do método espectrofotométrico do azul de molibdênio;
- ✚ Determinar as frações de fósforo em função do diâmetro de partícula à qual este elemento se encontra ligado, através do uso de filtro de 0,45  $\mu\text{m}$ ;
- ✚ Empregar estratégias analíticas baseadas em extração em fase sólida a fim de promover a separação das frações de fósforo nas amostras de suco analisadas;
- ✚ Avaliar a distribuição de fósforo nas amostras, em função do tamanho e carga das partículas (frações aniônica e neutra);
- ✚ Estimar a fração assimilável de fósforo, através da avaliação da relação de  $P_{total}$  e  $P_{livre}$  nas amostras.



## 4 - EXPERIMENTAL

### 4.1 - Reagentes, soluções e amostras

Os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico de pureza, não sendo necessária qualquer purificação adicional. As soluções foram preparadas com água ultrapura (condutividade elétrica  $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) e resistividade específica de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ , obtida a partir do purificador Milli-Q® (Millipore, Bedford, MA, USA). Diluições subsequentes das soluções foram efetuadas quando necessárias.

Para a digestão das amostras foram utilizados ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio 30% (v v<sup>-1</sup>) (ambos Merck). Para a determinação de fósforo total, a solução padrão de fósforo foi preparada a partir de uma solução padrão comercial de Titrisol  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (Merck).

Na determinação de fósforo livre, utilizou-se uma solução mista, preparada através da dissolução de  $0,6181 \text{ g}$  de molibdato de amônio (Merck) e  $0,2500 \text{ g}$  de ácido oxálico (Merck) em uma solução de  $100 \text{ mL}$  ácido nítrico  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ; solução de ácido ascórbico (Synth), preparada dissolvendo  $0,6000 \text{ g}$  do mesmo em  $50 \text{ mL}$  de água; e solução tartarato de óxido de antimônio (III) e potássio tri-hidratado (Sigma-Aldrich), para prepará-la dissolveu-se  $0,0704 \text{ g}$  do reagente em  $50 \text{ mL}$  de água; e uma solução estoque de fósforo  $100 \text{ mg L}^{-1}$  feita a partir da dissolução de  $0,0141 \text{ g}$  hidrogenofosfato de potássio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) (Vetec) em  $50 \text{ mL}$ .

Para realizar o fracionamento do fósforo nas amostras, preparou-se uma solução de ácido clorídrico ( $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ), adicionando  $4,260 \text{ mL}$  de ácido (Merck) a  $50 \text{ mL}$  de água; e uma solução de hidróxido de sódio ( $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ ), através da dissolução de  $2,0000 \text{ g}$  (Merck) em  $50 \text{ mL}$  de água.

As amostras de suco de laranja industrializado de 4 diferentes marcas foram escolhidas de forma aleatória, adquiridas na rede comercial da cidade de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil. Essas amostras foram submetidas a diferentes estratégias de tratamento de acordo com o objetivo da análise. Depois de suas embalagens, as amostras de suco foram armazenadas sob refrigeração por um período máximo de uma semana.

## 4.2 - Equipamentos utilizados

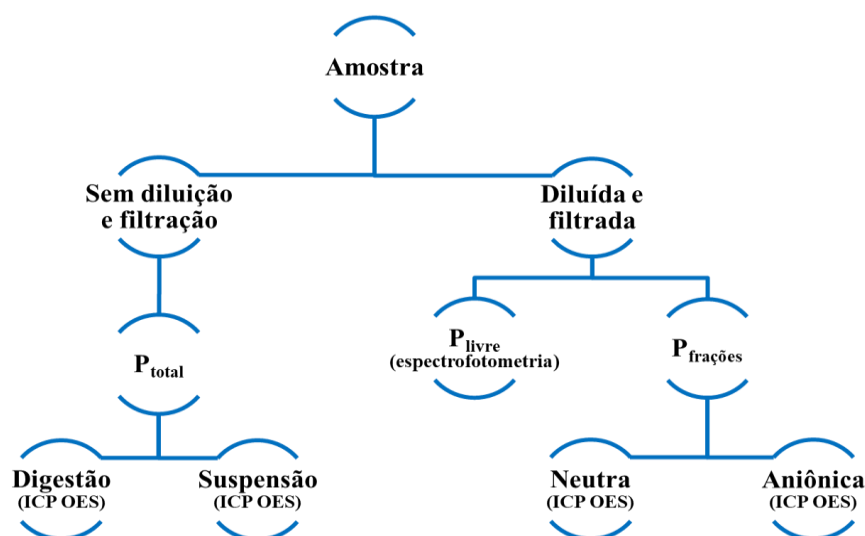
Utilizou-se um bloco digestor modelo MA850, Marconi (Piracicaba, SP, Brasil), para digestão de amostras de suco de laranja. As amostras de suco digerido e em suspensão foram analisadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) modelo 720 Series, Agilent Technologies (Santa Clara, CA, EUA). Para determinação de fósforo livre foi utilizado um espectrofotômetro modelo AJX-6100PC Duplo feixe, Micronal (São Paulo, SP, Brasil) e modelo 700 Plus, da marca Femto (São Paulo, SP, Brasil).

Para o fracionamento do fósforo, utilizou-se membrana de acetato de celulose (Merck KGaA, Darmstadt, HE, Germany) cartucho Sep-pack C<sub>18</sub> (Waters, Barueri, SP, Brasil), coluna fabricada em laboratório com resina catiônica Dowex 50WX8 (Merck KGaA, Darmstadt, HE, Germany), e bomba peristáltica modelo Reglo digital, Ismatec® (Wertheim, BW, Alemanha).

## 4.3 - Procedimentos analíticos

Os procedimentos analíticos para determinação das frações de fósforo em amostras de suco de laranja foram desenvolvidos sistematicamente, de acordo com o objetivo da análise, conforme apresentado na Figura 2.

**Figura 2.** Esquema de procedimentos analíticos aplicados às amostras de suco de laranja para fracionamento de fósforo.



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

#### 4.4 - Determinação de fósforo total

A determinação de  $P_{\text{total}}$  foi feita através da técnica de ICP OES (espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado), que baseia-se na detecção da radiação eletromagnética emitida por átomos neutros ou íons excitados nas regiões do espectro eletromagnético visível e ultravioleta. O princípio fundamental da técnica consiste na propriedade dos átomos emitirem radiação eletromagnética quando submetidos a determinadas condições. A ionização dos elementos a serem analisados é feita pelo plasma indutivo de argônio, os íons emitem luzes de diferentes extensões que são, em seguida, medidas. A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado é amplamente utilizada para análise elementar, principalmente por causa da sua característica multielementar, boa sensibilidade e ampla faixa linear da curva de calibração. É usada em uma variedade de matrizes, incluindo alimentos e bebidas, metais, produtos farmacêuticos, água e solo (SKOOG et al, 2006; KRUG et al, 2010).

Para as análises em ICP OES foram comparados dois procedimentos diferentes, digestão ácida em bloco e análise de suspensão. Primeiramente, amostras de suco foram digeridas em um bloco digestor com base na metodologia estabelecida por Anunciação e colaboradores (2011), onde 5 mL de cada amostra foram adicionados a um tubo de vidro e em seguida foram adicionados 10 mL de ácido nítrico concentrado ( $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ ) e 2 mL de peróxido de hidrogênio a 30% ( $v v^{-1}$ ). A temperatura do bloco foi ajustada para  $140^\circ \text{C}$  e as amostras foram digeridas durante 90 min. Posteriormente, as amostras digeridas foram transferidas para tubos de polietileno de 15 mL, o volume foi ajustado para 10 mL com água ultrapura. E por fim, as amostras foram analisadas por ICP OES. As amostras passam pelo processo de digestão ácida (ou abertura) para remover os compostos orgânicos presentes, ou seja, mineralizar as amostras.

Alternativamente, suspensões das mesmas amostras foram diretamente diluídas com  $\text{HNO}_3$   $2,9 \text{ mol L}^{-1}$  (1:1) para determinação de  $P_{\text{total}}$  por ICP OES de acordo com metodologia estabelecida por Froes et al (2009). A tabela 1 representa as condições experimentais de operação do espectrômetro de emissão utilizado nas análises.

**Tabela 1.** Condições experimentais do ICP OES utilizado nas análises de  $P_{total}$ .

Parâmetro	Valor/especificação
Potência	1300 W
Fluxo do plasma	15 L min <sup>-1</sup>
Fluxo do gás auxiliar	1,5 L min <sup>-1</sup>
Vazão do nebulizador	0,7 L min <sup>-1</sup>
Vazão da amostra	0,8 L min <sup>-1</sup>
Sistema de nebulização	V-groove com câmara de PTFE Sturman-masters
Linha espectral selecionada	214,618 nm

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Ambas as análises foram feitas em triplicata. As curvas analíticas para análise por ICP OES foram compostas por oito soluções padrão na faixa de 0 a 100 mg L<sup>-1</sup>. Estas soluções foram preparadas por diluição de uma solução padrão aquosa de fósforo (1000 mg L<sup>-1</sup>). Em tubos de polietileno de 15 mL, foi adicionada uma alíquota de solução estoque de fósforo de acordo com a concentração desejada do padrão, 2 mL de ácido nítrico concentrado e, em seguida, o volume foi ajustado para 10 mL com água ultrapura. As concentrações de P total foram determinadas através da equação da reta obtida pela curva de calibração.

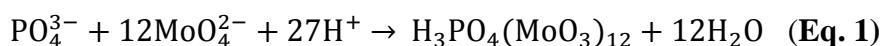
#### 4.5 - Otimização do método espectrofotométrico para determinação de fósforo livre

Para a determinação de  $P_{livre}$ , utilizou-se a espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis, que é um dos métodos analíticos mais empregados nos laboratórios de análises químicas não apenas pelo seu custo relativamente baixo, mas também pela facilidade de operação quando comparada a outras técnicas espectrométricas. As análises envolvendo esta técnica são também chamadas de colorimétricas uma vez que se baseiam na medida de absorvância ou transmitância de uma solução colorida contendo o analito de interesse. Como muitas vezes o analito presente na amostra não apresenta coloração na faixa do visível, é necessário fazer uso de reagentes para sejam formados produtos que possam ser quantificados, como complexos coloridos (SKOOG et al., 2006).

Nesse caso, o método utilizado foi o método espectrofotométrico do azul de molibdênio, porém antes das análises alguns parâmetros foram avaliados a fim de otimizar esse método. Os parâmetros avaliados foram o máximo comprimento de onda de absorção e volume de amostra a ser utilizada, conforme detalhamento a seguir. Após a otimização do método, foram determinados os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ).

#### 4.5.1 - Avaliação do comprimento de onda de máxima absorção

Para determinação de  $P_{\text{livre}}$ , foi utilizado o método espectrofotométrico do azul de molibdênio (FISKE e SUBBAROW, 1925 e NAGUL et al, 2015). Resumidamente, o método consiste na reação de uma solução mista composta por molibdato de amônio (5 mmol L<sup>-1</sup>), ácido oxálico (20 mmol L<sup>-1</sup>) e ácido nítrico (200 mmol L<sup>-1</sup>); amostra/padrão de fosfato; solução de ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) (68 mmol L<sup>-1</sup>) e tartarato de óxido de antimônio (III) e potássio tri-hidratado (2,1 mmol L<sup>-1</sup>) como catalisador. Nesta reação, íons fosfato e molibdato interagem em meio ácido formando o ácido molibdofosfórico que é reduzido do estado de oxidação 6+ ao 5+, formando um complexo de coloração azul, o azul de molibdênio, cuja a composição não é claramente elucidada pela literatura. É válido ressaltar que, a intensidade da coloração é proporcional à quantidade de fosfato presente na solução analisada. A reação pode ser melhor observada de acordo com a representação descrita nas equações 1 e 2.



Para avaliar o comprimento de onda de máxima absorção foram preparados padrões de fósforo em diferentes concentrações e a partir dos mesmos uma curva analítica com base nos espectros de varredura. A curva analítica foi preparada da seguinte maneira: soluções padrão nas seguintes concentrações 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,5; e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de fósforo foram preparadas, a partir de uma solução padrão de hidrogenofosfato de potássio (100 mg L<sup>-1</sup>). Em seguida, foram reservados sete tubos de polietileno (15 mL), sendo seis deles para os padrões citados acima e um deles para o branco analítico. Em cada tubo foram adicionados 1,5 mL de solução mista; 0,2 mL do padrão de fósforo; 1,8 mL de água ultrapura; 1 mL da solução de ácido ascórbico e 0,5 mL da solução tartarato de óxido de antimônio (III) e potássio tri-hidratado. Após

adição de reagentes e padrão, esperou-se aproximadamente 15 minutos, para que a reação ocorresse formando o azul de molibdênio e então fez-se os espectros de varredura dos padrões no espectrofotômetro.

#### **4.5.2 - Avaliação do volume de amostra**

Testes foram feitos para verificar o volume de amostra a ser empregado, visando uma melhor sensibilidade para o método. Seguindo os procedimentos acima citados, curvas analíticas foram preparadas alterando apenas as quantidades de padrão em 0,2 mL; 0,5 mL e 1 mL. Completados com água de forma que o volume final fosse 5 mL. As análises foram realizadas no espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 749 nm, com base no resultado da avaliação anterior.

#### **4.5.3 - Limites de detecção e quantificação**

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estabelecidos a partir da análise de dez soluções do branco e os cálculos foram realizados com base nos dados da curva de calibração. O LOD foi definido como  $3s_d/a$ , onde  $s_d$  é o desvio padrão do sinal analítico da solução em branco e  $a$  é a inclinação da curva de calibração (coeficiente angular). Para LOQ, a expressão matemática é definida como  $10s_b/a$ .

### **4.6 - Determinação de fósforo livre**

Após a otimização, o método foi aplicado às amostras de suco laranja industrializado. As amostras foram diluídas 125 vezes e submetidas ao método espectrofotométrico do azul de molibdênio, com medidas realizadas em 749 nm. É importante destacar que todas foram preparadas em triplicata. Os padrões que constituíram a curva compreenderam a faixa de 0,0 a 1,0 mg L<sup>-1</sup>. Após as medidas, as quantidades de fósforo livre foram determinadas com base na equação da reta obtida através da curva de calibração.

### **4.7 - Distribuição das frações de fósforo**

#### **4.7.1 - Fracionamento de fósforo com base no tamanho de partícula**

Para o fracionamento de P<sub>livre</sub> em função do tamanho das partículas, as amostras foram diluídas 125 vezes com água ultrapura e uma alíquota de 5 mL de cada amostra

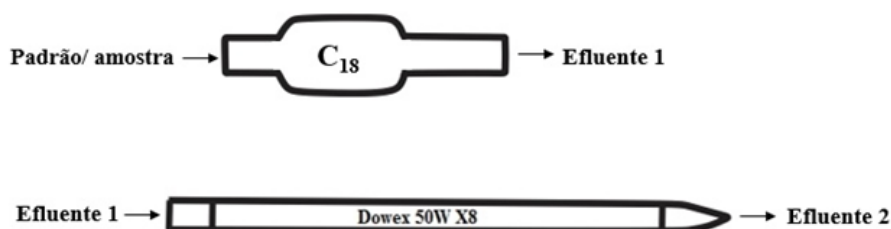
foi filtrada, mediante o uso de membranas de acetato de celulose com porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ . Após as filtrações as amostras foram analisadas através do método espectrofotométrico do azul de molibdênio.

#### 4.7.2 - *Fracionamento de fósforo baseado em sua carga*

##### 4.7.2.1 - *Escolha das colunas e montagem do sistema para procedimento de extração*

A distribuição de frações do fósforo também foi avaliada com base na carga da fração global. Para isso, as frações neutra e catiônica das amostras de suco foram separadas por um sistema de extração em fase sólida, contendo duas colunas. A primeira coluna, comercial, era um cartucho Sep-pack  $\text{C}_{18}$  de 360 mg (coluna I), para retenção de espécies não polares (fração neutra) (Figura 3). A segunda, empacotada com resina de troca iônica Dowex 50W X8 (coluna II), foi construída em laboratório com diâmetro de 4 mm e comprimento de 7,5 cm, para reter a fração catiônica que continha fósforo (Figura 3).

**Figura 3.** Colunas utilizadas no processo de extração e seus respectivos efluentes (efluente I - fração neutra e efluente II - fração aniônica).



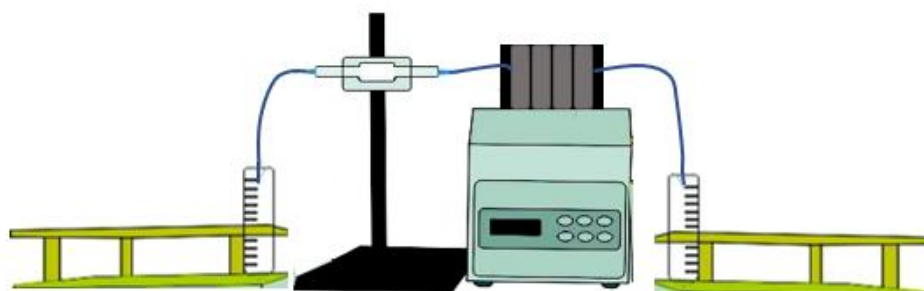
Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

A resina da coluna II foi condicionada com base no procedimento estabelecido por Pohl e Prusisz (2007), onde pesou-se 1g de resina Dowex 50W X8, adicionou-se 20 mL de água ultrapura e colocou-se para agitar durante 40 minutos. Após a agitação, o excesso de água foi retirado e foram adicionados 10 mL de  $\text{HCl}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ , em seguida a coluna foi lavada com 20 mL de água e 10 mL de  $\text{NaOH}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ , o excesso de  $\text{NaOH}$  foi removido e a resina foi lavada mais uma vez com água.

#### 4.7.2.2 - Avaliação do sistema de extração em fase sólida

Inicialmente o sistema foi avaliado através de testes realizados com uma solução padrão de fósforo ( $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), que foi bombeada através das colunas I e II, sequencialmente. Parte do efluente da coluna I foi coletado (efluente I) para posterior análise e o restante do volume da amostra foi bombeado através da coluna II para gerar o efluente II, Figura 4.

**Figura 4.** Representação do sistema de extração em fase sólida.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Foram feitos brancos das colunas no início e no término das análises, para comprovar a ausência de fósforo e a eficiência do sistema de extração. Posteriormente, os efluentes (I e II) foram submetidos ao método espectrofotométrico do azul de molibdênio, cujas análises foram realizadas no espectrofotômetro, num comprimento de onda 749 nm.

#### 4.7.2.3 - Determinação das frações de fósforo baseadas em sua carga

As amostras de suco de laranja industrializado, foram diluídas 125 vezes, filtradas com membranas de  $0,45 \mu\text{m}$  e, então, bombeadas através das colunas I e II, a fluxo constante de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Parte do efluente da coluna I (efluente I) foi recolhido para posterior análise, sendo o volume restante bombeado através da coluna II, gerando então o efluente II. Em seguida, determinou-se o teor de  $P_{\text{total}}$  nos efluentes I e II por ICP OES, tomando-se como referência (100%) as concentrações de P antes da filtração para avaliação do elemento retido na fase sólida. Sendo as concentrações de P após a filtração, os valores de referência (100%) para avaliação das frações apolar e aniônica,



após percolação pelas colunas. O cálculo da fração catiônica foi feito por diferença, a partir da diferença da concentração de  $P_{total}$ .

Branco das colunas foram feitos antes e após cada análise para garantir ausência de fósforo, ou seja, que não haveria efeito de memória, no sistema de extração. Vale salientar que, todas as análises foram realizadas em triplicata e as concentrações de fósforo foram determinadas com base nas equações das curvas de calibração construídas a partir de soluções padrão aquosas deste analito.

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 - Determinação de fósforo total

Os resultados das médias de concentração de  $P_{total}$  presente nas amostras e respectivos intervalos de confiança obtidos estão dispostos na Tabela 2. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de fósforo para as análises feitas no ICP OES foram de 8,70 e 28,6  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

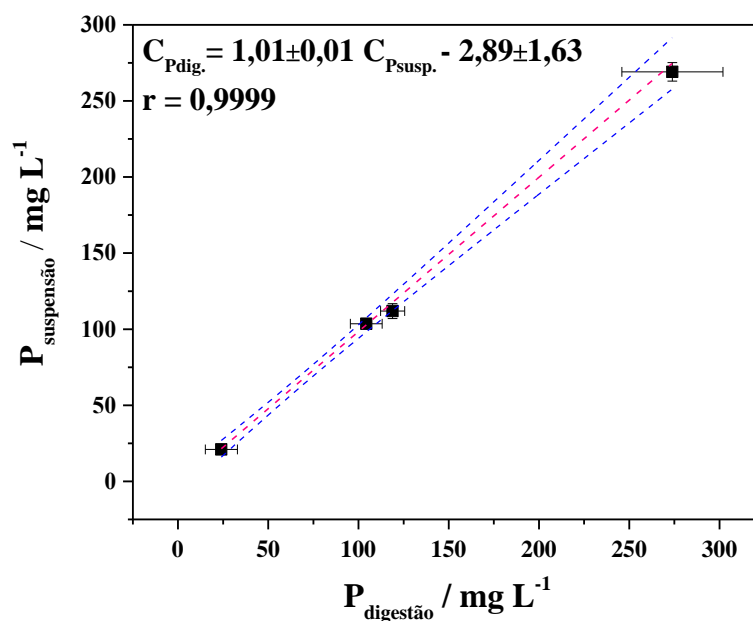
**Tabela 2.** Concentrações de  $P_{total}$  (digestão e suspensão) nas amostras de suco.

Amostras	Concentração de P ( $\text{mg L}^{-1}$ )	
	$P_{total}$	
	Digestão	Suspensão
S1	104 ± 9	104 ± 1
S2	119 ± 7	112 ± 5
S3	24,0 ± 8,9	21,0 ± 1,1
S4	274 ± 28	269 ± 6

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Ao avaliar a correlação entre as concentrações de  $P_{total}$  na suspensão ( $C_{P-susp}$ ) e na amostra digerida ( $C_{P-dig}$ ) através da equação  $C_{P-dig} = (1,01 \pm 0,01) C_{P-susp} - (2,89 \pm 1,63)$ , evidenciou-se a semelhança entre esses dois procedimentos pela inclinação obtida ( $a = 1,01$ ) e coeficiente de correlação de Pearson ( $r = 0,9999$ ) (Figura 5). Os valores de cada tratamento das amostras foram comparados estatisticamente, através do Teste t para comparação de duas médias emparelhadas e não revelaram diferença significativa ao nível de confiança de 95%, uma vez que o valor t experimental ( $t_{exp} = 2,51$ ) foi inferior ao valor crítico ( $t_{crítico} = 3,18$ ).

**Figura 5.** Correlação dos procedimentos de digestão e suspensão para determinação de  $P_{total}$  em amostras de suco de laranja por ICP OES.



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Essa semelhança entre os dois procedimentos está de acordo com resultados anteriores de outros autores (SZYMCZYCHA-MADEJA e WELNA, 2013 e AKPINAR-BAYIZIT, 2010). Por exemplo, Akpinar-Bayizit (2010) verificou que a análise direta de suspensões de suco de romã para várias espécies minerais, incluindo fósforo, foi consistente com os resultados fornecidos por outros trabalhos (AL-MAIMAN e AHMAD, 2002; ORAK, 2009; EKŞI e ÖZHAMAMCI, 2009). De forma semelhante, Szymczycha-Madeja e Welna (2013) compararam diferentes tratamentos de amostras para determinação da composição mineral dos sucos de frutas por ICP OES, e demonstraram que não houve diferenças significativas ao nível de confiança de 95% entre os resultados obtidos pela análise da suspensão em relação à digestão da amostra.

Com base nesses resultados, o procedimento de suspensão foi considerado mais adequado para análise posterior, pois é mais representativo em relação às condições originais da amostra e também possui diversas outras vantagens, incluindo menor consumo de reagentes, menor geração de resíduos, menor manipulação da amostra e aumento da frequência analítica. Além disso, o procedimento de digestão apresentou menor reprodutibilidade, como evidenciado em todas as amostras, em comparação com os intervalos de confiança dos dados de suspensão, especialmente na amostra S3.

As concentrações de  $P_{total}$  nas amostras de suco de laranja analisadas no presente trabalho foram comparáveis às encontradas por outros autores em diferentes amostras de suco de frutas (Tabela 3). De acordo com essa comparação, confirma-se que as concentrações de  $P_{total}$  nas demais amostras de suco de frutas variaram de 6,6 a 190 mg  $L^{-1}$  e, no caso do suco de laranja, esta faixa ficou entre 0,2 e 269 mg  $L^{-1}$ . Estas diferenças em relação ao suco de laranja se pautam no fato de que os níveis de fósforo dos sucos de frutas dependem da natureza da fruta, da composição mineral do solo de onde é originada, da composição da água de irrigação, das condições climáticas e das práticas agrícolas, como tipos e quantidades de fertilizantes usados, entre outros fatores (DEHELEAN e MAGDAS, 2013).

Quanto à composição química dos sucos de laranja, foram encontradas diferenças significativas comparando os rótulos das diferentes marcas analisadas. A concentração de proteínas, carboidratos e vitaminas contendo fósforo foram diferentes de uma amostra para outra, o que está de acordo com a ampla faixa de concentração de  $P_{total}$  encontrada no presente trabalho (Tabela 2). Por exemplo, alguns dos sucos analisados foram enriquecidos com vitaminas cuja composição contém fósforo, como a fosfato de riboflavina, que é um aditivo usado na coloração de alimentos, e a piridoxina, que também contém fósforo na forma orgânica em sua estrutura (LOZANO, 2006).

Também deve ser considerada a adição de diferentes quantidades de polifosfatos ao suco de laranja comercial, que é usado para estabilizar a vitamina C; assim como a presença de íons como Zn(II) e Ca(II), que podem precipitar como seus respectivos fosfatos. Todas essas características podem contribuir para diferenças na concentração de  $P_{total}$ , o que dificulta prever ou estabelecer a faixa de concentração exata desse elemento em sucos de laranja industrializados.

**Tabela 3.** Comparação das concentrações de fósforo obtidas em diferentes amostras de suco após análise por diferentes técnicas.

Amostras	P frações	Faixa de concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Técnica analítica	Referência
Suco de laranja	P <sub>total</sub>	170,0 - 190,0	Espectrofotometria	Chaney e Blunt (1925)
Suco de maçã		46,4 - 80,6	ICP OES	Barnes (1997)
Suco de laranja		152,8 - 220,0		
Derivados de limão		6,6 - 69,3		
Suco de laranja		158,0	ICP AES	Simpkins et al (2000)
Suco de laranja Brasileiro		119,0 - 190,0		
Suco de laranja		197,0 - 209,1	ICP OES	Schroder et al (2005)
Suco de maçã		75,0	ICP OES	Szymczycha-Madeja e Welna (2013)
Suco de uva		136,0		
Suco de laranja		235,0		
Suco de abacaxi	71,0			
Suco de laranja	0,2 - 94,5	ICP OES	Savić et al (2015)	
Suco de laranja com leite	P <sub>livre</sub>	52,1 - 168,1	Cromatografia Iônica	Andrés et al (2015)
Abacaxi, maçã e suco de uva com leite		51,8 - 90,8		
Suco de frutas com soja		145,4 - 428,3		
Suco de laranja	P <sub>livre</sub>	19,0 - 81,0	Espectrofotometria	Presente trabalho
	P <sub>total</sub>	21,0 - 269,0	ICP OES	
	Fração Aniônica	15,5 - 67,8		
	Fração Catiônica	< LOD - 2,1		
	Fração Neutra	< LOD - 1,5		

LOD: limite de detecção; ICP OES: Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado; ICP AES: Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente.

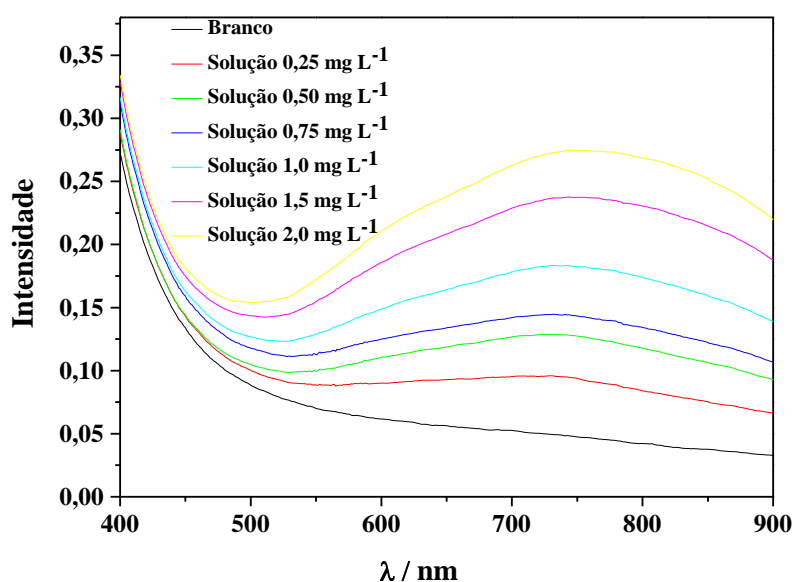
Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

## 5.2 - Otimização do método espectrofotométrico para determinação de fósforo livre

### 5.2.1 - Avaliação do comprimento de onda de máxima absorção

De posse dos dados dos espectros de varredura, verificou-se que o comprimento de onda de maior absorção foi 749 nm (Figura 6). Dessa forma, esse foi o comprimento de onda selecionado para as demais análises.

**Figura 6.** Espectro de varredura de diferentes padrões de fósforo.

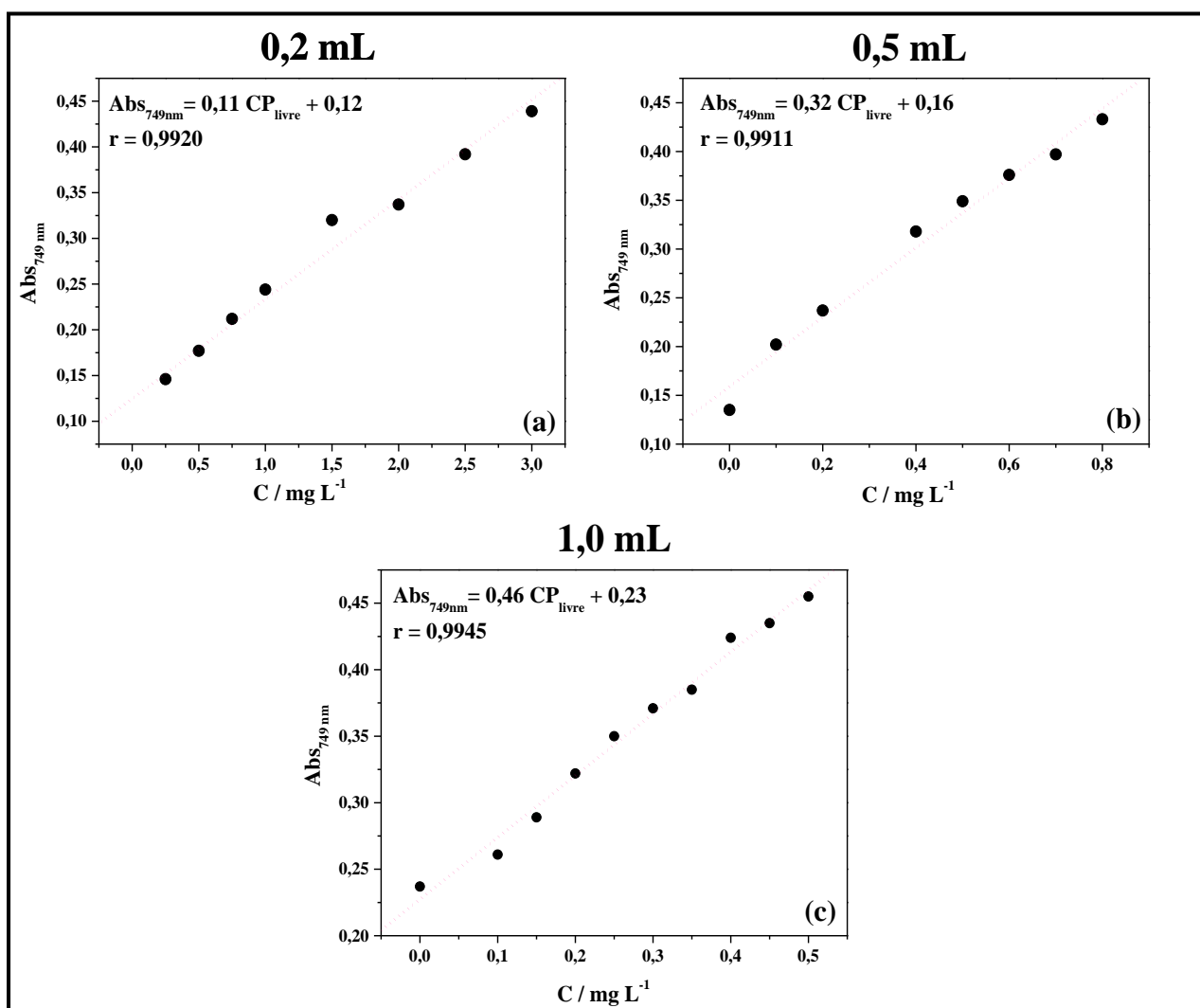


Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

### 5.2.2 - Avaliação do volume de amostra

De acordo com os gráficos da figura 7, pode-se observar que o maior volume de padrão, está associado à maior sensibilidade do sinal analítico, de modo que conforme aumentou-se o volume de padrão a sensibilidade aumentou.

**Figura 7.** Curvas analíticas obtidas a partir dos volumes de padrão (a) 0,2 mL; (b) 0,5 mL; (c) 1 mL.



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Devido à maior sensibilidade, optou-se por utilizar o volume de 1,0 mL de padrão/amostras para as análises posteriores, cuja sensibilidade foi de 0,46, como pode ser observado na equação da reta da curva de calibração 7c. Vale salientar que, a faixa de concentração da curva analítica foi alterada, pois embora o maior de volume de amostra esteja pautado na maior sensibilidade, houve uma extrapolação na faixa de resposta do equipamento, fazendo com que a faixa de concentração diminuísse.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) obtidos para o método espectrofotométrico do azul de molibdênio foram de 0,028 e 0,094  $mg L^{-1}$ , respectivamente.

### 5.3 - Determinação de fósforo livre e comparação com as concentrações de $P_{total}$

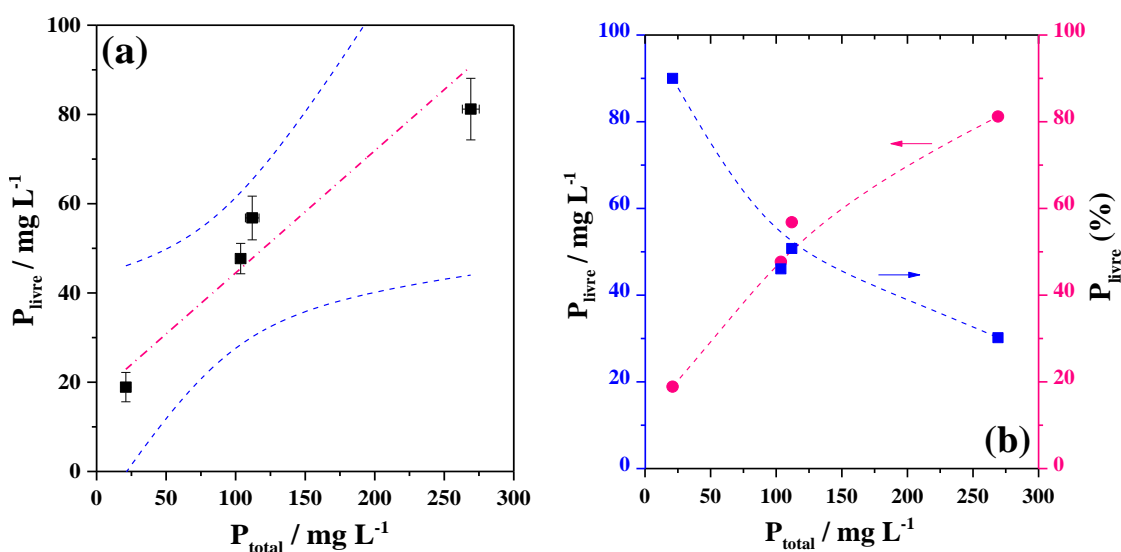
Os resultados das concentrações de  $P_{livre}$  nas amostras de suco de laranja são apresentados na Tabela 4. De acordo com estes resultados,  $P_{livre}$  representou um intervalo de 30 a 90% do teor de  $P_{total}$  nos sucos analisados, com uma relação diretamente proporcional em termos de concentração, como mostrado na Figura. 8a. No entanto, a Figura 8b evidenciou uma relação inversa e exponencial entre concentração e porcentagem de  $P_{livre}$ .

**Tabela 4.** Concentrações de  $P_{total}$  (suspensão) e  $P_{livre}$  em suco de laranja.

Amostras	Concentrações de P ( $mg L^{-1}$ )		(% de $P_{livre}$ )
	$P_{livre}$	$P_{total}$	
	ICP OES	Espectrofotometria	
S1	$104 \pm 1$	$47,7 \pm 3,4$	45,86
S2	$112 \pm 5$	$56,8 \pm 4,9$	50,71
S3	$21,0 \pm 1,1$	$18,9 \pm 3,3$	90,00
S4	$269 \pm 6$	$81,2 \pm 6,9$	30,18

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

**Figura 8.** Correlações das frações de fósforo em amostras de suco de laranja: (a) concentração de  $P_{total}$  e  $P_{livre}$ ; (b) Concentração de  $P_{total}$  e porcentagem de  $P_{livre}$ .



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.



Provavelmente esse comportamento onde o menor percentual de  $P_{livre}$  foi determinado para a maior concentração de  $P_{total}$ , se deve à formação de precipitados com baixa solubilidade, como fosfato de zinco e cálcio, uma vez que esses íons estão presentes em alguns sucos comerciais de laranja. Além disso, a agregação de  $P_{livre}$  a partículas em suspensão, proteínas, carboidratos e vitaminas presentes nos sucos pode ocorrer, alterando assim a relação do teor de  $P_{livre}$  e  $P_{total}$ .

## 5.4 - Distribuição das frações de fósforo

### 5.4.1 - Fracionamento de fósforo com base no tamanho de partícula

O fracionamento de fósforo de acordo com o tamanho das partículas foi determinado com base no teor de  $P_{livre}$  obtido pelo método do azul de molibdênio. Como era de se esperar, as amostras de suco sem filtração, em geral apresentaram maior teor de  $P_{livre}$  quando comparadas às amostras filtradas. Os resultados obtidos (Tabela 5) evidenciam que uma faixa de 71 a 93% de  $P_{livre}$  presente em suco de laranja está associado a partículas com diâmetro inferior a  $0,45 \mu\text{m}$ .

Assim, a fração de  $P_{livre}$  com diâmetro acima deste tamanho variou de 7 a 29% de acordo com a marca e a composição do suco, uma vez que marcas diferentes fazem uso de diferentes tipos de aditivos e alguns desses compostos têm fósforo em sua composição ou podem reagir com  $P_{livre}$  para que alguns agregados possam ser formados.

**Tabela 5.** Frações de  $P_{livre}$  em amostras de suco de laranja de acordo com o tamanho de partícula.

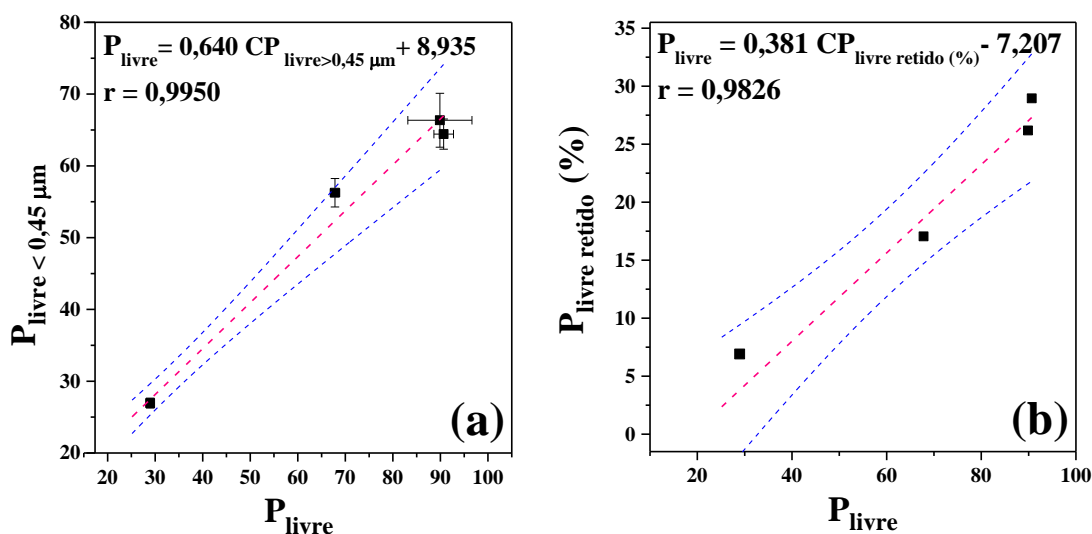
Amostras	Concentrações de $P_{livre}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )		(% ) de $P_{livre} < 0,45 \mu\text{m}$
	Sem filtração	Filtrado com $0,45 \mu\text{m}$	
S1	$67,8 \pm 1,0$	$56,3 \pm 2,0$	83,03
S2	$90,7 \pm 2,1$	$64,4 \pm 2,1$	71,00
S3	$29,0 \pm 0,7$	$27,0 \pm 0,7$	93,10
S4	$89,9 \pm 6,7$	$66,4 \pm 3,8$	73,86

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Ao avaliar a correlação entre as concentrações de  $P_{livre}$  e  $P_{livre} < 0,45 \mu\text{m}$ , é possível observar uma relação diretamente proporcional, onde na medida que aumenta-se a

concentração de  $P_{\text{livre}}$ , ocorre um aumento na concentração de  $P_{\text{livre}}$  com um tamanho inferior a  $0,45 \mu\text{m}$ , Figura 9a. Da mesma maneira, evidencia-se na Figura 9b que, quando há um aumento na concentração de  $P_{\text{livre}}$ , a tendência de retenção de  $P_{\text{livre}}$  com um tamanho superior a  $0,45 \mu\text{m}$  é maior.

**Figura 9.** Correlações das frações de fósforo em amostras de suco de laranja: (a) Concentração de  $P_{\text{livre}}$  e  $P_{\text{livre} < 0,45 \mu\text{m}}$ ; (b) Concentração de  $P_{\text{livre}}$  e porcentagem de  $P_{\text{livre} > 0,45 \mu\text{m}}$ .



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

#### 5.4.2 - Fracionamento de fósforo baseado em sua carga

##### 5.4.2.1 - Avaliação do sistema de extração em fase sólida

Na avaliação do sistema de extração em fase sólida, utilizando uma solução padrão de fósforo  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , as concentrações de fósforo obtidas foram de aproximadamente 123% em relação à concentração real. De uma maneira geral, os padrões se comportaram de forma esperada, pois a coluna de  $C_{18}$ , por ser apolar não deveria reter o fosfato, e ao bombear a solução padrão pela mesma, a concentração encontrada foi de  $1,23 \pm 0,25 \text{ mg L}^{-1}$ . Em relação à coluna Dowex 50W X8, que é uma resina catiônica, não deveria ficar retido qualquer resquício de fosfato, o que também pode ser observado de acordo com os dados, onde obteve-se uma concentração de  $1,21 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$ . A recuperação de 123% obtida, pode ser considerada aceitável, visto que as concentrações de fósforo dos brancos das colunas foram quase zero, e por se tratar de

concentrações tão baixas essa flutuação de 23% estaria dentro do aceitável, uma vez que este dado está contemplado dentro da faixa do intervalo de confiança calculado.

#### 5.4.2.2 - Determinação das frações de fósforo baseadas em sua carga

Para determinação das frações de fósforo contidas nos sucos, em função de suas cargas, primeiramente, uma alíquota de cada amostra diluída foi analisada por ICP OES e o resultado para  $P_{total}$  foi utilizado como referência primária. Em seguida, outras alíquotas de cada amostra diluída foram filtradas através de membranas de 0,45  $\mu$ m e também analisadas por ICP OES para determinação de  $P_{total}$ . Esta informação sobre o  $P_{total}$  foi utilizada como referência (100%) para avaliação da distribuição das frações deste elemento dependendo da carga e interação com ambas as colunas empregadas no procedimento de extração em fase sólida (SPE). Após a percolação pelas colunas I e II, os efluentes obtidos foram analisados por ICP OES para determinação de fósforo nas frações neutra, aniônica, respectivamente.

É importante salientar que as fases sólidas empregadas neste trabalho ( $C_{18}$  e Dowex 50WX8) já foram relatadas na literatura para retenção de frações neutra e catiônica, respectivamente. A fase  $C_{18}$  foi relatada para retenção de espécies neutras, como anticorpos e proteínas, em amostras biológicas; (HUANG et al, 2017) e carotenóides em algas (JIN et al, 2017). Resinas catiônicas como Dowex 50W já foram empregadas para retenção de Fe(III), Mg(II), Ca(II) e Zn(II) em amostras de leite; (POHL e PRUSISZ, 2007) e Mn(II) em amostras de vinho (POHL, 2009).

A Tabela 6 mostra os resultados obtidos para as concentrações de  $P_{total}$  nas amostras diluídas, diluídas e filtradas, e os efluentes I e II, além das porcentagens de frações neutra e aniônica obtidas após a interação entre a amostra e o suporte sólido de cada coluna. De acordo com esta tabela, ao compararmos o conteúdo de  $P_{total}$  da amostra filtrada com a apenas diluída, foi mostrada uma retenção máxima de 26% de P em material particulado com tamanho maior que 0,45  $\mu$ m (amostra S4).

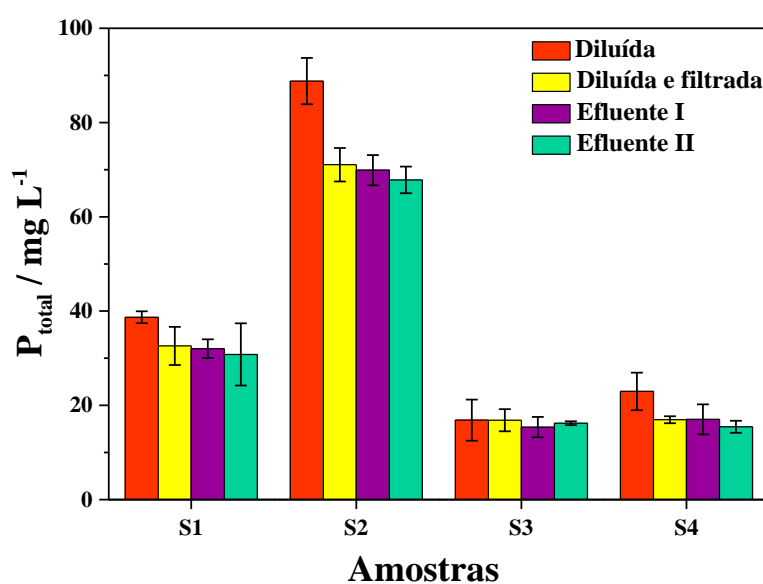
**Tabela 6.** Distribuição de fósforo em amostras de suco de laranja de acordo com a carga das frações.

Amostras	Concentrações de P ( $\text{mg L}^{-1}$ )				Porcentagem de P (%)	
	Diluída	Diluída e filtrada	Efluente I (Coluna $\text{C}_{18}$ )	Efluente II (Coluna Dowex)	Fração neutra	Fração aniônica
S1	$38,7 \pm 1,3$	$32,6 \pm 4,1$	$32,0 \pm 2,0$	$30,8 \pm 6,6$	1,84	94,48
S2	$88,8 \pm 4,9$	$71,1 \pm 3,6$	$69,9 \pm 3,2$	$67,8 \pm 2,8$	1,69	95,47
S3	$16,9 \pm 4,4$	$16,9 \pm 2,3$	$15,4 \pm 2,2$	$16,2 \pm 0,4$	8,88	95,86
S4	$23,0 \pm 4,0$	$17,0 \pm 0,8$	$17,0 \pm 3,2$	$15,5 \pm 1,3$	< LOD	91,18

Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

Essa retenção provavelmente se deve à maneira como o fósforo é distribuído nas amostras, seja em compostos orgânicos, como vitaminas, carboidratos e proteínas de fosfato, ou adsorvido em partículas suspensas, como agregados; assim adquirindo tamanho maior que a porosidade de corte da membrana usada para filtração. Ao comparar as concentrações de P nos dois efluentes (I e II), foi possível calcular a porcentagem das frações neutra e aniônica de cada amostra obtida a partir da diferença da concentração de  $\text{P}_{\text{total}}$ . A distribuição dessas frações também é mostrada na Figura 10.

**Figura 10.** Distribuição das frações de fósforo presentes nas amostras de suco de laranja.



Fonte: elaborado pelo autor, 2018.

De acordo com os dados obtidos, podemos inferir que não houve interação entre as espécies de fósforo da amostra S4 e coluna I (C<sub>18</sub>, neutro). Para as demais amostras, a interação foi confirmada, uma vez que a faixa obtida foi de até 8,9%. Por outro lado, a fração catiônica variou em até 8,8%, indicando que parte do fósforo contido no suco é ligado a espécies ou macro agregados de carga positiva.

Os altos percentuais de P na fração aniônica (de 91,2 a 95,9%) estão relacionados ao fosfato inorgânico livre em equilíbrio com suas formas protonadas, devido à característica ácida do suco de laranja, cujo pH variou entre 2 e 3. Assim, a fração de fósforo analisada neste trabalho está realmente na forma aniônica. Esses dados estão em concordância com resultados previamente publicados, em que o fósforo foi encontrado principalmente em sua forma inorgânica em amostras de alimentos, seja por ocorrência natural ou por inclusão como aditivo na indústria de alimentos (THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 1997). Assim, o P contido nas amostras de suco de laranja industrializado está mais presente em sua forma inorgânica, que é a forma mais disponível deste elemento.

## 6 - CONCLUSÕES

Através deste trabalho foi possível constatar a equivalência dos resultados de digestão e suspensão para  $P_{total}$ , onde os dados obtidos não revelaram diferença significativa ao nível de confiança de 95%. Por conseguinte, a suspensão foi considerada mais adequada, uma vez que a etapa de tratamento da amostra pode ser restrita apenas a uma diluição minimizando assim a manipulação da mesma.

Verificou-se que o  $P_{livre}$  representou uma faixa de 30 a 90% do teor de  $P_{total}$  nos sucos analisados, com uma tendência diretamente proporcional em relação à concentração. No entanto, evidenciou-se uma relação inversa e exponencial entre concentração  $P_{total}$  e porcentagem de  $P_{livre}$ .

Em se tratando do diâmetro de partícula, maior parte do  $P_{livre}$  presente nos sucos de laranja analisados, está associada a material particulado com tamanho inferior a 0,45  $\mu\text{m}$ , numa faixa de 71 a 93%.

Esse trabalho também permitiu a comparação inédita entre a concentração de  $P_{total}$  e suas frações em suco de laranja industrializado, com as maiores porcentagens de fósforo na fração aniônica, que possivelmente está relacionada à forma inorgânica deste elemento.

Assim, pode-se concluir que o P contido nas amostras de suco de laranja industrializado está mais presente em sua forma livre (inorgânica), o que se apresenta como um benefício, visto que esta é a forma disponível e/ou assimilável deste elemento no organismo, dando a este alimento grande funcionalidade na dieta humana. Com base no consumo diário de fósforo recomendado para um adulto (700 mg por dia), o teor médio de  $P_{livre}$  presente nas amostras analisadas de suco de laranja representa 1,6% considerando a ingestão de 200 mL de suco.

Ademais, vale destacar que o uso do método espectrofotométrico do azul de molibdênio que, embora restrito à determinação de  $P_{livre}$ , apresenta a vantagem de ser aplicado à avaliação prévia da disponibilidade de fósforo, uma vez que esta é a forma disponível deste elemento no organismo.

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akpinar-Bayizit, A. Analysis of mineral content in pomegranate juice by ICPOES. **Asian Journal of Chemistry**, v. 22, n. 8, p. 6542-6546, 2010.

Al-Maiman, S. A., Ahmad, D. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. **Food Chemistry**, v. 76, p. 437-441, 2002.

Anunciação, D. S. et al. Use of multivariate analysis techniques for evaluation of analytical data - Determination of the mineral composition of cabbage (*Brassica oleracea*). **Food Analytical Methods**, v. 4, p. 286-292, 2011.

Andrés, V., Tenorio, M. D., Villanueva, M. J. Sensory profile, soluble sugars, organic acids, and mineral content in milk- and soy-juice based beverages. **Food Chemistry**, v. 173, p. 1100-1106, 2015.

Barbour, M. E. et al. An investigation of some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution. **Eur J Oral Sci**, v. 113, p. 457-461, 2005.

Barnes, K. W. Trace metal determinations in fruit, juice, and juice products using an axially viewed plasma. **Atomic Spectroscopy**, v. 18, n. 3, p. 84-100, 1997.

Beltrán-González, F. et al Effects of agricultural practices on instrumental colour, mineral content, carotenoid composition, and sensory quality of mandarin orange juice, cv. Hernandina. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1731-1738, 2008.

Cardoso, C. et al. Estimation of risk assessment of some heavy metals intake through black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) consumption in Portugal. **Risk Analysis**, v. 30, n. 6, p. 952-961, 2010.

Chaney, M. S., Blunt K. The effect of orange juice on the calcium, phosphorus, magnesium, and nitrogen retention and urinary organic acids of growing children. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 829-845, 1925.

Condrón, L. M. et al. Nature and distribution of soil phosphorus as revealed by a sequential extraction method followed by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance analysis. **Journal of Soil Science**, v. 36, p. 199-207, 1985.

Costa, M. G. et al. Labile and Non-Labile Fractions of Phosphorus and Its Transformations in Soil under Eucalyptus Plantations, Brazil. **Forests**, v. 7, p. 1-15, 2016.

Cozzolino, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. 4 ed., **Manole**, Barueri, SP, 2009.

Dehelean, A., Magdas, D. A. Analysis of Mineral and Heavy Metal Content of Some Commercial Fruit Juices by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **The Scientific World Journal** v. 2013, p. 1-6, 2013.

Durazzo, A. et al. Food Groups and Individual Foods: Nutritional Attributes and Dietary Importance. **Food Science**, p. 1-13, 2018.

Eisele, T. A., Drake, S. R. The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 213-221, 2005.

Ekşi, A., Özhamamci, I. Chemical composition and guide values of pomegranate juice. **Gıda**, v. 34, n. 5, p. 265-270, 2009.

Fiske, C.H., Subbarow, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 375-400, 1925.

Froes, R. E. S. et al. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, p. 619-622, 2009.

Furtini Neto, A. E. et al. Frações fosfatadas em mudas de Eucalyptus. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 267, 1998.

Ghafar, M. F. A. et al. Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 326-330, 2010.

Harmankaya, M. et al. Comparative evaluation of some macro- and micro-element and heavy metal contents in commercial fruit juices. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 9, p. 5415-5420, 2012.

Hedley, M. J. et al. Changes in Inorganic and Organic Soil Phosphorus Fractions Induced by Cultivation Practices and by Laboratory Incubations. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 46, p. 970-976, 1982.

Huang, J. Z. et al. Enablement of the direct analysis of excipients in monoclonal antibody formulations through the incorporation of a wide pore C18 protein trap with hydrophilic interaction liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 1068-1069, p. 131-135, 2017.

IBGE<<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613#resultado>>, acessado em julho de 2018.

Jin, H. et al. Simultaneous determination of 13 carotenoids by a simple C18 column-based ultra-high-pressure liquid chromatography method for carotenoid profiling in the astaxanthin-accumulating *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Chromatography A**, v. 1488, p. 93-103, 2017.

Katsaounosa, C. Z. et al. Speciation of phosphorus fractionation in river sediments by explanatory data analysis. **Water Research**, v. 41, p. 406-418, 2007.

Krug, F. J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1 ed. Piracicaba: CENA/USP, 2010.



Küsters, M. et al. Rapid and Simple Micromethod for the Simultaneous Determination of 3-MCPD and 3-MCPD Esters in Different Foodstuffs. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 58, p. 6570-6577, 2010.

Laakso, J. et al. Phosphorus speciation in agricultural catchment soils and in fresh and dried sediments of five constructed wetlands. **Geoderma**, v. 271, p. 18–26, 2016.

Lozano, J. E. Chemical composition of fruits and its technological importance. Fruit Manufacturing, **Springer**, New York, p. 133-161, 2006.

Mendonça Filho, J. R. H. et al. Avaliação da distribuição de algumas espécies de fósforo em amostras de vinho. **35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais/camaras-setoriais-1/citricultura>>, acessado em julho de 2018.

Moreda-Piñeiro, A. et al. Application of fast ultrasound water-bath assisted enzymatic hydrolysis – High performance liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry procedures for arsenic speciation in seafood materials. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 39, p. 6970-6980, 2011.

Nagul, E. A. et al. The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: Opening the black box. **Analytica Chimica Acta**, v. 890, p. 60-82.

Nikolaou, C. et al. Differentiation of Fresh Greek Orange Juice of the Merlin Cultivar According to Geographical Origin Based on the Combination of Organic Acid and Sugar Content as well as Physicochemical Parameters Using Chemometrics. **Food Analytical Methods**, v. 10, n.7, p. 2217-2228, 2017.

Oliveira, A. et al. Impact of food matrix components on nutritional and functional properties of fruit-based products. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 153-159, 2018.

Orak, H. H. Evaluation of antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice and its sour concentrate processed by conventional evaporation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 1-11, 2009.

Pantano, G. et al. Sustentabilidade no uso do fósforo: uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova** v. 39, p. 732-740, 2016.

Pohl, P., Prusisz, B. Determination of Ca, Mg, Fe and Zn partitioning in UHT cow milks by two-column ion exchange and flame atomic absorption spectrometry detection. **Talanta** v. 71, p. 715-721, 2007.

Pohl, P. Suitability of solid phase extraction and flame atomic absorption spectrometry for manganese partitioning in red wines. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 996-1001, 2009.

Priego-Capote, F., Castro, M. D. L. Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n.9, p. 644-653, 2004.

RAVINDRAN, V. et al. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. *Food Chemistry*, v. 50, n. 2, p. 133-136, 1994

Ritz, E. et al. Phosphate additives in food - a health risk. **Deutsches Ärzteblatt International** v. 109, n. 4, p. 49-55, 2012.

Şahin, Y. et al. Phosphorus fractions and its potential release in the sediments of koycegiz lake, turkey. **Lakes, reservoirs and ponds**, v. 6, n. 2, p. 139-153, 2012.

Sancho, A. I. et al. Authentication of food allergen quality by physicochemical and immunological methods. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 40, p. 973-986, 2010.

Savić, S. R. et al. The presence of minerals in clear orange juices. **Advanced Technologies**, v. 4, n. 2, p. 71-78, 2015.

Schmitt, D. E. et al. Phosphorus fractions in sandy soils of vineyards in southern brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 472-481, 2013.

Schroder, B. G. et al. Absorption of calcium from the carbonated dairy soft drink is greater than that from fat-free milk and calcium-fortified orange juice in women. **Nutrition Research**, v. 25, p. 737-742, 2005.

Shapiro, R., Heaney R. P. Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency. **Bone**, p. 32, n.5, p. 532-540, 2003.

Silva, J. G. S. et al. Optimization and Validation of a Simple Method for Mineral Potential Evaluation in Citrus Residue. **Food Analytical Methods**, v. 10, p.1899-1908, 2017.

Simpkins, W. A. et al. Trace elements in Australian orange juice and other products. **Food Chemistry**, v. 71, p. 423-433, 2000.

SKOOG, Douglas A. et al. *Fundamentos de Química Analítica*. 8. ed. São Paulo: **Editora Thomson Learning**, 2006.

Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board Institute of Medicine; Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride, 1st ed. **The National Academies Press**, Washington, USA, 1997.

Stahl, W. et al. Non-antioxidant properties of carotenoids. **Biological Chemistry**, v. 383, p. 553-558, 2012.

Stahl, W., Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 345-3512, 2013.

St-Jules, D. E. et al. Examining the Proportion of Dietary Phosphorus From Plants, Animals, and Food Additives Excreted in Urine. **J. Renal Nutr.**, v. 27, p. 1-6, 2016.

Szymczycha-Madeja, A., Welna M. Evaluation of a simple and fast method for the multi-elemental analysis in commercial fruit juice samples using atomic emission spectrometry. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3466-3472, 2013.

Szymczycha-Madeja, A. et al. Developments and strategies in the spectrochemical elemental analysis of fruit juices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 55, p. 68-80, 2014.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA –UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. -- Campinas: **NEPA-UNICAMP**, 161 p. 2011.

Valls, R. M. et al. Effect of the long-term regular intake of virgin olive oil on the phenolic metabolites in human fasting plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, n. 1, p. 68-74, 2010.

Waltner-Towes, D., Lang, T. A new conceptual base for food and agricultural policy: the emerging model of links between agriculture, food, health, environment and society. **Glob. Change & Hum. Health**, v. 1, n. 2, p.116-130, 2000.

Zaccone, C. et al. Soil – farming system – food – health: Effect of conventional and organic fertilizers on heavy metal (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) content in semolina samples. **Soil & Tillage Research**, v. 107, n. 2, p. 97-105, 2010.

## APÊNDICE

### Cálculos estatísticos

#### *Teste t para comparação de duas médias emparelhadas*

Para comparar estatisticamente os valores de cada tratamento das amostras, foi utilizado o teste *t* para comparação de duas médias emparelhadas, que verifica se a média dos *n* dados obtidos por dois métodos analíticos distintos para amostras com níveis de concentrações diferente para um mesmo analito são comparáveis estatisticamente entre si.

Fórmula para realizar teste t	Média	Desvio padrão
$t_{exp} = \left  \frac{d_m}{s_d / \sqrt{n}} \right $ <p><b>Legenda:</b>  <math>t_{exp}</math> = t experimental  <math>d_m</math> = média das diferenças  <math>s_d</math> = desvio padrão das diferenças  <math>n</math> = número de amostras</p>	$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i)$ <p><b>Legenda:</b>  <math>\bar{x}</math> = média  <math>n</math> = número de amostras  <math>x_i</math> = valores de cada elemento da série</p>	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$ <p><b>Legenda:</b>  <math>s</math> = desvio padrão  <math>\bar{x}</math> = média  <math>n</math> = número de amostras  <math>x_i</math> = valores de cada elemento da série</p>

Digestão	Suspensão	Diferença
104	104	104 - 104 = 0
119	112	119 - 112 = 7
24,0	21,0	24 - 21 = 3
274	269	274 - 269 = 5
		<b>Média das diferenças (<math>d_m</math>) =</b> 3,75
		<b>Desvio padrão das diferenças (<math>s_d</math>) =</b> 2,99

$$t_{exp} = \left| \frac{3,75}{2,99 / \sqrt{4}} \right| = 2,51$$

Valor de  $t_{crítico}$

Valor de  $t_{experimental}$

3,18	2,51
------	------

O valor de  $t_{experimental}$  ( $t_{exp} = 2,51$ ) foi inferior ao valor crítico ( $t_{crítico} = 3,18$ ), o que comprova que, em um nível de 95% de confiança, as concentrações de cada tratamento de amostra não possuem diferenças significativas.

### ***Limites de detecção e quantificação***

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) são estabelecidos a partir da análise de dez soluções do branco analítico e os cálculos são realizados com base nos dados da equação da reta da curva de calibração ( $y = a x + b$ ).

curva

<b>Branco analítico</b>	<b>Concentrações de <math>P_{livre}</math> (<math>mg L^{-1}</math>)</b>
B1	0,055
B2	0,060
B3	0,056
B4	0,055
B5	0,056
B6	0,059
B7	0,052
B8	0,050
B9	0,061
B10	0,064

O LOD é definido como  $3s_d/a$ , onde  $s_d$  é o desvio padrão do sinal analítico das soluções em branco e  $a$  é a inclinação da curva de calibração (coeficiente angular). Para LOQ, a expressão matemática é definida como  $10sb/a$ . Utilizando-se a fórmula para calcular o desvio padrão, já descrita nos cálculos anteriores, obteve-se um valor de  $s_d = 0,0042$ . Esse valor é aplicado nas fórmulas de LOD e LOQ, para que sejam obtidos seus respectivos valores.

<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>
0,028 $mg L^{-1}$	0,094 $mg L^{-1}$

### ***Intervalo de confiança entre as médias e desvio padrão relativo***

Para calcular o intervalo de confiança, é necessário primeiro calcular a média das amostras, que são analisadas em triplica. Após obter a média das análises em triplicata é feito o cálculo do desvio padrão, entre essas réplicas.

Amostra (réplicas)	Concentrações de $P_{\text{livre}}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )
S1.1	78,1
S1.2	83,5
S1.3	82,1
<b>Média (<math>\bar{x}</math>) = 81,2</b>	
<b>Desvio padrão (<math>s_d</math>) = 2,77</b>	

Através do valor da média e do desvio padrão faz-se o cálculo do desvio padrão relativo, que corresponde a  $s_d * 100/\bar{x}$ . Substituindo os valores temos  $2,77 * 100/81,2 = 3,41$ . Por fim, o intervalo de confiança é calculado de acordo com a fórmula  $IC = s_d * 4,303/\sqrt{3}$ , onde substituindo os valores  $IC = 2,77 * 4,303/\sqrt{3}$ , temos um  $IC = 6,9$ .

## ANEXOS

## Resumos de trabalhos aceitos em anais de congressos - apresentação de pôsteres

#LuzQuímicaAção

38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química



Sociedade Brasileira de Química

Águas de Lindóia, 25 a 28 de maio de 2015

## ATESTADO

Atestamos que o trabalho "Estudo preliminar para a avaliação da distribuição das frações de fósforo em amostras de suco de laranja industrializado", autoria de Silva Neta, M. F. C.; Oliveira, W. S.; Silva, A. S.; Anunciação, D. S. foi apresentado na forma de pôster durante a 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

Águas de Lindóia, 28 de maio de 2015.

**Adriano D. Andricopulo**  
Presidente da SBQ  
38ª Reunião Anual da SBQ

**Luiz F. Silva Jr**  
Presidente da Comissão Organizadora  
38ª Reunião Anual da SBQ



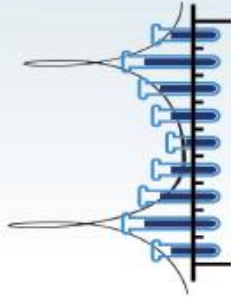
## CERTIFICADO

*6º Encontro Regional da SBQ Nordeste - "A Química e a Biotecnologia do Nordeste: o caminho da Pesquisa para a Inovação"*

Atestamos que o trabalho "Distribuição de frações de fósforo em amostras de suco de laranja em função do diâmetro de partícula", autoria de Maria de Fátima C. da S. Neta, Elysson D. S. Lima, Josué C. C. Santos e Daniela S. Anunciação foi apresentado em forma de pôster durante o VI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – Nordeste realizada de 17 a 19 de junho de 2015, na cidade de Maceió/AL.

**Profª Drª Isis Martins Figueiredo**  
*Presidente da Comissão Organizadora*  
*VI Encontro Regional da SBQ NE*





# 18º ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA

18 A 21 DE SETEMBRO DE 2016, FLORIANÓPOLIS, SC

## CERTIFICADO

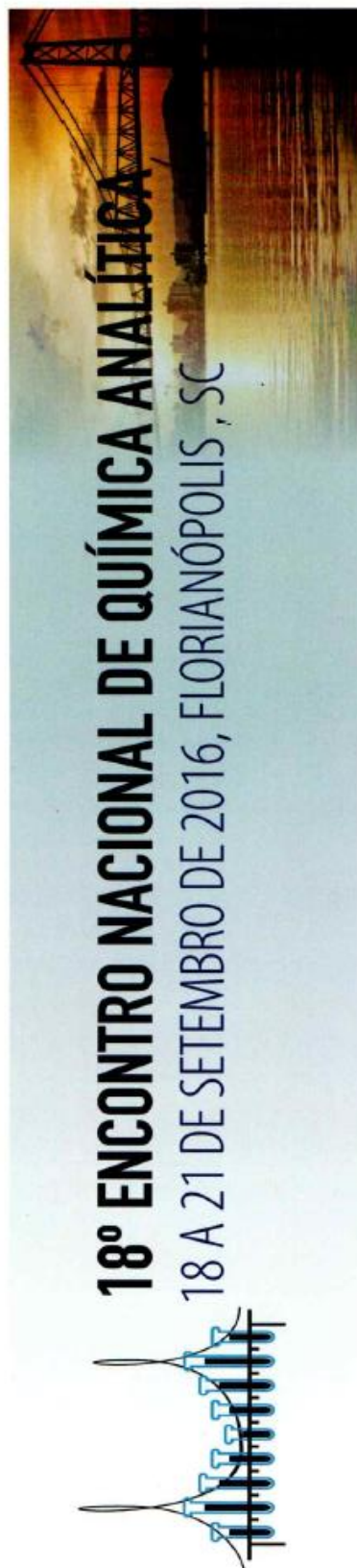
Certificamos que o trabalho

### **AVALIAÇÃO DAS ESPÉCIES DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE SUÇO DE LARANJA INDUSTRIALIZADO EMPREGANDO PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

Maria Fátima Correia Silva Neta, Williams Raphael Souza Morais, Sarah A. R. Soares, Josué Carinhanha Caldas Santos, Daniela Santos Anunciação

foi apresentado na forma de pôster no 18º Encontro Nacional de Química Analítica, realizado no período de 18 a 21 de setembro de 2016 em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Daniel L. G. Borges  
Coordenador Geral



### **CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO ORAL**

Certificamos que o trabalho

**AValiação DAS ESPÉCIES DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE SUÇO DE LARANJA INDUSTRIALIZADO EMPREGANDO PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

Maria Fátima Correia Silva Neta, Williams Raphael Souza Morais, Sarah A. R. Soares, Josué Carinhonha Caldas Santos, Daniela Santos Anunciação

foi apresentado oralmente em sessão coordenada no 18º Encontro Nacional de Química Analítica, realizado no período de 18 a 21 de setembro de 2016 em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

  
Daniel L. G. Borges  
Coordenador Geral-18º ENQA

# Certificado

## EXCELENCIA ACADÊMICA

# XXVI ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

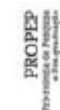
Certificamos que o(a) Prof(a). Dr(a). **DANIELA SANTOS ANUNCIACAO**, na condição de orientador(a), e o(a) discente **MARIA DE FATIMA CORREIA DA SILVA NETA** receberam a premiação de Excelência Acadêmica do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), ciclo 2015/2016, da Universidade Federal de Alagoas, referente ao trabalho intitulado **Especiação de fósforo em amostras de alimentos para avaliação de sua biodisponibilidade**. Esse trabalho foi apresentado por **MARIA DE FATIMA CORREIA DA SILVA NETA** no **XXVI Encontro de Iniciação Científica da Universidade Federal de Alagoas**, realizado no(s) dia(s) 7, 8 e 9 de dezembro de 2016 no Campus A. C. Simões.



*Wania Valéria Costa Correia*

Profa Dra Maria Valéria Costa Correia

Reitora da Universidade Federal de Alagoas



## Short Report

http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180005

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-8, 2018.  
Printed in Brazil - ©2018 Sociedade Brasileira de Química



### Applying Different Sample Treatment Strategies for Evaluating Phosphorus Distribution in Orange Juice

Maria F. C. da Silva Neta,<sup>a</sup> Ana C. F. de Lyra,<sup>a</sup> Sarah A. R. Soares,<sup>b</sup> Josué C. C. Santos<sup>\*a</sup>  
and Daniela S. Anunciação<sup>\*a</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões,  
Tabuleiro dos Martins, 57072-900 Maceió-AL, Brazil

<sup>b</sup>Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Campus Ondina, 40170-290 Salvador-BA, Brazil

Assessment of phosphorus in fruit juices is of great interest due to its essentiality and nutritional properties. This study applied sample treatment strategies to determine phosphorus in fractions of juices. Firstly, total phosphorus ( $P_{total}$ ) was determined from digestion and sample suspension exploring direct analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, which presented no significant difference, for 95% of confidence level. Then, free phosphorus ( $P_{free}$ ) was determined by spectrophotometry and represented 30-90% of  $P_{total}$  with an inverse relationship respecting  $P_{total}$  concentration. Fractioning according to particle size evidenced highest fraction of  $P_{free}$  in samples after filtration. Fractioning of phosphorus based on its charge was also performed and the high percentages of P in the anionic fraction (from 91.2 to 95.9%) are related to free inorganic phosphate in equilibrium with its protonated forms. Thus, it is more assailable after consumption, giving this food great functionality on human diet.

**Keywords:** phosphorus, fractioning, orange juice, spectrophotometry, ICP OES

#### Introduction

Citrus fruits are considered as one of the important fruit crop groups being consumed either as fresh fruit or as juice.<sup>1</sup> These beverages have been highly appreciated since they provide a wide array of essential nutrients for human health such as vitamins, folate, dietary fiber, and minerals, as well as many phytochemicals, including flavonoids, glucarates, terpenes, phenolic acids and carotenoids.<sup>2,3</sup> The consumption of citrus juice has been related to health promotion as preventing coronary diseases and chronic asthma and, not only because of that, but also due to other beneficial aspects, it has increased over the last years throughout the world.<sup>4,5</sup>

Among citrus juices, the orange deserves attention due to its high consumption as compared to juices of other citrus fruits. The production of orange is one of the most important sectors of Brazilian agribusiness, which has been above 16 million tons, corresponding almost to 13% of the permanent crops in Brazil in the last three years. About 80% of the Brazilian production is intended for the juice industry.<sup>6-8</sup>

Because of the beneficial properties of fruit juices, their consumption has been recommended.<sup>9</sup> Among the elements which have nutritional significance and are essential to people's health, phosphorus is highlighted.<sup>10</sup> However, high levels of this mineral in the organism can cause damages.<sup>11</sup> Phosphorus and calcium in an appropriate ratio is important for mineral deposition into bone, and for mineral absorption.<sup>12</sup>

The presence of phosphorus in juices and consequently in its derivative products is related to different sources. Among soil and foliar fertilizers, the conventional farming of fruits makes use of phosphorus compounds, such as phosphoric acid, diammonium phosphate and potassium phosphate.<sup>13</sup> The phosphate polymers are commonly used by the food industry as meat preservatives or additives in non-alcoholic flavored drinks.<sup>14</sup>

The inorganic phosphorus is the most assailable form<sup>15</sup> and because of that, the development of analytical methods capable of estimating phosphorus distribution in juice fruits is of great interest to promote further bioavailability studies of this mineral.

Phosphorus content in fruit juices has been determined at total level ( $P_{total}$ ) mainly by atomic spectrometry,<sup>16-18</sup> For free phosphorus ( $P_{free}$ ), also known as inorganic

\*e-mail: josue@iqb.ufal.br; daniela.anunciacao@iqb.ufal.br