UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ANALÍTICA**

VOLNEI RESTA AMORIM FILHO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE PROCEDIMENTOS PARA O
PREPARO DE AMOSTRAS AGROINDUSTRIAIS NA
DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS INORGÂNICOS POR
TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS**

SÃO CARLOS - SP

MARÇO 2006

Volnei Resta Amorim Filho

Avaliação comparativa de procedimentos para o preparo de amostras agroindustriais na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências (Química Analítica)

Orientador: Prof. Dr. Wagner Luiz Polito

SÃO CARLOS – SP

MARÇO 2006

DEDICATÓRIA

A **JESUS**, Autor da Vida e principal responsável pelo início, meio e fim desse trabalho.

A minha amada esposa **JULIANA**, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, me incentivando e apoiando.

Aos meus **FAMILIARES EM GERAL**, que são a minha retaguarda em qualquer circunstância.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Wagner Luiz Polito, por sua orientação, ensinamentos, amizade, paciência e oportunidade de trabalho.

Aos Profs. Dr. José Anchieta Gomes Neto e Dra. Mercedes de Moraes, por disponibilizarem seus laboratórios para a realização da maior parte do trabalho, pelas dicas, conselhos e amizade.

Ao Instituto de Química de São Carlos/USP e ao Instituto de Química de Araraquara/UNESP pelo apoio institucional e as facilidades oferecidas.

Aos amigos de laboratório: Gian, Carolina, Adriana, Elisângela, Tina, Vanessa, Fabiana, Ricardo Azevedo, Naíse, Marielsa, Patrícia e Beatriz pela amizade conquistada, pelas dicas e ajuda durante todo o trabalho.

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Estado de São Paulo (CAPES) pela bolsa concedida.

A Microbiol Indústria e Comércio Ltda. pelas amostras de rochas concedidas.

A Associação dos Cafeicultores da Região de Patrocínio (ACARPA) e COCAPEC (Franca/SP) pelas amostras de café verde arábica concedidas.

A Elanco Saúde Animal – Divisão do Eli Lilly do Brasil Ltda. (São Paulo-SP) pelas amostras de antibiótico concedidas.

“Se o Senhor não edificar a casa, em vão trabalham os que a edificam; se o Senhor não guardar a cidade, em vão vigia a sentinela. Inútil vos será levantar de madrugada, repousar tarde, comer o pão que penosamente granjeastes; aos seus amados Ele o dá enquanto dormem”. (Salmos 127:1,2)

“Não to mandei eu? Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o Senhor, teu Deus, é contigo por onde quer que andares”.

(Josué 1:9)

“Bem aventurado o homem que teme ao Senhor e anda nos seus caminhos! Do trabalho de tuas mãos comerás, feliz serás, e tudo te irá bem”. (Salmos 128:1,2)

“Nada há melhor para o homem do que comer, beber e fazer que a sua alma goze o bem do seu trabalho. No entanto, vi também que isto vem das mãos de Deus, pois separado deste, quem pode comer ou pode alegrar-se?” (Eclesiastes 2:24,25)

DADOS CURRICULARES

1. DADOS PESSOAIS

- 1.1 Nascimento: 02/04/1974
- 1.2 Nacionalidade: Brasileiro
- 1.3 Naturalidade: Araraquara - SP
- 1.4 Estado Civil: Casado
- 1.5 Endereço residencial: Rua Dr. Cristiano Infante Vieira, 560
Bairro: Parque das Laranjeiras – Araraquara – SP CEP: 14801-556.
- 1.6 Telefone para Contato: (16) 33356127 ou (16) 97847160.
- 1.7 e-mail para contato: *volfilho@gmail.com ou volneifilho@bol.com.br*

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

2.1. Licenciado em Química

Graduação em Química (Licenciatura) concluída em Dezembro de 1998 no Instituto de Química de Araraquara/SP – UNESP.

2.2. Mestre em Química

Mestrado em Química concluído em Dezembro de 2002 no Instituto de Química de Araraquara/SP - UNESP.

Título da dissertação: Otimização de método na determinação simultânea de As, Cu, Mn, Sb e Se ou Cd, Cr, Ni e Pb em águas minerais por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica.

3. TRABALHO (S) CIENTÍFICO (S) PUBLICADO (S) OU ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

- FILHO, V.R.A.; FERNANDES, K.G.; MORAES, M.; NETO, J.A.G. Simultaneous Determination of Antimony, Arsenic, Copper, Manganese and Selenium in Drinking Water by GFAAS with Transversely Heated Graphite Atomizer and Longitudinal Zeeman-Effect Background Correction. *Atomic Spectroscopy* v.23 (1), p.7-11, 2002.
- FILHO, V.R.A.; FERNANDES, K.G.; MORAES, M.; NETO, J.A.G. Evaluation of the mixtures Ammonium Phosphate/Magnesium Nitrate and Palladium Nitrate/Magnesium Nitrate as modifiers for simultaneous determination of Cd, Cr, Ni and Pb in Mineral Water by GFAAS. *Journal of the Brazilian Chemical Society* v.15 (1), p.28-33, 2004.
- FILHO, V.R.; POLITO, W.L.; NETO, J.A.G. Comparative procedures for the sample decomposition of rocks used in organic agriculture in the determination of Cu, Fe, Mn and Zn by FAAS. *Atomic Spectroscopy* v.25 (6), p.233-237, 2004.
- FILHO, V. R. A.; POLITO, W.L.; OLIVEIRA, S.R.; NETO, J. A. G.; FRESCHI, G. P. G. Simultaneous determination of Cd and Pb in antibiotics used in sugar-cane fermentation process by GFAAS. *Eclética Química* v.31(2), p.7-12, 2006.
- FILHO, V.R.A.; POLITO, W.L.; NETO, J.A.G. Comparative studies for the sample decomposition of green and roasted coffee in the determination of nutrients and data exploratory analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2006 (aceito para publicação).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 4.1** – Moinho criogênico e alguns de seus principais componentes....48
- Figura 4.2** - Sistema Kjeldahl (*Tecnal*, Modelo TE-036) empregado na coleta do N na forma de sais de amônio.....52
- Figura 4.3** - Forma de pico ideal obtida para Cd quando usada uma temperatura de atomização ótima.....62
- Figura 5.1** - Gráficos de temperatura (°C) e pressão (bar) obtidos para as 4 amostras de rochas digeridas em sistema de forno de microondas fechado (procedimento 5 – Tabela 4.2).....77
- Figura 5.2** - Gráficos de temperatura (°C) e pressão (bar) obtidos para 6 amostras diferentes de café verde e torrado digeridas em sistema de forno de microondas fechado (Tabela 4.3).....86
- Figura 5.3** - Análise de Componentes Principais (PCA - PC1 x PC3) para cafés verdes e torrados.....89
- Figura 5.4** - Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) para cafés verdes e torrados.....89
- Figura 5.5** - Análise de Componentes Principais (PCA - PC1 x PC2) para cafés verdes.....90

Figura 5.6 - Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) para cafés verdes.....	91
Figuras 5.7 - Curvas de pirólise (—■—) e de atomização (—•—) para 40 pg de Cd e 200 pg de Pb em meio de HNO ₃ 0,028 mol L ⁻¹ e dos modificadores 250 µg W + 5 µg Pd.....	94
Figura 5.8 - Perfis dos sinais atômicos (linhas contínuas) para 2,0 µg L ⁻¹ Cd e 10,0 µg L ⁻¹ Pb em meio de HNO ₃ 0,028 mol L ⁻¹ usando-se tubos THGA <i>end-capped</i> e 250 µg W + 5 µg Pd como modificador químico (Tp = 600 °C; Ta = 2200 °C).....	95
Figura 5.9 - Curva analítica para Cd na presença de W + Pd como modificador químico em meio de HNO ₃ 0,70 mol L ⁻¹	98
Figura 6.0 - Curva analítica para Pb na presença de W + Pd como modificador químico em meio de HNO ₃ 0,70 mol L ⁻¹	98
Figura 6.1 - Gráficos de temperatura (°C) e pressão (bar) obtidos para 6 amostras diferentes de antibióticos sólidos digeridos em sistema de forno de microondas fechado (Tabela 5.0).....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. - Revisão da literatura para o pré-tratamento de amostras de rochas na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.....	31
Tabela 3.2. - Revisão da literatura para o pré-tratamento de amostras de café na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.....	37
Tabela 4.1 - Parâmetros Instrumentais (Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama <i>Perkin-Elmer AAnalyst</i> [®] 100).....	44
Tabela 4.2 - Procedimentos de decomposição testados para o preparo de amostras de rochas.....	47
Tabela 4.3 - Programa de aquecimento do forno de microondas otimizado empregado na mineralização de amostras de café comparativamente ao programa estabelecido pelo fabricante..	50
Tabela 4.4 - Parâmetros Instrumentais (Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama com corretor por efeito Zeeman Hitachi Z-8100) para a determinação de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de café verde e torrado.....	51
Tabela 4.5 - Condições mono-elementares recomendadas para a determinação de Cd e Pb em THGA.....	63

Tabela 4.6 - Programa de aquecimento empregado no recobrimento do tubo de grafite THGA <i>end-capped</i> com o modificador permanente W.....	64
Tabela 4.7 – Seqüência de parâmetros e ações realizados pelo autoamostrador no recobrimento do tubo de grafite THGA <i>end-capped</i> com o modificador permanente W.....	65
Tabela 4.8 - Programa de aquecimento empregado no tratamento térmico do tubo de grafite THGA <i>end-capped</i> recoberto com W.....	65
Tabela 4.9 – Seqüência de parâmetros e ações realizados pelo autoamostrador no tratamento térmico do tubo de grafite THGA <i>end-capped</i> recoberto com W.....	66
Tabela 5.0 - Programa de aquecimento do forno de microondas empregado na mineralização de amostras de antibióticos sólidos.....	67
Tabela 5.1 - Concentração de Cu (mg kg ⁻¹) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes.....	72
Tabela 5.2 - Concentração de Fe (mg kg ⁻¹) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes.....	72
Tabela 5.3 - Concentração de Mn (mg kg ⁻¹) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes.....	73

Tabela 5.4 - Concentração de Zn (mg kg^{-1}) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes.....	73
Tabela 5.5 - Teores de Cu, Fe, Mn e Zn (mg kg^{-1}) encontrados nas rochas MB-4 e IPIRÁ em 2 laboratórios particulares diferentes.....	76
Tabela 5.6 - Resultados comparativos para K, N, Ca, Mg (%) e Na (mg kg^{-1}) em amostras de café verde e torrado e três materiais de referência padrão de folhas.....	78
Tabela 5.7 - Resultados comparativos para Fe, Mn, Zn e Cu (mg kg^{-1}) em amostras de café verde e torrado e três materiais de referência padrão de folhas.....	80
Tabela 5.8 – Valores comparativos de concentração de cálcio obtidos em digeridos de café verde variando-se as quantidades de lantânio adicionadas.....	87
Tabela 5.9 - Programa de aquecimento do atomizador utilizado na determinação simultânea de Cd e Pb em amostras de antibiótico sólido.....	92
Tabela 6.0 - Porcentagens de recuperação para a adição de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb nos seis digeridos de antibióticos estudados.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS

NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês *National Institute of Standards and Technology*).

PTFE – Politetrafluoretileno (do inglês *Polytetrafluorethylene*).

PFA – PTFE modificado quimicamente (do inglês *Perfluoroalcoxi*)

TFM – marca registrada da Hoeschst para PTFE modificado quimicamente (do inglês *Teflon Fluor Modified*)

ETAAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*).

FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*).

ICP-OES – Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*).

GFAAS – Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*).

FIA – Análise por Injeção em Fluxo (do inglês *Flow Injection Analysis*).

THGA – Tubos de grafite com aquecimento transversal (do inglês *Transversely Heated Graphite Atomizer*).

HCL – Lâmpada de catodo oco (do inglês *Hollow Cathode Lamp*).

EDL – Lâmpada de descarga sem eletrodo (do inglês *Electrodeless Discharge Lamp*).

STPF – Forno de grafite com plataforma à temperatura estabilizada (do inglês *Stabilized Temperature Platform Furnace*).

SIMAAS – Espectrometria de absorção atômica simultânea (do inglês *Simultaneous Multi-element Atomic Absorption Spectrometry*).

ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*).

T_p e T_a – Temperaturas de pirólise e de atomização, respectivamente.

SIMAAC – Espectrometria de absorção atômica simultânea com fonte contínua (do inglês *Simultaneous Multi-element Analysis with a Continuum Source*).

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético (do inglês *Ethylenediaminetetraacetic acid*).

MIBK (ou IBMK) – Metil isobutil cetona (do inglês *Methyl Isobuthyl Ketone*).

HG-FAAS – Espectrometria de absorção atômica em chama com um sistema de geração de hidretos (do inglês *Hydride Generation Flame Atomic Absorption Spectrometry*).

HG-ICP-OES – Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado com um sistema de geração de hidretos (do inglês *Hydride Generation Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*).

FI-HGAAS – Espectrometria de absorção atômica com um sistema de geração de hidretos acoplado a um sistema de injeção em fluxo (do inglês *Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*).

PCA – Análise de Componentes Principais (do inglês *Principal Component Analysis*).

HCA – Análise por Agrupamentos Hierárquicos (do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*).

SRM – Material de Referência Padrão (do inglês *Standard Reference Material*).

RESUMO

Neste estudo foram avaliados procedimentos analíticos comparativos para o preparo de três tipos de amostras agroindustriais (rochas, cafés e antibióticos) na determinação de elementos inorgânicos pelas técnicas de espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS), espectrometria de emissão atômica em chama (FAES) e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS).

Seis procedimentos de decomposição de rochas foram estudados e classificados em 3 grupos: **GRUPO I:** bombas de teflon; **GRUPO II:** bloco digestor; **GRUPO III:** forno de microondas convencional. Os elementos Cu, Fe, Mn e Zn foram quantificados pela técnica FAAS em duas amostras comerciais e dois materiais de referência padrão de rochas. Os melhores resultados foram obtidos para os procedimentos que empregaram forno de microondas convencional usando-se HF na mistura ácida.

Os teores de 9 nutrientes foram determinados em 35 amostras de café (verde e torrado) por FAAS (Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn), FAES (Na e K) e pelo método Kjeldahl (N). As amostras foram preparadas por dois procedimentos de decomposição via úmida, um deles empregando bloco digestor e V_2O_5 como catalisador e o outro forno de microondas convencional. A exatidão dos métodos foi verificada pela análise de três materiais de referência padrão de folhas. Um teste foi realizado moendo-se uma das amostras de café verde em dois tipos de moinho (criogênico e tipo *Willye*) para avaliar possíveis contaminações. Contaminação com Fe foi observada com o uso do moinho tipo *Willye*. Outro teste constou da determinação desses 9 nutrientes em uma amostra de café verde com casca. Altos teores de Na, Ca, K e Fe foram

encontrados na casca do café verde, confirmando assim a possibilidade de reaproveitamento desses resíduos em processos de adubação e na produção de ração animal. Análises quimiométricas aplicando-se PCA e HCA mostraram que os elementos Na, K, Ca, Mg, Fe e Cu foram os principais responsáveis pela discriminação entre as amostras de café verde e torrado.

Um método foi desenvolvido para a determinação simultânea de Cd e Pb por GFAAS em antibióticos sólidos usados na fermentação da cana de açúcar. Seis amostras de antibióticos sólidos comerciais foram analisadas injetando-se 20 µL das amostras decompostas em meio ácido (forno de microondas convencional) dentro da plataforma de grafite pré-tratada com W seguido de 5 µL do modificador químico Pd 1000 mg L⁻¹. As amostras foram solubilizadas por dois procedimentos: 1) 3 mL HNO₃ conc. + 2 mL H₂O₂ 30% (v/v) e, 2) 4 mL HNO₃ 20% (v/v) + 1 mL H₂O₂ 30% (v/v). As temperaturas de pirólise e atomização do programa de aquecimento do atomizador foram fixadas em 600°C e 2200°C, respectivamente. As massas características calculadas para a determinação simultânea foram 1,6 pg Cd e 41,7 pg Pb. Limites de detecção (LOD) baseados na absorbância integrada foram 0,02 µg L⁻¹ Cd e 0,7 µg L⁻¹ Pb e os desvios padrões relativos (*n* = 10) para Cd e Pb foram 5,7% e 8,0%, respectivamente. As recuperações de Cd e Pb adicionadas às amostras digeridas variaram de 91% a 125% (Cd) e 80% a 112% (Pb).

ABSTRACT

Analytical comparative procedures for the preparation of three types of agro industrial samples (rocks, coffees and antibiotics) were evaluated in the determination of inorganic elements by flame atomic absorption spectrometry (FAAS), flame atomic emission spectrometry (FAES) and graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) techniques.

Six decomposition procedures of rocks were studied and classified in 3 groups: **GROUP I:** wet digestion in teflon bombs; **GROUP II:** wet digestion in digester heating block; **GROUP III:** wet digestion in conventional microwave oven system. The elements Cu, Fe, Mn and Zn were quantified by FAAS in two commercial samples and two standard reference materials of rocks. The best results were obtained for the procedures that employed conventional microwave oven system using HF in the acid mixture.

The contents of 9 nutrients were determined in 35 coffee samples (green and roasted) by FAAS (Ca, Mg, Fe, Cu, Mn and Zn), FAES (Na and K) and Kjeldahl method (N). Samples were prepared by two different wet digestion decomposition procedures; one of them employing digester heating block and the catalyst V_2O_5 and the other one employing a conventional microwave oven system. The accuracy of the methods was checked after analysis of three leave standard reference materials. A test was done in a green coffee sample ground in two types of mill (cryogenic and *Willye*) to evaluate possible contaminations. Contamination by Fe was observed with the use of *Willye* type mill. Another test was the determination of these 9 nutrients in an unpulped ripe cherry. High levels of Na, Ca, K and Fe were encountered in the green coffee rinds, which can be used as a complement in manuring process

and for animal ration production. Chemometric analysis using PCA and HCA showed that Na, K, Ca, Mg, Cu and Fe were the principal elements to discriminate samples between green and roasted coffee.

A method has been developed for the simultaneous determination of Cd and Pb in antibiotics used in sugar-cane fermentation by GFAAS. Six samples of commercial solid antibiotics were analyzed by injecting 20 μL of digested samples (closed microwave oven system) into the pretreated graphite platform with W followed by 5 μL of 1000 mg L^{-1} Pd chemical modifier. Samples were solubilized by two procedures: 1) 3 mL HNO_3 conc. + 2 mL H_2O_2 30% (v/v) and, 2) 4 mL HNO_3 20% (v/v) + 1 mL H_2O_2 30% (v/v). The pyrolysis and atomization temperatures of the heating program of the atomizer were fixed at 600°C and 2200°C, respectively. The calculated characteristic masses for the simultaneous determination were 1.6 pg Cd and 41.7 pg Pb. Limits of detection (LOD) based on integrated absorbance were 0.02 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd and 0.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb and the relative standard deviations ($n = 10$) for Cd and Pb were 5.7% and 8.0%, respectively. The recoveries of Cd and Pb added to the digested samples varied from 91% to 125% (Cd) and 80% to 112% (Pb).

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. OBJETIVOS DO TRABALHO.....1

2. INTRODUÇÃO.....22.1. Moagem.....52.2. Secagem.....72.3. Dissolução.....82.3.1. Dissolução Seca – Fusão e Oxidação Seca.....102.3.2. Dissolução Úmida – Oxidação Úmida.....122.3.2.1. Energia Térmica.....152.3.2.2. Energia Ultra-sônica.....16

2.3.2.3. Energia Radiante (radiação infravermelha, ultravioleta e microondas).....17

2.3.3. Preparo de amostras – tendências atuais e futuras.....20

3. REVISÃO DA LITERATURA.....25

3.1. Rochas inorgânicas usadas na agricultura orgânica263.2. Café – Importância no cenário mundial e nacional.....33

3.3. Antibióticos sólidos contendo agentes bacterianos de origem fermentativa utilizados em processos fermentativos alcoólicos industriais no controle de bactérias contaminantes.....	40
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1 Materiais usados na análise de rochas moídas	44
4.1.1. Instrumentação.....	44
4.1.2. Reagentes, soluções e amostras.....	45
4.1.3. Descontaminação e armazenagem dos materiais..	46
4.2. Procedimentos testados na decomposição de rochas moídas.....	46
4.3. Materiais utilizados na análise de café verde e torrado.....	48
4.3.1. Instrumentação.....	48
4.3.2 Reagentes, soluções e amostras.....	52
4.3.3. Descontaminação e armazenagem dos materiais..	55
4.4. Procedimentos estudados no preparo das amostras de café.....	55
4.5 Tratamento dos dados: <i>teste t</i> emparelhado e análise multivariada.....	57
4.6 Materiais utilizados na análise de antibióticos sólidos.....	57
4.6.1 Instrumentação.....	57
4.6.2 Reagentes, soluções e amostras.....	58
4.6.3. Descontaminação e armazenagem de materiais...	59

4.7	Otimização do programa de aquecimento do forno para a determinação simultânea de Cd e Pb em antibióticos sólidos.....	60
4.8	Desenvolvimento de método para a determinação simultânea de Cd e Pb em digeridos de antibióticos sólidos por GFAAS.....	62
4.8.1	Construção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização.....	62
4.8.2.	Programas de recobrimento do tubo de grafite com o modificador permanente tungstênio e de tratamento térmico do tubo.....	64
4.8.3	Preparo das amostras.....	66
4.8.4	Avaliação da exatidão do método empregando testes de adição e recuperação.....	68
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	69
5.1	Teores de Cu, Fe, Mn e Zn encontrados em amostras de rochas empregando-se 6 procedimentos diferentes no preparo das amostras.....	70
5.2	Teores de Ca, Mg, N, Na, K, Cu, Fe, Mn e Zn encontrados em amostras de café verde e torrado empregando-se 3 procedimentos diferentes no preparo das amostras.....	78
5.2.1	Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) - amostras de café.....	87

5.3 Programa de aquecimento otimizado do tubo de grafite usado na determinação de Cd e Pb em amostras de antibiótico sólido.....	92
5.4 Gráficos obtidos no preparo das amostras de antibióticos sólidos em sistema de forno de microondas fechado.....	99
5.5 Determinação simultânea Cd e Pb em digeridos de antibióticos sólidos por GFAAS e avaliação da exatidão do método empregando testes de adição e recuperação.....	100
6. CONCLUSÕES.....	102
6.1 Rochas.....	103
6.2 Café verde e torrado.....	104
6.3 Antibióticos sólidos.....	105
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106

1. OBJETIVOS DO TRABALHO

O objetivo desse trabalho foi avaliar comparativamente vários procedimentos de decomposição para o preparo de amostras agroindustriais na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas. Assim, os teores de alguns macro e micronutrientes foram determinados em rochas empregadas na agricultura orgânica (Cu, Fe, Mn e Zn) e amostras de café verde e torrado (Ca, Mg, Na, K, N, Cu, Fe, Mn e Zn).

Encontra-se na literatura uma grande diversidade de procedimentos para a decomposição desses tipos de materiais, porém, a grande maioria deles requer longo tempo de espera até que as amostras estejam prontas para serem analisadas. Além disso, muitos procedimentos empregam grandes quantidades de reagentes, levando a um aumento nos custos e resíduos gerados. Dessa forma, os procedimentos estudados sempre primaram por alta eficiência, segurança, simplicidade, rapidez, baixo custo e minimização de perdas, contaminações e resíduos gerados. Também, deve-se considerar a importância desses materiais no cenário do agronegócio nacional e mundial, principalmente quando se trata do café.

Procedimentos de decomposição em forno de microondas convencional empregando-se ácido concentrado e diluído foram estudados na determinação simultânea de Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS). Seis amostras de antibióticos sólidos comerciais empregados no controle de bactérias contaminantes em processos fermentativos foram avaliadas. Os estudos foram realizados em tubos de grafite “*end-capped*” recobertos com o modificador permanente W e com a co-injeção do modificador químico Pd, visando principalmente o aumento do tempo de vida útil do tubo de grafite.

Introdução

2. INTRODUÇÃO

Nos últimos cinco anos, o ritmo de crescimento do agronegócio brasileiro foi quase o dobro do registrado pelo país. O Brasil lidera as exportações mundiais de café, açúcar, álcool, tabaco, couro, suco de laranja, carne bovina e de frango. Junto, o agronegócio representa cerca de 35% da economia brasileira (PRATES; EDWARD, 2004; SALGADO, 2004). A feliz união entre agricultura, pesquisa de ponta, investimentos em máquinas modernas, alta tecnologia e crédito farto é a responsável por esse crescimento.

Também, com o aumento das exportações, aumentou-se a exigência por produtos de maior qualidade com baixo custo e é nesse ponto que vários campos da química, biologia, informática, entre outros, têm crescido consideravelmente. Em algumas propriedades, por exemplo, o empresário do campo examina suas lavouras palmo a palmo, digita informações sobre a condição das plantas e do solo num computador e, com a ajuda de um aparelho de GPS (que dá as coordenadas de latitude e longitude via satélite) registra o local exato. Essa leitura precisa permite dar o tratamento necessário a cada área da propriedade (PRATES; EDWARD, 2004).

Dentro desse quadro, inúmeras amostras agro-industriais têm sido analisadas diariamente em laboratórios do mundo todo com a finalidade de monitorar os teores de elementos inorgânicos essenciais e tóxicos, além de outros compostos de interesse, visando um maior controle de qualidade dos produtos comercializados. Dessa forma, toda vez que uma amostra tiver que ser analisada, algumas etapas devem ser levadas em consideração pelo analista, como ilustra o fluxograma à seguir (KRUG, 2000; MARKERT, 1995):

Dentro desse quadro, uma das etapas mais críticas é a de **pré-tratamento da amostra**, pois nessa etapa há maior possibilidade de aumento dos erros estimados (cerca de 30% do valor total), tempo (61% do tempo total) e custo (DE OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2000; MARKERT, 1995). Em geral, a maioria das amostras requer etapas de pré-tratamento preliminares. Dessa forma, evidencia-se a necessidade crescente na química analítica em desenvolver novos procedimentos analíticos para o pré-tratamento de amostras. Esses procedimentos devem sempre primar por eficiência,

segurança, simplicidade, rapidez, baixo custo e minimização de perdas, contaminações e resíduos gerados (DE OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2000; MARKERT, 1995).

Normalmente, amostras agro-industriais encontram-se na forma sólida, sendo que, comumente, no pré-tratamento das amostras são empregados três estágios antes de se proceder as análises por técnicas espectroanalíticas: moagem, secagem e dissolução. Outras poucas técnicas permitem a análise direta da amostra sem nenhuma preparação prévia, tais como espectrometria de fluorescência de raios-X, ablação com laser, análise por ativação neutrônica instrumental, termogravimetria, entre outras. As principais desvantagens dessas técnicas é que elas não são encontradas na maioria dos laboratórios e existem casos em que não são igualmente apropriadas para todos elementos e tipos de amostras (KRUG, 2000).

2.1. Moagem

Uma das etapas mais prováveis de gerar erros é a moagem. Deve ser assegurado que a composição química da amostra analisada seja a mesma da amostra original (MARKERT, 1995). Amostras finamente divididas são mais homogêneas e mais fáceis de serem mineralizadas, devido ao aumento da área superficial das amostras. Podem ocorrer problemas de contaminação devido à abrasão do almofariz ou partes do moinho (dependendo da dureza da amostra). Também, eventualmente, ocorrem perdas por volatilização de alguns elementos durante o processo de moagem devido ao aquecimento excessivo da amostra. Especialmente em análises de elementos-traço ($\mu\text{g L}^{-1}$) ou ultra-traço (ng L^{-1}), a contaminação com certas substâncias pode causar distorção dos resultados analíticos obtidos. Contaminações com os elementos

Fe e Cr, por exemplo, foram constatadas por Markert em moagens de materiais vegetais quando empregado moinho de aço inoxidável (MARKERT, 1995). Iwansson e Landström (2000) estudaram a contaminação de diversos tipos de amostras de rochas moídas em três tipos de moinhos comumente empregados. Dependendo da natureza da amostra e do tipo de moinho empregado foram constatadas contaminações com Fe, Cr, Mn, Nb, Sc, Co, W e Ta. O melhor é que o elemento a ser determinado não esteja presente no moinho utilizado.

Existem três tipos de moagem:

- 1) Grosseira: tamanho de partícula cerca de 5 mm. Normalmente, são usados equipamentos como moinhos de facas e moinhos mandibulares ;
- 2) Fina: tamanho de partícula de 5 mm a 63 μm . Normalmente, são usados equipamentos como moinhos vibracionais que usam discos e sistemas de moagem que empregam almofariz;
- 3) Extra fina: tamanho de partícula < 63 μm . Normalmente, são usados equipamentos como moinhos de bolas, moinho vibracionais que utilizam bolas e moinhos criogênicos (MARKERT, 1995).

Cabe aqui um destaque especial para os moinhos criogênicos. Estes dispositivos são utilizados na moagem de produtos com baixo ponto de fusão, como por exemplo: materiais gordurosos, partes fibrosas de plantas, alimentos, entre outras partes que, se não forem previamente congeladas aglomeram-se nos equipamentos convencionais. Isso dificulta o processo de moagem.

Também, esse tipo de equipamento apresenta outras vantagens como por exemplo: menor contaminação das amostras (devido a menor

abrasão de materiais do moinho pelo baixo aquecimento das partes), maior eficiência, o que leva a uma diminuição do tempo de moagem e possibilidade de cominuir espécies sensíveis a oxidação (ex. carotenos, vitamina A), substâncias que podem perder seu aroma (como por exemplo amostras de café) e, também, hormônios, penicilinas e similares (MARKERT, 1995). Normalmente, dióxido de carbono (ou gelo seco) e nitrogênio líquido são utilizados em moinhos criogênicos para congelar as amostras. O nitrogênio líquido é o mais comum. Uma aplicação comum desse tipo de moagem ocorre quando se deseja trabalhar com suspensões de materiais sólidos em análises de elementos inorgânicos por GFAAS (ANTHEMIDIS; PLIATSIKA, 2005; CARRIÓN et al., 1987; FULLER; HUTTON; PRESTON, 1981; MIERZWA et al., 1998; SANTOS JR. et al., 2002) Entretanto, a principal desvantagem de se utilizar um moinho criogênico é o encarecimento do processo de moagem.

2.2. Secagem

Usualmente, a etapa de secagem é empregada em amostras sólidas que apresentam água em quantidade variável e em forma não determinada. O objetivo dessa etapa é obter um valor de referência constante pela determinação do peso seco, uma vez que o peso líquido é difícil de quantificar e pode influenciar na exatidão e precisão dos resultados obtidos (KRUG, 2000; MARKERT, 1995).

A secagem pode ser feita em dessecador, estufa com circulação forçada de ar ou por liofilização. Na liofilização (secagem a frio) a amostra é inicialmente congelada e depois seca sob vácuo em temperaturas da ordem de 45 °C, dependendo do tipo de amostra e dos elementos a serem analisados (KRUG, 2000). Por exemplo, podem ser secos a 105 °C: solos, rochas,

sedimentos e minérios, desde que não ocorram riscos de perdas de elementos por volatilização e, excepcionalmente, por degradação (decomposição) térmica da amostra. Em geral, materiais biológicos são secos em estufas com circulação forçada de ar a 60 °C. Alguns minerais (como vários aluminatos e silicatos) podem necessitar de temperaturas maiores que 1000 °C. Materiais vegetais são secos no vácuo (15 Torr), suavemente, a temperatura de 40-60 °C. Este tipo de secagem é muito eficiente. Além da eliminação de água das amostras, a etapa de secagem é empregada para proteger os materiais vegetais contra a decomposição microbiana durante o armazenamento (CORREIA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000; MARKERT, 1995; SANTOS JR et al., 2002).

2.3. Dissolução

A grande maioria das técnicas espectroanalíticas utilizadas rotineiramente na determinação de elementos inorgânicos requer que a amostra esteja na forma de uma solução aquosa. Assim, a dissolução prévia das mesmas é uma etapa importante, pois, a maioria das amostras agro-industriais se encontra na forma sólida (HOENIG; KERSABIEC, 1996). Amostras na forma líquida são mais versáteis do que na forma sólida nos seguintes aspectos (KRUG, 2000):

- a) As curvas analíticas podem ser feitas com soluções padrão de fácil preparação,
- b) As diluições são simples e,
- c) Os constituintes podem ser separados com ou sem pré-concentração.

Outras vantagens a serem consideradas na dissolução de muitas amostras são (FLORES, 1997):

- a) A mineralização converte o analito para uma forma química simples, com uma resposta uniforme,
- b) Possibilidade de destruição parcial ou total de compostos orgânicos que interferem durante as medidas em muitas técnicas analíticas
- c) Solução homogênea resultante, o que nem sempre é observado em sólidos.

Por outro lado, a maioria dos materiais é pouco solúvel em água ou em outro solvente, sendo necessário dissolvê-los com ácidos ou decompô-los com fundentes apropriados. Só, então, faz-se a dissolução com água ou ácidos diluídos (KRUG, 2000). Como já citado anteriormente, há também a possibilidade de se analisar diretamente algumas amostras sólidas por algumas técnicas como espectrometria de fluorescência de raios-X, ablação com laser, análise por ativação neutrônica instrumental, termogravimetria, entre outras, mas essa não é regra (MIERZWA et al., 1998).

De uma forma geral, o preparo de amostras agro-industriais (inorgânicas ou orgânicas) para análises espectroanalíticas é feito por *dissolução seca* (*fusão* – amostras inorgânicas e *oxidação seca* – amostras orgânicas) ou por *dissolução úmida* (empregando ácidos, mistura de ácidos ou mistura de ácidos com outros reagentes), usando-se frascos abertos ou fechados, pressurizados ou não (DE OLIVEIRA, 2003; LOMBARDI, 2001; OHLWEILER, 1982).

2.3.1. Dissolução Seca – Fusão e Oxidação Seca

Normalmente, a dissolução seca com fundentes apropriados (usados em processos de fusão) é empregada para amostras inorgânicas que não são facilmente dissolvidas em ácidos minerais a quente, ou que são atacadas lentamente ou parcialmente, apenas. Alguns exemplos de amostras desse tipo são: cimento, aluminatos, rochas silicatadas, óxidos minerais, minérios de ferro, ligas metálicas, entre outros. Normalmente, o procedimento de abertura da amostra baseia-se na adição de uma quantidade dez vezes maior do fundente na amostra sólida finamente moída em cadinhos de níquel ou platina e levados a uma mufla aquecida entre 300 a 1000°C. Faz-se o aquecimento com o auxílio de uma chama, radiação de microondas ou por condutividade térmica. A amostra deve ficar totalmente dissolvida na solução fundida, resultando em um líquido claro que se solidifica com o esfriamento da massa. O material é então solubilizado em água ou ácido diluído e fica pronto para análise. Existem vários tipos de fusões, usualmente classificadas de acordo com a natureza e tipo do fundente empregado:

- a) Fusão alcalina com carbonatos, hidróxidos e boratos alcalinos,
- b) Fusões alcalinas oxidantes com peróxido de sódio ou misturas de carbonato de sódio e agentes oxidantes,
- c) Fusões ácidas com dissulfatos, fluoretos e trióxido de boro (DE OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2000; OHLWEILER, 1982).

As principais desvantagens desse método são as impurezas presentes nos fundentes que podem levar a contaminações, grandes quantidades de eletrólitos formados na solução resultante, especialmente no caso de algumas técnicas espectroscópicas e risco de perdas por volatilização.

Para o caso de amostras orgânicas, a oxidação seca baseia-se na queima (ou pirólise) da fração orgânica da amostra com oxigênio atmosférico, obtendo-se um resíduo inorgânico não volátil na forma de cinza, posteriormente solubilizado em ácido diluído. As amostras são colocadas em um cadinho (por exemplo, quartzo, porcelana) e aquecidas no ambiente atmosférico. O oxigênio atmosférico atua como agente oxidante e o resíduo proveniente da queima consiste de óxidos de metais, assim como sulfatos não voláteis, fosfatos, silicatos, entre outros. O procedimento de decomposição deve ser conduzido em um forno tipo mufla ajustando-se a temperatura a um valor suficientemente alto para decompor a amostra em um tempo razoável (horas), sem que ocorra a perda do analito na forma de espécies inorgânicas voláteis. A temperatura normalmente empregada varia entre 450-550 °C. (DE OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2000; LOMBARDI, 2001; OHLWEILER, 1982).

A oxidação seca é uma técnica que apresenta como vantagens:

- a) Simplicidade,
- b) A relação entre a massa de amostra e volume final é muito flexível,
- c) Requer pouca atenção do operador,
- d) Não requer ácidos concentrados,
- e) Não requer capelas especiais e,
- f) O digerido encontra-se em meio compatível com o método de determinação.

Como desvantagens pode-se citar:

- a) perdas de elementos por volatilização
- b) perdas de amostra como aerosol sólido,
- c) perdas de amostra na forma de espuma e,
- d) alto risco de contaminação externa ou pela reação da amostra com a superfície de cadinhos inapropriados para a calcinação.

Alguns dos problemas acima mencionados podem ser minimizados ou solucionados das seguintes formas:

- a) A adição de aditivos químicos ou reagentes auxiliares, normalmente um sal, como por exemplo, o nitrato de magnésio, catalisa a oxidação, minimiza perdas por volatilização e previne reações entre os componentes da cinza e o material do cadinho,
- b) O emprego de cadinhos de quartzo ou platina evitam possíveis reações entre as cinzas e a superfície do cadinho e,
- c) O uso da tampa do cadinho impede que a amostra ou parte da mesma seja perdida (KRUG, 2000; LOMBARDI, 2001).

2.3.2. Dissolução Úmida – Oxidação Úmida

Tanto em amostras agroindustriais inorgânicas como orgânicas, na maior parte dos casos, são empregadas oxidações úmidas a quente com ácidos minerais diluídos ou concentrados, mistura de ácidos minerais e misturas de ácidos com outros reagentes. A dissolução desses materiais pode ser conduzida em frascos abertos ou fechados, pressurizados ou não. A maioria dos métodos de decomposição úmida (decomposição total ou parcial)

envolve o uso de alguma combinação de cinco ácidos (níttrico, clorídrico, sulfúrico, perclórico e fluorídrico), sendo que esses dois últimos são evitados sempre que possível, pois, podem causar explosões imprevisíveis e queimaduras seríssimas. O ácido fluorídrico é utilizado na dissolução de materiais contendo alto teor de silicatos. Posteriormente, os íons fluoreto resultantes devem ser mascarados com ácido bórico (H_3BO_3) antes da introdução da amostra em espectrômetros de absorção e emissão atômicas, uma vez que esses íons podem atacar peças de vidro (borosilicato) e quartzo presentes no interior dos equipamentos. Nesse caso específico, a escolha dos frascos ou recipientes de decomposição também é importante, sendo que são recomendados materiais como a platina, PTFE, PFA, TFM, polipropileno, entre outros (DE OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2000; LOMBARDI, 2001; OHLWEILER, 1982).

Na prática, a grande maioria dos métodos de dissolução de amostras agroindustriais via úmida baseia-se no uso de uma mistura de ácidos minerais concentrados ou na mistura de ácidos minerais concentrados com outros reagentes. Alguns aspectos importantes devem ser considerados, tais como (DE OLIVEIRA, 2003):

- a) Força e ponto de ebulição de cada ácido usado, assim como seu poder oxidante e complexante,
- b) Solubilidade dos sais resultantes,
- c) Segurança na manipulação e,
- d) Pureza dos reagentes.

No caso específico da mistura de ácidos minerais algumas vantagens podem ser conseguidas na dissolução das amostras, tais como:

- a) Diferentes propriedades úteis podem ser combinadas (ácido com alto poder oxidante com um ácido com alto poder complexante),
- b) Dois ácidos podem reagir formando produtos com maior reatividade do que qualquer um deles empregado isoladamente,
- c) Uma propriedade indesejável de um ácido pode ser moderada pela presença de um segundo ácido e,
- d) A amostra pode ser dissolvida com um ácido, o qual é separado da mistura por um outro ácido que o substitui.

A adição de outros reagentes na mistura ácida tem por objetivo principal melhorar a eficiência da dissolução das amostras. Dentre os reagentes mais comuns empregados estão os agentes oxidantes (por exemplo: H_2O_2), os eletrólitos inertes (por exemplo: Na_2SO_4) e os catalisadores (por exemplo: Cu^{2+} , KRUG, 2000).

Pequenas quantidades de H_2O_2 são usadas em procedimentos para a oxidação de materiais orgânicos com misturas ácidas para a remoção de produtos coloridos que permanecem em solução e para aumentar o poder oxidante do(s) ácido(s) empregado(s). Esse reagente apresenta como vantagens o fato de ser um agente oxidante poderoso, seu produto de decomposição é a água (resíduo limpo) e pode ser encontrado com alto grau de pureza.

Os eletrólitos inertes são usualmente empregados para aumentar o ponto de ebulição de um ácido, permitindo assim maiores temperaturas finais de dissolução.

Alguns catalisadores aumentam significativamente a velocidade das reações químicas envolvidas quando usados adequadamente. Um exemplo típico do emprego desses três tipos de reagentes com um ácido concentrado ocorre no método Kjeldahl, que visa a determinação de nitrogênio total em amostras orgânicas. A adição do agente oxidante H_2O_2 aumenta o poder oxidante do H_2SO_4 . O eletrólito inerte Na_2SO_4 (K_2SO_4 ; Li_2SO_4) aumenta a temperatura de ebulição do H_2SO_4 . A adição de um catalisador ou mistura de catalisadores (CuSO_4 ; HgSO_4 ; Se) aumenta a velocidade das reações químicas envolvidas no processo de dissolução da amostra.

As formas de energia usualmente empregadas em procedimentos que empregam oxidação úmida a quente são a térmica, a ultra-sônica e a radiante (infra-vermelho, ultravioleta e microondas).

2.3.2.1. Energia térmica

Decomposições feitas em frascos abertos normalmente empregam energia térmica, e utilizam equipamentos como blocos digestores, bico de Bunsen, chapa aquecida, fornos e muflas. As principais desvantagens desses tipos de procedimentos são (DE OLIVEIRA, 2003):

- a) Grande consumo de tempo,
- b) Maior quantidade de reagentes usados,
- c) possibilidade de contaminação externa e perdas dos analitos por volatilização,
- d) Pré-concentração das impurezas dos reagentes e,
- e) Necessidade de constante supervisão por parte do analista.

Uma possibilidade de eliminar ou minimizar esses problemas seria usar bombas de teflon pressurizadas ou bombas de teflon caseiras, porém, há o perigo de explosões nesses tipos de dispositivos em casos onde parâmetros como massa da amostra, quantidades e tipos de ácidos empregados, temperatura selecionada, entre outros, não sejam bem ajustados.

2.3.2.2. Energia ultra-sônica

A energia ultra-sônica é usada em várias aplicações dentro da química analítica, tais como extrações de espécies inorgânicas e orgânicas, dispersão de suspensões, homogeneização e outras aplicações. (NASCENTES et al., 2001). A reação sonoquímica origina-se de um processo denominado cavitação acústica, que é caracterizado pela formação, crescimento e colapso implosivo de vacúolos gasosos na solução. Esse colapso das bolhas originário da sonicação das soluções resulta em gradientes de temperatura e pressão locais extremamente elevados (cerca de 5000 K e 10 GPa, respectivamente), o que auxilia no preparo da amostra, uma vez que radicais livres e outros compostos são formados. A sonicação de água pura, por exemplo, leva a dissociação térmica do vapor de água em átomos de hidrogênio e radicais OH, sendo que uma recombinação posterior dessas espécies tende a formar peróxido de hidrogênio (DE OLIVEIRA, 2003; NASCENTES et al., 2001).

Os principais instrumentos usados nos processos de sonicação são os banhos ultra-sônicos e as sondas ultra-sônicas. Normalmente, procedimentos de extração são utilizados para se obter informações a respeito da biodisponibilidade de metais em diversas amostras ou para avaliar a distribuição dos metais em diferentes frações (MARIN; LOPEZ-GONZALVEZ; BARBAS, 2001). Alguns aspectos negativos associados a

outros procedimentos de preparo de amostra, como perda de elementos voláteis e contaminação da amostra em procedimentos por via úmida em sistemas abertos, são evitados quando procedimentos de extração são utilizados (WIETESKA et al., 1996). A extração de um analito é afetada pela sua interação com a matriz da amostra, e sua recuperação ocorrerá em função da composição da amostra estudada, do solvente escolhido e sua concentração, do tempo de sonicação e, para os procedimentos que empregam aquecimento, da temperatura utilizada (AMOEDO; CAPELO; BENDICHO, 1999; CAPELO; LAVILLA; BENDICHO, 1998). Além disso, outros parâmetros são importantes quando se utilizam banhos ultra-sônicos, tais como volume de água do banho e posição e número de tubos sonicados (NASCENTES et al., 2001).

Um meio ácido diluído é normalmente usado, levando à diminuição dos valores de branco, dos reagentes e do tempo consumido, quando comparado com os procedimentos de dissolução úmida que empregam aquecimento condutivo ou assistido por microondas. Além disso, menores quantidades de amostra podem ser usadas (DE OLIVEIRA, 2003).

2.3.2.3. Energia radiante (radiação infravermelha, ultravioleta e microondas)

Sem dúvida alguma, o preparo de amostras assistido por microondas tem sido muito mais empregado que os outros tipos de energias radiantes, incluindo amostras inorgânicas e orgânicas. As microondas são ondas eletromagnéticas cuja frequência varia entre 300 MHz a 300 GHz, sendo que em sistemas comerciais o gerador de

microondas (magnetron) fornece as microondas a uma frequência de 2,45 GHz (KINGSTON; JASSIE, 1988). Materiais que são expostos as microondas comportam-se de maneira diferente, dependendo dos seus coeficientes dielétricos. Existem três classes de materiais para o uso com radiação microondas: refletivos (por exemplo, metais), transparentes (por exemplo, quartzo) e absorventes (por exemplo, água). As substâncias absorventes sempre apresentam moléculas polares aquecendo rapidamente devido a migração dos íons livres através do campo eletromagnético e dos dipolos rotacionais formados. As vantagens sobre os sistemas que empregam aquecimento convencional (por exemplo, bloco digestor) são (KINGSTON; JASSIE, 1988):

- a) menores tempos requeridos para a dissolução das amostras, uma vez que as amostras e reagentes são aquecidos diretamente,
- b) mínima contaminação e perdas de elementos voláteis e,
- c) menores quantidades de reagentes empregados, o que acaba por levar a uma diminuição dos valores de branco.

Os sistemas comerciais encontrados no mercado são o forno de microondas com radiação focalizada e o forno de microondas convencional.

O forno de microondas com radiação focalizada opera a pressão atmosférica, pode ser usado para massas de amostras de até 10 g e é adequado para amostras com alto teor de matéria orgânica (DE OLIVEIRA, 2003). A radiação de microondas é focalizada na parte inferior dos frascos contendo as amostras e os reagentes, o que aumenta a eficiência da transferência de energia da radiação de microondas para o meio reacional (COSTA et al., 2001). Dois conceitos de fornos de microondas com radiação focalizada foram desenvolvidos até o momento. Ambos permitem a dissolução/extração dos

analitos das amostras em múltiplos frascos, porém um deles usa um magnetron separado para cada frasco e o outro possui apenas um magnetron e um guia de ondas para distribuir a radiação de microondas para cada frasco. Atualmente, apenas a última configuração com um magnetron está disponível comercialmente, podendo conter dois ou seis frascos de decomposição, uma vez que a presença de apenas um magnetron barateia o preço do equipamento (COSTA et al., 2001). Por outro lado, a eficiência da dissolução das amostras pode ser afetada devido a distribuição heterogênea da radiação de microondas considerando o número de frascos empregados no processo de dissolução e a distância da cavidade de cada frasco do magnetron. Esse efeito pode ser atenuado por meio da calibração de cada cavidade usando um sensor de temperatura de infravermelho, entretanto, esse procedimento requer freqüente calibração a fim de funcionar corretamente (COSTA et al., 2001).

O forno de microondas convencional ou com cavidade opera a altas pressões e temperaturas, sendo que os sistemas analíticos modernos permitem medidas de pressão e temperatura nos frascos reacionais por meio da tecnologia baseada em termometria com sensores de fibras óticas e outros transdutores. Além disso, o desenvolvimento de materiais de alta resistência mecânica, como o PFA e TFM permite que se trabalhe com recipientes fechados a pressões elevadas, e conseqüentemente temperaturas mais elevadas, que podem ser monitoradas continuamente. Em geral, esses sistemas apresentam as seguintes vantagens quando comparados com sistemas abertos (DE OLIVEIRA, 2003; KINGSTON; JASSIE, 1988; KRUG, 2000):

- a) maior eficiência na dissolução em altas temperaturas,
- b) riscos reduzidos de perdas de analitos por volatilização e contaminações externas devidas ao ambiente de trabalho,

- c) menor consumo de reagentes de alta pureza e,
- d) resultados mais precisos e exatos devido as vantagens mencionadas nos itens a, b e c.

As desvantagens inerentes aos sistemas fechados são (COSTA et al., 2001; KRUG, 2000):

- a) geralmente, não se pode digerir massas de amostras muito elevadas, porque a pressão interna que se desenvolve dentro dos frascos depende da pressão de vapor do ácido empregado e da pressão resultante causada pelos produtos gasosos gerados nas reações de decomposição e,
- b) limitação relacionada ao menor número de frascos de decomposição permitidos em um rotor (normalmente, varia de 1 a 14, dependendo do fabricante) quando comparado com um bloco digestor, por exemplo, que tem capacidade para até 40 tubos digestores.

2.3.3. Preparo de amostras – tendências atuais e futuras

As tendências atuais e futuras para o preparo de amostras baseiam-se principalmente em novas estratégias para realizar decomposições em fornos de microondas, análise direta de sólidos e de suspensões e decomposição on-line de amostras (DE OLIVEIRA, 2003).

As novas estratégias para realizar decomposições em fornos de microondas utilizam mini frascos fechados de polipropileno, que são inseridos dentro dos frascos de microondas visando obter as seguintes vantagens:

- a) etapas de descontaminação prévia e limpeza posterior dos frascos são desnecessárias,
- b) baixo custo,
- c) rápida transferência de calor,
- d) possibilidade de decompor um maior número de amostras simultaneamente,
- e) possibilidade de pesagem de amostras viscosas,
- f) mínima manipulação da amostra e,
- e) poucos resíduos gerados.

As dificuldades normalmente encontradas são:

- a) decomposição incompleta em alguns casos,
- b) erros devido a pesagem,
- c) erros devido a heterogeneidade da amostra,
- d) tempo de decomposição inadequado e,
- e) dificuldade de comparação com os materiais de referência padrão, devido as pequenas massas empregadas.

Observa-se por alguns exemplos de trabalhos encontrados na literatura que esse tipo de estratégia tem sido aplicada aos mais diversos tipos de amostras e analitos, usando-se tanto fornos de microondas convencionais como com radiação focalizada (ARAÚJO; NOGUEIRA; NÓBREGA, 2000; BRANCALION; ARRUDA, 2005; FLORES et al., 2001; OLIVEIRA et al., 1998).

Outra estratégia alternativa consta de métodos que empregam análise direta de sólidos e de suspensões. Na amostragem direta de sólidos o processo de dissolução da amostra é evitado, o que leva a uma diminuição da

quantidade de reagentes caros e de alta periculosidade usados, diminuição dos erros associados a contaminação, volatilização de analitos e diluição da amostra, maior rapidez nas análises e simplificação das operações prévias. Porém, apresenta dificuldades como a heterogeneidade da amostra, pesagem de massas diminutas e representativas a cada amostragem, disponibilidade de padrões de calibração de composição similar à amostra, dificuldade na introdução da amostra sólida no atomizador, aumento do efeito de interferência quando comparada à introdução de soluções, diminuição da precisão das análises, menor efetividade de modificadores químicos empregados, impossibilidade de produzir um branco analítico verdadeiro, dificuldades na diluição das amostras, entre outros (BERGLUND; BAXTER, 1995; LOMBARDI, 2001; JACKSON, 1999). A amostragem direta de sólidos empregando-se a técnica de espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ETAAS) tem sido aplicada para a determinação de elementos traço e ultra-traço em diversos tipos de amostras (BENDICHO; DE LOSS-VOLLEBREGT, 1991; BERGLUND; BAXTER, 1995; SILVA et al., 2002). Uma pequena massa da amostra é pesada diretamente dentro de uma plataforma tipo barqueta em uma micro balança, sendo posteriormente inserida dentro do forno com o auxílio de um amostrador manual ou automático. Dessa forma, nenhum pré-tratamento da amostra é realizado; apenas pequenas quantidades de modificador químico adequado são adicionadas às amostras para minimizar efeitos de matriz.

A análise de suspensões combina as facilidades da introdução de solução e aspectos da amostragem direta de sólidos (HALICZ; BRENNER, 1986). Tipicamente, um volume conhecido de líquido (usualmente água ou solução ácida diluída) é adicionado a uma massa conhecida da amostra finamente moída. Uma suspensão uniforme é então obtida por agitação

manual, magnética, por efeito vortex ou via sonda ultra-sônica. A calibração é feita usando-se soluções de referência preparadas em meio aquoso, sempre que possível. O preparo de suspensões mais estáveis pode ser feito com a adição de agentes estabilizantes (mais viscosos), como por exemplo, Triton X-100, Viscalex, glicerol, trietanolamina, entre outros. De acordo com a literatura o fator mais crítico no preparo de suspensões está no tamanho das partículas da amostra, que deve ser a menor possível. Logo, uma moagem eficiente da amostra antes do preparo das suspensões é primordial (LOMBARDI, 2001).

Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura que empregam as técnicas FAAS, ICP-OES e GFAAS na introdução de amostras na forma de suspensões dentro do atomizador (ANTHEMIDIS; PLIATSIKA, 2005; CARRIÓN et al., 1987; FULLER; HUTTON; PRESTON, 1981; MIERZWA et al., 1998). Segundo Jackson (1999) a técnica GFAAS é inerentemente mais adequada para a análise de sólidos quando comparada com as técnicas FAAS e ICP-OES. Os problemas encontrados quando se usam as técnicas FAAS e ICP-OES são parecidos, e estão associados principalmente a baixa eficiência no transporte e na atomização da amostra, o que leva a erros sistemáticos, ao menos que seja feita uma compatibilização com padrões que contenham a mesma natureza das amostras. Evidentemente, esses problemas podem ser minimizados na técnica ICP-OES, uma vez que nebulizadores específicos para a introdução de suspensões podem ser utilizados e o plasma fornece uma energia maior que a chama, aumentando assim a eficiência no transporte e na atomização da amostra, respectivamente.

Outras dificuldades intrínsecas a análise de suspensões, mesmo quando se emprega a técnica GFAAS são as pequenas faixas de trabalho permitidas (máximo 10% m/v), aumento nos sinais de fundo, diminuição na

precisão dos resultados e diminuição do tempo de vida útil do tubo de grafite. Algumas estratégias para minimizar/eliminar esses problemas constam do uso de pirólise assistida com ar/O₂ (EBDON; PARRY, 1988), uso de pirólise assistida com modificadores oxidantes (VIÑAS et al., 1995), construção de curvas de temperaturas de pirólise e atomização também em suspensões (ARRUDA; GALLEGO, VALCÁRCEL, 1994), emprego de corretores de fundo mais eficientes (corretores de fundo por efeito Zeeman) e emprego de modificadores permanentes para aumentar o tempo de vida útil do tubo (FLORES, PÉREZ; ARRUDA, 2005).

Vários trabalhos também têm sido encontrados na literatura descrevendo procedimentos que empregam decomposição on-line (total ou parcial) nos mais diversos tipos de amostras. Normalmente, esses procedimentos associam as vantagens da análise por injeção em fluxo (FIA) com as encontradas na dissolução de amostras em fornos de microondas (ALMEIDA et al., 1997). As vantagens dessa associação são:

- a) maior automação do processo e, conseqüentemente, maior rapidez nas análises e menores riscos de contaminação,
- b) menores quantidades de amostras e reagentes são requeridas (menor contaminação, menor custo),
- c) possibilidade de acoplamento com várias técnicas e instrumentação.

Em 1998, Burguera e Burguera publicaram um trabalho de revisão de preparo de amostras assistidas por microondas usando-se sistemas em fluxo. Adicionalmente, outras publicações podem ser encontradas na literatura (ALMEIDA et al., 1997; NEIRA; REYES; NÓBREGA, 2000; OLIVEIRA; SARTINI; ZAGATTO, 2000; PEREIRA-FILHO; ARRUDA, 1999).

Revisão da Literatura

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Rochas inorgânicas usadas na agricultura orgânica

As plantas necessitam para viver, crescer e produzir, de alguns elementos que são considerados essenciais como nitrogênio, fósforo, potássio, carbono, oxigênio, hidrogênio, cálcio, magnésio, enxofre, zinco, boro, ferro, manganês, molibdênio, cobalto, cobre e cloro. Um elemento químico é considerado essencial quando sua presença é fundamental para o desenvolvimento da planta e quando satisfaz os seguintes critérios (ARNON, 1950):

- a) na ausência do elemento a planta não completa seu ciclo de vida;
- b) o elemento não pode ser substituído por nenhum outro e,
- c) o elemento deve estar diretamente envolvido no metabolismo da planta, como constituinte de um composto essencial, ou ser necessário para a ação de um sistema enzimático.

Os elementos essenciais são divididos em dois grupos: os macronutrientes (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S) e os micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Co). Entre os macro-nutrientes, alguns elementos são constitucionais, ou seja, fazem parte das moléculas que mantêm a vida vegetal (C, H, O, N, Ca e S). Um elemento é classificado como macro ou micronutriente em função das concentrações usualmente presentes nas plantas. Os critérios de essencialidade não impedem que outros microelementos sejam acrescentados à relação acima, como por exemplo, I, Se, Si, Ni, Cr, Sn, V e As (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1980).

Os macronutrientes carbono, oxigênio e hidrogênio são retirados das plantas, do ar e da água, enquanto que os demais nutrientes, que são conhecidos como nutrientes minerais, normalmente são retirados das reservas do solo. A única exceção é no caso das leguminosas que têm a capacidade de retirar nitrogênio do ar, por meio da simbiose com bactérias e alguns fungos presentes nas raízes. Também, os nutrientes minerais podem ser classificados em macronutrientes primários, secundários e micronutrientes e o fornecimento desses nutrientes às plantas ocorre das seguintes maneiras (MALAVOLTA, 1980):

- **Macronutrientes primários (N, P e K) e secundários (Ca, Mg e S):** são tradicionalmente fornecidos às plantas por meio da adubação radicular, devido as grandes quantidades consumidas. As fontes mais comuns destes nutrientes são: calcário, gesso, nitrocálcio, sulfato de amônio e super fosfato simples. Em certas situações, tanto os macronutrientes primários como os secundários podem ser também suplementados através da nutrição foliar.
- **Micronutrientes ou Oligo-elementos (Zn, Fe, Cu, Mn, Co, entre outros):** devido às pequenas quantidades retiradas pelas plantas e as interações que sofrem no solo, podem ser fornecidos totalmente por meio de fertilização foliar. A única exceção é o caso do molibdênio e do cobalto, que devem ser usados como tratamento de sementes para leguminosas, para estimular o processo de fixação biológica de nitrogênio logo após a germinação das plantas (FERREIRA; DA CRUZ, 1991).

Normalmente, os macronutrientes primários e secundários estão associados à composição das proteínas (N, S e Mg), clorofila (N, Mg), enzimas (N), no enraizamento das plantas (P), formação e fecundação das flores (P, Ca), fixação dos frutos (P), formação das sementes (P), formação e translocação de açúcares (Mg, K), número, peso, aroma, sabor e resistência dos frutos (K), processo fotossintético (S, Mg), síntese da parede celular (Ca), crescimento do sistema radicular e do tubo polínico (Ca) e são fundamentais para o crescimento vegetativo (N, S) (MALAVOLTA, 1980).

Por outro lado, os micronutrientes aparecem nos tecidos vegetais em concentrações muito baixas, na ordem de mg kg^{-1} ou $\mu\text{g kg}^{-1}$. Dentre as principais funções dos micronutrientes Co, Cu, Fe, Mn e Zn pode-se destacar (MALAVOLTA, 1980; FERREIRA; DA CRUZ, 1991):

- A fixação biológica de nitrogênio em leguminosas (Co, Cu),
- Ativação de catálise de várias reações enzimáticas (Fe, Cu, Mn, Zn),
- Participação na síntese da clorofila (Fe, Cu, Mn, Zn),
- Importância na síntese proteica (Fe, Cu),
- Importância no processo fotossintético (Fe, Mn),
- Funções metabólicas das plantas (Fe, Cu, Zn),
- Aumento da resistência das plantas a diversas doenças fúngicas e bacterianas (Cu),
- Aceleração da germinação e amadurecimento das plantas (Mn),
- Melhora da disponibilidade de P e Ca para as plantas (Mn),
- Participação na formação de auxinas, que são hormônios que regulam o desenvolvimento (crescimento) vegetativo (Zn) e,
- Produção de carboidratos (Cu, Zn)

Normalmente, esses nutrientes são fornecidos por meio de fertilizantes químicos, sendo que os mais comuns têm na sua composição básica diferentes misturas de formulações N: P: K (A INDÚSTRIA..., 1991), além de fontes inorgânicas, quelatos sintéticos, complexos orgânicos e óxidos silicatados (LOPES, 1999).

Outras fontes alternativas para o fornecimento de micronutrientes às plantas são empregadas na Agricultura Orgânica e Biodinâmica, bem como na Agricultura de Processos, como os pós de rochas pouco solúveis, esterco e compostos fermentados, uma vez que materiais inorgânicos solúveis como KCl, KNO₃, NH₄H₂PO₄, entre outros, não são aceitos (D' ANDRÉA, 2003).

Desde 2000, o mercado de alimentos orgânicos brasileiro cresce a razão anual de 50%. A previsão para 2005 era de um faturamento de 300 milhões de dólares, um naco que representa 0,5% do faturamento da indústria de alimentos no país. Nos últimos cinco anos, a produção de alimentos orgânicos no país passou de 40.000 para 300.000 toneladas. Nos Estados Unidos, por exemplo, os produtos orgânicos movimentaram 12 bilhões de dólares em 2004, o que equivale a 3% do faturamento da indústria de alimentos. Dentre os vários produtos orgânicos disponíveis no mercado destacam-se principalmente o café, açúcar, algodão, mel e soja. (ZAKABI, 2005)

Os pós de rochas utilizados na agricultura orgânica podem variar quanto a sua composição química e apresentam as seguintes vantagens (D' ANDRÉA, 2000; D' ANDRÉA, 2003):

- a) Economia de mão de obra, pois devido sua baixa solubilidade não há necessidade de se adubar com frequência, devido a seu efeito residual prolongado,

- b) Não acidifica o solo, pelo contrário, corrige seu pH,
- c) Não saliniza o solo,
- d) Evita a absorção excessiva de K solúvel pela planta, o que resultaria em menor absorção de Ca e Mg,
- e) Evita a fixação de P solúvel (desbalanceador quando em excesso, induzindo a carência de micronutrientes), que ocorre quando se utiliza superfosfato simples, pela presença de H_2SO_4 residual, sendo que a presença de sílica na farinha de rocha também dificulta a fixação de fósforo e,
- f) A matéria prima é inteiramente nacional, fácil de ser explorada e encontra-se distribuída em todas as regiões do país.

No Brasil, alguns produtores orgânicos usam e vendem rochas inorgânicas com essa finalidade. Deste modo, torna-se necessária a avaliação quantitativa de minerais inorgânicos para que haja um controle de qualidade desses produtos e para que se tenha uma tabela de composição desses materiais.

Há vários procedimentos propostos na literatura para o pré-tratamento de rochas na determinação de elementos inorgânicos. Algumas das características desses procedimentos podem ser visualizadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Revisão da literatura para o pré-tratamento de amostras de rochas na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.

Amostras	Pré-tratamento (s) empregado (s)	Elementos determinados/ Técnica (s) empregada (s)	Referência Bibliográfica
Rochas, solos e sedimentos	Suspensões e dissolução úmida ($\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{HClO}_4$) em cadinhos de platina. Resíduos insolúveis decompostos por fusão com Na_2CO_3	Cu, Ni, Co, Mn, Zn e Pb / FAAS	WILLIS, 1975
Rochas silicatadas e sedimentos marinhos	Dissolução úmida (água régia + HF) - bombas de teflon Adição posterior de H_3BO_3 p/ eliminar íons F^-	21 elementos / FAAS	RANTALA; LORING, 1975
Rochas silicatadas	Análise direta de sólidos. Procedimento comparativo: dissolução úmida usando-se a mistura HClO_4/HF	Ag / GFAAS	EAMES; MATOUSEK, 1980
Amostras certificadas geológicas (rochas) e ambientais	Fusão com NaOH em cadinho de grafite – dissolução posterior com HCl concentrado	50 elementos/ ICP-OES	FLOYD; FASSEL; D'SILVA, 1980
Materiais geológicos certificados (rochas)	Suspensões	12 elementos / FAAS, ICP-OES, GFAAS	FULLER; HUTTON; PRESTON, 1981
Materiais certificados geológicos (rochas) e ambientais	Dissolução úmida (água régia + HF - béquer PTFE) em forno de microondas doméstico. Adição posterior de H_3BO_3 p/ eliminar íons F^-	25 elementos / ICP-OES	NADKARNI, 1984
Rochas silicatadas e materiais argilosos	Suspensões e fusão em mufla a 1500°C (ausência de fundentes)	Si, Al, Ca, Mg, Fe, Ti, Mn e Cu / ICP-OES com nebulizador para sólidos	HALICZ; BRENNER, 1986
51 SRMs geológicos (incluindo rochas)	Dissolução via úmida em bombas de policarbonato usando aquecimento por microondas ($\text{HCl} + \text{HNO}_3 + \text{HF}$). Adição posterior de H_3BO_3 p/ eliminar íons F^-	~ 43 elementos / ICP-OES	LAMOTHE; FRIES; CONSUL, 1986
60 SRMs geológicos (incluindo rochas)	Dissolução úmida em béquer de PTFE aberto. ($\text{HF} + \text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$)	Ag, Bi, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn / SIMAAC com atomização em chama	KANE, 1989
8 SRMs geológicos (incluindo rochas)	Extração seletiva com MIBK. Preparo posterior com solução de EDTA. Comparação com dissolução úmida em béquer de PTFE ($\text{HF} + \text{HNO}_3 + \text{HClO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$)	Bi / FAAS	CHATTOPADHYAY; NATHAN, 1991

Tabela 3.1 - Continua.

Amostras	Pré-tratamento (s) empregado (s)	Elementos determinados/ Técnica empregada	Referência Bibliográfica
Rochas e minerais	Dissolução úmida a temperatura ambiente com HF + água régia. Adição de H ₃ BO ₃ p/ eliminar íons F ⁻	SiO ₂ – espectrofotometria de UV visível – método do azul de molibdênio	RAO; REDDI; RAO, 1992
Rochas silicatadas e 6 SRMs geológicos	Dissolução úmida em béquer de teflon. O bequer é colocado em um bloco digestor. Mistura ácida: HF + HNO ₃ + HCl + HClO ₄	Sc, Y e oito elementos de terras raras / ETAAS, ICP-OES e ICP-MS	GUPTA, 1993
47 SRMs geológicos (incluindo rochas)	Dissolução úmida em béquer de PTFE em chapa aquecida (HF + HClO ₄ + HCl + H ₃ BO ₃)	Mn / FAAS	CHATTOPADHYAY; SAHOO, 1993
Materiais geológicos (rochas silicatadas)	Dissolução úmida em bombas de teflon aquecidas em microondas (HF + água régia + H ₃ BO ₃ + EDTA)	12 elementos / GFAAS simultâneo	GUPTA; BOUVIER, 1995
Rochas	Três tipos: dissolução úmida em béquer de teflon e em frascos de teflon pressurizados (HF + HNO ₃ + HClO ₄) e Fusão com metaborato de lítio em cadinhos de grafite	30 elementos / ICP-MS	BALARAM; RAMESH; ANJIAH, 1995
Rochas silicatadas e 7 SRMs de rochas	Dissolução úmida em forno de microondas doméstico acoplado a um sistema FIA (HF + HNO ₃)	Mg / FAAS	ALMEIDA et al., 1997
Rochas e outros materiais	Dissolução úmida em béquer de teflon (HF + água régia + HClO ₄). Fusão dos resíduos com Na ₂ O ₂ e posterior dissolução com HCl	Au, Pd, Pt e Rh / ICP-OES, FAAS	MALHOTRA; SATYANARAYANA; RAMANAIAH, 1999
Rochas em geral	Não mencionado	23 elementos/ ICP-OES	IWANSSON; LANDSTRÖM, 2000
Rochas magmáticas	Extração em banho ultra-sônico com HF e HCl 1% (v/v)	Mn e Fe / FAAS	ÖZKAN; AKÇAY, 2002
2 SRMs de rochas + 2 rochas usadas na agricultura orgânica	Dissolução úmida em forno de microondas convencional, bombas de teflon e bloco digestor. Reagentes empregados: HF, HNO ₃ , HCl, HClO ₄ e H ₂ O ₂	Cu, Fe, Mn e Zn / FAAS	FILHO; POLITO; NETO, 2004

Sem dúvida, é relevante o controle de qualidade de pós de rochas empregados na agricultura orgânica, bem como, torna-se fundamental o desenvolvimento de procedimentos para o preparo de amostras quando se deseja determinar macro e micronutrientes com exatidão, precisão, baixo custo, praticidade, rapidez e mínima periculosidade possível.

3.2. Café – Importância no cenário mundial e nacional

Em termos de comércio internacional, o café é o segundo produto em valor, movimentando aproximadamente US\$ 35 bilhões por ano, sendo superado apenas pelo petróleo (DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001 a). Os maiores produtores mundiais de café são Brasil, Colômbia, México, Guatemala, Indonésia, Vietnã, Costa do Marfim, Índia, Uganda e Etiópia. No final da década de 70 era de 10 milhões de hectares a área cultivada com café no mundo, evoluindo para 13,5 milhões de hectares no final dos anos 80, quando começou a cair. Hoje, situa-se em torno de 11,5 milhões de hectares. O Brasil é o maior produtor, com 28% da produção mundial, em segundo lugar aparece a Colômbia, com 14%, seguida pela Indonésia com 7%, México e Vietnã com 5%. A África participa com 20%, sendo o seu maior produtor a Costa do Marfim e a América Central participa com 14%. A produção mundial de café nos últimos dez anos situou-se, em média, em 97 milhões de sacas de 60 kg (CAFÉ..., 2005).

As duas espécies mais cultivadas no mundo são a *Coffea arabica* ou, simplesmente, café arábica e a *Coffea canephora*, o café robusta ou conillon. A espécie arábica produz cafés de melhor qualidade, mais finos e requintados. Possui aroma intenso e os mais variados sabores, com

inumeráveis variações de corpo e acidez (MARTÍN; PABLOS; GONZÁLEZ, 1998).

Nos últimos dez anos, o Brasil colheu, em média, cerca de 27 milhões de sacas de 60 kg por ano. Minas Gerais é o maior estado produtor, respondendo a 43% da produção do café brasileiro (considerando a média de 1988 a 1998). Esta produção está concentrada principalmente no Sul do Estado, mas, nos últimos anos também vem se destacando o cerrado mineiro, com a cafeicultura irrigada. Em segundo lugar vem o Espírito Santo com 17% (maior produtor de café Robusta), seguido por São Paulo (16%), com destaque para a região mogiana e oeste. O Paraná é o quarto maior produtor, com 7% do café nacional (terceiro se for considerado apenas o café arábica). Juntos, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Paraná produzem 83% do café brasileiro. Bahia e Rondônia também vêm se destacando na produção de café (CAFÉ..., 2005; DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001 a).

Segundo dados da Organização Internacional do Café o Brasil exporta hoje 26,5 milhões de sacas de café por ano, em um mercado mundial de exportações de 86,5 milhões de sacas. Isso corresponde a uma participação atual brasileira de 31% no mercado mundial. Apesar de ocupar a posição de maior produtor e exportador mundial de café, alguns especialistas temem que o país não consiga manter essa posição caso não haja uma renovação do parque cafeeiro em pelo menos 40%. Este fato deve-se principalmente ao aumento significativo da demanda desse produto tanto a nível mundial como nacional. Segundo dados da ABIC (Associação Brasileira das Industrias de Café) o consumo atual brasileiro é de 15,5 milhões de sacas por ano e deve atingir 21 milhões de sacas por ano em 2010 (ZAFALON, 2005).

A tendência atual está mais voltada para uma produção ecológica e socialmente sustentável, agregando mais valor ao produto e conseguindo

maior reconhecimento e reputação nos mercados internos e externos. Este nicho de mercado cresce 15% ao ano, contra 1,5% do café tradicional (ARAÚJO, 2004). Resumindo, nunca se comentou tanto em qualidade do café como nos tempos atuais. Há, então, um novo desafio: mostrar aos consumidores, em todo mundo, que o café brasileiro possui características qualitativas.

Qualidade do café, no entanto, é um assunto que gera muitas controvérsias; porém, pode ser definida como sendo as características físicas do grão cru e torrado somado a características sensoriais da bebida.

Entre os vários parâmetros que afetam a qualidade do café, destaca-se a presença de grãos defeituosos. Vários estudos tentam correlacionar a composição química do grão de café com a qualidade final do produto. Isso se faz visando garantia de qualidade de uma determinada amostra de café pela diferenciação física e química de grãos sadios e defeituosos. Assim, pode-se empregá-los nos procedimentos de classificação, eliminando a subjetividade dos métodos atualmente empregados (COELHO; PEREIRA, 2002; DA SILVA FILHO, 2004).

Compostos orgânicos (como por exemplo, extrato etéreo, proteínas totais, fibra bruta, acidez titulável, ácidos clorogênicos, cafeína, sacarose, trigonelina, entre outras substâncias) são assim avaliados, bem como alguns elementos inorgânicos essenciais e/ou tóxicos (ANDERSON; SMITH, 2002; COELHO; PEREIRA, 2002; FERNANDES et al., 2002).

Elementos inorgânicos são quantificados em diversos estudos tanto na avaliação de diferentes procedimentos para o preparo de amostras de café verde e torrado (KRIVAN; BARTH; MORALES, 1993; MORGANO et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003), como para diferenciar possíveis regiões de origem, aplicando-se para isso estudos quimiométricos (ANDERSON;

SMITH, 2002; KRIVAN; BARTH; MORALES, 1993; MARTÍN; PABLOS; GONZÁLEZ, 1998). Segundo Anderson e Smith (2002), a determinação da origem geográfica de produtos alimentícios torna-se uma área de pesquisa ativa e crescente, uma vez que, com a globalização, as indústrias agro-alimentícias passaram a buscar a autenticidade dos alimentos. Isso inclui tanto autenticidade geográfica como verificação de possíveis adulterações em produtos. Porém, é importante desenvolver técnicas que sejam empregadas para determinar amostras de origem desconhecidas, em que os efeitos de armazenagem sejam minimizados (por exemplo, modificações de teores de compostos orgânicos). Portanto, um método que seja robusto e independente de variações de condições de estocagem é mais desejável. O uso de minerais e elementos-traço é adequado devido a sua maior estabilidade frente a compostos orgânicos, como por exemplo, vitaminas. A Tabela 3.2 ilustra alguns trabalhos encontrados na literatura que empregam diferentes procedimentos de preparo de amostras de café verde e torrado na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.

Tabela 3.2 - Revisão da literatura para o pré-tratamento de amostras de café na determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.

Amostras	Pré-tratamento (s) empregado (s)	Elementos determinados/ Técnica (s) empregada (s)	Referência Bibliográfica
Café e chá	Infusão de 5 g de café em água quente + 20 mL de citrato de amônio 50% (m/v). Solução avolumada para 100 mL. Para [Pb] < 0.02 mg L ⁻¹ extração com 2,5 mL MIBK.	Pb / espectrometria de absorção atômica com filamento de carbono	KAPUR; WEST, 1974
Café e chá	Decomposição via seca em mufla (cinzas a baixa temperatura: 350°C) com posterior dissolução em HCl 1 N e digestão ácida usando-se a mistura HNO ₃ e H ₂ SO ₄	Cd e Co / FAAS	HORWITZ; VAN DER LINDEN, 1974
Café verde, torrado e solúvel (bebida)	Decomposição via seca em mufla a 580°C por 17 h (cadinho de Pt). Dissolução posterior com HCl diluído. Infusões em água quente para avaliar [K] extraída.	K / FAES	CLARKE; WALKER, 1974
Café torrado e bebida	Decomposição via seca em mufla a 500°C das amostras de café em pó seguido de extração com HCl 20% (v/v)	Cu / FAAS	LARA; TOLEDO; TAKAHASHI, 1975/76
Alimentos, entre eles café solúvel	Decomposição via úmida usando-se 100 mg amostra + 1 mL HNO ₃ conc.. Frascos em forno elétrico por 1,5 h a T = 130°C. Adição de tiouréia para evitar interferências (modificador de matriz). Comparação com a análise direta das amostras	Cu e Pb / Espectrometria de Absorção Atômica como uso de um micro-tubo de Mo como atomizador.	SUZUKI; OHTA; KATSUNO, 1982
Café verde e torrado	Decomposição via úmida usando-se a mistura HNO ₃ / HClO ₄ / H ₂ SO ₄ e extração com HCl 6 mol L ⁻¹	Sb / HGFAAS	KUENNEN et al., 1982
Café torrado e Chá	Infusão com água quente de torneira de diferentes fontes. Vários recipientes diferentes também foram usados	8 elementos/ FAAS	GILLIES; BIRKBECK, 1983
Café verde e chá	Decomposição via úmida: 0,25 g amostra (frasco de micro Kjeldahl - 4 mL de HNO ₃ / 1 mL de HClO ₄) por 30 min. Infusões com 500 mg de café em 45 mL de água a 95 °C.	Al / ICP-OES, GFAAS	KOCH; POUGNET; DE VILLIERS, 1989
Café verde da espécie arábica de 8 países diferentes	Decomposição via úmida de 200 mg café em 3mL HNO ₃ (65% v/v) + 0,1 mL HF (40 % v/v) em frascos de teflon pressurizados a 160 °C por 4 horas	20 elementos / FAAS, GFAAS	KRIVAN; BARTH; MORALES, 1993

Tabela 3.2 - Continua.

Amostras	Pré-tratamento (s) empregado (s)	Elementos determinados/ Técnica (s) empregada (s)	Referência Bibliográfica
Vinhos, águas, cerveja e infusões de chá e café	Diluição simples em meio ácido. Obs: Os elementos que foram encontrados em maior concentração nas infusões de café foram Cu, Mn e Rb.	15 elementos / GFAAS, ICP-OES, ICP-MS, HG-AAS	MINOIA et al., 1994
2 amostras de café solúvel comerciais	6 procedimentos estudados, divididos em 3 grupos (1- microondas focalizadas; 2- bloco digestor e 3- bombas de teflon) todos empregando decomposição via úmida com diferentes misturas envolvendo HNO ₃ , H ₂ SO ₄ e H ₂ O ₂	20 elementos / ICP-OES	DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 1997
41 amostras de café verde de diferentes países e espécies	Decomposição via úmida de 3 g café em uma mistura contendo H ₂ SO ₄ / HNO ₃ (1:5). Não é mencionado em que equipamento as amostras foram solubilizadas	11 elementos/ ICP-OES	MARTÍN; PABLOS; GONZÁLEZ, 1998
9 classes de bebidas, entre elas café em pó	Digestão via seca em mufla a 550°C, dissolução posterior das cinzas em HNO ₃ 1 mol L ⁻¹	Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn / FAAS	ONIANWA et al., 1999
Café e chá	Suspensão 0,1% m/v em 0,2% v/v HNO ₃ e 10% v/v Triton X-100. Procedimento comparativo: dissolução úmida em bloco digestor com 10 mL HNO ₃ + 5 gotas H ₂ O ₂ a 105 °C; t = 4 h.	Al / GFAAS	MAGALHÃES et al., 1999
21 amostras de café solúvel brasileiro	2 procedimentos que empregam dissolução úmida em forno de microondas focalizado. Massa café variável. Reagentes usados: HNO ₃ e H ₂ O ₂ . Tempo variável	17 elementos / ICP-OES	DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001a
21 amostras de café solúvel brasileiro	Dissolução úmida em forno de microondas focalizado com HNO ₃ + H ₂ O ₂ . Adição posterior de HCl 6 mol L ⁻¹ para reduzir Se (VI) em Se (IV) para geração do hidreto	As e Se / HG-ICP-OES	DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001b
45 amostras de café verde dos estados de SP, MG e BA	2 procedimentos estudados: 1- via seca (1 g de amostra em mufla a 450°C – cápsulas de Pt por 24 h – dissolução das cinzas com HCl conc); 2- via úmida (1 g de amostra em bloco digestor com HNO ₃ e H ₂ O ₂ por 15 h e 30 min	12 elementos/ ICP-OES	MORGANO et al., 2002

Tabela 3.2 - Conclusão.

Amostras	Pré-tratamento (s) empregado (s)	Elementos determinados/ Técnica (s) empregada (s)	Referência Bibliográfica
160 amostras de café torrado de diversos países	Dissolução úmida de 1 g de amostra em bloco digestor usando-se 3 mL HNO ₃ por 12 h a 180 °C	18 elementos/ ICP-OES	ANDERSON; SMITH, 2002
Café torrado e leite em pó + 2 SRMs de leite em pó	3 procedimentos - dissolução úmida: 1- bloco digestor (500 µL TMAH 25% v/v + 350 mg café a 80 °C por 10 min); 2- bloco digestor (10 mL HNO ₃ + 350 mg café a 115 °C por 18 h); 3- forno microondas (3 mL HNO ₃ + 1 mL H ₂ O ₂ por 18 min)	11 elementos/ ICP-OES	RIBEIRO et al., 2003
Vários alimentos, incluindo café	Dissolução úmida de 0,5 g de café torrado em forno de microondas empregando-se 6 mL HNO ₃ + 1 mL H ₂ O ₂	Co / GFAAS	SAULEA et al., 2004
Café torrado, peixe e 2 SRMs biológicos	2 g de café foi tratado com 4 g de Mg (NO ₃) ₂ e 10 mL de HNO ₃ conc. em um béquer de 150 mL até quase secura. Cinzas: mufla de 200 °C a 450 °C em 2 h e 30 min. T = 450 °C por 5 h. Cinzas solubilizadas com solução 5 mol L ⁻¹ HCl contendo 0,5 g de KI e 1,0 g de ácido ascórbico	As / FI-HG AAS	MORETTO; CADORE, 2004
Chocolate e café torrado em pó	Suspensão 0,6% (m/v) em meio de 0,5% v/v Triton X-100 e 1% v/v HNO ₃ . Comparação com método de dissolução úmida em béquer de teflon inserido em bomba pressurizada. Reagente: 3 mL HNO ₃ 65% (v/v) a 120-130°C por 2 h	10 elementos / ICP-OES, GFAAS e FAAS	ANTHEMIDIS; PLIATSIKA, 2005

3.3. Antibióticos sólidos contendo agentes bacterianos de origem fermentativa utilizados em processos fermentativos alcoólicos industriais no controle de bactérias contaminantes

Na etapa fermentativa do processo de produção de álcool as leveduras convertem os açúcares presentes no substrato em etanol e gás carbônico. Nesta fase, podem ocorrer vários problemas, entre os principais merece destaque a contaminação bacteriana (CHERUBIN, 2003).

Devido à temperatura, acidez, concentração de açúcares e de nutrientes, entre outros parâmetros condicionantes durante a fermentação alcoólica, há o desenvolvimento de muitos microorganismos como bactérias e várias espécies de leveduras, além da *Saccharomyces cerevisiae*, que passam a ser consideráveis contaminantes.

Os processos de produção de álcool existentes no Brasil reutilizam o fermento em ciclos fermentativos consecutivos. Também, durante o processo de centrifugação, os microorganismos contaminantes são reciclados juntamente com o fermento e agravam os problemas associados com a contaminação bacteriana.

Dependendo do grau de contaminação bacteriana podem ser ocasionados problemas como: deterioração da cana, aumento da floculação, redução da viabilidade da levedura, redução de massa de fermento e a formação de produtos indesejáveis que ocasionam o consumo de sacarose e de outros nutrientes presentes no mosto (CHERUBIN, 2003). Por outro lado, níveis elevados de contaminação provocam inconvenientes operacionais como a dificuldade de centrifugação, aumento do uso de ácido no tratamento de fermento, aumento do tempo de fermentação e elevação das quantidades de

açúcares não fermentados que levam a redução do rendimento da fermentação alcoólica. Porém, sem dúvida, os maiores prejuízos causados pela contaminação bacteriana são: a degradação da sacarose e a formação dos ácidos lático e acético, que ocasionam perdas de açúcar e intoxicação das leveduras (FREDERICK, 1994; OLIVA-NETO; YOKOYA, 1997).

A redução do rendimento fermentativo devido à presença de bactérias lácticas é óbvia, pois, quando uma molécula de glicose é convertida em duas de ácido lático o resultado é que duas moléculas de etanol deixaram de ser produzidas pela levedura (NARENDRANATH et al., 1997). Além disso, muitos nutrientes são desviados para a multiplicação bacteriana e deixam de ser aproveitados pela levedura. Isso significa que grandes prejuízos econômicos são constatados se não for feito um controle adequado da contaminação bacteriana. Normalmente, esse problema é solucionado ou minimizado com práticas usuais como o tratamento ácido (H_2SO_4) do creme de levedura e com a aplicação de antibióticos (CHERUBIN, 2003).

Para os requerimentos industriais recentes, a determinação exata e precisa de elementos traço de contaminantes inorgânicos nesse tipo de amostra é muito importante, uma vez que esses antibióticos sólidos são adicionados às dornas de fermentação da cana de açúcar podendo contaminar produtos finais como o açúcar, o etanol e os resíduos gerados (como por exemplo, descartes sólidos e efluentes líquidos) que são usados na agricultura ou para a fabricação de rações animais.

Apesar de não haver uma legislação brasileira que especifique teores máximos permitidos para contaminantes inorgânicos (por exemplo, Pb, Cd, Hg, As, entre outros) nesses tipos de produtos, alguns produtores recorrem a análises laboratoriais para poderem exportar seus produtos com segurança.

Em recente pesquisa feita na literatura, nenhum trabalho foi encontrado para o pré-tratamento desse tipo de amostra e subsequente determinação de elementos inorgânicos por técnicas espectrométricas.

Portanto, é de suma importância (dentro de um programa de qualidade e para fins comerciais) o desenvolvimento de procedimentos para o preparo de antibióticos sólidos (usados no controle de bactérias contaminantes em processos fermentativos alcoólicos) na determinação de contaminantes inorgânicos com exatidão, precisão, baixo custo, praticidade, rapidez e mínima periculosidade possível.

Parte

Experimental

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais usados na análise de rochas moídas

4.1.1 Instrumentação

Na análise dos micronutrientes Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de rochas foi empregado um espectrofotômetro de absorção atômica em chama com corretor de fundo de fonte contínua (*Perkin-Elmer*, Modelo AAnalyst[®] 100). Os parâmetros instrumentais são dados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Parâmetros Instrumentais (Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama *Perkin-Elmer* AAnalyst[®] 100)

Parâmetros específicos para os elementos	Cu	Fe	Mn	Zn
Fonte de radiação	HCL	HCL	HCL	HCL
Corrente lâmpada (mA)	15	30	30	15
Comprimento de onda (nm)	324,8	248,3	279,5	213,9
Fenda de saída (nm)	0,7	0,2	0,2	0,7
Intervalo de trabalho (mg L ⁻¹)	0,5-8,0	0,5-6,0	0,2-2,5	0,1-0,8
Parâmetros específicos instrumentais				
Corretor de fundo	Lâmpada de deutério			
Modo de medida	Absorbância			
Composição da Chama	Ar/ Acetileno (oxidante)			

Bombas de Teflon[®] caseiras, bloco digestor (*Tecnal*, Modelo TE-040/25 com capacidade para 40 tubos digestores) e um sistema de preparação de amostra em forno de microondas com cavidade (*Multiwave*[®],

Anton Paar, capacidade para seis frascos pressurizados com capacidade de 50 mL cada de TFM[®] - PTFE modificado quimicamente com estabilidade dimensional melhorada) foram empregados para solubilizar as amostras.

4.1.2 Reagentes, soluções e amostras

Água de alta pureza obtida por meio de um sistema de osmose reversa *Millipore Rios 5*[®] e um sistema desionizador *Millipore Milli-Q*[®] foi usada em todo trabalho

Todos os ácidos inorgânicos usados foram de grau analítico P.A. (HNO₃ 65% (v/v), HCl 37% (v/v), HClO₄ 70-72% (v/v) *Merck*) e HF 48% (v/v) (*Jean Lab*). Peróxido de Hidrogênio 30% (v/v) (*Merck*) foi usado no procedimento de decomposição 4 (Tabela 4.2). Ácido Bórico (99.5%, *Synth*) foi usado no preparo de soluções saturadas com a finalidade de remover o excesso de HF.

Soluções estoque analíticas (1000 mg L⁻¹) foram preparadas por meio de diluições apropriadas das soluções padrão de absorção atômica (*Normex*[®], *Carlo Erba*). Para a calibração, soluções analíticas dentro dos intervalos de 0,5-8,0 mg L⁻¹ (Cu), 0,5-6,0 mg L⁻¹ (Fe), 0,2-2,5 mg L⁻¹ (Mn) e 0,1-0,8 mg L⁻¹ (Zn) foram preparadas em meio de HNO₃ 1% (v/v) a partir de diluições apropriadas da solução estoque.

Dois materiais de referência padrão de rochas foram usados para avaliar a exatidão dos métodos: GBW 07104 (*Rock*) e NIST 120 c (*Phosphate Rock*).

Papel de filtro (*Framex*) de filtração média foi usado quando necessário.

4.1.3 Descontaminação e armazenagem dos materiais

Inicialmente, os materiais plásticos e vidrarias foram lavados com água de torneira. Em seguida, foram colocados em um banho de descontaminação contendo uma solução de HNO_3 10% (v/v), permanecendo por um período de 24 horas. Feito isso, todo material plástico e vidraria foram lavados abundantemente com água *Milli-Q* (resistividade 18 m Ω cm).

As soluções foram armazenadas em frascos de polietileno e colocadas em geladeira para melhor conservação.

4.2 Procedimentos testados na decomposição de rochas moídas

Os seis procedimentos de decomposição estudados estão listados na Tabela 4.2. Eles se dividiram em três grupos:

- **Grupo I:** dissolução das amostras em bombas de Teflon; abrange o procedimento 1,
- **Grupo II:** dissolução das amostras em bloco digestor; abrange os procedimentos 2, 3 e 4,
- **Grupo III:** dissolução das amostras em sistema de forno de microondas fechado; abrange os procedimentos 5 e 6.

Tabela 4.2 - Procedimentos de decomposição testados para o preparo de amostras de rochas.

ID ^a	Grupo	Sistema	Massa da amostra (g)/Volume final (mL)	Reagentes	Tempo/Potência ou Temperatura
1	I	Bombas de Teflon *	0,2 ou 0,4 / 25	HNO ₃ (1 mL) HCl (3 mL) HF (4 mL) HClO ₄ (1mL)	15 min / 65 °C (bombas abertas) 4 h / 140 °C (bombas fechadas) 210 °C próximo a secura (bombas abertas)
2	II	Bloco Digestor	0,6 / 50	HNO ₃ (3 mL) HCl (1 mL)	5 h / 120 °C
3	II	Bloco Digestor	0,6 / 50	HNO ₃ (1 mL) HCl (3 mL)	5 h / 120 °C
4	II	Bloco Digestor	0,6 / 50	HNO ₃ (3 mL) H ₂ O ₂ (1 mL)	5 h / 120 °C
5	III	Forno de microondas	0,2 / 25	HNO ₃ (5.5 mL) HF (0.5 mL) H ₃ BO ₃ (3 mL)	35 min ^b / 1000 W 20 min / 0 W 10 min / 1000 W 15 min / 0 W
6	III	Forno de microondas	0,2 / 25	HNO ₃ (3 mL) HCl (1 mL) HF (2 mL) H ₃ BO ₃ (12 mL)	40 min ^c / 1000 W 20 min / 0 W 10 min / 1000 W 15 min / 0 W

* (JACINTHO et al., 1985), ^a Identificação do procedimento de decomposição, ^b 5 min (rampa) e 30 min (patamar), ^c 40 min (patamar). Análises realizadas em triplicatas.

4.3. Materiais utilizados na análise de café verde e torrado

4.3.1. Instrumentação

Um moinho criogênico (*Spex Freezer*, Modelo Mill 6800-115) foi empregado para moer os grãos de café verde. Uma massa de café verde foi colocada em frasco de polycarbonato, até aproximadamente metade do seu volume total, juntamente com a barra magnética, o qual devidamente fechado e adaptado em um suporte, foi imerso em nitrogênio líquido. Pelo impacto entre a amostra e a barra magnética submetida a um campo magnético oscilante ($20 \text{ impactos s}^{-1}$) a amostra foi pulverizada.

O programa do moinho constou de duas etapas: 1) 5 minutos de pré-congelamento e 2) 2 minutos de moagem (SANTOS et al.; 2002). A otimização do programa de moagem foi realizada utilizando-se os tubos de polycarbonato de maior capacidade. A Figura 4.1 ilustra o moinho criogênico e alguns de seus principais componentes.

Figura 4.1 - Moinho criogênico e alguns de seus principais componentes. (a) Moinho Criogênico (*Spex Freezer*, Modelo Mill 6800-115), (b) tubo de polycarbonato de maior capacidade e barra magnética (c) tubo de polycarbonato de menor capacidade e barra magnética.

As amostras de café moídas foram em seguida levadas para uma estufa com circulação e renovação de ar (*Tecnal*, Modelo TE 394/2) a temperatura de 60 ± 5 °C por 24 h, objetivando-se obter um valor de referência constante pela determinação do peso seco, uma vez que o peso líquido é difícil de quantificar. Uma das amostras de café verde (PG 6) também foi moída usando-se um micro moinho tipo *Willye* (*Tecnal*, Modelo TE-648) para verificar possíveis contaminações da amostra por elementos constituintes do moinho. Essa amostra foi identificada como PG 7 (ver Tabelas 5.6 e 5.7).

Um sistema fechado de forno de microondas com cavidade com controle de pressão e temperatura (*Multiwave*[®], *Anton Paar* com capacidade para seis frascos de TFM) e um bloco digestor (*Tecnal*, Modelo TE-040/25 com capacidade para 40 tubos digestores) foram empregados na mineralização das amostras para a determinação de Ca, Mg, Na, K, Cu, Fe, Mn e Zn.

Um programa para a mineralização das amostras de café foi otimizado para ambos os casos, visando principalmente a minimização do tempo total gasto na dissolução das mesmas.

Para o caso do bloco digestor, o programa de mineralização das amostras teve duração de 1 h à temperatura de 180 °C.

Para o caso do forno de microondas, o programa de aquecimento otimizado pode ser visto na Tabela 4.3, com algumas modificações realizadas no programa original fornecido pelo fabricante.

Tabela 4.3 - Programa de aquecimento do forno de microondas otimizado empregado na mineralização de amostras de café comparativamente ao programa estabelecido pelo fabricante.

Etapa	Potência Inicial (W)	Potência Final (W)	Tempo (min)
1	100 (100)*	800 (600) *	3 (5) *
2	800 (600) *	800 (600) *	5 (5) *
3	1000 (1000) *	1000 (1000) *	2 (10) *
4	0 (0) *	0 (0) *	8 (15) *

* Valores correspondentes ao programa original fornecido pelo fabricante.
tempo do programa original: 35 min; tempo programa otimizado: 18 min

A otimização do programa de aquecimento do forno de microondas foi feita aleatoriamente, variando-se as potências (iniciais e finais) e tempos empregados, além da mistura de reagentes empregados (3 mL HNO₃ 65% v/v + 2 mL H₂O₂ 30% v/v e 3 mL HNO₃ 65% v/v + 2 mL H₂O).

O mesmo bloco digestor (*Tecnal*, Modelo TE-040/25 com capacidade para 40 tubos digestores) foi utilizado na dissolução de amostras de café verde e torrado para a determinação de N pelo método Kjeldahl. O programa otimizado do bloco teve duração de 3 h e 30 min à temperatura de 350 °C.

Na análise dos nutrientes Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foi empregado um espectrômetro de absorção atômica sequencial com atomização em chama com corretor por efeito Zeeman Hitachi Z-8100. Os parâmetros instrumentais são dados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Parâmetros Instrumentais (Espectrômetro de absorção atômica em chama com corretor por efeito Zeeman Hitachi Z-8100) para a determinação de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de café verde e torrado.

Parâmetros específicos para os elementos	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
Fonte de radiação	HCL	HCL	HCL	HCL	HCL	HCL
Corrente lâmpada (mA)	7,5	7,5	7,5	15	7,5	5,0
Comprimento de onda (nm)	422,7	285,2	324,8	248,3	279,6	213,9
Fenda de saída (nm)	1,3	1,3	1,3	0,2	0,4	1,3
Intervalo de trabalho (mg L ⁻¹)	0,5-2,0	0,05-0,4	0,05-0,8	0,5-4,0	0,2-2,0	0,05-0,8
Parâmetros específicos instrumentais						
Corretor de fundo	Efeito Zeeman					
Modo de medida	Absorbância					
Composição da Chama	Ar/ Acetileno (oxidante)					

Na análise dos nutrientes Na e K foi empregado um fotômetro simultâneo com emissão em chama (*Micronal B-262*). Curvas analíticas para Na e K foram construídas dentro do intervalo de 0.5-8.0 mg L⁻¹ para ambos os elementos.

Para a determinação de N total foi empregado um sistema Kjeldahl (*Tecnal*, Modelo TE-036), ilustrado na Figura 4.2. O tempo total gasto entre a coleta do N na forma íons amônio até a sua determinação foi cerca de cinco minutos.

Figura 4.2 - Sistema Kjeldahl (*Tecnal*, Modelo TE-036) empregado na coleta do N na forma de sais de amônio. **a:** Solução de NaOH 10 mol L⁻¹; **b:** tubo digestor com NaOH 10 mol L⁻¹ + fenolftaleína + digerido da amostra; **c:** coloração cinza do indicador antes da coleta; **d:** coloração esverdeada do indicador após a coleta.

4.3.2 Reagentes, soluções e amostras

Água de alta pureza obtida por meio de um sistema de osmose reversa *Millipore Rios 5*[®] e um sistema desionizador *Millipore Milli-Q*[®] foi usada em todo trabalho.

Todos os ácidos inorgânicos e reagentes usados na decomposição das amostras foram de grau analítico (HNO₃ 65% (v/v) e H₂O₂ 30% (v/v) – *Merck* e H₂SO₄ 98% (v/v) – *Mallinckrodt*)

Soluções estoque analíticas (1000 mg L^{-1}) foram preparadas por meio de diluições apropriadas das soluções padrão de absorção atômica (*Normex*[®], *Carlo Erba*) para Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn. Para a calibração, soluções analíticas dentro dos intervalos de trabalho de $0,5\text{-}2,00 \text{ mg L}^{-1}$ (Ca), $0,05\text{-}0,4 \text{ mg L}^{-1}$ (Mg), $0,05\text{-}0,8 \text{ mg L}^{-1}$ (Cu), $0,5\text{-}4,0 \text{ mg L}^{-1}$ (Fe), $0,2\text{-}2,0 \text{ mg L}^{-1}$ (Mn) e $0,05\text{-}0,8 \text{ mg L}^{-1}$ (Zn) foram preparadas em meio de HNO_3 1% (v/v) à partir de diluições apropriadas da solução estoque.

Uma solução estoque analítica multi-elementar ($\sim 100 \text{ mg L}^{-1}$) de Na e K foi preparada por meio da dissolução em água deionizada de 0,2782 g de NaCl (*Mallinckrodt*, 99,3% m/m) e 0,1937 g de KCl (*Mallinckrodt*, 99,9% m/m). A solução resultante foi avolumada em balão de 1000 mL. Os dois compostos de partida (NaCl e KCl) foram previamente secos em estufa com circulação forçada de ar por 2 h a 110°C . Para a calibração, soluções analíticas dentro do intervalo de $0,5\text{-}8,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Na e K foram preparadas a partir de diluições apropriadas da solução estoque.

Uma pequena alíquota ($100 \mu\text{L}$) de La^{3+} 5% (m/v) foi adicionada aos digeridos provenientes do sistema de microondas e do bloco digestor na determinação de Ca e Mg, uma vez que, a presença de fosfatos ou silicatos na amostra inibe a atomização completa desses elementos pela formação de compostos estáveis. Essa solução foi preparada dissolvendo-se 5,8635g de La_2O_3 (*Vetec*, 99,99% m/m) em 5 mL de HCl concentrado. Após o resfriamento da solução, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e avolumada com água desionizada.

Uma “*ponta de espátula*” do catalisador V_2O_5 foi usada no procedimento que empregou bloco digestor. O uso desse catalisador baseou-se em trabalhos encontrados na literatura para a decomposição de vinhos na determinação de elementos inorgânicos (FRESCHI et al., 2001; LOPEZ et al.,

1998). Quando necessário, as amostras foram filtradas (papel de filtro *Framex*, filtração média) e transferidas para um balão volumétrico de 25 mL e avolumados com água *Milli-Q*.

Uma “*ponta de espátula*” de uma mistura catalisadora (1g Se + 100 g Na₂SO₄ + 1g CuSO₄) foi usada na digestão das amostras em bloco digestor para a determinação de N total pelo método Kjeldahl. Outros reagentes usados foram NaOH 10 mol L⁻¹ (*Merck*, 99% m/m), solução saturada de H₃BO₃ (*Synth*, 99,5% m/m), solução de H₂SO₄ 0,1916 mol L⁻¹ (*Mallinckrodt*, 98,3% v/v) previamente padronizada com Na₂CO₃ anidro (*Mallinckrodt*, 99,91% m/m), indicador fenolftaleína e a mistura indicadora contendo vermelho de metila / verde de bromocresol.

A solução indicadora contida no erlenmayer (Figura 4.2 c) foi preparada em um béquer de 1000 mL com 700 mL de água deionizada + 300 mL de solução saturada de H₃BO₃ + aproximadamente 5 mL do indicador misto vermelho de metila (C₁₅H₁₅N₃O₂) / verde de bromocresol (C₁₂H₁₄Br₄O₅S). À solução rosada resultante adicionou-se alternadamente algumas gotas de NaOH e H₂SO₄ diluídos, até que a coloração rosa mudasse para cinza claro. Em meio ligeiramente básico (excesso de NaOH) a solução cinza muda para a coloração verde, e em meio ligeiramente ácido (excesso de H₂SO₄) para a coloração rósea. Uma maneira simples de preparar o indicador misto vermelho de metila e verde de bromocresol consta da dissolução de 0,05 g de vermelho de metila e 0,075 g de verde de bromocresol em 1000 mL de etanol a 95% v/v (ROCHA et al., 1986/87).

Cinco amostras de café torrado foram adquiridas no comércio local e 30 amostras de café verde da espécie *arábica* foram fornecidas por duas cooperativas diferentes localizadas em Patrocínio (MG) e Franca (SP). As amostras de café verde identificadas como PG 6 e PG 7 (ambas de

Patrocínio/MG) são iguais, com a diferença de terem sido moídas em moinho criogênico e tipo *Willye*, respectivamente. A amostra PG 8 corresponde a uma amostra de café verde com casca oriunda de Patrocínio/MG.

Três materiais de referência padrão do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) foram usados para avaliar a exatidão dos métodos: SRM 1573a *Tomato Leaves (Folha de Tomateiro)*, SRM 1547 *Peach Leaves (Folha de Pessequeiro)* e SRM 1570a *Spinach (Espinafre)*.

4.3.3 Descontaminação e armazenagem dos materiais

Inicialmente, os materiais plásticos e vidrarias foram lavados com água de torneira. Em seguida, foram colocados em um banho de descontaminação contendo uma solução de HNO_3 10% (v/v), permanecendo por um período de 24 horas. Feito isso, todo material plástico e vidraria foram lavados abundantemente com água *Milli-Q*.

As soluções foram armazenadas em frascos de polietileno e colocadas em geladeira para melhor conservação.

4.4 Procedimentos estudados no preparo das amostras de café

a) **Bloco digestor**: uma massa de cerca de 400 mg de amostra e uma “*ponta de espátula*” de V_2O_5 foi transferida para cada tubo digestor. Um volume de 3 mL HNO_3 65% (v/v) + 2 mL H_2O_2 (v/v) foi adicionado aos tubos, os quais foram aquecidos a 180 °C por 1 h. Os digeridos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL que foram avolumados com água *Milli-Q*. As determinações de Cu, Fe, Mn, Zn e Na foram efetuadas sem nenhuma diluição adicional dos digeridos obtidos, ao passo que na

determinação de Ca as amostras tiveram que ser diluídas de 10 vezes, enquanto que para os elementos K e Mg a diluição foi de 100 vezes. Em alguns casos, os digeridos obtidos tiveram que ser filtrados a fim de se evitar entupimentos do capilar do espectrômetro de absorção atômica.

b) Forno de microondas: uma massa de cerca de 400 mg de amostra foi transferida para frascos de TFM com 3 mL HNO_3 65% (v/v) + 2 mL H_2O_2 (v/v) ou 3 mL HNO_3 65% (v/v) + 2 mL H_2O . O programa de aquecimento otimizado na decomposição das amostras de café pode ser visualizado na Tabela 4.3 (pág. 50). Melhores resultados (comparando-se os valores de concentração obtidos para Cu, Fe, Mn, Zn, Na, K, Ca e Mg usando-se o programa de aquecimento otimizado com o original fornecido pelo fabricante) foram obtidos com o emprego de 3 mL HNO_3 65% (v/v) + 2 mL H_2O_2 (v/v). Os digeridos foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL e avolumados com água *Milli-Q*. As soluções resultantes foram adicionalmente diluídas quando necessário como descrito no procedimento acima (procedimento a).

c) Método Kjeldahl: uma massa de cerca de 150 mg de amostra e uma “*ponta de espátula*” da mistura catalisadora ($\text{Se} + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$) foi transferida para cada tubo digestor. Um volume de 5 mL H_2SO_4 98% (v/v) + 1 mL H_2O_2 30% (v/v) foi adicionado aos tubos, os quais foram aquecidos a 350 °C por 3h e 30 min. Os digeridos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL que foram avolumados com água *Milli-Q*.

Os sais de amônio resultantes da digestão sulfúrica foram destilados à partir de uma mistura de 20 mL do digerido da amostra + 10 mL da solução de NaOH 10 mol L^{-1} , sendo posteriormente coletados em

um erlenmayer de 250 mL contendo a mistura indicadora H_3BO_3 saturado / vermelho de metila / verde de bromocresol e titulada com uma solução de H_2SO_4 $0,1916 \text{ mol L}^{-1}$ previamente padronizada com Na_2CO_3 anidro.

4.5 Tratamento dos dados: *teste t* emparelhado e análise multivariada

Um *teste t* emparelhado foi aplicado para comparar os resultados obtidos no bloco digestor e no forno de microondas. A digestão assistida por microondas foi escolhida como padrão por ser uma ferramenta bem estabelecida quando se trata de digestão completa sem perdas do analito (MENDHAM et al., 2000).

Análises de componentes principais (PCA) e de agrupamentos hierárquicos (HCA) foram aplicadas nos dados obtidos no forno de microondas, empregando-se o Software Pirouette (Infometrix, Woodinville, Washington, USA) versão 3.02. Auto-escalamento foi o pré-processamento utilizado no tratamento dos dados em função das diferentes ordens de grandeza das variáveis estudadas. Para a obtenção do dendograma foram utilizados distância euclidiana e método de conexão incremental (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; SHARAF; ILLMAN; KOWALSKI, 1986).

4.6 Materiais utilizados na análise de antibióticos sólidos

4.6.1 Instrumentação

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica simultâneo com atomização eletrotérmica em forno de grafite *Perkin-Elmer*, Modelo SIMAA 6000, equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal, tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal (THGA)

“end-capped” contendo plataforma de L’vov integrada e auto-amostrador AS-72 (PERKIN..., 1995; RADZIUK et al., 1995). Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas de descarga sem eletrodos (*EDL*) para cádmio e catodo oco (*HCL*) para chumbo, nos seguintes comprimentos de onda e correntes elétricas: 228,8 nm (230 mA) e 283,3 nm (10 mA), respectivamente.

A largura da fenda espectral foi de 0,7 nm, comum aos dois elementos. As alíquotas foram introduzidas no forno de grafite através do amostrador automático *Perkin-Elmer* Modelo AS-72, e o gás de purga utilizado foi o argônio 99,999% (*White Martins*). Todos os experimentos foram conduzidos nas condições STPF (SLAVIN; MANNING; CARNRICK, 1981).

Um sistema de preparação de amostra em forno de microondas com cavidade (*Multiwave*[®], *Anton Paar*, capacidade para seis frascos pressurizados de TFM[®]) foi empregado para solubilizar as amostras.

4.6.2 Reagentes, soluções e amostras

Água de alta pureza obtida por meio de um sistema de osmose reversa *Millipore Rios 5*[®] e um sistema desionizador acadêmico *Millipore Milli-Q*[®] foi usada em todo trabalho.

Ácido Nítrico e Peróxido de Hidrogênio *Suprapur*[®] *Merck* foram utilizados na solubilização das amostras em sistema de forno de microondas.

Soluções estoque de cádmio e chumbo 1000 mg L⁻¹ foram preparadas a partir de padrões para absorção atômica, *Carlo Erba* (Normex[®]).

Solução estoque de paládio 1000 mg L^{-1} foi preparada a partir da diluição apropriada de uma solução de modificador químico 10000 mg L^{-1} $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ em 15% HNO_3 , (*Perkin-Elmer*, Part N° BO190635).

Solução estoque de tungstênio 1000 mg L^{-1} foi preparada dissolvendo-se 0,1794 g de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ (*Merck*) em 100 mL de água.

Padrões multi-elementares foram preparados no copo do autoamostrador a partir das diluições apropriadas das soluções monoelementares $10,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Pb em 0.2% (v/v) HNO_3 , para a construção das curvas de trabalho, dentro dos seguintes intervalos de concentração: $0,5\text{-}2,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $5,0\text{-}25,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Pb. As curvas foram preparadas em meio de HNO_3 $0,7 \text{ mol L}^{-1}$.

As seis amostras de antibióticos estudadas contendo agentes bacterianos de origem fermentativa, utilizados em processos fermentativos alcoólicos industriais no controle de bactérias contaminantes foram fornecidas pela empresa *Elanco Lilly*.

As soluções estoque e as amostras foram armazenadas sob refrigeração para melhor conservação.

4.6.3 Descontaminação e armazenagem dos materiais

Os copos do amostrador automático, ponteiros das micropipetas e vidrarias em geral foram lavados com água *Milli-Q* e, posteriormente, foram mergulhados em solução de HNO_3 10% (v/v) por 24 horas. Em seguida foram novamente lavados abundantemente com água *Milli-Q*. As soluções dos padrões e amostras foram armazenadas em frascos de polietileno.

4.7 Otimização do programa de aquecimento do forno para a determinação simultânea de Cd e Pb em antibióticos sólidos.

A otimização do programa do atomizador foi realizada obedecendo-se as condições básicas recomendadas pelo fabricante do espectrômetro SIMAA 6000 (RECOMMENDED..., 1991). Um programa de forno padrão geralmente inclui as seguintes etapas:

- **Secagem:** O solvente é evaporado durante essa etapa. Em fornos de grafite com THGA, recomenda-se o uso de duas etapas de secagem, a fim de que respingos sejam evitados na injeção da amostra (temperatura do forno muito elevada), promovendo a formação de picos duplos e irregulares, levando a imprecisão dos resultados. Uma amostra aquosa típica de 20 μ L pode ser secada com uma seqüência combinada de 110 °C com tempo de rampa de 1s e tempo de permanência ou patamar de 20 s (secagem 1), seguido por um aumento de temperatura de 130 °C com tempo de rampa de 5s e tempo de permanência de 30 s (secagem 2). Inicialmente, é aconselhável otimizar a seqüência de secagem sem o uso do sistema de extração, assistindo a condensação do vapor do solvente em um pequeno espelho usado por dentistas, que é posicionado de forma angular entre os pólos magnéticos e o orifício de injeção. O vapor do solvente deve condensar igualmente por toda superfície do espelho e nenhum vapor deve ser observado 5-10 s antes do final da etapa de secagem.

- **Pirólise:** Etapa de remoção do maior volume possível da matriz antes da etapa de atomização, diminuindo assim, a possibilidade de interferência química e reduzindo a magnitude do sinal de fundo. Modificadores químicos costumam ser empregados para a estabilização do analito a temperaturas de pirólise mais elevadas ou tornando a matriz mais volátil para uma etapa de pirólise mais efetiva. A melhor temperatura de pirólise a ser escolhida é a maior possível, sem perdas do sinal de absorbância integrada, entretanto, uma temperatura cerca de 100 °C menor que o permitido é escolhida para o programa de aquecimento do forno.
- **Atomização:** Etapa em que é feita a leitura do sinal de absorbância integrada. A amostra é atomizada (ocorre a formação de átomos no estado fundamental e gasoso) no interior do tubo de grafite, onde passa o feixe de radiação proveniente das lâmpadas. A temperatura selecionada nessa etapa deve ser alta o suficiente para garantir a completa volatilização do analito. Um gráfico de absorbância integrada *versus* temperatura deve mostrar o ponto onde ocorre a maior absorbância possível na menor temperatura, uma vez que temperaturas elevadas diminuem o tempo de vida útil do tubo de grafite. A forma do pico também pode indicar quando a temperatura de atomização deve ser aumentada ou diminuída. Uma forma de pico ideal é ilustrada na Figura 4.3.

Figura 4.3 - Forma de pico ideal obtida para Cd quando usada uma temperatura de atomização ótima. Sinal atômico (linha contínua) e de fundo (linha tracejada). A = Absorvância

- **Limpeza:** Etapa onde uma temperatura elevada (2400 / 2500 °C) é empregada após a etapa de atomização para preparar o forno para amostras subsequentes, eliminando qualquer resíduo que possa ter permanecido no tubo de grafite.

4.8. Desenvolvimento de método para a determinação simultânea de Cd e Pb em digeridos de antibióticos sólidos por GFAAS

4.8.1 Construção das curvas de temperatura de pirólise e de atomização

No início do trabalho foi feito um estudo relacionado ao comportamento eletrotérmico desses dois elementos a partir da construção de

curvas de temperaturas de pirólise e de atomização para 40 pg Cd e 200 pg Pb. As curvas foram obtidas experimentalmente em meio de HNO_3 0,028 mol L^{-1} e da mistura de modificadores 250 μg W (permanente) + 5 μg Pd (co-injetado).

Primeiramente, consideraram-se as condições mono-elementares recomendadas pelo fabricante na determinação individual de Cd e Pb em um atomizador de grafite aquecido transversalmente (LATINO et al., 1995; RECOMMENDED..., 1991). Essas condições são apresentadas na Tabela 4.5.

Para esse grupo de elementos, fixou-se a temperatura de atomização em 2200 °C, e variou-se a temperatura de pirólise de 200 °C a 1400 °C. Fixada a melhor temperatura de pirólise obtida experimentalmente, comum ao Cd e Pb, variou-se a temperatura de atomização de 1200 °C a 2300 °C para otimizar a melhor temperatura de atomização comum à esses dois elementos.

Tabela 4.5 - Condições mono-elementares recomendadas para a determinação de Cd e Pb em THGA.

Elemento	Temperatura de pirólise (°C)	Temperatura de atomização (°C)	Modificador químico
Cd	500	1500	50 μg PO_4 + 3 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$
Pb	850	1600	5 μg PO_4 + 3 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

As curvas das temperaturas de pirólise e atomização foram construídas injetando-se 20 μL de uma solução multi-elementar 2,0 μg L^{-1} Cd e 10 μg L^{-1} Pb em meio de HNO_3 0,028 mol L^{-1} . A injeção foi feita com o auxílio do amostrador automático AS-72.

4.8.2. Programas de recobrimento do tubo de grafite com o modificador permanente tungstênio e de tratamento térmico do tubo

A plataforma de grafite do tubo foi recoberta com tungstênio, automaticamente, por meio das facilidades fornecidas pelo software original do auto-amostrador e do forno de grafite. Uma massa de 250 µg W foi termicamente e sequencialmente depositada sobre a plataforma integrada, segundo o programa de aquecimento ilustrado da Tabela 4.6 (LIMA; KRUG; JACKSON, 1998). A temperatura de injeção usada foi de 70 °C. A sequência das ações e parâmetros empregados pelo auto-amostrador estão descritas na Tabela 4.7 (LIMA; KRUG; JACKSON, 1998). Logo em seguida, o tubo passou por um tratamento térmico segundo o programa de aquecimento ilustrado na Tabela 4.8 (LIMA; KRUG; JACKSON, 1998). A sequência das ações e parâmetros realizados pelo autoamostrador são descritas na Tabela 4.9 (LIMA; KRUG; JACKSON, 1998).

Tabela 4.6 - Programa de aquecimento empregado no recobrimento do tubo de grafite THGA *end-capped* com o modificador permanente W.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Vazão do gás (mL min⁻¹)	Leitura do sinal
1	120	5	25	250	Não
2	150	10	60	250	Não
3	600	20	15	250	Não
4	1000	10	15	250	Não
5	1400	10	5	250	Não
6	2000	3	2	250	Sim

Tabela 4.7 – Sequência de parâmetros e ações realizados pelo autoamostrador no recobrimento do tubo de grafite THGA *end-capped* com o modificador permanente W.

Etapas	Ações e Parâmetros
A	Pipetar 50 μL da solução do modificador W 1000 mg L^{-1}
B	Correr as etapas do programa de aquecimento do forno de 1 a 4
C	Repetir a sequência das etapas A até B três vezes
D	Pipetar 50 μL da solução do modificador W 1000 mg L^{-1}
E	Correr as etapas do programa de aquecimento do forno de 1 a 6

Tabela 4.8 - Programa de aquecimento empregado no tratamento térmico do tubo de grafite THGA *end-capped* recoberto com W.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Vazão do gás (mL min^{-1})	Leitura do sinal
1	150	1	10	250	Não
2	600	10	15	250	Não
3	1100	10	20	250	Não
4	1400	10	10	250	Não
5	1500	3	5	250	Não
6	1600	1	1	250	Não
7	1700	1	1	250	Não
8	1800	1	1	250	Não
9	1900	1	1	250	Não
10	2000	1	1	250	Não

Tabela 4.9 – Seqüência de parâmetros e ações realizados pelo autoamostrador no tratamento térmico do tubo de grafite THGA *end-capped* recoberto com W.

Etapas	Ações e Parâmetros
A	Pipetar ar em uma posição definida na bandeja do autoamostrador
B	Correr as etapas do programa de aquecimento do forno de 1 a 4
C	Repetir a seqüência das etapas B até B três vezes
D	Correr as etapas do programa de aquecimento do forno de 1 a 10
E	Repetir a seqüência das etapas D até D três vezes
F	Correr as etapas do programa de aquecimento do forno de 1 a 10

4.8.3 Preparo das amostras

Uma massa de cerca de 0,25 g de antibiótico foi digerida em um sistema de forno de microondas convencional por dois procedimentos:

- a) 3 mL de HNO₃ concentrado + 2 mL de H₂O₂ 30% (v/v) e,
- b) 4 mL de HNO₃ 20% (v/v) + 1 mL de H₂O₂ 30% (v/v).

Os digeridos foram transferidos para um balão volumétrico de 10 mL e avolumados com água deionizada. O programa de aquecimento do forno de microondas empregado na mineralização das amostras para ambos os procedimentos é descrito na Tabela 5.0.

Tabela 5.0 - Programa de aquecimento do forno de microondas empregado na mineralização de amostras de antibióticos sólidos.

Etapa	Potência Inicial (W)	Potência Final (W)	Tempo (min) *
1	100	400	3
2	400	800	3
3	1000	1000	14
4	0	0	10

* Tempo total gasto = 30 min

As curvas analíticas em meio de HNO_3 $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ para Cd e Pb foram preparadas em copos do autoamostrador a partir das diluições apropriadas das soluções mono-elementares $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb em meio de HNO_3 $0,028 \text{ mol L}^{-1}$, dentro dos seguintes intervalos de concentração: $0,5\text{-}2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $5,0\text{-}25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb. Um exemplo de cálculo para o preparo dos padrões multi-elementares $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb (1º ponto da curva analítica) em copo do autoamostrador é descrito à seguir:

* concentração da solução de HNO_3 de partida = $2,8 \text{ mol L}^{-1}$

* concentração da solução de Cd de partida = $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$

* concentração da solução de Pb de partida = $100 \mu\text{g L}^{-1}$

* volume máximo do copo do autoamostrador = $1200 \mu\text{L}$

$$1) \text{ V de H}^+ \text{ pipetado} \Rightarrow V_1 \text{ } 2,8 \text{ mol L}^{-1} = 1200 \mu\text{L } 0,7 \text{ mol L}^{-1} \Rightarrow \mathbf{V_1 = 300 \mu\text{L}}$$

$$2) \text{ V de Cd } 10,0 \mu\text{g L}^{-1} \text{ pipetado} \Rightarrow V_2 \text{ } 10,0 \mu\text{g L}^{-1} = 1200 \mu\text{L } 0,5 \mu\text{g L}^{-1} \\ \Rightarrow \mathbf{V_2 = 60 \mu\text{L}}$$

- 3) V de Pb $100 \mu\text{g L}^{-1}$ pipetado $\Rightarrow V_3 \ 100 \mu\text{g L}^{-1} = 1200 \mu\text{L} \ 5,0 \mu\text{g L}^{-1}$
 $\Rightarrow V_3 = 60 \mu\text{L}$
- 4) V de água deionizada pipetado $\Rightarrow 1200 \mu\text{L} - (300 \mu\text{L} + 60 \mu\text{L} + 60 \mu\text{L})$
 $\Rightarrow V_4 = 780 \mu\text{L}$

4.8.4 Avaliação da exatidão do método empregando testes de adição e recuperação.

Para os testes de adição e recuperação, prepararam-se 36 soluções em 36 copos diferentes do amostrador automático, uma vez que seis amostras digeridas por dois procedimentos diferentes em triplicata foram estudadas, cada uma delas contendo $900 \mu\text{L}$ do digerido do antibiótico estudado + $180 \mu\text{L}$ de uma solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb + $120 \mu\text{L}$ de uma solução $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd, perfazendo um volume total de $1200 \mu\text{L}$ (volume máximo do copo do autoamostrador). Isso significa que alíquotas de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb foram adicionadas em cada digerido.

Resultados e Discussões

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Teores de Cu, Fe, Mn e Zn encontrados em amostras de rochas empregando-se 6 procedimentos diferentes no preparo das amostras.

Foram usados ácido perclórico (HClO_4) e solução saturada de H_3BO_3 para auxiliar na remoção de íons fluoreto remanescentes após a mineralização das amostras com HF. De outro modo, o HF poderia danificar a pérola de impacto do espectrômetro, localizada no interior do nebulizador, além de outros componentes da câmara de nebulização (GUPTA; BOUVIER, 1995; JACINTHO et al., 1985; NADKARNI, 1984). As reações 1, 2, 3 e 4 ilustram como os íons fluoreto podem ser eliminados antes das análises (KRUG, 2000).

Na reação 1 tem-se o ataque do HF a silicatos presentes na amostra. O ácido fluorsilícico (H_2SiF_6) pode ser separado da matriz na forma de SiF_4 gasoso, promovendo sua dissociação a quente em sistema aberto com ácido sulfúrico, nítrico ou perclórico (reação 2). As reações 3 e 4 ilustram as duas etapas da reação entre o ácido bórico e o ácido fluorídrico, tendo como objetivo mascarar os íons fluoreto na forma de ácido tetrafluorbórico (HBF_4).

De acordo com o produtor da rocha MB-4 (nome comercial de uma amostra de rocha moída), essa rocha consiste em uma mistura de serpentinito e micachisto, vários silicatos (48% no total), como os silicatos de Mg, Ca e Fe, assim como P, K e S, também, incluindo-se aí os micronutrientes Co, Cu, Fe, Mn e Zn. Essa rocha é uma substância calcárea, um importante componente do solo e, para melhores resultados, deve ser aplicada junto com compostos orgânicos, como por exemplo, esterco bovino.

A rocha IPIRÁ (também um nome comercial) é recomendada para o enriquecimento de solos com macronutrientes. Esta rocha consiste em minerais vulcânicos que sofreram aquecimento entre 1100 °C – 1300 °C, levando a redução química de elementos como P, Ca e Mg para a forma de termofosfatos, CaO e MgO, respectivamente. Têm em sua composição química 11% de CaO, 4% de K₂O, 7% de P₂O₅ e 3,5% de MgO. Outra característica desse material é que o elevado aquecimento promoveu uma maior disponibilidade dos micronutrientes às plantas.

É interessante notar que embora a rocha IPIRÁ seja usualmente empregada para enriquecer o solo com macronutrientes, as quantidades de Cu, Fe, Mn e Zn são aproximadamente iguais ou maiores em comparação com os mesmos elementos na rocha MB-4, como ilustrado nas Tabelas 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4.

Tabela 5.1 - Concentração de Cu (mg kg^{-1}) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes. Os valores certificados e recomendados para o Cu no SRM 1 (GBW 07104) e SRM 2 (NIST 120 c) são $55,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $12,8 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Procedimentos de decomposição *						
Amostra	1	2	3	4	5	6
SRM 1	$54,3 \pm 0,9$	$37,4 \pm 1,0$	$37,2 \pm 0,9$	$37,5 \pm 1,3$	$55,3 \pm 0,6$	$55,6 \pm 0,1$
SRM 2	$12,1 \pm 0,5$	$12,2 \pm 0,4$	$12,5 \pm 0,2$	$12,0 \pm 0,6$	$10,1 \pm 0,3$	$12,2 \pm 0,7$
MB-4	$23,2 \pm 0,6$	$19,2 \pm 0,8$	$18,3 \pm 0,8$	$21,1 \pm 0,7$	$20,8 \pm 0,2$	$22,1 \pm 0,3$
IPIRÁ	$181,6 \pm 3,6$	$131,9 \pm 2,4$	$178,8 \pm 1,6$	$147,2 \pm 1,1$	$175,5 \pm 6,5$	$172,2 \pm 8,6$

Tabela 5.2 - Concentração de Fe (mg kg^{-1}) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes. Os valores certificados para o Fe no SRM 1 (GBW 07104) e SRM 2 (NIST 120 c) são $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $7554 \pm 227 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Procedimentos de decomposição *						
Amostra	1	2	3	4	5	6
SRM 1	$2,5 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$
SRM 2	7431 ± 190	7449 ± 313	7837 ± 165	7585 ± 273	$7286 \pm 58,3$	$7394 \pm 88,7$
MB-4	44467 ± 978	$437,2 \pm 27,5$	$317,8 \pm 25,2$	$316,9 \pm 29,4$	38177 ± 1832	47871 ± 2489
IPIRÁ	41038 ± 2298	40882 ± 1881	41825 ± 2635	37662 ± 942	34668 ± 2531	47695 ± 3052

* **1** - Bombas de Teflon – 1 HNO_3 : 3 HCl : 4 HF : 1 HClO_4 ; **2** - Bloco digestor – 3 HNO_3 : 1 HCl ; **3** - Bloco digestor – 1 HNO_3 : 3 HCl ; **4** - Bloco digestor – 3 HNO_3 : 1 H_2O_2 ; **5** - Forno de microondas – 5,5 HNO_3 : 0,5 HF ; **6** - Forno de microondas – 3 HNO_3 : 1 HCl : 2 HF . **Para maiores detalhes ver Tabela 4.2, pág. 47.**

Tabela 5.3 - Concentração de Mn (mg kg^{-1}) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes. Os valores certificados para o Mn no SRM 1 (GBW 07104) e SRM 2 (NIST 120 c) são 604 mg kg^{-1} e $209,1 \pm 14,6 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Procedimentos de decomposição *						
Amostra	1	2	3	4	5	6
SRM 1	$543,5 \pm 19,6$	$610,4 \pm 31,7$	$672,2 \pm 32,3$	$534,8 \pm 17,6$	$520,0 \pm 24,4$	$540,7 \pm 34,1$
SRM 2	$192,1 \pm 4,2$	$219,6 \pm 16,7$	$199,5 \pm 15,5$	$199,2 \pm 14,8$	$178,2 \pm 13,4$	$173,3 \pm 12,3$
MB-4	$776,8 \pm 66,0$	$619,7 \pm 21,7$	$561,9 \pm 29,8$	$596,4 \pm 37,6$	$666,7 \pm 25,7$	$640,3 \pm 17,3$
IPIRÁ	3702 ± 248	1566 ± 119	1684 ± 108	$1924 \pm 94,3$	$2323 \pm 57,9$	$2253 \pm 46,5$

Tabela 5.4 - Concentração de Zn (mg kg^{-1}) determinada em 4 amostras de rochas usando seis procedimentos de decomposição diferentes. Os valores certificados e recomendados para o Zn no SRM 1 (GBW 07104) e SRM 2 (NIST 120 c) são $71,0 \text{ mg kg}^{-1}$ e $72,3 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente.

Procedimentos de decomposição *						
Amostra	1	2	3	4	5	6
SRM 1	$76,5 \pm 4,1$	$105,3 \pm 5,7$	$76,2 \pm 4,2$	$56,9 \pm 3,8$	$74,0 \pm 3,7$	$75,3 \pm 5,4$
SRM 2	$77,9 \pm 4,6$	$76,9 \pm 3,3$	$70,3 \pm 3,1$	$101,2 \pm 4,9$	$69,4 \pm 1,2$	$72,7 \pm 1,6$
MB-4	$45,4 \pm 1,7$	$55,8 \pm 2,2$	$66,5 \pm 1,3$	$51,7 \pm 1,9$	$46,9 \pm 2,4$	$44,8 \pm 1,3$
IPIRÁ	$101,4 \pm 2,7$	$69,2 \pm 3,5$	$104,8 \pm 5,6$	$102,8 \pm 7,1$	$70,9 \pm 1,2$	$76,3 \pm 4,4$

* **1** - Bombas de Teflon – 1 HNO_3 : 3 HCl : 4 HF : 1 HClO_4 ; **2** - Bloco digestor – 3 HNO_3 : 1 HCl ; **3** - Bloco digestor – 1 HNO_3 : 3 HCl ; **4** - Bloco digestor – 3 HNO_3 : 1 H_2O_2 ; **5** - Forno de microondas – 5,5 HNO_3 : 0,5 HF ; **6** - Forno de microondas – 3 HNO_3 : 1 HCl : 2 HF . **Para maiores detalhes ver Tabela 4.2, pág. 47.**

Outra observação experimental é a maior solubilidade do SRM 2 (NIST 120 c) quando comparado com o SRM 1 (GBW 07104), independente da mistura ácida e procedimentos empregados. Os valores de concentração determinados para os 4 analitos no SRM 2 (NIST 120 c) concordaram com os correspondentes valores certificados e/ou recomendados, independente da mistura ácida e do procedimento empregado, com exceção do procedimento 4 para o elemento Zn, possivelmente devido a contaminações externas (Tabela 5.4).

A Tabela 5.1 ilustra a importância de se usar HF e, um aumento de pressão e temperatura (nas bombas de teflon e forno de microondas) na determinação de Cu no SRM 1 (GBW 07104). Resultados similares foram obtidos para a amostra de rocha comercial MB-4, independente do procedimento empregado, ao passo que melhores resultados foram observados para a amostra de rocha comercial IPIRÁ usando HF em sistemas fechados (procedimentos 1, 5 e 6) ou água-régia em um sistema aberto (procedimento 3). Halicz e Brenner (1986) estudaram os efeitos do tempo de moagem para suspensões de rochas silicatadas (como a rocha MB-4, por exemplo) e seus compostos fundidos (“vidros”) e suspensões de minerais argilosos empregando um ICP-OES com um nebulizador próprio para grandes quantidades de sólidos. Esses autores verificaram que o Cu foi o elemento menos afetado pelo tempo de moagem, exatamente devido à força de ligação do Cu ser excepcionalmente baixa em rochas silicatadas, inviabilizando a formação de soluções sólidas estáveis com esses minerais. A implicação disso é que foi possível extrair totalmente o Cu presente na rocha silicatada MB-4 usando-se os procedimentos 2, 3 e 4, que empregam bloco digestor e misturas de reagentes sem HF. Já para os elementos Fe e Mn, Halicz e Brenner (1986)

observaram que um aumento no tempo de moagem é importante na resposta da razão da intensidade do analito / padrão interno.

A Tabela 5.2 ilustra a importância do uso do HF na destruição dos silicatos presentes na rocha MB-4 para a determinação precisa do elemento Fe. Constatou-se que os procedimentos 1 e 6 foram os mais adequados, uma vez que eles forneceram valores de concentrações de Fe mais próximos entre si quando comparados com o procedimento 5. Para essa amostra específica, a adição de HF é indispensável.

A Tabela 5.3 ilustra a concordância entre os resultados de concentração de Mn na rocha MB-4 para os procedimentos 2, 4, 5 e 6, assim como resultados concordantes na rocha IPIRÁ usando os procedimentos 5 e 6. Foram observadas contaminações quando se empregou o procedimento 1.

A Tabela 5.4 ilustra a importância de se empregar um sistema fechado no procedimento de decomposição da amostra, uma vez que sistemas abertos são muito propensos à contaminação de Zn. A contaminação é aleatória e pode ocorrer mesmo em bombas de teflon. Nesse procedimento, inicialmente, as bombas são expostas ao ambiente por 15 minutos e depois por um período de tempo adicional até quase a secura para eliminar o HF remanescente (JACINTHO et al., 1985) (Tabela 4.2, pág. 47). Os melhores resultados para a determinação de Zn foram obtidos nos procedimentos 5 e 6, que empregaram um sistema de microondas fechado para decompor as amostras.

Uma outra observação experimental foi que as amostras estudadas não são completamente solúveis na ausência de HF. Nesse caso, foi necessário filtrar as amostras antes de se fazer as medidas. Os resíduos sólidos foram sempre descartados.

Para fins comparativos, dois laudos foram fornecidos pelo vendedor das rochas MB-4 e IPIRÁ contendo os teores de Cu, Fe, Mn e Zn, entre outros elementos, nesses materiais. Os analitos foram determinados em 2 laboratórios particulares diferentes. Os resultados das análises são apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Teores de Cu, Fe, Mn e Zn (mg kg^{-1}) encontrados nas rochas MB-4 e IPIRÁ em 2 laboratórios particulares diferentes

Concentração dos elementos (mg kg^{-1}) *				
Amostra	Cu	Fe	Mn	Zn
MB-4 ^a	20	49000	780	2
IPIRÁ ^b	----	67844	2866	134

a – Laboratório 1 - nenhuma descrição sobre o procedimento empregado

b – Laboratório 2 – Fe e Mn determinados por Fluorescência de Raios-X após fusão com Tetraborato de Lítio; Zn determinado por FAAS (decomposição via úmida)

* nenhum dos resultados obtidos apresenta as incertezas das medidas.

Pode-se observar que há uma boa concordância entre os valores de concentração obtidos para o Cu, Fe e Mn na rocha MB-4 comparando-se as Tabela 5.5 (laboratório 1) com as Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3.

Teores mais elevados de Fe e Mn foram obtidos na amostra IPIRÁ (laboratório 2), provavelmente devido a contaminações oriundas do fundente adicionado no procedimento de fusão. Para o elemento Zn, os teores encontrados pelas 2 empresas para as rochas MB-4 e IPIRÁ (2 e 134 mg kg^{-1} , respectivamente) foram discrepantes com os valores de concentração encontrados nesse trabalho (~ 45 e 70 mg kg^{-1} , respectivamente – Tabela 5.4).

Os gráficos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pressão (bar) obtidos para as 4 amostras de rochas digeridas em sistema de forno de microondas fechado empregando-se o procedimento 5 (Tabela 4.2, pág. 47), podem ser visualizados na Figura 5.1. Os gráficos obtidos quando se utiliza o procedimento 6 são praticamente iguais ao da Figura 5.1. É interessante notar que não houve problemas de repetibilidade nas determinações de Cu, Fe, Mn e Zn apesar das diferenças de pressão e temperatura finais alcançadas em cada frasco.

Figura 5.1 - Gráficos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pressão (bar) obtidos para as 4 amostras de rochas digeridas em sistema de forno de microondas fechado (procedimento 5 - Tabela 4.2). **Tubos 1 e 2:** rocha MB-4; **tubos 3 e 4:** rocha Ipirá; **tubo 5:** SRM 1 (GBW 07104) e **tubo 6:** SRM 2 (NIST 120 c).

5.2 Teores de Ca, Mg, N, Na, K, Cu, Fe, Mn e Zn encontrados em amostras de café verde e torrado empregando-se 3 procedimentos diferentes no preparo das amostras.

Os resultados obtidos nos três procedimentos propostos podem ser vistos nas Tabelas 5.6 (Ca, K, Mg, N e Na) e 5.7 (Cu, Fe, Mn e Zn). Das 35 amostras selecionadas (30 amostras de café verde e 5 de café torrado), apenas 24 (19 café verde e 5 café torrado) foram decompostas por todos os procedimentos; as outras foram decompostas apenas pelos procedimentos que empregaram forno de microondas e bloco digestor para análise de N pelo método Kjeldahl. Os teores de nutrientes de diferentes amostras de café foram concordantes com os valores encontrados na literatura (ANDERSON; SMITH, 2002; DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001 a; MORGANO et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003).

Tabela 5.6 - Resultados comparativos para K, N, Ca, Mg (%) e Na (mg kg⁻¹) em amostras de café verde e torrado e três materiais de referência padrão de folhas.

Amostra / Elemento	Na (10-174) *	K (1,3816-3,7400) *	N (1,9000-2,2500) *	Ca (0,0826-0,1310) *	Mg (0,1600-0,3000) *
PG 1	43,5 ± 2,2 (1)	1,5138 ± 0,0516 (1)	1,9855 ± 0,0165 (2)	0,0932 ± 0,0019 (1)	0,2214 ± 0,0029 (1)
	46,3 ± 2,7 (2)	1,5019 ± 0,0354 (2)		0,0822 ± 0,0034 (2)	0,2286 ± 0,0025 (2)
PG 2	57,2 ± 3,7 (1)	1,6350 ± 0,0043 (1)	2,1637 ± 0,0376 (2)	0,1054 ± 0,0004 (1)	0,1914 ± 0,0028 (1)
	60,9 ± 1,0 (2)	1,5775 ± 0,0022 (2)		0,0772 ± 0,0106 (2)	0,1984 ± 0,0035 (2)
PG 3	58,1 ± 3,5 (1)	1,6536 ± 0,0371 (1)	2,0181 ± 0,0488 (2)	0,0995 ± 0,0009 (1)	0,2016 ± 0,0009 (1)
	45,6 ± 2,6 (2)	1,5252 ± 0,0019 (2)		0,0843 ± 0,0037 (2)	0,2017 ± 0,0021 (2)
PG 4	53,0 ± 1,6 (1)	1,5835 ± 0,0141 (1)	2,1897 ± 0,0189 (2)	0,1172 ± 0,0018 (1)	0,1990 ± 0,0012 (1)
	49,6 ± 3,2 (2)	1,5383 ± 0,0054 (2)		0,1034 ± 0,0007 (2)	0,1964 ± 0,0027 (2)
PG 5	42,3 ± 2,0 (1)	1,5246 ± 0,0098 (1)	2,2442 ± 0,0348 (2)	0,1049 ± 0,0003 (1)	0,2085 ± 0,0016 (1)
	47,7 ± 1,7 (2)	1,5199 ± 0,0423 (2)		0,0788 ± 0,0020 (2)	0,2054 ± 0,0010 (2)
PG 6	55,7 ± 3,5 (1)	1,4967 ± 0,0560 (1)	1,9506 ± 0,0132 (2)	0,1102 ± 0,0078 (1)	0,2020 ± 0,0026 (1)
	67,0 ± 2,8 (2)	1,5190 ± 0,0163 (2)		0,0881 ± 0,0021 (2)	0,2008 ± 0,0026 (2)
PG 7	73,9 ± 3,5 (1)	1,4802 ± 0,0413 (1)	1,8236 ± 0,0142 (2)	0,1242 ± 0,0025 (1)	0,1861 ± 0,0031 (1)
	74,7 ± 7,7 (2)	1,4392 ± 0,0507 (2)		0,0973 ± 0,0052 (2)	0,1868 ± 0,0033 (2)
PG 8	70,7 ± 2,1 (1)	2,1448 ± 0,0361 (1)	1,9194 ± 0,0179 (2)	0,1706 ± 0,0043 (1)	0,1609 ± 0,0013 (1)
	75,5 ± 2,6 (2)	2,0984 ± 0,0400 (2)		0,1872 ± 0,0037 (2)	0,1598 ± 0,0011 (2)

Tabela 5.6 - Continua.

Amostra / Elemento	Na (10-174) *	K (1,3816-3,7400) *	N (1,9000-2,2500) *	Ca (0,0826-0,1310) *	Mg (0,1600-0,3000) *
PG 9	42,8 ± 2,3 (1)	1,5729 ± 0,0031 (1)	2,2285 ± 0,0281 (2)	0,1108 ± 0,0010 (1)	0,2043 ± 0,0019 (1)
	52,0 ± 1,4 (2)	1,6368 ± 0,0054 (2)		0,1080 ± 0,0007 (2)	0,1935 ± 0,0007 (2)
PG 10	40,0 ± 3,7 (1)	1,5740 ± 0,0037 (1)	2,1680 ± 0,0652 (2)	0,0935 ± 0,0023 (1)	0,2066 ± 0,0005 (1)
	47,8 ± 4,3 (2)	1,6546 ± 0,0077 (2)		0,0804 ± 0,0010 (2)	0,1913 ± 0,0008 (2)
PG 11	37,3 ± 0,3 (1)	1,6696 ± 0,0102 (1)	2,1315 ± 0,0004 (2)	0,0988 ± 0,0011 (1)	0,1999 ± 0,0021 (1)
	59,5 ± 1,9 (2)	1,8400 ± 0,0215 (2)		0,0885 ± 0,0002 (2)	0,1778 ± 0,0037 (2)
PG 12	53,9 ± 1,1 (1)	1,5277 ± 0,0075 (1)	2,2169 ± 0,0535 (2)	0,1192 ± 0,0004 (1)	0,1957 ± 0,0020 (1)
	61,2 ± 1,0 (2)	1,5497 ± 0,0089 (2)		0,1055 ± 0,0007 (2)	0,1838 ± 0,0004 (2)
PG 13	55,3 ± 3,5 (1)	1,5883 ± 0,0227 (1)	2,0279 ± 0,0134 (2)	0,0969 ± 0,0008 (1)	0,1911 ± 0,0008 (1)
	51,0 ± 0,1 (2)	1,6612 ± 0,0086 (2)		0,0761 ± 0,0007 (2)	0,1798 ± 0,0026 (2)
PG 14	54,1 ± 1,6 (1)	1,5718 ± 0,0071 (1)	2,1244 ± 0,0054 (2)	0,1085 ± 0,0014 (1)	0,1948 ± 0,0018 (1)
	59,3 ± 1,3 (2)	1,5849 ± 0,0091 (2)		0,1079 ± 0,0009 (2)	0,1838 ± 0,0035 (2)
PG 15	41,8 ± 2,4 (1)	1,7110 ± 0,0085 (1)	2,0564 ± 0,0262 (2)	0,0947 ± 0,0009 (1)	0,1905 ± 0,0021 (1)
	46,9 ± 2,7 (2)	1,6960 ± 0,0099 (2)		0,0760 ± 0,0002 (2)	0,1855 ± 0,0073 (2)
PG 16	49,6 ± 3,5 (1)	1,6540 ± 0,0020 (1)	1,6423 ± 0,0419 (2)	0,0885 ± 0,0004 (1)	0,1873 ± 0,0008 (1)
	50,9 ± 2,2 (2)	1,6213 ± 0,0002 (2)		0,0834 ± 0,0005 (2)	0,1804 ± 0,0013 (2)
PG 17	39,3 ± 1,9 (1)	1,5869 ± 0,0025 (1)	2,1942 ± 0,0026 (2)	0,0893 ± 0,0029 (1)	0,1996 ± 0,0014 (1)
	40,2 ± 2,2 (2)	1,6301 ± 0,0023 (2)		0,0732 ± 0,0002 (2)	0,1902 ± 0,0011 (2)
PG 18	36,7 ± 2,5 (1)	1,7604 ± 0,0154 (1)	2,1389 ± 0,0629 (2)	0,1023 ± 0,0009 (1)	0,1751 ± 0,0003 (1)
	38,3 ± 3,6 (2)	1,7776 ± 0,0132 (2)		0,0986 ± 0,0001 (2)	0,1724 ± 0,0013 (2)
PG 19	52,6 ± 0,5 (1)	1,6237 ± 0,0123 (1)	2,0901 ± 0,0580 (2)	0,0928 ± 0,0003 (1)	0,1866 ± 0,0018 (1)
	50,5 ± 1,4 (2)	1,6025 ± 0,0286 (2)		0,0944 ± 0,0002 (2)	0,1818 ± 0,0068 (2)
PG 20	41,9 ± 0,9 (1)	1,5967 ± 0,0211 (1)	2,3508 ± 0,0035 (2)	0,0817 ± 0,0008 (1)	0,2016 ± 0,0010 (1)
	55,5 ± 1,2 (2)	1,5815 ± 0,0248 (2)		0,0728 ± 0,0007 (2)	0,1946 ± 0,0009 (2)
FG 21	52,6 ± 3,2 (1)	1,6275 ± 0,0627 (1)	2,3536 ± 0,0468 (2)	0,0807 ± 0,0008 (1)	0,1794 ± 0,0074 (1)
FG 22	30,4 ± 0,7 (1)	1,5108 ± 0,0858 (1)	2,5731 ± 0,0676 (2)	0,0730 ± 0,0015 (1)	0,1598 ± 0,0087 (1)
FG 23	47,9 ± 3,4 (1)	1,4333 ± 0,0033 (1)	2,1830 ± 0,0422 (2)	0,0917 ± 0,0007 (1)	0,1797 ± 0,0034 (1)
FG 24	46,8 ± 2,1 (1)	1,4222 ± 0,0582 (1)	2,0046 ± 0,0184 (2)	0,1223 ± 0,0016 (1)	0,2138 ± 0,0030 (1)
FG 25	43,7 ± 2,5 (1)	1,4251 ± 0,0328 (1)	2,1165 ± 0,0729 (2)	0,1086 ± 0,0015 (1)	0,1749 ± 0,0048 (1)
FG 26	54,5 ± 3,1 (1)	1,4055 ± 0,0715 (1)	2,1815 ± 0,0628 (2)	0,1008 ± 0,0032 (1)	0,1855 ± 0,0099 (1)
FG 27	45,6 ± 0,1 (1)	1,5008 ± 0,0953 (1)	2,2488 ± 0,0010 (2)	0,0877 ± 0,0031 (1)	0,1704 ± 0,0059 (1)
FG 28	47,6 ± 3,7 (1)	1,5533 ± 0,0093 (1)	2,3050 ± 0,0177 (2)	0,0871 ± 0,0008 (1)	0,1815 ± 0,0027 (1)
FG 29	51,8 ± 2,8 (1)	1,5313 ± 0,0161 (1)	2,3474 ± 0,0400 (2)	0,1356 ± 0,0137 (1)	0,1806 ± 0,0017 (1)
FG 30	43,5 ± 2,4 (1)	1,2975 ± 0,0411 (1)	2,2208 ± 0,0589 (2)	0,1189 ± 0,0039 (1)	0,1833 ± 0,0072 (1)
FG 31	51,8 ± 2,6 (1)	1,7603 ± 0,0173 (1)	2,1537 ± 0,0121 (2)	0,0967 ± 0,0005 (1)	0,1847 ± 0,0084 (1)
R 1	67,7 ± 3,7 (1)	1,9633 ± 0,0495 (1)	2,5210 ± 0,0400 (2)	0,1121 ± 0,0012 (1)	0,2236 ± 0,0048 (1)
	96,0 ± 8,5 (2)	2,1295 ± 0,0276 (2)		0,1390 ± 0,0023 (2)	0,2194 ± 0,0017 (2)
R 2	85,3 ± 1,5 (1)	2,6675 ± 0,0241 (1)	2,1441 ± 0,0302 (2)	0,1943 ± 0,0031 (1)	0,1913 ± 0,0003 (1)
	90,6 ± 2,8 (2)	2,7930 ± 0,0513 (2)		0,1944 ± 0,0020 (2)	0,1835 ± 0,0021 (2)
R 3	77,3 ± 1,7 (1)	2,1120 ± 0,0358 (1)	2,4487 ± 0,0313 (2)	0,1243 ± 0,0018 (1)	0,2335 ± 0,0004 (1)
	111,9 ± 3,5 (2)	2,0880 ± 0,0325 (2)		0,1200 ± 0,0009 (2)	0,2283 ± 0,0100 (2)
R 4	80,6 ± 7,1 (1)	2,3151 ± 0,0754 (1)	2,1340 ± 0,0392 (2)	0,1314 ± 0,0054 (1)	0,2356 ± 0,0028 (1)
	84,5 ± 6,0 (2)	2,2698 ± 0,0527 (2)		0,1440 ± 0,0048 (2)	0,2276 ± 0,0040 (2)
R 5	70,2 ± 4,6 (1)	2,0433 ± 0,0233 (1)	2,3406 ± 0,0177 (2)	0,1219 ± 0,0019 (1)	0,2222 ± 0,0039 (1)
	100,1 ± 4,2 (2)	2,0474 ± 0,0486 (2)		0,1335 ± 0,0010 (2)	0,2165 ± 0,0117 (2)

Tabela 5.6 – Conclusão.

Amostra / Elemento	Na (10-174) *	K (1,3816-3,7400) *	N (1,9000-2,2500) *	Ca (0,0826-0,1310) *	Mg (0,1600-0,3000) *
SRM 1573 a	136 ± 4 (C)	2,70 ± 0,05 (C)	2,92 (NC)	5,05 ± 0,09 (NC)	1,2 (NC)
Tomato Leaves	140,8 ± 0,2 (O)	2,67 ± 0,02 (O)	2,73 ± 0,003 (O)	5,06 ± 0,13 (O)	1,20 ± 0,015 (O)
SRM 1547	24 ± 2 (C)	2,43 ± 0,03 (C)	2,96 (NC)	1,56 ± 0,02 (C)	0,432 ± 0,008 (C)
Peach Leaves	25,8 ± 0,3 (O)	2,30 ± 0,05 (O)	2,55 ± 0,004 (O)	1,57 ± 0,01 (O)	0,433 ± 0,003 (O)
SRM 1570 a	18180 ± 43(C)	2,903 ± 0,052 (C)	5,68 ± 0,13 (VR)	1,527 ± 0,041 (C)	0.89 (VI)
Spinach	17709 ± 185(O)	2,718 ± 0,060 (O)	5,19 ± 0,01 (O)	1,440 ± 0,013 (O)	0,90 ± 0,011 (O)

Tabela 5.7 - Resultados comparativos para Fe, Mn, Zn e Cu (mg kg⁻¹) em amostras de café verde e torrado e três materiais de referência padrão de folhas.

Amostra / Elemento	Fe (25,0-140,0) *	Mn (14,0-60,0) *	Zn (1,00-10,00) *	Cu (1,0-33,0) *
PG 1	33,5 ± 0,7 (1)	33,2 ± 0,2 (1)	6,58 ± 0,06 (1)	14,2 ± 0,2 (1)
	31,6 ± 0,9 (2)	33,1 ± 0,4 (2)	6,61 ± 0,10 (2)	14,6 ± 0,3 (2)
PG 2	30,7 ± 0,7 (1)	18,4 ± 0,1 (1)	9,80 ± 0,52 (1)	15,5 ± 0,4 (1)
	28,2 ± 0,2 (2)	18,4 ± 0,2 (2)	9,77 ± 0,30 (2)	15,2 ± 0,2 (2)
PG 3	30,2 ± 0,4 (1)	13,7 ± 0,1 (1)	10,45 ± 0,13 (1)	13,9 ± 0,1 (1)
	28,2 ± 0,5 (2)	13,8 ± 0,1 (2)	10,73 ± 0,17 (2)	13,1 ± 0,4 (2)
PG 4	33,7 ± 0,2 (1)	28,2 ± 0,2 (1)	7,48 ± 0,56 (1)	15,5 ± 0,2 (1)
	28,3 ± 0,6 (2)	28,1 ± 0,2 (2)	10,35 ± 0,19 (2)	15,7 ± 0,3 (2)
PG 5	37,0 ± 0,8 (1)	31,0 ± 0,4 (1)	6,17 ± 0,07 (1)	14,3 ± 0,3 (1)
	32,4 ± 0,7 (2)	31,2 ± 0,1 (2)	9,34 ± 0,10 (2)	14,9 ± 0,3 (2)
PG 6	42,2 ± 1,1 (1)	14,7 ± 0,1 (1)	6,73 ± 0,90 (1)	14,5 ± 0,3 (1)
	41,4 ± 1,0 (2)	14,4 ± 0,2 (2)	16,81 ± 0,22 (2)	14,0 ± 0,2 (2)
PG 7	107,5 ± 4,7 (1)	13,4 ± 0,3 (1)	7,81 ± 0,37 (1)	14,3 ± 0,6 (1)
	97,9 ± 5,2 (2)	16,2 ± 0,2 (2)	9,67 ± 0,24 (2)	14,0 ± 0,7 (2)
PG 8	107,0 ± 3,4 (1)	23,6 ± 0,1 (1)	5,89 ± 0,41 (1)	16,7 ± 0,4 (1)
	78,7 ± 4,8 (2)	23,5 ± 1,0 (2)	13,64 ± 0,55 (2)	16,0 ± 0,4 (2)
PG 9	28,6 ± 0,4 (1)	40,3 ± 0,5 (1)	4,29 ± 0,07 (1)	15,8 ± 0,6 (1)
	28,3 ± 0,3 (2)	41,1 ± 0,2 (2)	6,9 ± 0,1 (2)	15,4 ± 0,2 (2)
PG 10	28,0 ± 0,6 (1)	24,6 ± 0,1 (1)	5,99 ± 0,05 (1)	15,5 ± 0,1 (1)
	28,7 ± 0,4 (2)	25,6 ± 0,1 (2)	5,13 ± 0,01 (2)	15,4 ± 0,2 (2)
PG 11	26,8 ± 0,7 (1)	24,0 ± 0,4 (1)	4,24 ± 0,06 (1)	13,1 ± 0,1 (1)
	25,8 ± 0,5 (2)	24,1 ± 0,2 (2)	4,55 ± 0,03 (2)	12,7 ± 0,2 (2)
PG 12	30,2 ± 0,4 (1)	21,6 ± 0,4 (1)	6,2 ± 0,5 (1)	15,5 ± 0,6 (1)
	28,4 ± 0,4 (2)	24,1 ± 0,1 (2)	5,5 ± 0,1 (2)	13,5 ± 0,3 (2)
PG 13	35,8 ± 0,7 (1)	24,8 ± 0,6 (1)	7,2 ± 0,4 (1)	14,6 ± 0,4 (1)
	34,4 ± 0,4 (2)	27,6 ± 0,3 (2)	6,12 ± 0,08 (2)	13,6 ± 0,1 (2)
PG 14	26,7 ± 0,6 (1)	19,2 ± 0,3 (1)	6,2 ± 0,1 (1)	15,1 ± 0,1 (1)
	24,0 ± 0,5 (2)	19,7 ± 0,2 (2)	6,28 ± 0,08 (2)	13,5 ± 0,1 (2)
PG 15	31,7 ± 0,7 (1)	19,6 ± 0,2 (1)	6,45 ± 0,3 (1)	16,6 ± 0,1 (1)
	31,6 ± 0,5 (2)	19,8 ± 0,3 (2)	5,53 ± 0,03 (2)	16,2 ± 0,1 (2)

Tabela 5.7 - Continua.

Amostra / Elemento	Fe (25,0-140,0) *	Mn (14,0-60,0) *	Zn (1,00-10,00) *	Cu (1,0-33,0) *
PG 16	20,0 ± 1,7 (1)	19,9 ± 0,1 (1)	5,5 ± 0,2 (1)	14,9 ± 0,1 (1)
	25,7 ± 1,1 (2)	20,4 ± 0,1 (2)	4,2 ± 0,1 (2)	14,5 ± 0,1 (2)
PG 17	31,7 ± 0,3 (1)	18,5 ± 0,2 (1)	4,01 ± 0,05 (1)	16,6 ± 0,2 (1)
	36,1 ± 0,3 (2)	18,6 ± 0,2 (2)	4,68 ± 0,07 (2)	15,4 ± 0,1 (2)
PG 18	32,9 ± 0,5 (1)	22,1 ± 0,1 (1)	4,64 ± 0,06 (1)	14,5 ± 0,1 (1)
	34,5 ± 0,5 (2)	22,6 ± 0,1 (2)	5,78 ± 0,03 (2)	14,6 ± 0,2 (2)
PG 19	28,3 ± 0,8 (1)	20,2 ± 0,1 (1)	6,2 ± 0,3 (1)	14,8 ± 0,6 (1)
	30,1 ± 0,5 (2)	20,8 ± 0,2 (2)	12,6 ± 0,1 (2)	13,6 ± 0,3 (2)
PG 20	33,7 ± 2,8 (1)	20,8 ± 0,3 (1)	6,2 ± 0,3 (1)	16,1 ± 0,1 (1)
	28,0 ± 0,3 (2)	21,3 ± 0,1 (2)	7,8 ± 0,2 (2)	14,5 ± 0,3 (2)
FG 21	31,3 ± 0,5 (1)	34,5 ± 0,1 (1)	8,48 ± 0,11 (1)	16,4 ± 0,2 (1)
FG 22	442,0 ± 3,5 (1)	29,2 ± 0,2 (1)	4,64 ± 0,09 (1)	14,0 ± 0,2 (1)
FG 23	29,3 ± 0,9 (1)	22,6 ± 0,1 (1)	7,56 ± 0,11 (1)	16,5 ± 0,5 (1)
FG 24	56,6 ± 0,4 (1)	22,8 ± 0,1 (1)	2,85 ± 0,09 (1)	14,2 ± 0,2 (1)
FG 25	27,6 ± 0,2 (1)	18,8 ± 0,4 (1)	5,84 ± 0,19 (1)	14,2 ± 0,2 (1)
FG 26	27,5 ± 0,6 (1)	28,5 ± 0,1 (1)	3,79 ± 0,02 (1)	14,1 ± 0,3 (1)
FG 27	36,7 ± 0,2 (1)	27,8 ± 0,1 (1)	6,41 ± 0,08 (1)	15,3 ± 0,1 (1)
FG 28	32,6 ± 0,3 (1)	21,5 ± 0,1 (1)	6,67 ± 0,20 (1)	14,0 ± 0,1 (1)
FG 29	39,7 ± 0,4 (1)	30,1 ± 0,1 (1)	7,46 ± 0,14 (1)	18,6 ± 0,1 (1)
FG 30	36,0 ± 1,0 (1)	31,8 ± 0,1 (1)	8,61 ± 0,07 (1)	15,3 ± 0,2 (1)
FG 31	29,2 ± 0,4 (1)	18,6 ± 0,3 (1)	6,96 ± 0,11 (1)	14,1 ± 0,2 (1)
R 1	61,0 ± 0,2 (1)	22,0 ± 1,0 (1)	7,14 ± 0,33 (1)	12,5 ± 0,5 (1)
	51,4 ± 2,1 (2)	19,8 ± 0,9 (2)	10,81 ± 0,22 (2)	13,3 ± 0,2 (2)
R 2	282,3 ± 15,2 (1)	27,4 ± 0,1 (1)	7,08 ± 0,34 (1)	18,7 ± 0,3 (1)
	192,0 ± 5,2 (2)	26,4 ± 0,4 (2)	12,76 ± 0,51 (2)	18,8 ± 0,3 (2)
R 3	69,5 ± 1,6 (1)	27,9 ± 0,1 (1)	4,65 ± 0,42 (1)	14,8 ± 0,4 (1)
	51,7 ± 1,7 (2)	26,2 ± 1,3 (2)	5,23 ± 0,44 (2)	14,5 ± 0,3 (2)
R 4	233,7 ± 2,2 (1)	36,0 ± 0,6 (1)	6,17 ± 0,02 (1)	17,1 ± 0,3 (1)
	154,2 ± 5,6 (2)	31,7 ± 1,6 (2)	15,48 ± 0,27 (2)	18,1 ± 0,2 (2)
R 5	85,0 ± 8,5 (1)	24,5 ± 0,5 (1)	5,31 ± 0,37 (1)	13,7 ± 0,3 (1)
	66,7 ± 1,8 (2)	23,9 ± 0,2 (2)	4,80 ± 0,32 (2)	14,7 ± 0,2 (2)
SRM 1573 a	368 ± 7 (C)	246 ± 8 (C)	30,9 ± 0,7 (C)	4,70 ± 0,14 (C)
Tomato Leaves	357 ± 2 (O)	247 ± 3 (O)	30,3 ± 0,2 (O)	4,45 ± 0,14 (O)
SRM 1547	218 ± 14 (C)	98 ± 3 (C)	17,9 ± 0,4 (C)	3,7 ± 0,4 (C)
Peach Leaves	195,9 ± 9,8 (O)	88,6 ± 0,3 (O)	16,6 ± 0,1 (O)	3,9 ± 0,2 (O)
SRM 1570 a	(NE)	75,9 ± 1,9 (C)	82 ± 3 (C)	12,2 ± 0,6 (C)
Spinach	235,5 ± 1,7 (O)	71,6 ± 0,3 (O)	76 ± 1 (O)	12,2 ± 0,2 (O)

Legenda das tabelas 5.6 e 5.7: * valores encontrados na literatura; PG – Café verde de Patrocínio/MG; FG – Café verde de Franca/SP; R – Café torrado comercial; (1) procedimento que emprega forno de microondas; (2) procedimento que emprega bloco digestor; (C) – valor de concentração certificado; (O) – valor de concentração obtido; NC – valor de concentração não certificado; VR – valor de concentração de referência; VI – valor de concentração informativo; VE – valor não especificado.

Uma avaliação da Tabela 5.6 revela que várias amostras pré-tratadas em bloco digestor foram contaminadas com Na e forneceram valores de concentração de Ca sistematicamente inferiores quando comparados aos valores de concentração obtidos no procedimento que emprega forno de microondas (atribuído à formação de uma pequena quantidade de um resíduo branco nos digeridos finais). O *teste t* emparelhado confirmou que os resultados obtidos no procedimento que empregou bloco digestor concordaram dentro de um nível de confiança de 95% com os obtidos no procedimento que empregou forno de microondas apenas para K e Mg. Os teores de Na, K, N, Ca e Mg obtidos nos cafés torrados foram sempre maiores que os obtidos nas amostras de café verde. É interessante também notar que os teores obtidos para K e Ca na amostra PG 8 (uma amostra de café verde com casca) são mais elevados que os teores obtidos em amostras de café verde descascados, principalmente para o elemento K.

De acordo com alguns pesquisadores é possível economizar até R\$ 130,00 por hectare/ano nos custos de adubação com o aproveitamento e tratamento dos resíduos sólidos (cascas) e líquidos (águas residuárias) decorrentes da lavagem e despolpa do café, atividades necessárias na via úmida. Se houvesse esse aproveitamento em todas as propriedades produtoras de café, o Brasil deixaria de utilizar cerca de 430 mil toneladas de potássio por ano, o que representaria uma economia anual de R\$ 300 milhões nos gastos com fertilizantes, considerando-se os 2,3 milhões de hectares cultivados com cafeeiro no Brasil. Além do aproveitamento das cascas do café para fins de adubação, as cascas também podem ser utilizadas na composição de rações para bovinos. Também, é importante salientar que, a casca do café quando amontoada pode provocar a contaminação do solo e de águas subterrâneas,

além de constituir meio adequado para o aparecimento de insetos, ratos e outros vetores de doenças (CAFÉ..., 2003).

Avaliaram-se os desempenhos dos procedimentos de decomposição que empregaram bloco digestor (análise de N) e forno de microondas analisando-se três materiais de referência padrão de folhas (SRMs) para a determinação de Ca, K, Mg, N e Na, uma vez que materiais de referência padrão com valores certificados para amostras de café não são encontrados no mercado. Os resultados obtidos (Tabela 5.6) concordaram com os valores certificados, não certificados, de referência e informativos no intervalo de confiança de 95%.

Porém, nota-se que os valores de concentração de N obtidos para os materiais de referência padrão de folhas (SRMs) foram sistematicamente inferiores aos valores de concentração não certificados (NC) e de referência (VR) contidos no rótulo dos frascos. Segundo Fernandes et al. (2005), o método Kjeldahl é o mais utilizado na análise de materiais vegetais para a determinação de N total visando a determinação de proteína bruta. No entanto, a presença de N não protéico (4-9% na forma de nitrato) torna esse procedimento pouco adequado por não permitir a quantificação de N na forma de nitrato devido a quebra incompleta das ligações N-N e N-O durante a etapa de decomposição da amostra. Ao contrário, o método de combustão Dumas, também empregado na determinação de N total, quantifica os teores de nitrato, além de ser mais barato, requerer menos tempo e permitir a combustão direta da amostra seca sem que haja a necessidade da utilização de reagentes como ácido sulfúrico, peróxido de hidrogênio e mistura de catalisadores (BREMNER, 1965; FERNANDES et al., 2005; KEENEY; BREMNER, 1967).

Segundo Krug (2000), o método Kjeldahl funciona somente para N na forma de aminas e amidas, porém, pode ser aplicado para a determinação de N em outra forma diferente, como por exemplo, em um grupo nitro ou nitroso. O N nessas formas deve ser reduzido a um grupo amino por tratamento com um agente redutor (por exemplo, Sn e HCl). Também, o agente redutor pode ser incluído no próprio procedimento de decomposição, mas, neste caso, obtém-se uma estranha mistura de oxidações e reduções ocorrendo simultaneamente. Contudo, sob condições favoráveis, bons resultados podem ser obtidos. Da mesma maneira, a redução de nitratos a amônio pode ser feita com ácido salicílico combinado com ácido sulfúrico.

A Tabela 5.7 ilustra os teores de alguns micronutrientes encontrados em amostras de café e nos três materiais de referência padrão de folhas (SRMs). Uma avaliação dos dados revela que o procedimento que emprega bloco digestor é propenso a contaminações com Zn e não é efetivo na solubilização total de Fe em amostras de café torrado. Problemas semelhantes foram observados no pré-tratamento de rochas e, normalmente, são contornados usando-se um sistema fechado na decomposição das amostras, empregando-se maiores quantidades de reagentes e/ou tempos mais longos de decomposição e usando-se HF na mistura de reagentes (FILHO; POLITO; NETO, 2004).

A análise dos dados revela que os resultados obtidos empregando-se bloco digestor para Cu, Fe e Mn em café verde concordam com os resultados obtidos em forno de microondas dentro de um intervalo de confiança de 95%.

Tipicamente, os teores de Fe em amostras de café torrado são mais elevados que os encontrados em amostras de café verde. Também, é interessante notar que o teor de Fe obtido na amostra PG 8 (café verde com casca) foi maior que os obtidos em amostras de café verde sem casca.

Observou-se contaminação com Fe comparando-se os teores de Fe encontrados nas amostras PG 6 e PG 7 (a mesma amostra de café verde moída nos moinhos criogênico e tipo *Willye*, respectivamente). Markert (1995) observou contaminações com Fe e Cr em matrizes vegetais quando estas eram moídas em moinhos tipo *Willye*. Esse fato foi atribuído ao aquecimento excessivo do moinho (abrasão), que libera alguns elementos inorgânicos quando em contato com os materiais vegetais, incluindo Fe e Cr.

Os valores obtidos para Cu, Fe, Mn e Zn nos três materiais de referência padrão de folhas (SRMs) concordaram com os respectivos valores certificados dentro de um intervalo de confiança de 95%.

Os gráficos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pressão (bar) obtidos para seis amostras diferentes de café verde e torrado digeridas em sistema de forno de microondas fechado (Tabela 4.3, pág. 50) empregando-se 3 mL HNO_3 65% (v/v) + 2 mL H_2O_2 30% (v/v) podem ser visualizados na Figura 5.2.

Figura 5.2 - Gráficos de temperatura (°C) e pressão (bar) obtidos para 6 amostras diferentes de café verde e torrado digeridas em sistema de forno de microondas fechado (Tabela 4.3). **Tubos 1, 2 e 3:** 3 amostras de café verde diferentes e **tubos 4, 5 e 6:** 3 amostras de café torrado diferentes.

É interessante notar que a temperatura máxima atingida nos frascos manteve-se em torno de 189 °C, bem abaixo das condições de temperatura normalmente permitidas quando se trabalha com frascos de TFM (260 °C). Cabe salientar a importância desse fato, uma vez que a vida útil do revestimento interno (*“liner”*) do tubo diminui muito quando se trabalha com temperaturas muito elevadas (KRUG, 2000).

Adicionou-se 100 µL de uma solução de lantânio 5% (m/v) nas amostras originais diluídas de 10 e 100 vezes para as determinações de Ca e Mg, respectivamente, para evitar possíveis interferências químicas. Uma tentativa prévia foi feita adicionando-se 100 µL de uma solução de lantânio 1% (m/v) nas amostras diluídas (visando economia desse reagente), porém, os valores de concentração obtidos para Ca foram sistematicamente inferiores aos obtidos em meio de lantânio 5% (m/v). A Tabela 5.8 ilustra de forma

comparativa os valores de concentração de Ca obtidos variando-se as quantidades de lantânio adicionadas à algumas amostras de café verde decompostas em forno de microondas. A liberação do Ca, por exemplo, se dá em solução ou mesmo na chama de acordo com a seguinte reação química:

Tabela 5.8 – Valores comparativos de concentração de cálcio obtidos em digeridos de café verde variando-se as quantidades de lantânio adicionadas.

Amostras de café verde	[Ca ²⁺], mg L ⁻¹	[Ca ²⁺], mg L ⁻¹
	La ³⁺ 1% (m/v)	La ³⁺ 5% (m/v)
PG 4	772,4 ± 4,3	1191,9 ± 3,6
PG 11	765,9 ± 6,2	1020,3 ± 7,3
PG 14	700,5 ± 4,4	1040,6 ± 7,7
PG 15	865,8 ± 6,9	927,7 ± 2,6
PG 19	822,7 ± 2,9	972,4 ± 18,2

5.2.1 Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) - amostras de café

As análises de componentes principais (PCA) e por agrupamentos hierárquicos (HCA) foram aplicadas após o auto-escalamento dos dados devido as diferentes ordens de magnitudes de concentrações dos analitos estudados (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ; 1998; SHARAF; ILLMAN; KOWALSKI, 1986).

Observa-se que com 6 PCs é possível descrever 91,4% dos dados, sendo 32,3% do total da variância descrito pela primeira componente principal (PC1), 18,2% pela PC2, 14,8% por PC3, 10,7% por PC4, 10,0% por PC5 e 5,0% por PC6.

A análise simultânea dos gráficos de *scores* e *loadings* (Figuras 5.3 a e 5.3 b, respectivamente) mostra que o PC1 separa as amostras em relação às concentrações de Ca, K e Na, enquanto o PC3 separa as amostras em relação às concentrações de Cu, Fe e Mg.

As amostras de café torrado comercial (R) apresentaram maiores valores de concentrações para Mg (R1, R3 e R5) e Na, Ca e K (R2 e R4). Também, é interessante notar que as amostras R2 e R4 estão deslocadas em direção ao elemento Fe (a amostra R4 em uma proporção menor devido sua alta concentração de Mg) devido ao seu alto teor de Fe (Tabela 5.7, pág. 79).

Outra observação é que a amostra PG8 (uma amostra de café verde com casca) deslocou-se em direção aos elementos Fe, Na, Ca e K, confirmando assim o valor nutricional das cascas do café quando aplicadas em processos de fertilização e produção de ração animal.

Com o gráfico obtido por HCA (Figura 5.4) foi possível confirmar similaridades entre os níveis de minerais e confirmar os resultados obtidos em PCA.

Figura 5.3 - Análise de Componentes Principais (PCA - PC1 x PC3) para cafés verdes e torrados. (a) Gráfico de Scores; (b) Gráfico de Loadings.

Figura 5.4 - Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) para cafés verdes e torrados. Dendrograma com grau de similaridade = 0,306.

Figura 5.6 - Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) para cafés verdes. Dendograma com similaridade = 0,177.

As espécies de café comercial mais importantes são a *Coffee arabica* e *Coffee canephora*, usualmente conhecidas como café arábica e café robusta ou conillon. O café robusta é mais usado na produção de café torrado, uma vez que a extração de sólidos é maior no processo de fabricação desse café quando comparado com o café arábica (UKERS, 1976). Essa pode ser uma das razões para explicar as diferenças observadas nos valores de concentração obtidos para alguns macro e micronutrientes comparando-se as amostras de café verde (arábica) e torrado (provavelmente, com adição de robusta), além de fatores envolvendo processos industriais na torra do café e/ou fatores que influenciam no cultivo da planta, como tipo de solo, o uso de fertilizantes com diferentes composições químicas e as condições ambientais (DOS SANTOS; DE OLIVEIRA, 2001 a).

5.3 Programa de aquecimento otimizado do tubo de grafite usado na determinação de Cd e Pb em amostras de antibiótico sólido.

O programa de aquecimento do atomizador utilizado na determinação simultânea de Cd e Pb é apresentado na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 - Programa de aquecimento do atomizador utilizado na determinação simultânea de Cd e Pb em amostras de antibiótico sólido.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Vazão do gás (mL min⁻¹)	Leitura do sinal
1	110	5	25	250	Não
2	130	10	20	250	Não
3	600	5	10	250	Não
4	2200	0	5	0	Sim
5	2400	1	3	250	Não

As etapas 1, 2, 3, 4 e 5 referem-se à:

- Etapas 1 e 2: etapas de secagem,
- Etapa 3: etapa de pirólise,
- Etapa 4: etapa de atomização e,
- Etapa 5: etapa de limpeza.

A temperatura de injeção das amostras foi fixada em 20 °C e a velocidade de dispensa em 100%. O tempo total do programa é de 84 s.

As temperaturas de pirólise (600 °C) e de atomização (2200 °C) foram obtidas experimentalmente por meio de curvas de temperatura de

pirólise e de atomização. Essas curvas foram obtidas com a finalidade de se definir condições de compromisso para as determinações de Cd e Pb, uma vez que em análises simultâneas, as temperaturas de pirólise e de atomização do programa de aquecimento devem ser as mesmas para todos os analitos. Normalmente, a temperatura de pirólise é limitada pelo elemento mais volátil, e, idealmente, deve ser a mais alta possível, garantindo assim a remoção completa ou da maior parte da matriz da amostra. Por outro lado, a temperatura de atomização deve ser a mais baixa possível para evitar desgastes no tubo de grafite, o que leva a diminuição do seu tempo de vida útil. Porém, deve ser suficientemente alta para garantir a atomização do elemento que possui a maior temperatura de atomização na condição monoelementar.

É interessante notar que quando se deseja trabalhar no modo de operação multielementar, outros aspectos também devem ser considerados, tais como (CORREIA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000):

- a) a escolha certa do tipo de gás, fluxo e modificador (es) químico (s) empregados na análise multielementar;
- b) o intervalo limitado dessa técnica permitindo apenas determinações simultâneas para analitos que estejam em faixas de concentração similares;
- c) a diferença de perfis de volatilidades entre os elementos pode prejudicar a sensibilidade e os limites de detecção.

Entretanto, constata-se na literatura especializada que é possível fazer determinações simultâneas de vários elementos com perfis diferentes de volatilidade sem que haja prejuízos significativos na sensibilidade e nos

limites de detecção (CORREIA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000; FILHO et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2002; WELZ; SPERLING, 1999). Isso se deve principalmente aos desenvolvimentos instrumentais e ao emprego das condições STPF nas análises (SLAVIN; MANNING; CARNRICK, 1981).

A Figura 5.7 mostra os perfis das curvas de temperatura de pirólise e de atomização obtidas simultaneamente para 40 pg de Cd e 200 pg de Pb em meio de HNO_3 0,028 mol L^{-1} usando-se a seguinte mistura de modificadores: 250 μg do modificador químico permanente W + 5 μg do modificador químico co-injetado Pd.

Figura 5.7 - Curvas de pirólise (—■—) e de atomização (—•—) para 40 pg de Cd e 200 pg de Pb em meio de HNO_3 0,028 mol L^{-1} e dos modificadores 250 μg W + 5 μg Pd.

A temperatura de pirólise escolhida foi de 600 °C, limitada pelo elemento mais volátil (Cd), enquanto que a temperatura de atomização foi fixada em 2200 °C. Apesar de ter ocorrido uma queda na sensibilidade do Cd em 2200 °C, o perfil do sinal de absorção atômica do Pb foi mais simétrico e

mais bem definido nessa temperatura. A Figura 5.8 mostra os perfis dos sinais atômicos para 20 μL de uma solução aquosa 0.028 mol L^{-1} em HNO_3 contendo $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb usando W + Pd como modificadores químicos.

Figura 5.8 - Perfis dos sinais atômicos (linhas contínuas) para $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb em meio de HNO_3 $0,028 \text{ mol L}^{-1}$ usando-se tubos THGA *end-capped* e $250 \mu\text{g}$ W + $5 \mu\text{g}$ Pd como modificador químico ($T_p = 600 \text{ }^\circ\text{C}$; $T_a = 2200 \text{ }^\circ\text{C}$). A = Absorbância Integrada.

O emprego de tubos THGA *end-capped* recobertos com $250 \mu\text{g}$ do modificador permanente W mais a co-injeção de $5 \mu\text{g}$ Pd baseou-se no trabalho de tese apresentado por Freschi em 2005.

Nesse trabalho, alguns métodos analíticos foram desenvolvidos para a determinação direta e simultânea de elementos traço em leite por GFAAS, sendo que uma avaliação sistemática foi realizada para avaliar o

desempenho de diferentes modificadores químicos, entre eles W + Pd. Para um dos dois grupos de elementos analisados direta e simultaneamente (As, Se, Pb, Bi e Sb) em amostras de leite diluídas, observou-se que os melhores resultados foram obtidos com o emprego da mistura W + Pd. Pequenas diferenças foram observadas nos perfis de sinal de absorbância integrada com a variação dos elementos do grupo da Platina co-injetados (Pd, Ir, Rh e Ru), porém, houve um aumento significativo na sensibilidade do Bi e Pb com a co-injeção de Pd. A explicação dada pelo autor baseia-se no aumento da ação catalítica da mistura W + Pd na degradação da matriz, uma vez que houve um decréscimo acentuado nos valores de sinal de fundo das amostras. Outras vantagens mencionadas pelo autor quando se deseja analisar simultaneamente esse grupo de elementos mais voláteis em amostras de leite diluídas foram:

- a) melhora da sensibilidade,
- b) menores valores de massa característica obtidas,
- c) comportamento eletrotérmico mais homogêneo e,
- d) considerável aumento no tempo de vida útil do tubo de grafite.

Na análise de antibióticos sólidos nenhum estudo específico foi feito em relação ao tempo de vida útil do tubo pré-tratado com W, porém o tubo ainda se manteve adequado para futuras análises com 820 queimas.

Usando-se as temperaturas de pirólise e de atomização (600 °C e 2200 °C, respectivamente) e W + Pd como mistura modificadora os valores de massas características calculados para Cd e Pb foram 1,6 pg e 42 pg, respectivamente. As massas características foram calculadas de acordo com a expressão à seguir:

$$m_0 = \frac{V \text{ de padrão injetado } (\mu\text{L}) \times C \text{ do analito } (\mu\text{g L}^{-1}) \times 0,0044}{\text{Abs medida}}$$

...sendo m_0 = massa característica calculada; V de padrão injetado (μL) = volume de padrão injetado no atomizador em μL ; C do analito ($\mu\text{g L}^{-1}$) = concentração do analito em $\mu\text{g L}^{-1}$ e Abs medida = sinal de absorbância integrada medido para o padrão em questão.

Esses valores são ligeiramente superiores aos valores típicos obtidos na condição monoelementar para fornos THGA padrão (1,3 pg Cd e 30 pg Pb) (RECOMMENDED..., 1991), porém, não influenciam significativamente na determinação simultânea de Cd e Pb.

Os limites de detecção para Cd ($0,02 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb ($0,7 \mu\text{g L}^{-1}$) foram calculados com base na variabilidade de 20 medidas do branco de acordo com a expressão $LD = 3 \times SD / B$, onde LD = limite de detecção, SD = desvio padrão de 20 medidas do branco e B = coeficiente angular da curva (CORREIA; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2000).

Os desvios padrões relativos (% RSD) foram 5,7% e 8,0% para Cd e Pb, respectivamente.

As curvas analíticas levantadas simultaneamente para Cd e Pb na presença de W + Pd em meio de HNO_3 $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ são ilustradas nas Figuras 5.9 e 6.0, respectivamente.

Figura 5.9 - Curva analítica para Cd na presença de W + Pd como modificador químico em meio de HNO_3 0,70 mol L^{-1} .

Figura 6.0 - Curva analítica para Pb na presença de W + Pd como modificador químico em meio de HNO_3 0,70 mol L^{-1} .

5.4 Gráficos obtidos no preparo das amostras de antibióticos sólidos em sistema de forno de microondas fechado.

Os gráficos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pressão (bar) obtidos para as 6 amostras de antibióticos sólidos decompostas em um sistema de forno de microondas fechado empregando-se o procedimento descrito na Tabela 5.0 (pág. 67), podem ser visualizados na Figura 5.9. É importante salientar que os gráficos obtidos têm praticamente o mesmo aspecto independente da mistura de reagentes utilizada. Nota-se também que as temperaturas máximas atingidas em cada frasco são bastante elevadas, estando bem próximas ou até mesmo sendo iguais aos valores máximos de temperatura permitidos quando se trabalha com frascos de TFM.

Figura 6.1 - Gráficos de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pressão (bar) obtidos para 6 amostras diferentes de antibióticos sólidos digeridos em sistema de forno de microondas fechado (Tabela 5.0). **Tubos 1, 2, 3, 4, 5 e 6:** contém as amostras 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

5.5 Determinação simultânea Cd e Pb em digeridos de antibióticos sólidos por GFAAS e avaliação da exatidão do método empregando testes de adição e recuperação.

Primeiramente, uma tentativa foi feita para a determinação simultânea de Cd e Pb nas amostras de antibióticos decompostas pelos dois procedimentos estudados (meio de HNO₃ concentrado e de HNO₃ diluído). Todos os valores de concentração encontrados foram iguais ou menores que os limites de detecção do método ($\leq 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $\leq 0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) para ambos os elementos. Desta forma, alíquotas de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb foram adicionadas em cada digerido, conforme descrito na seção 4.8.4 (pág.68), para a avaliação da exatidão dos métodos propostos. A Tabela 6.0 apresenta as porcentagens de recuperação para Cd e Pb em 6 amostras de antibióticos digeridos pelos dois procedimentos estudados.

Tabela 6.0 - Porcentagens de recuperação para a adição de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $15 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb nos seis digeridos de antibióticos estudados.

A/R	Recuperação (%)			
	3 mL HNO ₃ conc. + 2 mL H ₂ O ₂		4 mL HNO ₃ 20% + 1 mL H ₂ O ₂	
	Cd	Pb	Cd	Pb
1	112	84	118	97
2	96	80	108	111
3	100	84	120	88
4	107	88	99	104
5	91	80	110	82
6	125	97	106	112

A = amostra; R = mistura de reagentes empregados.

Os intervalos de recuperação obtidos para Cd e Pb nas 6 amostras de antibióticos decompostas em forno de microondas fechado empregando-se 2 procedimentos diferentes de pré-tratamento de amostras estiveram entre 91-125% (Cd) e 80-97% (Pb) para o procedimento que empregou HNO_3 concentrado, e 99-120% (Cd) e 82-112% (Pb) para o procedimento que empregou HNO_3 20% v/v (diluído). Esses valores são aceitáveis para o caso da análise de metais, ânions e nutrientes, de acordo com a *Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater*, que estabelece como intervalo ótimo de recuperação valores entre 80 a 120% (GREENBERG; CLESCERI; EATON, 1992). A única exceção foi a amostra 6 que apresentou um valor de recuperação igual a 125% usando-se HNO_3 concentrado na mistura de reagentes.

Obviamente, a melhor opção está na escolha do procedimento que emprega HNO_3 diluído, uma vez que apresenta vantagens como menores valores de branco, menor consumo de reagentes e, conseqüentemente, de resíduos gerados, além de preservar a plataforma do tubo de grafite, aumentando assim seu tempo de vida útil.

O tempo do programa de aquecimento foi de 84 s, sendo que o tempo de um ciclo, que inclui amostragem, aquecimento e coleta dos dados foi de aproximadamente 120 s. Se as análises forem efetuadas em duplicata, por exemplo, 30 determinações por hora podem ser efetuadas em um trabalho de rotina.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

6.1 Rochas

Em geral, os melhores resultados foram obtidos na quantificação total dos analitos Cu, Fe, Mn e Zn usando-se HF na mistura ácida e empregando-se um sistema de forno de microondas convencional na decomposição das rochas. As vantagens desses procedimentos são:

- a) menor tempo requerido na decomposição das amostras,
- b) contaminações são evitadas,
- c) a decomposição é completa e,
- d) os valores de concentração obtidos são mais exatos e precisos quando comparados com os encontrados usando-se bloco digestor.

Em casos onde há a necessidade de se analisar rotineiramente os elementos Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de rochas desconhecidas, recomenda-se o emprego do procedimento 6, que consta da decomposição desses materiais em forno de microondas fechado usando-se $\text{HNO}_3\text{:HCl:HF}$ (3:1:2).

A presença de 2 mL de HF na mistura ácida se faz necessária para destruir completamente possíveis silicatos e cromitas (FeCr_2O_4) presentes na amostra, resultando em valores de concentração de Fe mais precisos e exatos (LAMOTHE; FRIES; CONSUL, 1986; NADKARNI, 1984).

O emprego de um sistema fechado na decomposição das amostras é primordial quando se deseja evitar contaminações com Zn oriundas do ambiente.

6.2 Café verde e torrado

O teste *t* emparelhado mostrou que os valores de concentração obtidos no procedimento que empregou bloco digestor foram concordantes (dentro de um intervalo de confiança de 95%) com os obtidos no procedimento que empregou forno de microondas convencional para os elementos K, Mg, Cu, Fe e Mn.

Algumas observações importantes foram feitas para o procedimento que emprega bloco digestor, tais como o aumento na possibilidade de contaminações das amostras por Na e Zn e a decomposição incompleta de algumas amostras. Essa última constatação resultou em valores de concentração inferiores para os nutrientes Ca (amostras de café verde) e Fe (amostras de café torrado) quando comparados com os valores obtidos em sistema que emprega aquecimento por microondas.

O nitrogênio que se encontra na forma de nitratos nas amostras de café verde e torrado e materiais de referência padrão de folhas não foi quantificado na determinação de N total pelo método Kjeldahl. Isso pode ser constatado pelos valores inferiores de concentração obtidos nos materiais de referência padrão de folhas quando comparados com os seus respectivos valores de concentração não certificados e de referência especificados no rótulo desses materiais.

A utilização do micro moinho tipo *Willye* na moagem dos grãos de café verde apresentou como principais desvantagens a grande quantidade de material aglomerado nas facas do moinho (o que dificulta sua limpeza antes da próxima moagem) e contaminações das amostras com Fe.

Grandes quantidades de Na, Ca, Fe e K foram encontradas nas cascas do café, confirmando assim a possibilidade de reaproveitamento desses resíduos em processos de fertilização ou na produção de ração animal.

As análises quimiométricas por PCA e HCA aplicadas à matriz de dados possibilitaram a observação de similaridades e discrepâncias entre as amostras de café verde e torrado. Em geral, os cafés torrados apresentaram teores mais elevados de Na, K, N, Ca, Mg e Fe.

6.3 Antibióticos sólidos

Foi possível desenvolver um método simples, rápido e preciso na determinação simultânea de Cd e Pb por GFAAS em amostras de antibióticos sólidos.

O procedimento de decomposição das amostras escolhido foi aquele que empregou forno de microondas convencional e ácido diluído (HNO_3 20% v/v) na mistura de reagentes. Além de fornecer menores valores de branco, menores quantidades de reagentes são usadas (o que implica na diminuição dos custos da análise) e há a possibilidade do aumento do tempo de vida útil do tubo de grafite pela menor acidez dos digeridos finais.

Apesar do ligeiro aumento no limite de detecção encontrado para o Pb empregando-se os modificadores químicos W (permanente) e Pd (co-injetado) quando comparado com o emprego dos modificadores injetados $\text{NH}_2\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ na determinação monoelementar de Cd e Pb; a principal vantagem do uso de W + Pd foi o aumento considerável no tempo de vida útil do tubo de grafite, quase 4 vezes maior que o encontrado nas condições monoelementares.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A INDÚSTRIA de fertilizantes fosfatados no Brasil. São Paulo, **IBRAFOS**, 1991, 44p.
2. AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. The nutrient requirements of livestock. Slough, Commonwealth Agricultural Bureau, 1980, 305p.
3. ALMEIDA, M.D.; LEANDRO, K.C.; COSTA, C.V.; SANTELLI, R.E.; GUARDIA, M.J. Flow injection microwave-assisted dissolution of silicate rocks for magnesium determination by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.12, p.1235-1238, 1997.
4. AMOEDO, L.; CAPELO, J.L.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of lead from solid samples: a new perspective on the slurry-based sample preparation methods for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.14, p.1221-1226, 1999.
5. ANDERSON, K.A.; SMITH, B.W. Chemical profiling to differentiate geographic growing origins of coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v.50, n.7, p.2068-2075, 2002.
6. ANTHEMIDIS, A.N.; PLIATSIKA, V.G. On-line slurry formation and nebulization for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Multi-element analysis of cocoa and coffee powder samples. **Journal of the Analytical Atomic Spectrometry** v.20, n.11, p.1280-1286, 2005.
7. ARAÚJO, G.C.L.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Single vessel procedure for acid vapor partial digestion in a focused microwave: Fe and Co determination in biological samples by ETAAS. **Analyst** v.125, n.10, p.1861-1864, 2000.
8. ARAÚJO, J.L. Café: A crise e o futuro próximo. **Cafeicultura – A Revista do Agronegócio Café**, Ano 3, n. 8, p.2, Abr. 2004.
9. ARNON, D.I., Criteria of essentiality of inorganic micronutrients for plants with special reference to molybdenum. In: Trace elements in plant physiology. Waltham, **Chronica Botanica**, 1950, p.31-39.

10. ARRUDA, M.A.Z.; GALLEG0, M.; VALCÁRCEL, M. Determination of selenium in fruit juices by flow injection electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v. 9, n.5, p.657-662, 1994.
11. BALARAM, V.; RAMESH, S.L.; ANJIAH, K.V. Comparative study of the sample decomposition procedures in the determination of trace and rare earth elements in anorthosites and related rocks by ICP-MS. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry** v.353, p.176-182, 1995.
12. BEEBE, K.; PELL, R.; SEASHOLTZ, M.B. Chemometrics. A Practical Guide, John Wiley & Sons, 1998.
13. BENDICHO, C.; DE LOSS-VOLLEBREGT, T.C. Solid sampling in electrothermal atomic absorption spectrometry using commercial atomizers. A review. **Journal of the Analytical Atomic Spectrometry** v.6, n.5, p.353-374, 1991.
14. BERGLUND, M.; BAXTER, D.C. Test of the generalized standard addition method and linearization algorithms for the direct, simultaneous, multi-element analysis of solid samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Mikrochimica Acta** v.119, p.311-322, 1995.
15. BRANCALION, M.L.; ARRUDA, M.A.Z. Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS. **Microchimica Acta** v.150, n.3-4, p.283-290, 2005.
16. BREMNER, J.M. **Total Nitrogen. Methods of soil analysis Part 2-Chemical and Microbiological Properties**, number 9 in the series Agronomy, American Society of Agronomy, Inc., Publisher USA, 1965, p. 1149-1178.
17. BURGUERA, M.; BURGUERA, J.L. Microwave-assisted sample decomposition in flow analysis. **Analytica Chimica Acta** v.366, p.63-80, 1998.
18. CAFÉ - Economia e preservação ambiental na produção cafeeira. **Campo & Negócios Revista**, Uberlândia (MG), Ano I, n.º IV, p.39, Jul. 2003.

19. CAFÉ do Paraná – Tecnologia e Qualidade. O café no Brasil – História, Produção e Exportação. Disponível em:
<<http://www.pr.gov.br/iapar/cafe/brasil.html>>. Acesso em: 27 Out. 2005.
20. CAPELO, J.L.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of cadmium from slurried biological samples for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.13, p.1285-1290, 1998.
21. CARRIÓN, N.; BENZO, Z.A.; ELJURI, E.J.; IPPOLITI, F.; FLORES, D. Determination of manganese, calcium, magnesium and potassium in pine (*Pinus Caribea*) needle samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry with slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.2, p.813-817, 1987.
22. CHATTOPADHYAY, P.; NATHAN, S.S. Determination of bismuth in geological materials by flame atomic absorption spectrometry using a selective extration technique. **Analyst** v.116, p.1145-1147, 1991.
23. CHATTOPADHYAY, P.; SAHOO, B.N. Direct flame atomic absorption spectrophotometric determination of Mn in rocks, nodules, soils and related materials using tartaric acid-KCl-SrCl₂ mixture. **Talanta** v.40, n.5, p.701-706, 1993.
24. CHERUBIN, Rudimar Antônio. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. 124 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba (SP), 2003.
25. CLARKE, R.J.; WALKER, L.J. Potassium and other mineral contents of green, roasted and instant coffees. **Journal of the Science of Food and Agriculture** v.25, p.1389-1404, 1974.
26. COELHO, K.F.; PEREIRA, R.G.F.A. Influência de grãos defeituosos em algumas características químicas do café cru e torrado. **Ciência e Agrotecnologia** v.26, n.2, p.375-384, mar/abr. 2002.
27. CORREIA, P.R.M.; OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, P.V. Simultaneous determination of Cd and Pb in foodstuffs by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** v.405, p.205-211, 2000.

28. COSTA, L.M.; SILVA, F.V.; GOUVEIA, S.T.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Focused microwave-assisted acid digestion of oils: an evaluation of the residual carbon content. **Spectrochimica Acta Part B** v.56, p.1981-1985, 2001.
29. D'ANDRÉA, P.A. A rochagem na agricultura de processos. **Agroecologia Hoje**, ano IV, n.20, p.22-23, Ago/Set. 2003.
30. D'ANDRÉA, P.A. Aspectos Práticos e Tendências no uso dos Fertiprotetores. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS - CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS E DOENÇAS, 1., 2000, Botucatu. **Resumo**. Botucatu, 2000, 97p.
31. DA SILVA FILHO, A.J. Café: O moderno prazer sensorial "Made in Minas". **Cafeicultura – A Revista do Agronegócio Café**, Ano 3, n. 8, p.16-17, Abr. 2004.
32. DE OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society** v.14, n.2, p.174-182, 2003.
33. DOS SANTOS, E.J.; DE OLIVEIRA, E. Avaliação e definição de procedimento de mineralização de amostras de café solúvel para a determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos por ICP-AES. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v.40, n.3, p.632-641, 1997.
34. DOS SANTOS, E.J., DE OLIVEIRA, E. Determination of mineral nutrients and toxic elements in Brazilian soluble coffee by ICP-AES. **Journal of Food Composition and Analysis** v.14, p.523-531, 2001 a.
35. DOS SANTOS, E.J., DE OLIVEIRA, E. Evaluation of arsenic and selenium in Brazilian soluble coffee by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry with hydride generation. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v.44, n.3, p.233-238, 2001 b.
36. EAMES, J.C.; MATOUSEK, J.P. Determination of Silver in silicate rocks by Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Chemistry** v.52, n.8, p.1248-1251, 1980.

37. EBDON, L.; PARRY, H.G.M. Direct atomic spectrometric analysis by slurry atomization. Part 4. Determination of selenium in coal by electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.3, n.1, p.131-134, 1988.
38. FERNANDES, A.P.; CARRILHO, E.N.V.; SOUZA, G.B.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Efeito do teor de nitrato na determinação de N total em plantas pelos métodos Kjeldahl e Dumas. In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA / 1^o CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE QUÍMICA ANALÍTICA, 13., 2005, Niterói (RJ) **Resumo...** Niterói: Universidade Federal Fluminense (UFF), 2005, p.49.
39. FERNANDES, S.M.; DESSIMONI PINTO, N.A.V.; PEREIRA, R.G.F.A.; DE CARVALHO, V.D. Comparação entre duas cooperativas do Sul de Minas Gerais quanto a composição química de cafés com torração comercial. **Ciência e Agrotecnologia** v.26, n.4, p.830-835, julho/agosto 2002.
40. FERREIRA, E.M.; DA CRUZ, M.C.P. 1^o **Simpósio sobre Micronutrientes na Agricultura**, POTAFOS/CNPQ, Piracicaba, 1991, 734p.
41. FILHO, V.R.A.; FERNANDES, K.G.; MORAES, M.; NETO, J.A.G. Simultaneous determination of As, Cu, Mn, Sb and Se in drinking water by GFAAS with transversely heated graphite atomizer and longitudinal Zeeman-effect background correction. **Atomic Spectroscopy** v.23, n.1, p.7-11, 2002.
42. FILHO, V.R.A.; POLITO, W.L.; NETO, J.A.G. Comparative procedures for the sample decomposition of rocks used in organic agriculture and the determination of Cu, Fe, Mn and Zn by FAAS. **Atomic Spectroscopy** v.25, n.6, p.233-237, 2004.
43. FLORES, A.V.; PÉREZ, C.A.; ARRUDA, M.A.Z. Evaluation of a synergetic effect between Rh as permanent chemical modifier and acetylacetone as complexing agent in Sc determination in sediment slurry samples by ETAAS. **Analytica Chimica Acta** v.530, n.2, p.299-305, 2005.

44. FLORES, Érico Marlon de Moraes. **Procedimento combinado para a decomposição e determinação de elementos traços por espectrometria de absorção atômica e desenvolvimento de gerador de hidretos em microescala.** 1997. 156 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - PPGEM) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre (RS), 1997.
45. FLORES, E.M.M.; SAIDELLES, A.P.F.; BARIN, J.S.; MORTARI, S.R.; MARTINS, A.F. Hair sample decomposition using polypropylene vials for determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.16, n.12, p.1419-1423, 2001.
46. FLOYD, M.A.; V.A. FASSEL, V.A.; D'SILVA, A.P. Computer-controlled scanning monochromator for the determination of 50 elements in geochemical and environmental samples by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Analytical Chemistry** v.52, p.2168-2173, 1980.
47. FREDERICK, Marianne Karin Biben. **Estudo genético, fisiológico e molecular de *Lactobacillus fermentum* envolvidos na floculação de leveduras.** 1994. 56 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas (SP), 1994.
48. FRESCHI, G.P.G.; DAKUZAKU, C.S.; MORAES, M.; NÓBREGA, J.A.; NETO, J.A.G. Simultaneous determination of cadmium and lead in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** v.56, p.1987-1993, 2001.
49. FRESCHI, Gian Paulo Giovani. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação direta e simultânea de elementos traço em leite por GFAAS: uma avaliação do desempenho de diferentes modificadores químicos.** 2005. 115 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara (SP), 2005.
50. FULLER, C.W.; HUTTON, R.C.; PRESTON, B. Comparison of flame, electrothermal and inductively coupled plasma atomisation techniques for the direct analysis of slurries. **Analyst** v.106, p.913-920, 1981.

51. GILLIES, M.E.; BIRKBECK, J.A. Tea and coffee as sources of some minerals in the New Zealand diet. **The American Journal of Clinical Nutrition** v.38, n.6, p.936-942, 1983.
52. GREENBERG, A.E.; CLESCERI, L.S.; EATON, A.D. **Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater** 18th edition, Washington, USA, 1992.
53. GUPTA, J.G.S. Determination of Scadium, Yttrium and eight rare earth elements in silicate rocks and six new geological reference materials by simultaneous multi-element electrothermal atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry** v.8, p.93-101, 1993.
54. GUPTA, J.G.S.; BOUVIER, J.L. Direct determination of traces of Ag, Cd, Pb, Bi, Cr, Mn, Co, Ni, Li, Be, Cu and Sb in environmental waters and geological materials by simultaneous multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction. **Talanta** v.42, p.269-281, 1995.
55. HALICZ, L.; BRENNER, I.B. Nebulization of slurries and suspensions of geological materials for inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** v.42, p.207-217, 1986.
56. HOENIG, M.; KERSABIEC, A-M. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. **Spectrochimica Acta Part B** v.51, p.1297-1307, 1996.
57. HORWITZ, C.; VAN DER LINDEN, S.E. Cadmium and cobalt in tea and coffee and their relationship to cardiovascular disease. **South African Medical Journal** v.48, p.230-233, 1974.
58. IWANSSON, K.; LANDSTRÖM, O. Contamination of rock samples by laboratory grinding mills. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry** v.244, n.3, p.609-614, 2000.

59. JACINTHO, A.O.; FIGUEIREDO, B.R.; REIS, B.F.; ZAGATTO, E.A.G.; KRUG, F.J.; FERNANDA, M.F.R.; ARAÚJO, M.C.U.; PEREIRA, N.M.; BRUNS, R.E. **Análise Química de Rochas por ICP-AES – Eliminação automática de interferências**, Editora Unicamp, Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas (SP), 1985, 134p.
60. JACKSON, K.W. **Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry**, ed. Chichester, John Wiley & Sons Ltd, 1999, Chapter 6 - Atomization from solids and slurries, p.359-396.
61. KANE, J.S. Analysis of geochemical reference materials using simultaneous multi-element atomic absorption spectrometry. **Geostandard Newsletter** v.13, p.205-215, 1989.
62. KAPUR, J.K.; WEST, T.S. Determination of lead in “instant” coffee and tea powders by carbon filament atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** v.73, n.1, p.180-184, 1974.
63. KEENEY, D.R.; BREMNER, J.M. Use of the Coleman model 29 A analyzer for total nitrogen analysis of soils. **Soil Science** v.104, n.5, p.358-363, 1967.
64. KINGSTON, H.M.; JASSIE, L.B. Introduction to microwave sample preparation – theory and practice, ACS Professional Reference Book, Washington D.C., 1988, 263 p.
65. KOCH, K.R.; POUGET, M.A.B.; DE VILLIERS, S. Determination of aluminum levels in tea and coffee by Inductively Couple Plasma Optical Emission Spectrometry and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Analyst** v.114, n.8, p.911-913, 1989.
66. KRIVAN, V.; BARTH, P.; MORALES, A.F. Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin. **Mikrochimica Acta** v.110, p.217-236, 1993.
67. KRUG, F.J. Métodos de decomposição de amostras – III Workshop sobre preparo de amostras, Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), São Carlos (SP), 23 a 27 out. 2000, 149p.

68. KUENNEN, R.W.; HAHN, M.H.; FRICKE, F.L.; WOLNIK, K.A. Hydride generation and condensation flame atomic absorption spectroscopic determination of antimony in raw coffee beans and roasted coffee. **Journal of Association of Official Analytical Chemists** v.65, p.1146-1149, 1982.
69. LAMOTHE, P.J.; FRIES, T.L.; CONSUL, J.J. Evaluation of a microwave oven system for the dissolution of geologic samples. **Analytical Chemistry** v.58, p.1881-1886, 1986.
70. LARA, H.M.; TOLEDO, M.; TAKAHASHI, M.Y. Teores de cobre em café torrado e moído e em café bebida. **Revista Instituto Adolfo Lutz** v.35/36, p.17-22, 1975/76.
71. LATINO, J.C.; SEARS, D.C.; PORTALA, F.; SHUTTLE, I.L. The simultaneous determination of dissolved silver, cadmium, lead, and antimony in potable waters by ETAAS. **Atomic Spectroscopy** v.16, p.121-126, 1995.
72. LIMA, E.C.; KRUG, F.J.; JACKSON, K.W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** v.53, n.13, p.1791-1804, 1998.
73. LOMBARDI, Maria Cristina Casella. **Avaliação comparativa de procedimentos para o preparo de amostras na forma de soluções e suspensões de materiais biológicos em espectrometria de absorção atômica**. 2001. 115 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), São Carlos (SP), 2001.
74. LOPES, A.S. Micronutrientes - Filosofias de Aplicação e Eficiência Agronômica, ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos, São Paulo, Brasil (1999).
75. LOPEZ, F.L.; CABRERA, C.; LORENZO, M.L.; LOPEZ, M.C. Aluminum levels in wine, beer, and other alcoholic beverages consumed in Spain. **The Science of the Total Environment** v.220, p.1-9, 1998.

76. MAGALHÃES, C.E.C.; LIMA, E.C.; KRUG, F.J.; ARRUDA, M.A.Z. Direct analysis of coffee and tea for aluminum determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Mikrochimica Acta** v.132, p.95-100, 1999.
77. MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Editora Ceres, 1980, 252p.
78. MALHOTRA, R.K.; SATYANARAYANA, K.; RAMANAIAH, G.V. Determination of Au, Pd, Pt, and Rh in rocks, ores, concentrates, and sulfide float samples by ICP-OES/FAAS after reductive coprecipitation using Se as collector. **Atomic Spectroscopy** v.20, p.92-102, 1999.
79. MARIN, A.; LOPEZ-GONZALVEZ, A.; BARBAS, C. Development and validation of extraction methods for determination of zinc and arsenic speciation in soils using focused ultrasound- application to heavy metal study in mud and soils. **Analytica Chimica Acta** v.442, n.2, p.305-318, 2001.
80. MARKERT, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. **The Science of the Total Environment** v.176, p.45-61, 1995.
81. MARTÍN, M.J., PABLOS, F., GONZÁLEZ, A.G., Characterization of green coffee varieties according to their metal content. **Analytica Chimica Acta** v.358, p.177-183, 1998.
82. MENDHAM, J.; DEMEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K.; **Vogel - Análise Química Quantitativa** 6ª ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos (LTC), 2002, 488p.
83. MIERZWA, J.; SUN, Y.C.; CHUNG, Y.T.; YANG, M.H. Comparative determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in tea leaves by slurry sampling electrothermal atomic absorption and liquid sampling inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Talanta** v.47, p.1263-1270, 1998.

84. MINOIA, C.; SABBIONI, E.; RONCHI, A.; GATTI, A.; PIETRA, R.; NICOLOTTI, A.; FORTANER, S.; BALDUCCI, C.; FONTE, A.; ROGGI, C.; Trace-element reference values in tissues from inhabitants of the european-community.4. Influence of dietary factors. **Science of the Total Environment** v.141, p.181-195, 1994.
85. MORETTO, A.L.; CADORE, S. Determination of arsenic in food samples by Hydride Generation - Atomic Absorption Spectrometry. **Mikrochimica Acta** v.146, p.239-244, 2004.
86. MORGANO, M.A.; PAULUCI, L.F.; MANTOVANI, D.M.B.; MORY, E.E.M. Determinação de minerais em café cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v.22, n.1, p.19-23, janeiro/abril 2002.
87. NADKARNI, R.A. Applications of microwave oven sample dissolution in analysis **Analytical Chemistry** v.56, p.2233-2237, 1984.
88. NARENDRANATH, N.V.; HYNWA, S.H.; THOMAS, K.C.; INGLEDEW, W.M. Effects of lactobacilli yeast-catalyzed ethanol fermentation. **Applied and Environmental Microbiology** v.57, n.1, p.114-121, 1997.
89. NASCENTES, C.C.; KORN, M.; SOUSA, C.S.; ARRUDA, M.A.Z. Use of ultrasonic baths for analytical applications: a new approach for optimization conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society** v.12, n. 1, p.57-63, 2001.
90. NEIRA, J.Y.; REYES, N.; NÓBREGA, J.A. Development of hardware and software for on-line sample preparation using sequential-injection analysis. **Laboratory Robotics and Automation**, v. 12, p. 246-252, 2000.
91. OHLWEILER, O.A. **Química Analítica Quantitativa**, 3ª ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos v.1, 1982.
92. OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. Effects of nutritional factors on growth of *Lactobacillus fermentum* mixed with *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation. **Revista de Microbiologia** v.28, p.25-31, 1997.

93. OLIVEIRA, A.P.; MORAES, M.; NETO, J.A.G.; LIMA, E.C. Simultaneous determination of Al, Cu, Fe, Mn and Ni in fuel ethanol by simultaneous GFAAS using integrated platforms pretreated with W-Rh permanent modifier together with Pd + Mg modifier. **Atomic Spectroscopy** v.23, n.6, p.190-195, 2002.
94. OLIVEIRA, C.C.; SARTINI, R.P.; ZAGATTO, E.A.G. Microwave-assisted sample preparation in sequential injection: spectrophotometric determination of magnesium, calcium and iron in food. **Analytica Chimica Acta** v.413, n.8, p.41-48, 2000.
95. OLIVEIRA, C.C.; ZAGATTO, E.A.G.; ARAÚJO, A.N.; LIMA, J.L.F.C. Sample preparation in sequential injection analysis. Part 1. Spectrophotometric determination of total phosphorous in food samples. **Analytica Chimica Acta** v.371, n.1, p.57-62, 1998.
96. ONIANWA, P.C.; ADETOLA, I.G.; IWEGBUE, C.M.A.; OJO, M.F.; TELLA, O.O. Trace heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks. **Food Chemistry** v.66, p.275-279, 1999.
97. ÖZKAN, M.H.; AKÇAY, M. Determination of manganese and iron in magmatic rocks after ultrasonic leaching by flame AAS. **Turkish Journal of Chemistry** v.26, p.59-76, 2002.
98. PERKIN Elmer Publication B33211.20, Part Number 0993-5223, Überlingen, Germany, now in Shelton, CT USA (1995).
99. PEREIRA-FILHO, E.R.; ARRUDA, M.A.Z. Mechanised flow system for on-line microwave digestion of food samples with off-line catalytic spectrophotometric determination of cobalt at ng l^{-1} levels. **Analyst** v.124, n.12, p.1873-1877, 1999.
100. PRATES, F.; EDWARD, J. Agronegócio & Exportação. Editora Abril. **Revista Veja - Edição Especial**, Out. 2004.
101. RADZIUK, B.; RÖDEL, G.; STENZ, H.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S. Spectrometer system for simultaneous multi-element electrothermal atomic absorption spectrometry using line sources and Zeeman-effect background. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.10, p.127-136, 1995.

102. RANTALA, R.T.T.; LORING, D.H. Multi-element analysis of silicate rocks and marine sediments by atomic absorption spectrophotometry. **Atomic Absorption Newsletter** v.14, p.117-120, 1975.
103. RAO, C.R.M.; REDDI, G.S.; RAO, T.A.S. Acid decomposition procedure for the spectrophotometric determination of silica in rocks and minerals at room temperature. **Analytica Chimica Acta** v.268, p.357-359, 1992.
104. RECOMMENDED conditions for THGA furnaces. Überlingen: Perkin-Elmer, 1991. (Perkin Elmer Publication N. B3110.06).
105. RIBEIRO, A.S.; MORETTO, A.L.; ARRUDA, M.A.Z.; CADORE, S. Analysis of powdered coffee and milk by ICP-OES after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide. **Microchimica Acta** v.141, p.149-155, 2003.
106. ROCHA, J.C.; GRANER, C.A.F.; MAGNANI, R.; IONASHIRO, M.; RIBEIRO, C.A. Determinação de nitrogênio em carnes e produtos afins – Parte I: Procedimento que diminui a formação de espuma durante a digestão sulfúrica. **Eclética Química** v.11/12, p.73-77, 1986/87.
107. SALGADO, E. A civilização do campo. Editora Abril. **Revista Veja**, ano 37, n.39, p.88-96, 29 Set. 2004.
108. SANTOS JR, D.; BARBOSA JR, F.; TOMAZELLI, A.C.; KRUG, F.J.; NÓBREGA, J.A.; ARRUDA, M.A.Z. Determination of Cd and Pb in food slurries by GFAAS using cryogenic grinding for sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** v.373, p.183-189, 2002.
109. SAULEA, M.; STOICA, A.I.; BAIULESCU, G.E.; MARINESCU, D.; IONICA, M. Determination of cobalt in food samples. **Revista Chimie** v.55, n.5, p.301-303, 2004.
110. SHARAF, M.A.; ILLMAN, D.L.; KOWALSKI, B.R. **Chemometrics**, Wiley-Interscience, 1986.
111. SILVA, C.S.; NOMURA, C.S.; OLIVEIRA, E., NÓBREGA, J.A.; OLIVEIRA, P.V. **Trends in Sample Preparation (Abstract)**, Graz, Áustria, 2002.

112. SLAVIN, W.; MANNING, D.C.; CARNRICK, G.R. The stabilized temperature platform furnace. **Atomic Spectroscopy** v.2, p.137-143, 1981.
113. SUZUKI, M.; OHTA, K.; KATSUNO, T. Determination of traces of lead and copper in foods by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with metal atomizer. **Mikrochimica Acta II**, p.225-230, 1982.
114. UKERS, W.H. Cultivation and preparation in Brazil. In: Ukers, W.H. (Ed.). All about coffee. 2 ed. New York: Inter American Copyright Union, 1976, 149p.
115. VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; GARCIA, I.L.; CORDOBA, M.H. Slurry-electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium and chromium in vegetables using hydrogen peroxide as a matrix modifier. **Talanta** v.42, n.4, p.527-533, 1995.
116. WELZ, B.; SPERLING, M. Atomic Absorption Spectrometry, 3rd ed., Wiley-VHC, Weinheim, FRG, 1999.
117. WIETESKA, E.; ZIOEK, A.; DRZEWINSKA, A.; MILLER, K.; MAYER, E.; MORITZ, E. Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** v.330, n.2, p.251-257, 1996.
118. WILLIS, J.B. Atomic Absorption spectrometric analysis by direct introduction of powders into flame. **Analytical Chemistry** v.47, n.11, p.1752-1758, 1975.
119. ZAFALON, Mauro. País teme não dar conta da demanda por café. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 22 nov. 2005. Folha Dinheiro (Agrofolha). Caderno B 12.
120. ZAKABI, R. A mania dos orgânicos – Os alimentos orgânicos sem agrotóxicos viram moda ao vender a idéia de que são mais saudáveis. Editora Abril. **Revista Veja**, ano 38, nº 47, p.82-84, 23 nov. 2005.