

Manual de Laboratórios:

Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos

1. Coleta, Acondicionamento e Preparo de Amostras

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente da República

Fernando Henrique Cardoso

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO

Ministro

Francisco Sérgio Turra

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA

Diretor-Presidente

Alberto Duque Portugal

Diretores Executivos

*Dante Daniel Giacomelli Scolari
Elza Ângela Battaglia Brito da Cunha
José Roberto Rodrigues Peres*

Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste - CPPSE - São Carlos - SP

Chefe Geral

Aliomar Gabriel da Silva

Chefe Adjunto de Pesquisa & Desenvolvimento

Edison Beno Pott

Chefe Adjunto Administrativo

Rodolfo Godoy

Chefe Adjunto de Apoio Técnico

Rymer Ramiz Tullio



*Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal,
Nutrição Animal e Alimentos*

1. Coleta, Acondicionamento e Preparo de Amostras

Editores:

Ana Rita de A. Nogueira - CPPSE

Pedro L.O. de A. Machado - CNPS

Ciríaca A.F. de Santana do Carmo - CNPS

José Roberto Ferreira - CNPGL

São Carlos, SP

1998

EMBRAPA - Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

*EMBRAPA-Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste
Rod. Washington Luiz, km 234 Telefone (016) 261.5611
Fax (016) 261.5754
Caixa Postal 339
13560-970 São Carlos, SP
E-mail: chefia@cpps.eembrapa.br*

Tiragem: 500 exemplares

ÁREA DE INFORMAÇÃO - EDITORAÇÃO

*Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos/
editores Ana Rita de A. Nogueira, Pedro L. O. de A. Machado, Círiaca A.F. de
Santana do Carmo, José Roberto Ferreira. São Carlos: EMBRAPA - CPPSE,
1998. 72p.: il.*

ISBN: 85-86764-01-9

Conteúdo: pt. 1: Coleta, Acondicionamento e Preparo de Amostra

*1. Solo - Coleta - Acondicionamento - Amostragem. 2. Água - Coleta -
Acondicionamento - Amostragem. 3. Nutrição Vegetal - Coleta - Acondicionamento -
Coleta - Amostragem. 4. Nutrição Mineral - Coleta - Acondicionamento -
Amostragem. 5. Nutrição Humana - Coleta - Acondicionamento - Amostragem. 6.
Laboratório - Manual. I. NOGUEIRA, A.R. de A. ed. II. MACHADO, P.L.O de A.
ed. III. SANTANA do CARMO, C. A. F. de ed. IV. FERREIRA, J.R. ed. V.
EMBRAPA. Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste.*

CDD: 631.417202

APRESENTAÇÃO

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, objetivando melhor qualidade e uniformização em seus laboratórios, tem apoiado, desde 1995, reuniões anuais entre técnicos diretamente envolvidos em análises laboratoriais.

Durante o I MET – “Workshop de Metodologias dos Laboratórios da Embrapa da região Sudeste”, que ocorreu entre 6 e 8 de dezembro de 1995, ficou clara a necessidade de maior intercâmbio entre profissionais que trabalham em laboratório, o que se refletiu no entusiasmo dos participantes e demanda por manuais técnicos de uso comum.

Este documento foi elaborado a partir de reuniões realizadas no âmbito do II MET - “Workshop de Metodologias dos Laboratórios da Embrapa das regiões Sudeste e Centro-Oeste”, realizado entre 27 e 30 de agosto de 1996, no Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste (São Carlos, SP). A segunda reunião contou com a participação de profissionais da Embrapa das regiões Sudeste e Centro-Oeste e de outras instituições de pesquisa e ensino, e priorizou discussões sobre coleta, acondicionamento e preparo de amostras.

Para evitar insucessos no emprego de técnicas analíticas, há necessidade de maior controle de qualidade nos processos analíticos. Esse fato tem suscitado o interesse de pesquisadores na participação em programas interlaboratoriais, visando estabelecer procedimentos a serem observados nas análises em todo o seu processo, desde a fase de amostragem no campo até às determinações analíticas no laboratório, e se for o caso, introdução de novos métodos e/ou técnicas.

A publicação deste manual, envolvendo inicialmente “Coleta, acondicionamento e preparo de amostras”, constitui um dos resultados dessa primeira fase de trabalhos e seguramente se refletirá nos padrões de qualidade dos resultados de pesquisa dentro da Empresa, além de constituir valioso subsídio para os profissionais que atuam em institutos de pesquisa e universidades.

A continuidade deste trabalho virá demonstrar mais uma vez a importância da colaboração entre os técnicos que enfrentam os mesmos problemas em seu dia a dia. Não se intencionou esgotar o assunto, mas sim dar o primeiro passo para, em um documento, reunir sugestões de procedimentos de amostragem, acondicionamento e preparo de amostras de solos, água, plantas e materiais relacionados à nutrição. Algumas destas sugestões estarão, sem dúvida, passíveis de alterações, em virtude do desenvolvimento e aprimoramento das técnicas utilizadas em que se enquadram as diversas ações do homem nos recursos naturais.

ÍNDICE

	Pág.
COLETA, ACONDICIONAMENTO E PREPARO DE AMOSTRAS	
1 - SOLOS	
1 - Introdução	07
2 - Solo	08
2.1 Introdução	08
2.2 Amostragem	09
2.2.1 Critérios para a divisão da área de amostragem	09
2.2.2 Número de amostras simples ou subamostras	10
2.2.3 Profundidade de coleta de subamostras	11
2.2.4 Composição da amostra	14
2.2.5 Material para a amostragem	15
2.2.6 Época de amostragem	16
2.2.7 Frequência de amostragem	17
2.2.8 Algumas recomendações gerais para a amostragem	17
2.3 Acondicionamento e identificação da amostra	18
2.4 Registro e preparo da amostra	19
2.4.1 Registro	20
2.4.2 Secagem	20
2.4.3 Moagem, peneiragem e armazenagem	20
3 - Referências bibliográficas	21
2- ÁGUA	
1 - Introdução	24
2 - Quando, onde e como amostrar	25
3 - Acondicionamento de amostras: tipos e procedimentos de limpeza	27
4 - Preservação de amostras	28
5 - Referências bibliográficas	31
3 - TECIDOS VEGETAIS	
1 - Introdução	32
2 - Amostragem	33
3 - Procedimento para coletar amostras de folhas no campo	38
3.1 Coleta de amostra	39
3.2 Identificação da amostra	39
3.3 Moagem	40
3.4 Armazenagem	40
3.5 Integridade da amostra	40
3.6 Problemas de contaminação	41
3.7 Arquivo de amostras	41
4 - Referências bibliográficas	42

4 - TECIDOS E PRODUTOS ANIMAIS	
1 - Introdução	43
2 - Aspectos importantes relacionadas à coleta de amostras	44
3 - Objetivo da preparação das amostras	45
4 - Preparação das amostras	45
4.1 Recebimento	45
4.2 Identificação e registro	46
4.3 Pré-acondicionamento	47
4.3.1 Amostras de origem vegetal	47
4.3.2 Amostra de fezes	48
4.4 Pré-secagem	48
4.5 Moagem	50
4.6 Acondicionamento	50
4.1.7 Fluxogramas e figuras das etapas de preparação de amostras	52
5 - Preparo de amostras de ingredientes e suplementos minerais	56
6 - Outros tipos de amostras de origem animal	57
6.1 Osso	57
6.2 Fígado	58
6.2.1 Biópsia	58
6.2.2 Necrópsia	58
6.2.3 Observações	59
6.3 Sangue	59
6.3.1 Plasma	60
6.3.2 Soro	60
6.3.3 Desproteïnização	60
6.4 Líquido de rúmen	61
6.5 Líquidos de abomaso e de íleo	62
6.6 Urina	62
6.7 Extrusa	63
6.8 Leite	64
6.9 Pêlo	65
7 - Referências bibliográficas	65
5 - ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO	
1 - Introdução	67
2 - Objetivo	68
3 - Fundamento	68
4 - Equipamentos	69
5 - Procedimentos	69
5.1 Inspeção e identificação da amostra	69
5.2 Solubilização da amostra	70
5.3 Preparo da amostra	70
5.4 Conservação da amostra	71
6 - Referências Bibliográficas	72

SOLOS

Pedro L.O. de A. Machado¹
Amoacy Carvalho Fabrício²
Ana Cândida Primavesi³
Cesar de Rosso⁴
Celso João Alves Ferreira⁴
Hélio Teixeira Prates⁵
Marcos Roberto Ferraz⁶
Maria José Aguirre Armelin⁷
Mário Miyazawa⁸
Odo Primavesi³
Paule Jeanne Mendes⁹
Vera Lúcia Ferracini⁴

1. INTRODUÇÃO

Considerando as atividades passíveis de serem uniformizadas nas diferentes situações de uso e manejo do solo, decidiu-se sugerir procedimentos de coleta e preparo de amostras a serem utilizadas em determinações de rotina. Exceção se faz para o caso da determinação de nitrato. Não estão incluídas as orientações para amostras utilizadas em investigações científicas, cujos métodos encontram-se ainda em fase de estudos, não permitindo, até o presente momento, a uniformização.

¹ Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

² Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS

³ Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

⁴ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

⁵ Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

⁶ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, Pirassununga, SP

⁷ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, São Paulo, SP

⁸ Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, Londrina, PR

⁹ Embrapa Pantanal, Corumbá, MS

2. SOLO

2.1. INTRODUÇÃO

Qualquer tipo de análise de solo tem por objetivo determinar quantitativamente características químicas, físicas ou biológicas, que representam os reais valores da respectiva característica dentro de uma faixa de dispersão confiável e estatisticamente fundamentada. A condição para isto é que o procedimento analítico, juntamente com os preparativos pertinentes, não contenha erros sistemáticos (também entendidos como declinações) ou até erros graves (p.ex., segregantes não considerados). Mesmo que estas condições sejam atendidas, o dado analítico encontrado somente irá representar o valor real se o material ou substrato utilizado para a análise for representativo do todo ao qual ele pertence.

O problema da representatividade poderia ser evitado se pudesse ser analisado todo o universo do material investigado. Isto, entretanto, é pura teoria, exceto para aquelas determinações em amostras de pequenos volumes em que se pretende avaliar as condições imediatamente adjacentes ao ponto de amostragem. Na prática, as determinações podem ser conduzidas apenas em "partes do todo", ou seja, em amostras, em que os resultados possam permitir inferir a concentração ou a característica do todo. Destarte, a amostragem, obedecendo a um dos princípios estatísticos para a minimização de erros, é de grande importância para a exatidão do valor encontrado pela análise, ou seja, a aproximação máxima possível do valor real.

Quanto mais passos ou procedimentos houver para a coleta da amostra (composição de uma amostra a partir de subamostras, acondicionamento, transporte, secagem, preparo em laboratório, etc.) mais difícil será a obtenção do valor real. A obtenção do valor real também é dificultada quando determinado elemento ou substância analisada não é uma grandeza constante, alterando-se até o momento da análise, podendo levar, assim, à alteração do valor real (p.ex., teor de água, concentração de nitrato ou amônio, atividade de microrganismos).

A amostragem de solo não é prática simples e deve ser rigorosamente executada, seguindo as instruções baseadas em considerações de ordem científica (HOFFMAN, 1991).

2.2. AMOSTRAGEM

2.2.1. CRITÉRIOS PARA A DIVISÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM

Um requisito importante para que a amostragem seja bem sucedida é a escolha da área da qual serão retiradas as amostras simples (também denominadas de subamostras).

O tipo de solo é um critério utilizado para a divisão da área ou gleba, mas, dentro de um mesmo tipo de solo, devido a diferentes coberturas vegetais, cor do solo, posição no relevo, drenagem e histórico da área, nova subdivisão deve ser procedida, pois cultivos diferentes exigem manejos diferentes, tais como a adubação (mineral ou orgânica) ou o controle de plantas daninhas, pragas e doenças. Esta nova subdivisão é importante, principalmente quando se pretende quantificar os teores de nutrientes para as plantas ou os resíduos de pesticidas em culturas subseqüentes.

Áreas mal drenadas, formigueiros, área com acúmulo de esterco, depósitos de adubos, área de acúmulo de palhada próxima à ação de trilhadeira, etc., que não representem a superfície utilizável, devem ficar de fora da amostragem. Deve-se delimitar a área a ser amostrada longe o suficiente (2 a 5 metros) de rodovias, estradas rurais, cercas ou depósitos em geral. Para solos em que se pratica a olericultura, o princípio é o mesmo, mas, pelo fato de possuir áreas menores, o distanciamento deve ser menor, porém, não menor do que 1,0 metro.

Mesmo quando se divide ou escolhe uma área considerada homogênea no sentido acima exposto, a heterogeneidade ainda pode ocorrer, dependendo da característica a ser determinada. Segundo HEMINGWAY (1955), a variância do erro na determinação de nutrientes aumenta quando esterco, calcário ou adubo mineral são aplicados ao solo.

Havendo esta heterogeneidade dos solos, que pode ser acentuada em solos arenosos, em que a fertilidade química é intimamente relacionada com o manejo do material orgânico, surge a questão a respeito da quantidade de subamostras a coletar para preparar uma amostra composta.

2.2.2. NÚMERO DE AMOSTRAS SIMPLES OU SUBAMOSTRAS

Quando se fala em número de amostras simples a coletar, sempre surge a questão referente ao nível de exigência na amostragem sem causar, todavia, volume de trabalho impraticável ou economicamente inviável.

Em estudos sobre a coleta de amostras, pode-se identificar a magnitude do erro da amostragem e calcular o número de subamostras necessário para que haja equivalência entre o volume de trabalho (laboriosidade) e o nível representativo do erro da amostragem. Em geral, a confiabilidade dos resultados aumenta com o número de subamostras. Entretanto, para a quantificação de nutrientes visando recomendação de adubação, 10 a 20 subamostras da camada arável (0-20 cm) de uma área de 1 a 2 hectares (em casos de grande uniformidade do terreno, até 4 ha) são consideradas suficientes (OLSON et al., 1958; CAMERON et al., 1971; ILK & NIMMERVOLL, 1974). As subamostras são coletadas em ziguezague, em pontos distanciados de 15-20 passos um do outro e acondicionadas num recipiente plástico limpo (p.ex., balde de 5-10 litros), para posterior composição da amostra propriamente dita.

Procedimentos mais refinados de amostragem dos solos podem ser adotados em áreas de investigação científica, áreas críticas ou em áreas agrícolas, em que a intensificação do processo produtivo, associado ao uso mais criterioso de insumos, vai se consolidando.

Tais procedimentos englobam o estudo da variabilidade espacial das propriedades do solo consideradas, objetivando a interpolação dos seus valores, possibilitando, assim, a espacialização e maior precisão das adubações.

2.2.3. PROFUNDIDADE DE COLETA DE SUBAMOSTRAS

De maneira geral, a amostra é retirada à profundidade de 20 cm, devendo representar uma porção uniforme de 0 a 20 cm. Em áreas ainda não preparadas mecanicamente (aração, gradagem, etc.) ou com cobertura morta, deve-se limpar a superfície do solo nos locais escolhidos para retirar as subamostras, removendo-se folhas, ramos ou galhos com cautela suficiente para não remover parte significativa do solo.

A adoção das amostragens a 20 cm apresenta vantagens na uniformização do procedimento, que permite a comparação de resultados obtidos no passado, visando a constituição de um histórico da fertilidade química, e também possibilita a comparação com resultados de análise de solos de outras localidades.

Amostragem nessa profundidade vem sendo normalmente adotada em sistemas de cultivo convencional, em que o preparo do solo, para a semeadura da cultura anual, consiste numa aração e duas gradagens. Nesse sistema, o solo sofre revolvimento na camada de 0-20 cm. Objetivando averiguar o ambiente radicular no subsolo, recomenda-se ainda que se faça a amostragem nas profundidades de 20-40 e 40-60 cm. Há evidências (RAIJ, 1988; PAVAN & VOLKWEISS, 1986) de que nestas profundidades a presença de alta quantidade de alumínio, associada à deficiência de cálcio, possa atuar como barreira química, impedindo o crescimento radicular em profundidade. Segundo OLIVEIRA et al. (1996), para o algodoeiro, o conhecimento das condições de acidez subsuperficial é muito importante, pois saturações de alumínio superiores a 20% podem comprometer ou até inviabilizar a cultura nestas áreas. Este procedimento de amostragem também é recomendado para áreas novas de cultivo.

Em pastagens sob manejo extensivo, em que raramente se fazem adubações ou renovações, também se recomenda a amostragem na profundidade de 0-20 cm.

Em sistemas de plantio direto há tendência de concentração dos nutrientes e da matéria orgânica nos primeiros centímetros de solo, devendo-se basicamente ao padrão de mobilidade dos íons no solo, não incorporação de fertilizantes e corretivos mediante o revolvimento e ao enriquecimento das camadas mais superficiais pela decomposição dos resíduos das culturas (VIEIRA, 1996). Assim, visando detectar a existência ou não de um gradiente de fertilidade, torna-se necessário executar amostragem mais estratificada: 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm. Tal procedimento deve ser adotado também para pastagens sob manejo intensivo.

Para culturas perenes (p.ex., café e frutíferas) já instaladas, amostrar de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm na projeção da copa, que é o local da adubação, e outra entre as linhas de plantio ou no centro das ruas. Segundo PAVAN & CHAVES (1996), a aplicação de fertilizantes durante vários anos sob a projeção da copa causa não apenas um gradiente de fertilidade vertical, como no plantio direto, mas também horizontal. Segundo os mesmos autores, embora as culturas perenes tenham sistema radicular mais profundo, elas apresentam menor demanda de nutrientes por volume de solo e por unidade de tempo do que as culturas anuais, devido ao crescimento lento e à absorção diferencial de nutrientes durante o ano. Isto torna necessário que se avalie maior número de camadas para o diagnóstico da fertilidade. Na instalação das culturas, a amostragem deve ser feita na profundidade de 0-20, 20-40 e 40-60 cm.

A amostragem em lavouras de cana-de-açúcar deve ser feita nas profundidades de 0-25 e 25-50 cm. A adubação freqüente de vinhaça nesse sistema torna necessária amostragem também a 0-10 cm.

A profundidade de amostragem para solos de várzea deve ser variável com o tipo de solo e de acordo com a sua diferenciação vertical. Segundo COSTA (1996), os solos de várzea são aqueles encontrados nas planícies dos rios, onde se desenvolveram pela deposição de sedimentos. Há variações acentuadas, não só devido à sedimentação no sentido horizontal, mas também devido à vertical. Assim, a profundidade de amostragem deve ser variável com o tipo de solo e de acordo com sua diferenciação vertical. Nos solos do tipo gley pouco húmico, amostragens de 0-20 cm e 20-40 cm podem caracterizar a fertilidade do solo. Nos solos orgânicos, maiores profundidades devem ser exploradas, sendo importante determinar o substrato mineral, o que pode ocorrer a partir dos 80 cm, exigindo, assim, amostragens a 80-100 cm, principalmente no início da exploração da várzea (COSTA, 1996).

A interpretação dos resultados do solo de várzea requer cuidado especial, pois as determinações químicas são feitas na presença de atmosfera com oxigênio. Nestas condições, os elementos reduzidos vão se oxidar com O_2 atmosférico. As principais alterações químicas são: diminuição no valor de pH, aumento de Al^{3+} , diminuição nos teores de Fe^{2+} , Mn^{2+} , S^{2-} , PO_4^{3-} e outros. Portanto, os resultados das determinações químicas podem não refletir as reais condições das plantas provenientes de várzeas ou solos inundados. As principais dificuldades encontradas quando se deseja analisar amostras provenientes de solos inundados são, dentre outras: 1) amostragem sem contato com O_2 atmosférico e seu transporte até o laboratório; 2) homogeneização e pesagem das amostras; 3) acondicionamento das amostras.

Em solos em que há reflorestamento, recomenda-se a amostragem a 0-20 e 20-40 cm.

A amostragem visando a quantificação de resíduos de pesticidas em culturas subsequentes deve ser executada a profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm.

2.2.4. COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA

A composição ideal da amostra se dá pelo quarteamento do material, ou seja, homogeneizar bem as subamostras contidas no recipiente e despejar em uma folha de plástico de aproximadamente 70-100 cm de lado. Em seguida, espalhar o material e dividi-lo em 8 áreas. Descartar duas porções de solo de cada lado, localizadas frente a frente, mas não avizinhas (Fig. 1). O material restante deve ser novamente homogeneizado repetindo-se o mesmo procedimento anteriormente descrito até que se obtenha a amostra desejada. Para a determinação de nutrientes, uma quantidade de 300-500 g de solo é o suficiente. Caso o solo apresente grande quantidade de fração grosseira (calhaus, cascalhos e matacões), há a necessidade de 1-2 kg de material.

Devido à variabilidade existente na densidade dos solos de várzea, principalmente nos orgânicos e gley húmico, é importante garantir o envio de amostra de 500 g de solo, mesmo que os volumes encaminhados para a análise sejam diferentes (COSTA, 1996).

No local, a amostra, uma vez composta, deve ser seca ao ar e à sombra sobre uma folha de plástico limpa.

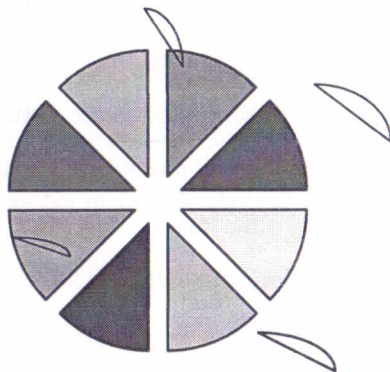


Figura 1. Sugestão de quarteamento do material e descarte de porções

Obviamente que, dependendo da característica a ser analisada (p.ex., nitrato, atividade microbiana), esta sugestão de composição de amostra de solo deve ser modificada.

2.2.5. MATERIAL PARA A AMOSTRAGEM

A coleta de amostras pode ser feita com diversas ferramentas, dependendo da disponibilidade do equipamento e da acurácia exigida.

Um equipamento adequado para a amostragem de solos é o trado, que, muitas vezes, é concebido e fabricado nas próprias instituições de pesquisa. Constitui-se de um tubo de aço leve, contendo uma fenda lateral ao longo da profundidade a ser amostrada (normalmente mede 1,50 m) e extremidade inferior cortante. Possui demarcações a cada 5 cm ao longo da fenda e, na extremidade superior, apresenta um cabo disposto em "T". É importante frisar que existem firmas internacionais especializadas na confecção desse equipamento.

Como se pode observar na Fig. 2, existem vários tipos de equipamentos para a amostragem do solo: o trado holandês, que tem bom desempenho em qualquer tipo de solo, mas exige grande esforço físico; o trado de rosca, mais adequado para solos arenosos e úmidos; o trado caneco, ideal para solos secos e compactados, não exigindo muito esforço físico; o calador, ideal para amostragem em terra fofa e ligeiramente úmida e a pá de corte ou pá reta, equipamento mais disponível e simples para o agricultor, e que deve ser usado isoladamente em terra úmida e fofa, ou com o enxadão em solo seco e compactado (LOPES & GUIMARÃES, 1989). Há solos extremamente compactados em que se utiliza uma chibanca, que é semelhante a um pequeno alvião ou picareta. Um problema que se tem freqüentemente observado é o uso de materiais potencialmente contaminantes e relativamente pesados para a tarefa (p.ex., aço

galvanizado). Ao se proceder a coleta das 15-20 subamostras na área delimitada, a pessoa, que logo entra em cansaço devido ao peso do equipamento, passa a considerar a coleta de 7-10 subamostras como “adequada” para a análise. É importante que se colete sempre o mesmo volume para cada subamostra.

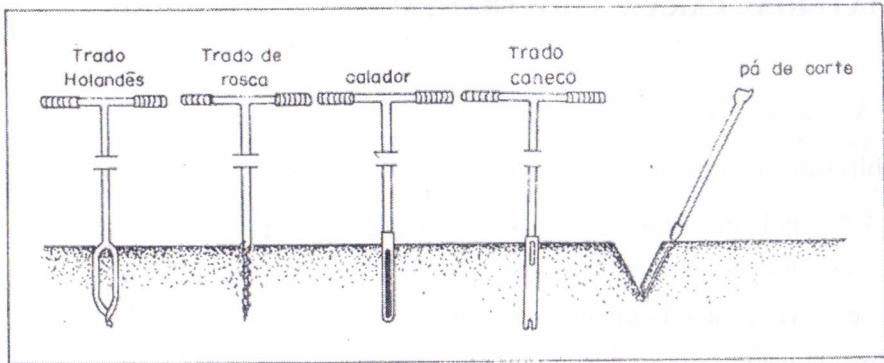


Figura 2. Equipamentos mais comuns para a coleta de amostras de solos

Fonte: LOPES & GUIMARÃES, 1989

2.2.6. ÉPOCA DE AMOSTRAGEM

A época de amostragem ideal está entre a colheita e a adubação subsequente. A última adubação, entretanto, não deve estar muito próxima da amostragem, sendo que a adubação orgânica deve ter sido executada há 8 semanas e a mineral há 4-6 semanas.

Para a amostragem deve ter havido precipitação pluviométrica mínima de 10 mm. O solo deve permitir preparo mecânico, como aração ou gradagem (ponto de sação), ou seja, quando molhado, não deve estar plástico ou muito plástico, e quando seco, não deve estar duro ou muito duro. Após chuva copiosa deve-se esperar 2 a 4 dias para atingir a consistência adequada para a amostragem para uma boa homogeneização.

2.2.7. FREQUÊNCIA DE AMOSTRAGEM

Enquanto que para o IAPAR (1996) a amostragem de solos pode ser realizada em intervalos de 3 a 5 anos, para RAIJ et al. (1985) a amostragem deve ser repetida em intervalos que podem variar de um a quatro anos. No entanto, para ambos, o intervalo das amostragens pode ser diminuído se for observado algum comportamento diferencial no desenvolvimento da cultura, caso a gleba receba maior aplicação de adubo ou se houver emprego de novo critério de adubação ou correção do solo, indicados pelos órgãos de pesquisa ou assistência técnica.

Em áreas irrigadas recomenda-se amostrar o solo anualmente.

Em pastagens, a amostragem deve ser anual em áreas cultivadas com espécies exigentes sob pastejo (p.ex., capim-colonião, grama-estrela, napier), capineiras (p.ex., napier, cana-de-açúcar e guatemala) ou alfafa. Em áreas com forrageiras menos exigentes, como braquiárias, andropogon e capim-gordura, a amostragem pode ser feita em intervalos de 2-3 anos (MARUN, 1996).

2.2.8. ALGUMAS RECOMENDAÇÕES GERAIS PARA A AMOSTRAGEM

Bem antes da utilização da estatística na amostragem, alguns procedimentos gerais para a coleta de amostras se desenvolveram na prática e, assim, possibilitaram a diminuição de erros. Para o caso de solos são considerados importantes os seguintes procedimentos:

- independentemente do tamanho, as amostras oriundas de maior número de subamostras são melhores do que aquelas formadas de poucas subamostras;
- quanto maior for a quantidade da fração grosseira do solo (cascalhos, calhaus e matacões), maior será a quantidade de subamostras a coletar da área delimitada e mais laboriosa será a tarefa.

- com o intuito de evitar erros sistemáticos, as subamostras devem ser retiradas transversalmente à orientação da linha de plantio, preparo do solo ou da adubação;
- na amostragem e na elaboração/preparo da amostra, cada cascalho, calhau ou matacão deve ter a mesma chance de estar presente na amostra composta ou nos passos para a sua composição, ou seja, cada tipo de fração grosseira deve ter a possibilidade de constituir a amostra composta, nas mesmas proporções que as encontradas no solo amostrado;
- a amostragem do solo deve ser conduzida quando está no seu ponto de sazão, ou seja, num estado de consistência em que se possa proceder a aração ou a gradagem;
- não fumar durante a coleta das amostras, pois cinzas de cigarro de qualquer natureza podem afetar o resultado da análise de solo, principalmente com relação aos teores de potássio.

2.3. ACONDICIONAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

O acondicionamento de amostras para análise visando levantamento da fertilidade deve ser em sacos plásticos limpos para 1,0 ou 2,0 kg, dependendo da quantidade de amostra composta (v. tópico 1.4). Na falta de etiqueta, o material do saco deve possibilitar identificação com o número, origem da amostra e cobertura vegetal.

Para o acondicionamento de amostras visando a quantificação de nitrato deve se proceder da seguinte maneira: após coleta da amostra, esta, ainda úmida, deve ser acondicionada em saco plástico, identificada e armazenada em caixas térmicas contendo gelo reciclável ou em tambor contendo nitrogênio líquido para transporte até o laboratório. Para períodos mais longos de armazenamento, a amostra deve ser guardada sob temperatura de 4°C.

Para a quantificação de resíduos de pesticidas, as amostras devem ser acondicionadas em tubos de PVC utilizados na amostragem ou em saco plástico de

polietileno transparente. O transporte deve ser feito o mais rápido possível para o laboratório em caixas térmicas contendo gelo reciclável ou em tambor contendo nitrogênio líquido. Para períodos mais longos, conservar em congelador (-20°C), observando-se as características do princípio ativo.

A amostra pode ser identificada da seguinte maneira:

- nome do solicitante;
- data e período da amostragem;
- local da amostragem: estado, município, nome da propriedade e, se possível, as coordenadas locais;
- número da amostra;
- profundidade e número de subamostras;
- tamanho da área amostrada;
- tipo de relevo (encosta de morro, terra plana, alto do morro, várzea ou baixada);
- observações complementares sobre o estado atual do solo, condições climáticas, vegetação predominante, cultura anterior, idade da cultura perene ou semi-perene, etc.;
- informações sobre adubações ou pesticidas indicando tipo e quantidade aplicados.

LEMOS & SANTOS (1996) apresentam sugestões de fichas para descrição de amostras de solos, além de procedimentos para descrição e coleta de solo no campo para a execução de levantamentos pedológicos.

2.4. REGISTRO E PREPARO DA AMOSTRA

A amostra de solo, ao chegar no laboratório, deve estar devidamente identificada (v. tópico 2) para ser registrada e, posteriormente, preparada.

2.4.1. REGISTRO

Cada laboratório possui um sistema de registro específico, mas geralmente a amostra recebe um número de laboratório, que deverá ser colocado na folha de informação (folha de resultado de análise de solo) para posterior identificação. O número de registro também é colocado nas caixas contendo as amostras já preparadas.

2.4.2. SECAGEM

Para determinações química e física (fertilidade), a amostra deve ser espalhada numa mesa ou prateleira com superfície lisa de material não contaminante. A secagem ao ar se procede à sombra, em que torrões maiores e frágeis são quebrados manualmente e, em seguida, faz-se o revolvimento da amostra para agilização da secagem. A secagem também pode ser feita em estufas com circulação forçada de ar e sob temperatura não excedendo 40°C. Temperaturas mais altas podem acarretar alterações nos teores de fósforo, potássio, enxofre, ferro e manganês, dentre outros.

2.4.3. MOAGEM, PENEIRAGEM E ARMAZENAGEM

A amostra seca pode apresentar ainda alguns torrões menores, aos quais há necessidade de aplicar, com as duas mãos, um rolo de madeira ou utilizar almofarizes com pistilo de porcelana para uma perfeita moagem. Deve-se ter o cuidado de não moer cascalhos e calhaus. Em muitos laboratórios são utilizados moedores automáticos de martelo. Após a moagem de cada amostra, deve ser feita limpeza do equipamento, utilizando-se pincéis, ar pressurizado, etc. A contaminação de amostras com elementos do material do próprio equipamento é desprezível.

Após a moagem, a amostra é passada em peneira com malha de 2 mm e posteriormente acondicionada em caixa de papelão, pote de vidro ou plástico.

Embora seja pequena a quantidade de amostra necessária para todas as determinações ($< 50 \text{ cm}^3$), deve-se preparar quantidade maior ($> 300 \text{ cm}^3$), para facilitar a cachimbagem ou pesagem, além de possíveis repetições.

O armazenamento de amostras de solo deve ser feito em local seco e, normalmente, por um período de 3 meses para o caso de haver solicitação de reanálise. Em instituições de pesquisa onde são realizados estudos de adubação, os laboratórios devem ser encorajados a formar um banco permanente de solos, pois com os resultados de produção de campos experimentais e das determinações química e física, torna-se possível calibrar novos métodos que venham a ser desenvolvidos ou fazer ajustes nos já existentes. Nunca é demais reforçar que os locais onde as amostras são manuseadas devem se manter sempre rigorosamente limpos e em ordem, evitando-se manipular sacos de adubo nas salas de preparo e estocagem de amostras de solo. É importante evitar a presença de produtos de limpeza que possam contaminar as amostras.

Para a determinação de resíduos de pesticidas o procedimento é idêntico ao descrito anteriormente, observando-se, contudo, as características do princípio ativo e do método de análise.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMERON, D.R.; NYBORG, M.; TOOGOOD, J.A.; LAVERTY, D.H. Accuracy of field sampling for soil tests. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.51, n.1, p.165-175. 1971.

COSTA, A. Várzeas. In: IAPAR **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. Londrina: IAPAR, 1996. p. 21-25. (IAPAR. Circular, 90).

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de Métodos de Análise de Solos**. 2. ed. Rev. Atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA – CNPS. Documentos, 1).

- HEMINGWAY, R.G. Soil sampling errors and advisory analyses. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.46, n. 1, p.1-8, 1955.
- HOFFMAN, G. Methodenbuch: Die Untersuchung von Boeden. Band I. 4. Auflage. Darmstadt: VDLUFA-Verlag, 1991.
- IAPAR (Londrina, PR). **Amostragem de solo para análise química** - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras. Londrina, 1996. 28p. (IAPAR. Circular, 90).
- ILK, F.; NIMMERVOLL, W. Streuung von Analysenergebnissen von Boden und Pflanzen innerhalb eines Weizenfeldes. **Land- und Forstwirtschaftliche Forschung in Oesterreich**, Band, v.6, p.97-102, 1974.
- LEMOS, R.C.; SANTOS, R.D. 3.ed. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. 84 p.
- LOPES, A.S.; GUIMARÃES, P.T.G. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Lavras: Comissão de Fertilidade do Solo de Estado de Minas Gerais, 1989. 176 p.
- MARUN, F. Pastagens e capineiras. In: IAPAR. **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. Londrina, 1996. p. 27-28 (IAPAR. Circular, 90).
- OLIVEIRA, E.L.; PARRA, M.S.; COSTA, A. Plantio convencional. In: IAPAR, **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. Londrina, 1996. p.9-10. (IAPAR. Circular, 90).
- OLSON, R.A.; DREIER, A.F.; SORENSEN, R. The significance of subsoil and soil series in Nebraska soil testing. **Agronomy Journal**, Wisconsin, v. 50, n.1, p.185-186. 1958.
- PAVAN, M.A.; VOLKWEISS, S.J. Efeitos do gesso nas relações solo-planta: princípios. In: SEMINÁRIO SOBRE O USO DO FOSFOGESSO NA AGRICULTURA, 1. 1986, Brasília. **Anais...**Brasília: EMBRAPA-DDT, 1986, p.107-118.

PAVAN, M.A.; CHAVES, J.C.D. Culturas perenes. In: IAPAR, **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. Londrina, 1996. p. 15-19. (IAPAR. Circular, 90).

RAIJ, B. VAN; SILVA, N.M.; BATAGLIA, O.C.; QUAGGIO, J.A.; HIROCE, R.; CANTARELLA, H.; BELLINAZZI JR.; DECHEN, A.R.; TRANI, P.E. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: IAC, 1985. 107p. (IAC. Boletim Técnico, 100)

RAIJ, B. VAN **Gesso agrícola na melhoria do ambiente radicular no subsolo**. São Paulo: ANDA,. 1988. 88 p.

SILVA, F.C.; RAIJ, B. VAN; ARCANGELA, C.; BARRETO, W. O.; MELO, W. J.; MIYAZAWA, M.; CLAESSEN, M.E.C.; BOARETTO, A.E.; MACHADO, P.L.O.A.; NETTO, A.R.; GOMES, P.C.; SALDANHA, M.F.C.; PEREZ, D.V. **Elaboração do manual de fertilidade do solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA - CNPS, Programa 01 - Recursos Naturais. (Subprojeto 01.0.94.203-08). Projeto em andamento, 1996. 6p.

VIEIRA, M.J. Plantio direto. In: IAPAR, **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. Londrina: IAPAR, 1996, p.11-14. (IAPAR. Circular, 90).

as amostras da luz e do aumento de temperatura. Se o tempo necessário para a coleta e o transporte superar algumas horas, o uso de gelo pode ser uma alternativa.

Entende-se por material sendo amostrado a água de abastecimento doméstico e industrial, rios, lagoas, represas, estuários, chuva, água subterrânea, solução de solos (extratores, piezômetros), água de escoamento superficial, água de irrigação, água de refrigeração, água de caldeiras ou de alimentação das mesmas, efluentes de estações de tratamento de esgoto doméstico e efluentes industriais e de atividades extrativas minerais.

Algumas determinações devem ser realizadas no campo, como: pH, odor, salinidade, temperatura e oxigênio dissolvido, se medido por potenciometria. Quando isto não for possível, procurar executar as determinações imediatamente após chegada ao laboratório, com exceção dos dois últimos parâmetros.

Etiquetar as amostras fornecendo o número, coletor, data, hora e local de amostragem. Utilizar etiquetas e marcadores resistentes à água, ao manuseio e à estocagem. Registrar também o tipo de amostra, amostrador utilizado e condições climatológicas.

A quantidade de amostra é função das variáveis que serão analisadas, mas um volume de 1,0 L pode ser suficiente para a maioria das determinações. Utilizar frascos separados para determinações microbiológicas, de pesticidas, de oxigênio dissolvido físicas e químicas. Dentro do grupo das análises químicas usar frascos plásticos e de vidro quando as variáveis a serem medidas exigirem tal separação.

2. QUANDO, ONDE E COMO AMOSTRAR

Para se obter amostras representativas, é necessário levar em consideração que existe grande variedade de condições sob as quais as amostras são coletadas. Assim torna-se difícil estabelecer procedimento que seja unânime e ideal em todas as situações.

ÁGUA

Pedro L.O. de A. Machado¹
Amoacy Carvalho Fabrício²
Ana Cândida Primavesi³
Cesar de Rosso⁴
Celso João Alves Ferreira⁴
Hélio Teixeira Prates⁵
Marcos Roberto Ferraz⁶
Maria José Aguirre Armelin⁷
Mário Miyazawa⁸
Odo Primavesi³
Paule Jeanne Mendes⁹
Vera Lúcia Ferracini⁴

1. INTRODUÇÃO

O objetivo de amostragem é coletar um volume de água pequeno o bastante para ser transportado convenientemente e manuseado no laboratório e que represente, o mais acuradamente possível, o material coletado. Implica que as proporções relativas ou as concentrações de todos os componentes na amostra correspondam àquelas no material sendo amostrado, e que a amostra seja manuseada de tal forma que nenhuma mudança significativa em composição ocorra antes de as determinações serem realizadas. Desse modo, deve-se procurar sempre transportar as amostras do local de coleta para o laboratório em recipientes (caixas de isopor, caixas térmicas) que protejam

¹ Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

² Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS

³ Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

⁴ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

⁵ Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

⁶ Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, Pirassununga, SP

⁷ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, São Paulo, SP

⁸ Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, Londrina, PR

⁹ Embrapa Pantanal, Corumbá, MS

A composição de amostras geralmente é considerada como a mistura, em proporções iguais, de amostras obtidas em diferentes instantes durante um período de tempo. Este período pode ser estabelecido em função das características de operação (especialmente para efluentes industriais) ou do tipo de material amostrado.

Algumas águas só serão representativas se a amostragem for realizada no tempo e no espaço. Se houver interesse no conhecimento de máximos e mínimos, as amostras deverão ser coletadas e analisadas separadamente. Caso o material que estiver sendo amostrado for considerado suficientemente constante em composição ao longo do tempo ou espacialmente uniforme em uma área representativa, amostras simples poderão ser coletadas. Exemplos que podem ser enquadrados nesse caso são a água de abastecimento urbano, a água subterrânea e algumas águas superficiais.

Quando o material investigado se mostrar variável no espaço, como no caso de rios que apresentem variações horizontais e em função da profundidade, integradores de amostras tornam-se necessários. Amostras podem ser integradas da superfície para o fundo, no meio do canal, ou transversalmente, de lado a lado, à meia profundidade. A velocidade de movimento do amostrador deve ser ajustada de acordo com a velocidade da água. Nos rios, evitar áreas de excessiva turbulência ou remanso, procurando se trabalhar nos trechos mais lineares.

Em lagos, a variabilidade espacial é geralmente investigada em pontos de coleta distintos, tanto à superfície quanto à profundidade. Variação diurna em lagos é objeto de estudo, e portanto, não é feita composição de amostras como ocorre, normalmente, para efluentes. Coletas a profundidades específicas podem ser realizadas com auxílio de amostradores do tipo “Van Dorn” ou “Kemmerer”. O bombeamento, normalmente utilizado para amostrar águas subterrâneas, também pode ser adotado para coleta em profundidade em lagos e grandes rios.

Para a coleta de água de chuva, coletores devem ser instalados em pontos estratégicos e as amostras coletadas após um período de precipitação. Em geral determina-se deposição atmosférica (chuva, poeira, cinza, etc.). Exceção ocorre para amostradores modernos que são capazes de se manterem fechados, abrindo apenas com as primeiras gotas de chuva.

Tomar os cuidados necessários nas coletas de material tóxico, volátil ou inflamável. Nesses casos, utilizar equipamentos de segurança como luvas, máscaras e óculos durante o manuseio da amostra. Nunca fumar durante a operação.

3. ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS: TIPOS E PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA

Os tipos de frascos mais freqüentemente utilizados são os de vidro de borossilicato ou de plástico, inertes e de preferência escuros e resistentes a álcalis. Tampas rosqueáveis de plástico constituem-se na melhor forma de vedação. As tampas de borracha podem desintegrar-se ou liberar metais-traço quando na presença de solventes orgânicos, e tampas de vidro não são adequadas para soluções alcalinas. A Tab. 1 apresenta os frascos ideais para cada variável e o respectivo tipo de preservação recomendado.

Para a determinação de oxigênio dissolvido os frascos do tipo “DBO”, claros ou escuros, são os recomendados para o método de Winkler (APHA et al., 1992). Os frascos a serem utilizados devem estar rigorosamente limpos e sempre vedados.

Para a determinação de coliformes, lavar com detergente e água quente, enxaguar com água quente e depois com água destilada, esterilizar por, no mínimo, 60 minutos a 170°C (vidro) ou em autoclave a 121°C por 15 min (plástico e vidro).

Para a determinação de metais, utilizar detergentes apropriados (p.ex., Extran[®]) e enxaguar com água destilada. Os frascos mais indicados são de polietileno

(NALGENE® ou similar), que geralmente apresentam baixa contaminação por íons metálicos. Deixar pelo menos 24 horas em ácido nítrico, P.A., a 10% (v/v), ou clorídrico, P.A., a 10% (v/v), e enxaguar novamente com água bidestilada.

Para a determinação de formas de fósforo e de compostos nitrogenados (amônia, nitrato, nitrito e nitrogênio total), utilizar detergentes apropriados (Extran® ou similar) e enxaguar com água destilada, deixar por algum tempo em ácido clorídrico, P.A., a 10% (v/v) e enxaguar novamente com água deionizada. Não utilizar detergentes que contenham fósforo em sua fórmula.

Na determinação de pesticidas, lavar os frascos com detergente apropriado e enxaguar com água deionizada, seguido de acetona, e finalmente com hexano de alta pureza.

Para determinação de carbono orgânico, o ideal é que o frasco de vidro seja aquecido a 550°C e mantido vedado com Parafilm® isolando o líquido da tampa, se essa for de borracha.

Para o restante das determinações, lavar os frascos com detergente e enxaguá-los com bastante água destilada. Deixar, por algum tempo (≥ 24 h) em ácido clorídrico, P.A., a 10% (v/v) ou nítrico, P.A., a 10% (v/v) e enxaguar novamente com bastante água destilada e deionizada.

4. PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

Técnicas de preservação são utilizadas para retardar ações biológicas, hidrólise de compostos químicos e reduzir a volatilidade, que continuam a ocorrer após a coleta das amostras. Entretanto, é importante ter em mente que completa estabilidade dificilmente será alcançada.

O tempo máximo permitido entre a coleta de uma amostra e sua análise depende do parâmetro a ser determinado, da característica da amostra e das condições

TABELA 1. Tipo de frasco, modo e tempo máximo de preservação para algumas características selecionadas.

CARACTERÍSTICA	FRASCO*	PRESERVAÇÃO	ARMAZENAGEM
Acidez	P, V	Refrigerar	24 h
Alcalinidade	P	Refrigerar	24 h
Alumínio	P	Refrigerar	28 d
Amônia	P, V	Congelar	28 d
Boro	P	Refrigerar	28 d
Carbono Org. Total	V	Refrig/Acid	28 d
Cloro Residual	P, V	Analisar Imediatamente	
Cloreto	P, V	Refrigerar	28 d
Clorofila	P, V	Congelar Filtros	30 d / escuro
Coliformes	P, V	Refrigerar	24 h
Condutividade	P, V	Refrigerar	28 d
Cor	P, V	Refrigerar	48 h
DBO	P, V	Refrigerar	24 h
DQO	P, V	Refrig/Acid	24 h
Dureza	P, V	Refrig/Acid	180 d
Fósforo Solúvel	V	Congelar	28 d
Fósforo Total	V	Refrig/Acid	28 d
Metais	P, V	Refrig/Acid	28 d
Ca, Mg, Na, K, Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Hg			
Nitrato	P, V	Congelar	28 d
Nitrito	P, V	Congelar	28 d
Nitrogênio Kjeldahl	P, V	Refrig/Acid	28 d
Odor	V	Analisar Imediatamente	
*O ₂ Dissolvido Winkler	V (DBO)	Fixar	24 h
Pesticidas	V	Congelar	7 d
PH	P, V	Analisar Imediatamente	
Sílica Solúvel	P	Refrigerar	28 d
Sólidos Suspensos	P, V	Refrigerar	7 d
Sulfato	P, V	Congelar	28 d
Turbidez	P, V	Refrigerar	24 h

* P = plástico; V = vidro; V (DBO) = frasco de DBO

DBO = Demanda biológica de oxigênio

DQO = Demanda química de oxigênio

Fonte: APHA, 1992

de armazenamento. Quanto menor o tempo, menor o risco de alterações. O armazenamento de amostras no escuro e a baixas temperaturas (gelo em cubos) ajuda na diminuição do crescimento de microrganismos.

Certas características não são estáveis e, portanto, devem ser determinadas imediatamente, como temperatura da água e gases dissolvidos. O ideal é que as amostras sejam mantidas refrigeradas e as determinações efetuadas o mais brevemente

possível. Caso a preservação seja inevitável, escolher o método mais adequado às determinações que serão realizadas (Tab. 1). Usar preservativos químicos somente quando houver certeza de que não haverá interferência nas determinações previstas.

Íons metálicos podem ser adsorvidos nas paredes dos frascos, sofrer precipitação ou oxidação (p.ex., Fe^{2+} , Mn^{2+}). Esses processos podem ser minimizados por acidificação do meio com ácido nítrico, até $\text{pH} < 2,0$ (1,0 mL HNO_3 , P.A., conc/L de água).

Para material em suspensão não existe método de preservação ideal. Assim, manter as amostras refrigeradas e analisar o mais rapidamente possível.

Para determinação de carbono orgânico, preservar com cloreto de mercúrio, P.A., 2% (m/v) numa proporção de 0,1 mL para 10 mL de amostra, ou acidificar com ácido fosfórico, P.A., 10% (v/v) ou sulfúrico, P.A., 10% (v/v) até reduzir o pH $< 2,0$.

Os filtros para determinação de clorofila deverão ser mantidos no escuro, congelados e na presença de sílica gel.

Amostras para determinação de sílica não devem ser congeladas. Mantê-las sob refrigeração e analisar o mais rapidamente possível.

Para a determinação de compostos nitrogenados e fósforo dissolvido, congelar a amostra imediatamente após filtragem. A acidificação pode ser aceita em alguns casos, desde que não interfira nas determinações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKERS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL ASSOCIATION. (USA)** Standard methods for the examination of water and waste water. **Washington, 1992. 1100p.**
- BARTZ, H.R., coord.** Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. **3. ed. Passo Fundo: SBCS/Núcleo Regional Sul, 1995. 224 p.**
- DE-POLLI, H., coord.** Manual de adubação para o estado do Rio de Janeiro. Itaguaí, Rio de Janeiro: **Universidade Rural, 1988. 179 p.**
- FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P.** Amostragem de solo para avaliação da sua fertilidade. **Jaboticabal: UNESP-FCAV, 1988. 21 p.**
- GOTHERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M.** Methods for physical and chemical analysis of fresh water. **Osney Mead: Blackwell Sci., 1978. 216 p. (IBP Handbooks n.8).**

TECIDOS VEGETAIS

Ciríaca A.F. de Santana do Carmo¹
Ana Rita de Araújo Nogueira²
Alaíde Soares de Oliveira³
Délcio Gomes de Almeida⁴
Francisco Duarte Fernandes⁴
Gilson Villaça Exel Pitta⁵
Gonçalo Mourão Carlos⁴
Henrique de Oliveira⁶
João Batista Mamão³
Maria José Aguirre Armelin⁷
Marcelo Francisco C. Saldanha¹
Mário Miyazawa⁸
Shirlei Scramim⁹
Washington de Oliveira Barreto¹
Yolanda A. Rufini¹⁰

1. INTRODUÇÃO

A análise química de tecido vegetal consiste na determinação de teores dos elementos, principalmente em folhas, resultando em diagnóstico do estado nutricional da planta, que irá permitir, por sua vez, avaliação complementar das condições da fertilidade do solo. Esse diagnóstico refletirá os efeitos da interação solo-planta-clima e também do manejo, constituindo-se ferramenta importante no estabelecimento de um programa racional de adubação, que permita o adequado suprimento de nutrientes.

¹ Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

² Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

³ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

⁴ Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

⁵ Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

⁶ Embrapa Pantanal, Corumbá, MS

⁷ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, São Paulo, SP

⁸ Instituto Agronômico do Paraná, IAPAR, Londrina, PR

⁹ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

¹⁰ Centro Nacional de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba, SP

No entanto, para diagnóstico mais seguro, deve-se levar em conta a variação quantitativa dos elementos nos tecidos vegetais. Os fatores que influenciam a concentração dos elementos são os seguintes:

- fatores inerentes à planta: espécie, porta-enxerto, idade fisiológica, sistema radicular;
- fatores inerentes às condições ambientais: tipo de solo, clima, relevo, drenagem, manejo;
- fatores inerentes à interação dos itens citados, como, por exemplo, estado fitossanitário.

A desconsideração desses fatores pode acarretar erros na interpretação dos resultados das análises, com possíveis conseqüências negativas na orientação da adubação a ser empregada.

É oportuno observar que, dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostra é a mais crítica. Em geral, é nessa etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo. Por isso, os passos do procedimento de pré-tratamento de amostras deverão ser sempre considerados cuidadosamente.

2. AMOSTRAGEM

O princípio básico de amostragem consiste na seleção de partes da planta (normalmente folhas), que apresentem maior estabilidade possível em relação aos fatores que afetam sua composição. Por outro lado, devem apresentar alta sensibilidade quanto a variações de composição decorrentes de tratamentos experimentais ou variações de práticas de manejo da cultura.

As amostras devem ser colhidas quando as culturas estiverem apresentando seu maior crescimento vegetativo, antes de atingirem o florescimento. A época de coleta

varia de cultura para cultura. A parte da planta requerida para amostragem também é de grande importância, pois há diferenças no teor de nutrientes entre folhas, caules e raízes. No caso de determinações para pesquisa, recomenda-se analisar a planta separadamente (raiz, caule e folhas). As folhas recém-maduras são os órgãos que melhor representam o estado nutricional da planta, uma vez que são o centro dos processos metabólicos e refletem bem a composição e as mudanças na nutrição. Deve-se levar em consideração a época do ano em que será coletada, a posição da folha no vegetal, o número de folhas por planta e por área. Deve-se também tomar as seguintes precauções:

- não misturar folhas de variedades ou espécies diferentes;
- não misturar plantas que apresentem visualmente sintomas de deficiência nutricional com plantas de aparência normal;
- não misturar, em nenhum caso, folhas com idades fisiológicas diferentes;
- no caso de plantas perenes, não colocar na mesma amostra folhas de ramos produtivos e folhas de ramos vegetativos;
- no caso de plantas perenes enxertadas, não misturar folhas de plantas que tenham copa ou porta-enxerto diferentes;
- coletar folhas livres de doenças, insetos e danos mecânicos;
- evitar a mistura, na mesma amostra, de folhas de plantas que não representem a condição média da lavoura ou pomar;
- evitar a coleta de amostras de folhas logo após adubação no solo ou foliar e/ou pulverizações com defensivos;
- evitar amostras de plantas próximas de estradas ou de carregadores.

A fim de ilustrar este documento, a Tab. 1 apresenta o número, parte da planta e o tipo de folhas que devem ser coletados para a análise, assim como a época de amostragem, em função da cultura.

Tabela 1. Procedimento de amostragem para diagnose foliar em diversas culturas

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	N ^o de folhas e n ^o de plantas
Abacateiro	Limbo	3 ou 4 meses da brotação da primavera	4 folhas/árvore, nos 4 pontos cardeais, 25 árvores.
Abacaxi	Folha "D" inteira	No florescimento	1 folha por planta, amostra de 50 plantas.
Aipo	Pecíolo	Folha mais nova completamente desenvolvida, metade do ciclo vegetativo plantas com 25 e 35 cm.	1 por planta, amostra de 50 plantas.
Alface	Nervura mediana da folha envolvente	No aparecimento da cabeça.	1 por planta, amostra de 50 plantas.
Alfafa	Seção média da haste	No florescimento	Amostra de 50 plantas.
Algodão	Limbo	Da 5 ^a folha a partir do ápice da haste principal, no florescimento (1 ^a folha é aquela completamente aberta).	1 por planta, amostras de 30 plantas.
Ameixeira	Folha com pecíolo	Da parte média do ramo do ano, situado à altura média da planta, no florescimento	4 a 8 folhas por árvore, nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Amendoim	Folha com pecíolo	Do 4 ^o raquis do ramo principal, a partir da base, sem contar os ramos cotiledonares.	Uma por planta, amostras de 50 plantas.
Amoreira	Limbo	Da 1 ^a folha adulta abaixo do ponto de crescimento, na época da colheita.	2 folhas por planta, amostras de 50 plantas
Arroz	Toda parte aérea	30 dias após a germinação	Amostras de 20 plantas.
Aspargo	Ramos	No outono, 30 cm superiores dos ramos, eliminando-se a haste.	Amostras de 25 plantas.
Aveia	Limbo	Das 4 primeiras folhas, a partir do ápice, no florescimento	Amostras de 50 plantas.
Bananeira	Folha	10 cm centrais da 3 ^a folha a partir do ápice, eliminando-se a nervura central, na época de emissão da inflorescência.	1 folha por planta, amostras de 25 plantas.
Batata	Folíolo	Da 3 ^a folha, a partir do tufo apical, aos 30, 50 e 70 dias.	Amostras de 30 plantas.

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Beterraba	Limbo	A partir da coroa intermediária, na metade do ciclo.	Amostras de 50 plantas.
Brócoli	Nervura central de folhas externas	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 plantas.
Cafeeiro	Folha com pecíolo	3 ^o par a partir do ápice dos ramos, da altura média da planta, no verão.	4 folhas por planta nos pontos cardeais, amostras de 25 plantas.
Cana-de-açúcar	Folhas	20 cm centrais da folha +3, excluída a nervura central, aos 9 meses de idade (obs.: para “cana de ano” a amostragem é feita aos 4-5 meses de idade)	1 por planta, amostras de 100 plantas.
Cenoura	Limbo ou toda a parte aérea	Das 4 primeiras folhas a partir do ápice, no florescimento.	Amostras de 50 plantas.
Couve de Bruxelas	Folhas sem pecíolo	Folhas mais novas, plenamente desenvolvidas no verão.	Amostras de 50 plantas.
Couve-flor	Nervura central das folhas externas	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 plantas.
Chá	Folhas	2 ^a folha a partir do ápice dos ramos não lignificados, maio a junho.	4 folhas por planta, amostras de 25 plantas.
Citros	Folha com pecíolo	Folhas geradas na primavera, com 6 meses de idade, nos ramos com frutos.	4 folhas por árvore nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Ervilha	Limbo ou pecíolo	Do 3 ^o nó a partir do ápice, quando a planta estiver com 8 a 9 nós	Amostras de 50 plantas.
Feijoeiro	Folhas	Todas as folhas no florescimento	Amostras de 10 plantas.
Fumo	Folhas	4 ^a e 6 ^a folhas acima da base no florescimento	Amostras de 30 plantas.
Macieira	Folhas com pecíolo	Do ramo do ano, no florescimento	4 a 8 por árvore, nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 árvores.

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Mandioca	Limbo (fóliolo)	Da folha que faz um ângulo de 90° com o caule (aproximadamente a 1ª folha a partir do ápice da haste principal). A 1ª coleta quando a planta tiver 1/3 de sua altura, a 2ª após a ramificação sobre os ramos primários e a 3ª coleta é feita sobre os ramos secundários.	Amostras de 30 plantas por época
Mangueira	Folha com pecíolo	Da parte média dos ramos do último ano, na altura média das plantas no florescimento.	4 folhas por árvores nos pontos cardeais, amostras de 25 árvores.
Milho	Folha	Colher o terço médio na folha +4, a partir do ápice, excluída a nervura central na idade de 9 semanas (folha um é aquela em que a inserção da bainha com o colmo é visível).	Amostras de 30 plantas.
Morangueiro	Limbo	Das 3ªs folhas, a partir do ápice, no florescimento.	1 folha por planta, amostras de 50 plantas.
Nogueira Pecã	Fóliolo	Um par da parte média da folha com ráquis que aparece nos ramos terminais, 6 a 8 semanas após o florescimento.	4 partes por árvore, nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 plantas.
Pastagem (gramíneas de várias espécies)	Porção da parte aérea, retirada pelo gado no pastejo	No verão	Amostra de aproximadamente 200 gramas de material fresco.
Pereira e Pessegueiro	Folhas com pecíolo	Dos ramos do ano no florescimento	4 a 8 folhas nos pontos cardeais, na altura média da planta, amostras de 25 plantas.
Pinheiro	Folhas (agulha)	Dos ramos do último ano, no verão	10 por árvore, amostras de 30 árvores.
Repolho	Nervura central da folha externa envolvente	No início da formação da cabeça	Amostras de 50 folhas.

Cultura	Parte da planta	Idade, Época, Posição da folha	Nº de folhas e nº de plantas
Seringueira	Folhas sem pecíolo	Árvores até 4 anos: 2 folhas da base de um buquê terminal situado no exterior da copa e em plena luz. Essas folhas têm de 4 a 6 meses. Árvores com mais de 4 anos: 4 folhas da base em um mesmo buquê. Essas folhas devem ter de 10 a 12 meses.	Amostras de 25 árvores
Soja	Folha com pecíolo	3 ^{as} folhas, no florescimento.	Amostras de 30 plantas.
Sorgo	Folha	30 cm do terço médio da folha +4 a partir do ápice, excluída a nervura central na idade de 9 semanas.	Amostras de 30 plantas.
Tomate	Folhas sem pecíolo	1 ^a abaixo do 2 ^o cacho floral, na época da sua emissão.	Amostras de 30 plantas.
Trigo	Limbo ou toda a parte aérea	Das 4 primeiras folhas, a partir do ápice, no florescimento	Amostras de 50 plantas.
Videira	Limbo	Da 6 ^a folha a partir do ápice, no florescimento.	1 folha por planta, amostra de 25 plantas.

(Fonte: TRANNI et al., 1983; MILLS & JONES JUNIOR, 1996)

3. PROCEDIMENTO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE FOLHAS NO CAMPO

O procedimento para coleta de amostras de folhas é semelhante àquele descrito para amostragem de solo:

- caminhamento em ziguezague.
- caminhamento em x;
- caminhamento em nível.

As subamostras que formarão a amostra composta devem ter número aproximadamente igual de folhas.

3.1. COLETA DA AMOSTRA

O ideal é que a amostra chegue ao laboratório ainda verde (no máximo 2 dias após a coleta). Entretanto, caso não seja possível e para evitar o desenvolvimento de agentes patogênicos e/ou saprófitas, recomenda-se a lavagem, somente para as folhas verdes e vigorosas, com água corrente e posteriormente com água destilada. Em seguida, devem ser colocadas para secar em sacos de papel, em estufa de circulação forçada de ar, a temperatura que não exceda 65°C, até peso constante.

No caso de contaminação com terra, poeira e/ou resíduos de pulverizações foliares, esta lavagem deverá ser realizada com solução de detergente neutro isento dos macro e micro nutrientes minerais, normalmente determinados nos extratos de tecidos vegetais, e enxaguado várias vezes com água destilada e/ou deionizada. Este procedimento deve ser realizado antes que as folhas murchem.

O envio das amostras ao laboratório deve ser feito em sacos de papel comum ou de pano (algodão) ou em embalagem fornecida pelo laboratório. No caso de determinação de boro, utilizar papel encerado, pois o papel comum contamina a amostra com o elemento. Identificar a amostra e preencher o formulário indicando quais os elementos a serem determinados.

3.2. IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra deve ser identificada no laboratório contendo breve descrição, um número de entrada no laboratório, nome da cultura, nome do coletor, local e data da coleta, elementos a serem determinados e endereço para o envio dos resultados. Informações complementares, como temperatura e hora de amostragem também podem constar, pois são importantes para análise e interpretação dos resultados.

3.3. MOAGEM

A moagem deve ser realizada em moinho de aço inoxidável de bancada (tipo Wiley), com peneira de cerca de 1,00 mm (20-40 “mesh”). O moinho deve estar limpo e seco. Homogeneizar bem a amostra e moer quantidade suficiente para a análise. A maioria dos métodos de determinação utiliza entre 0,5 a 3,0 g de material moído. Material mais fino utiliza amostras na faixa de 0,5 a 1,0 g. No caso de materiais ricos em óleos ou resinas, sugere-se maceração em gral.

Amostras que envolvam grande volume de massa verde (> 2,0 kg) devem ser trituradas em partículas de 1,0 a 2,0 cm de comprimento com picadeiras ou facas de aço inoxidável, antes da secagem, misturadas uniformemente e então subdivididas.

3.4. ARMAZENAGEM

A amostra, depois de seca, moída e homogeneizada, deverá ser acondicionada em frasco limpo e seco, podendo ser de vidro, policarbonato ou polietileno, com tampa plástica hermética. A amostra assim acondicionada deverá ser guardada em local fresco e seco, ao abrigo da luz. Para determinação de elementos voláteis, condições especiais de armazenagem deverão ser observadas.

3.5. INTEGRIDADE DA AMOSTRA

A integridade da amostra deverá ser preservada utilizando-se procedimentos adequados de custódia, manuseio, identificação e acondicionamento, desde a coleta no campo até a recepção no laboratório.

Quando as amostras são recebidas no laboratório, deve-se verificar os seguintes itens:

- danos físicos causados por embalagem e proteção inadequadas;
- perdas de amostras por vedação imprópria ou inadequada;
- contaminações possíveis, p.ex.: misturas de amostras de diversas origens;
- condições inadequadas de preservação para o transporte, p.ex.: temperatura, adição de preservativos e alta umidade;
- possíveis efeitos de contaminação por insetos ou outros microorganismos;
- estabilidade da amostra, ou seja, o tempo decorrido entre a coleta e a recepção no laboratório. A umidade poderá afetar a estocagem das plantas.

3.6. PROBLEMAS DE CONTAMINAÇÃO

O conhecimento das prováveis causas de contaminação é essencial para aumentar a eficiência de um programa de análise de plantas, especialmente para determinação de micronutrientes.

As estufas de secagem devem ser construídas em aço inoxidável e pintadas com tinta epóxi de boa qualidade; bandejas galvanizadas não devem ser utilizadas, devido à provável contaminação com zinco. Evitar a introdução sistemática ou acidental de elementos estranhos durante as várias operações analíticas. Sempre que possível, os reagentes devem ser armazenados em frascos de polietileno e para a lavagem da vidraria devem ser utilizados detergentes apropriados e enxaguados com água destilada e deionizada. Deixar pelo menos 24 horas em ácido nítrico, P.A., a 10% (v/v) ou ácido clorídrico, P.A., a 10% (v/v) e enxaguar novamente com água deionizada.

3.7. ARQUIVO DE AMOSTRAS

Após a realização das determinações, as amostras devem permanecer arquivadas por um certo período de tempo, para futuros estudos de confiabilidade.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAPMAN, H.D.; PRATT, P.F. **Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters**. Riverside: University of California, 1961. 305 p.
- MILLS, H.A.; JONES JR., J.B. **Plant Analysis Handbook**. Micro-Macro Publishing, Inc., 1996. 422p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 201p.
- MARKET, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element in plant matrices. **Science Total Environmental**, Brussels, v.176, p.45-61, 1995.
- QUEVAUVILLER, P. Conclusions of the Workshop- improvements of trace element determination in plant matrices. **Science Total Environmental**, Brussels. v.176, p.141-148, 1995.
- TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1985. 188 p. (Boletim Técnico de Solos, 5).
- TRANI, P.E.; HIROCE, R.; BATAGLIA, O.C. **Análise foliar: amostragem e interpretação**. Campinas: Cargill, 1983, 18p.

TECIDOS E PRODUTOS ANIMAIS

José Roberto Ferreira¹
Armando de Andrade Rodrigues²
Francisco Duarte Fernandes³
Geraldo Maria da Cruz²
Gilberto Batista de Souza²
Gustavo Eugênio Gerhard Barrocas⁴
Hernani Guilherme Barbosa Filho¹
Izabela Miranda de Castro⁵
Marcelo Bastos Chaves⁵
Mônica Martini⁶

1. INTRODUÇÃO

Além da escolha conveniente do método analítico e estudo dos possíveis interferentes, torna-se essencial boa amostragem, preparação e solubilização da amostra para análise. Qualquer que seja o tipo de amostra, erros significativos poderão ser introduzidos se a etapa de preparação não for satisfatoriamente conduzida (PERSTORP ANALYTICAL - TECATOR, 1995).

A amostragem é a primeira fase da análise. É preciso haver integração entre os responsáveis pela coleta e o laboratório, buscando-se sincronismo entre a remessa de amostras e a capacidade do laboratório em executar as determinações (SILVA, 1981).

Este capítulo trata da preparação dos seguintes tipos de amostras:

- planta forrageira, feno, silagem, concentrado, fezes, ossos, pêlos, extrusa, fígado, sangue, urina, líquidos (de rúmen, íleo e abomaso) e leite.

¹ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

² Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

³ Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

⁴ Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

⁵ Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

⁶ Coordenadoria de Assistência Técnica Integral de São Paulo, CATI, Campinas, SP

Em alguns casos é necessário reduzir consideravelmente a dimensão da amostra antes que ela seja introduzida no sistema analítico e possa ser tratada convenientemente (BRUNO et al., 1995). Para isso, algumas etapas são importantes, como, p.ex., a secagem, a moagem e suas subdivisões.

O método de preparação utilizado dependerá do tipo de amostra. O material coletado deve ser preparado em local apropriado e equipado para esta finalidade. Normalmente a atividade de preparação inclui o recebimento, o registro, o pré-acondicionamento, a secagem, a moagem, o acondicionamento e a rotulagem das amostras.

2. Aspectos Importantes Relacionados à Coleta de Amostras

Alguns cuidados devem ser observados, para garantir a integridade física e química do material coletado:

- evitar coletar amostras sujas de terra ou com excesso de água;
- identificar devidamente, com letras legíveis, o recipiente (saco de papel ou de plástico, potes plásticos, frascos, etc.) que receberá a amostra. Cuidado especial deve ser tomado com as amostras que serão armazenadas a baixa temperatura. Em muitos casos, a identificação feita inicialmente torna-se ilegível durante o processo de descongelamento;
- garantir que os utensílios, embalagens e ferramentas empregados na coleta e no transporte não contaminem a amostra, principalmente em função das determinações que serão realizadas. Como exemplo, se de uma planta pretende-se determinar o teor de ferro, um facão utilizado para retirar a amostra não pode ter sido confeccionado com esse elemento. Em amostras provenientes de experimentos conduzidos em casa de vegetação esse tipo de cuidado deve ser redobrado;

- documentar cada etapa da coleta, incluindo eventos não esperados (p.ex., chuvas). Especificar todas as características relevantes da área, condições climáticas e população amostrada, condições de transporte e secagem;
- a amostra deve ser encaminhada o mais rapidamente possível ao laboratório, para que possa ser devidamente processada e armazenada;
- a amostra que chegar ao laboratório sem as informações necessárias ao processamento e análise deve ser recusada. É necessário conhecer o tipo da amostra, o que deve ser determinado e quem é o seu responsável.

3. OBJETIVO DA PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A preparação visa, principalmente (SILVA, 1981; AOAC, 1990; BRUNO et al., 1995):

- permitir o armazenamento de forma mais adequada e por período de tempo mais longo;
- diminuir problemas relacionados à homogeneidade das amostras;
- reduzir a dimensão da amostra;
- facilitar o ataque dos reagentes durante o processo analítico, pela diminuição do tamanho das partículas.

4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

4.1. RECEBIMENTO

As amostras aqui abordadas são: plantas forrageiras, feno, silagem, resíduos agrícolas ou agro-industriais e concentrados.

Com relação ao recebimento de amostras, é importante ressaltar que:

- são necessários, no mínimo, 15 g de material pré-sêco (65°C) e moído para que se possa realizar as principais determinações em estudos de nutrição animal (nitrogênio total, matéria seca a 105°C, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, digestibilidade “in vitro” da matéria seca, matéria orgânica (cinzas), extrato etéreo, energia bruta, macro e microelementos minerais);
- em experimentos que produzam pequena quantidade de amostras, devem ser discriminadas as determinações necessárias com a quantidade de material possível de se obter;
- para determinação de pH, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal em silagem, coletar de 1,0 a 2,0 kg de amostra;
- a perda de umidade, durante o transporte, não terá grande importância, desde que os resultados sejam dados apenas na matéria seca total. No entanto, em amostras provenientes de silagem, a umidade é um bom indicador de sua qualidade, devendo-se preservá-la;
- quando as determinações não forem realizadas imediatamente em amostras de forragens verdes, fezes, urina, etc., é necessário que as amostras sejam conservadas em baixas temperaturas (entre -18 e -20 °C).

As amostras de fezes são processadas praticamente da mesma maneira, diferenciando de outros tipos de amostras de origem animal e que serão consideradas mais adiante.

4.2. IDENTIFICAÇÃO E REGISTRO

A identificação e o registro das amostras permitirão o rastreamento dos dados gerados, possibilitando ao pesquisador/cliente relacionar os códigos atribuídos pelo laboratório à identificação mais detalhada do experimento.

O mínimo que é preciso realizar na etapa de identificação e registro é (SILVA, 1981; AOAC, 1990; BRUNO et al., 1995; EMBRAPA, 1996):

- nome do solicitante da análise;
- data de coleta;
- data de recebimento das amostras;
- tipo de material;
- determinações a serem realizadas;
- número-código de cada amostra;
- documentação de informações relevantes.

4.3. PRÉ-ACONDICIONAMENTO

Antes de concluir o processo de preparação das amostras, elas são pré-aciondionadas de diversas formas.

4.3.1. AMOSTRAS DE ORIGEM VEGETAL

São pré-aciondionadas em sacos de papel de capacidade de 3 kg. Em cada saco, que deverá estar identificado com o número-código, são colocados aproximadamente 150 g da amostra.

Para determinação de carboidratos solúveis, ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal, parte da amostra deverá ser separada, identificada e imediatamente congelada, encerrando, nessa etapa, a preparação. A amostra só será descongelada horas antes da determinação (EMBRAPA, 1996).

4.3.2. AMOSTRA DE FEZES

Para o pré-acondicionamento deste tipo de amostra empregam-se recipientes retangulares de vidro (tipo fôrma doméstica), colocando-se, em cada um, também aproximadamente 150 g da amostra.

Observação:

Quando solicitada, a determinação da matéria seca ao ar - ASA (amostra seca em estufa a 65°C com circulação forçada de ar) é feita após o pré-acondicionamento. Neste caso, é necessário obter o peso exato da amostra que é colocada na bandeja ou recipiente de vidro. Os pesos anotados serão utilizados para o cálculo da porcentagem de matéria seca ao ar (% ASA).

4.4. PRÉ-SECAGEM

A pré-secagem das amostras tem os seguintes objetivos: facilitar o processo de moagem, prolongar a conservação da amostra pela destruição de enzimas responsáveis pelo processo de decomposição (JONES JUNIOR & STEYN, 1973) e pela diminuição da atividade microbológica (facilitada pela umidade) e permitir a determinação da ASA.

- no caso de ser necessário o valor da porcentagem de matéria seca, deve-se pesar a amostra antes e depois da pré-secagem;
- amostras de plantas destinadas a determinações de macro e microelementos minerais podem necessitar descontaminação antes da pré-secagem, devido à poeira ou resíduos de pulverização no local da coleta, dependendo dos elementos a serem determinados e das possibilidades de contaminação. Caso necessário, lavar as

amostras com solução de detergente neutro (entre 0,1-0,3 % (v/v) e em seguida com água deionizada. Este procedimento deve ser rápido para se evitar perda de nutrientes durante a lavagem. Se as amostras estiverem secas ou murchas, é aconselhável não lavar com água;

- a secagem é feita em sacos de papel limpos, em estufa com circulação de ar a temperatura de 65°C, por um período de 48 horas ou até peso constante (SILVA, 1981; BRUNO et al., 1995);
- para o caso de silagem, a pré-secagem deve ser feita a 45°C por 72 horas;
- a carga de cada estufa deve ser definida de modo que a circulação interna de ar não seja prejudicada;
- amostras de fezes que serão analisadas após secagem e moagem devem ser colocadas em bandejas limpas e secas a 65°C durante 48 horas ou até peso constante. Amostras que serão analisadas frescas devem ser colocadas em sacos plásticos, sendo então retirado o ar e congeladas até a sua manipulação;
- determinações de vitamina C, caroteno, etc. devem ser feitas na amostra fresca, porque tais compostos podem ser perdidos ou alterados durante o processo de secagem;
- a pré-secagem é necessária quando a amostra possui alto teor de umidade;
- após secagem, a bandeja ou o saco de papel é retirado da estufa e posto sob condições ambientais do laboratório por 24 horas. Esse tempo é necessário para que a umidade da amostra entre em equilíbrio com a umidade do ambiente e atinja peso constante;
- no caso de grãos, o seguinte procedimento para controle de qualidade da matéria prima é adotado nas indústrias: pré-secagem a 45°C por 24 horas; em seguida, o grão é triturado ou quebrado e colocado em estufa por 1 hora a 130°C para determinação da matéria seca.

4.5. MOAGEM

A moagem das amostras é feita em moinho tipo Wiley, com facas, com peneiras de 1 mm, sendo coletado apenas o que passa na peneira (SILVA, 1981; AOAC, 1990; PERSTORP ANALYTICAL - TECATOR, 1995; EMBRAPA, 1996). Toda superfície que tenha contato com a amostra deve ser de aço inoxidável.

A moagem é realizada em amostras que apresentam elevado teor de matéria seca (> 80%). Se a amostra for constituída de pó fino, capaz de atravessar a peneira de 40 “mesh”, bastará homogeneizá-la e reduzi-la, com auxílio do quarteador, à porção destinada a análise.

O procedimento a ser utilizado na moagem, entre uma amostra e outra, é o seguinte:

- ao retirar a amostra, abrir o moinho e limpar adequadamente seu interior, não deixando material que possa contaminar a amostra seguinte;
- fechar novamente o moinho, colocando uma pequena quantidade da próxima amostra;
- descartar esta quantidade moída;
- colocar o restante do material, coletando o material moído.

Para quantidades pequenas de amostras o melhor é empregar micromoinhos. Não sendo possível, aproveitar todo o material, inclusive o que fica retido na peneira. No caso de algumas amostras, como por exemplo caroço de algodão, é necessário usar moinho especial ou tratar a amostra (HCl P.A., concentrado) para facilitar a moagem.

4.6. ACONDICIONAMENTO

Após a moagem, as amostras são acondicionadas em frascos com tampa, com capacidade aproximada de 150 mL, identificados com o número-código (JEFFERY et al., 1992; FERREIRA & GOMES, 1995).

Alguns cuidados devem ser tomados nesta fase:

- utilizar embalagem limpa e seca, que garanta a não interação entre o ambiente e a amostra;
- a embalagem deverá estar adequadamente rotulada;
- o ideal é analisar as amostras logo após a moagem. Não sendo possível, armazenar em local fresco (de preferência refrigerado) e protegido da luz; e,
- é necessário lavar as embalagens destinadas ao armazenamento, levando-se em conta os tipos de determinações a serem realizadas. No caso de se determinar macro e microelementos, além da lavagem com detergente neutro, recomenda-se a lavagem com solução de HCl P.A., a 10 % (v/v) e em seguida com água deionizada.

Ao final do acondicionamento, as amostras seguem para o laboratório, acompanhadas de formulário de registro, estando prontas para serem analisadas.

Quando se tratarem de amostras de fezes contendo marcadores, como, p.ex., cromo ou cobalto, procurar agrupar os tempos de coleta (um grupo: T_0 - Animal 1, T_0 - Animal 2, ...; outro grupo: T_1 - Animal 1, T_1 - Animal 2, ...; etc.). Com isso, o que se pretende é minimizar contaminações entre as amostras, ou seja, processa-se primeiro as de baixa concentração, indo em direção às mais concentradas.

Em todo o trabalho de preparo de amostra é recomendável o uso de luvas e máscara.

4.1.7. ETAPAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

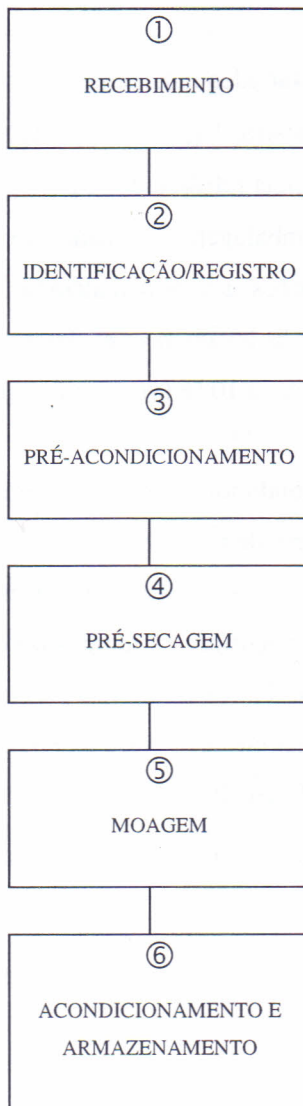


Figura 1 - Preparação das amostras

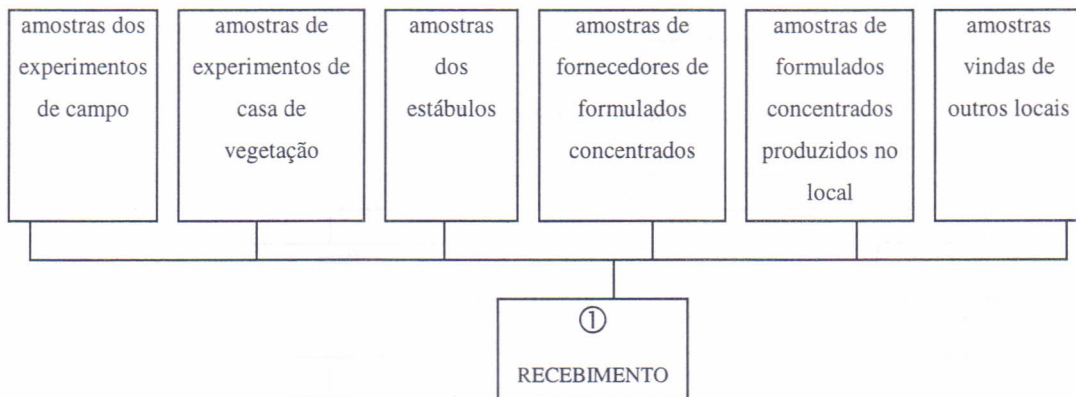


Figura 2. Recebimento.



Figura 3. Registro.

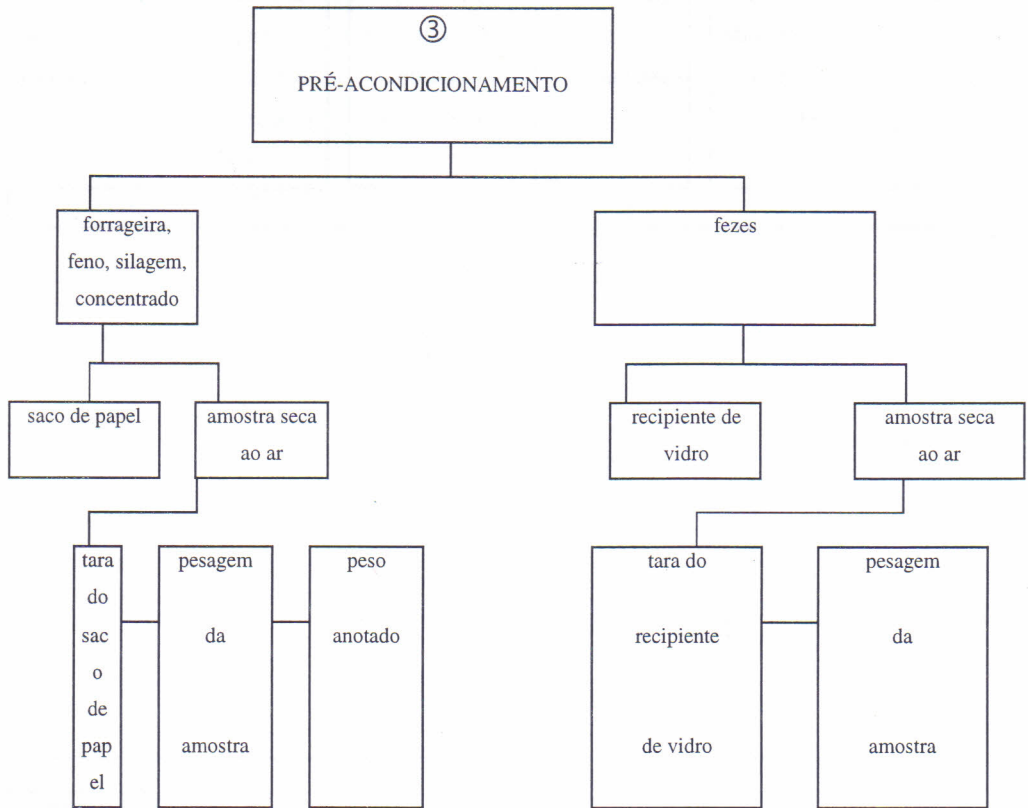


Figura 4. Acondicionamento temporário.

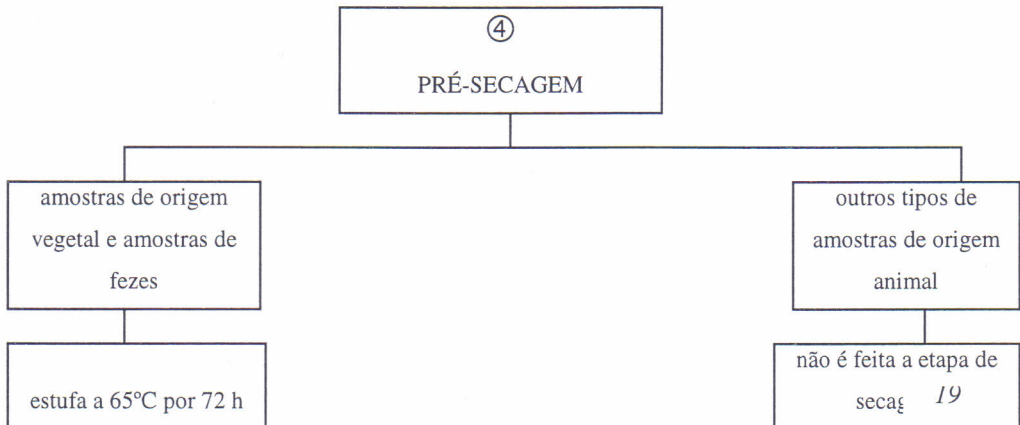


Figura 5. Secagem.

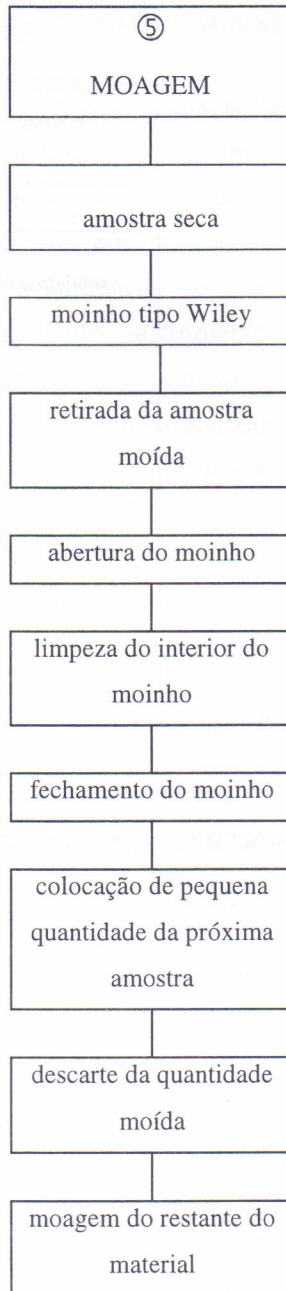


Figura 6. Moagem.

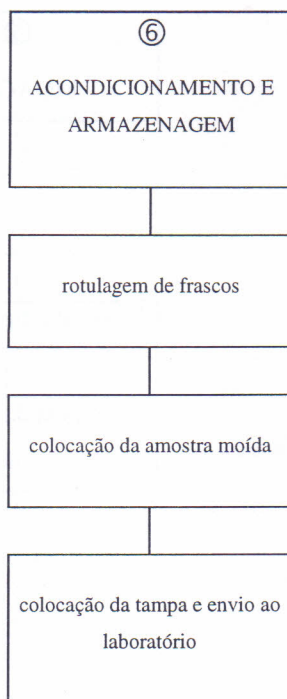


Figura 7. Acondicionamento.

5. PREPARO DE AMOSTRAS DE INGREDIENTES E SUPLEMENTOS MINERAIS

- A quantidade de material não pode ser muito pequena pois deve ser representativa, principalmente em misturas;
- misturar bem o material e fazer amostra composta, cujo procedimento deve estar de acordo com o volume do material a ser investigado;
- retirar em torno de 50 g de amostra, que deve então ser triturada em gral de ágata para perfeita homogeneização;
- armazenar em frascos de vidro, tampados e bem limpos.

6. OUTROS TIPOS DE AMOSTRAS DE ORIGEM ANIMAL

Excetuando as fezes, que já foram consideradas, também podem ser recebidas pela sala de preparo de amostras os seguintes tipos de amostras de origem animal: osso, fígado, sangue, urina, líquidos (de rúmen, íleo e abomaso), extrusa e pêlos.

Cuidados devem ser observados em relação à contaminação do material coletado. As principais fontes de contaminação de amostras de tecido animal são frascos e materiais lavados indevidamente, instrumentos de aço não inoxidável e exposição ao ar. Os frascos devem ficar imersos em solução de detergente com baixo teor de fosfato, lavados com água corrente, água deionizada e em seguida deixados em solução de HCl, P.A., a 10% (v/v), por período mínimo de 24 horas e a seguir lavados com água deionizada antes de serem utilizados.

6.1. OSSO

Para a coleta de amostras de osso é necessário o auxílio de um médico-veterinário que fará biópsia do animal. Todos os cuidados necessários à perfeita assepsia devem ser tomados, evitando-se contaminações.

A amostra retirada é imediatamente lavada com água deionizada e colocada em frasco identificado, podendo ser congelada ou conservada em solução de formaldeído P.A., a 10% (v/v), até ser utilizada. A quantidade da solução de formaldeído contida no frasco deve ser suficiente para cobrir toda a amostra, mantida à temperatura de, aproximadamente, 15°C (EMBRAPA, 1996).

O preparo da amostra consiste na separação das camadas cortical e medular. A limpeza da camada cortical (utilizada para análise química) é feita com auxílio de bisturi e osteóstomo, lavando sempre a amostra com água deionizada. A amostra deve ser manipulada com pinça. Caso haja necessidade de manuseio, deve-se lavá-la com água deionizada, não sendo aconselhável o uso de luvas cirúrgicas. Estas, por conterem

talco, constituem grande fonte de contaminação (EMBRAPA, 1996). Atenção especial deve ser dada ao local onde se fará a limpeza, evitando-se sempre a proximidade de qualquer material que possa contaminar a amostra.

Para a determinação química de elementos, a amostra de osso deve ser seca a 100°C por 24 horas, desengordurada com éter de petróleo por 36 horas e calcinada a 600°C por 8 horas. Para a determinação da porcentagem de cinzas, deve ser feita a pesagem da amostra seca a 100°C antes e depois da calcinação.

Se for necessária a determinação da densidade da amostra de osso, esta deve ser feita após a limpeza e antes da secagem e extração da gordura.

6.2. FÍGADO

6.2.1. BIÓPSIA

Como no caso da obtenção de amostra de osso, é necessária a presença de um médico-veterinário para a realização da amostragem de fígado. A coleta é feita utilizando-se trocáter. O tecido hepático retirado é colocado em disco de papel de filtro, para que o sangue seja absorvido. O papel de filtro não deve ser retirado da embalagem muito antes, para evitar contaminações. A amostra obtida pode ser congelada imediatamente ou conservada totalmente imersa em solução de formaldeído, P.A., a 10% (v/v), e mantida em torno de 15°C, até ser analisada (EMBRAPA, 1996).

6.2.2. NECRÓPSIA

Para evitar contaminações, a amostra de fígado deve ser coletada tão logo o abdome do animal seja aberto. Cortar 50 a 100 g do lobo direito, tendo-se o cuidado de não tocar na porção do fígado a ser amostrada. A amostra deve ser conservada em formaldeído ou congelada.

6.2.3. OBSERVAÇÕES

Utilizando pinças e tesouras de aço inoxidável, local e materiais bem limpos, retirar a película ou envoltório do fígado (cápsula de Glisson) e cortar em pedaços menores (quando for o caso), secando a amostra a 105°C por 12 horas. Amostras maiores devem ser homogeneizadas por trituração em gral de ágata limpo e exclusivo para esta finalidade, antes de serem pesadas para a realização das determinações. Muitas amostras obtidas por meio de biópsia, que possuem peso seco muito pequeno, podem ser pesadas para determinação diretamente após a secagem, dispensando a etapa de trituração.

6.3. SANGUE

As amostras de sangue são coletadas diretamente dos animais por punção venosa na cauda ou veia jugular, utilizando-se agulhas de calibre 18 ou maior, para prevenir hemólise, recolhendo-se a amostra em tubos de ensaio tipo Vacutainer[®]. Esses tipos de tubos são comercializados esterilizados, com vácuo e anticoagulante, para o caso de obtenção de plasma. No caso de determinação de zinco, deve-se evitar as rolhas de borracha destes tubos, pois podem ser fonte de contaminação. Isto pode ser evitado substituindo-se as rolhas de borracha por Parafilme[®] para tampar os tubos (EMBRAPA, 1996).

Deve-se observar a temperatura da amostra e o tempo decorrido até a separação do plasma. Para a determinação de elementos químicos, o soro ou o plasma deve ser separado logo que possível após a coleta do sangue, que deve ser mantido sob refrigeração (p.ex., em água com gelo), antes da separação. Sob certas condições, pode-se utilizar centrífuga portátil e pipetas automáticas.

6.3.1. PLASMA

Para a obtenção de plasma sanguíneo, o tubo de coleta deve conter um anticoagulante. Tão logo o sangue seja coletado, o tubo deve ser invertido cuidadosamente para que ocorra a mistura. A escolha do anticoagulante deve ser feita de forma a provocar hemólise ou contamine a amostra com o elemento a ser determinado. Os mais recomendados são a solução de citrato de lítio, P.A., a 20% (m/v), na proporção de 0,1 mL/10 mL de sangue ou sal EDTA dissódico, P.A., na proporção de 1 mg/mL de sangue. Centrifugar as amostras de sangue durante 12 min a 2500 rpm (EMBRAPA, 1996). Remover o plasma com pipetador automático, tendo o cuidado de não aspirar as células, e transferi-lo para outro tubo.

6.3.2. SORO

A coleta de soro é indicada em locais onde a refrigeração e a centrifugação não são possíveis até 24 horas após a coleta da amostra. Nesse caso não se utiliza anticoagulantes e o tubo da amostra é deixado em repouso para que ocorra a coagulação e a separação do soro. Transferir o soro para outro tubo utilizando pipetador automático. O sangue coagulado pode ser centrifugado para separação mais adequada.

6.3.3. DESPROTEINIZAÇÃO

A amostra isenta de proteína é utilizada para determinação de macroelementos, sendo que para as determinações de microelementos parte do soro ou plasma deve ser reservada antes da desproteínização. Um procedimento recomendável para a precipitação das proteínas é o de se adicionar 9,0 mL de solução 10% (m/v) de ácido tricloroacético (TCA), P.A., a 1,0 mL de soro ou plasma, agitar durante 1 min, deixar

em repouso durante 10 min e filtrar. Note-se que esse filtrado representa uma diluição de 1:10 da amostra de soro ou plasma, que os padrões de leitura devem ser preparados com mesma proporção de TCA, e que uma prova em branco filtrada deve ser preparada.

Observações:

De cada animal deve ser coletada quantidade de sangue suficiente para se obter volume de soro ou plasma para as determinações desejadas. Após a separação do soro ou plasma, as amostras devem ter coloração amarelada. Coloração avermelhada indica que houve hemólise, o que inviabiliza a determinação de elementos químicos, devendo então se descartar a amostra.

Amostras de soro ou plasma já desproteinizadas são mais estáveis e podem ser refrigeradas por até quatro semanas. No entanto, as amostras devem ser congeladas quando o período entre a coleta e a determinação for superior a esse período.

6.4. LÍQUIDO DE RÚMEN

Para esse tipo de amostra utilizam-se animais com fístula de rúmen. Em animais intactos utiliza-se sonda esofageana. A fístula é aberta e, com as mãos, calçadas com luvas, o material é retirado de diversas partes do rúmen e colocado em camadas de gaze limpa. A gaze é espremida e o líquido filtrado é recolhido em recipiente adequadamente lavado. Do filtrado:

- parte é utilizada para medição do pH;
- parte é utilizada para determinação de nitrogênio amoniacal → com um pipetador automático, são coletados 5,0 mL do líquido e colocados em tubo de ensaio com

tampa, identificado e contendo 2 gotas de ácido sulfúrico, P.A., a 50% (v/v). No caso de se fazer a determinação do nitrogênio amoniacal imediatamente após a coleta, não haverá necessidade de tratar a amostra com ácido sulfúrico. O volume de líquido a ser coletado depende do teor de nitrogênio da amostra;

- outra parte é utilizada para determinação de ácidos graxos voláteis → são coletados 5,0 mL do líquido e colocados em tubo de ensaio com tampa, identificado e contendo 1,0 mL de ácido metafosfórico, P.A., a 25% (v/v).

Os tubos com as amostras são congelados até momentos antes da análise.

6.5. LÍQUIDOS DE ABOMASO E DE ÍLEO

Para esse tipo de amostra, utilizam-se animais com fístula de abomaso ou íleo. A boca de um saco plástico é adaptada à saída da fístula. O próprio movimento peristáltico ejeta a amostra, que cai dentro do saco. Coleta-se um volume representativo (em torno de 500 mL), retira-se o saco da cânula, fechando sua boca e agitando-o, para homogeneização do material. Do conteúdo do saco são retirados aproximadamente 50,0 mL e colocados em um tubo de ensaio que deve ser imediatamente congelado.

Quando necessário, é feita uma amostragem composta de várias coletas. Para fazer a compostagem, as amostras são descongeladas e transferidas para um liquidificador onde é feita a homogeneização. Feita a homogeneização, retiram-se cerca de 50,0 mL que serão novamente congelados até momentos antes das determinações. São essas amostras compostas que receberão o registro do laboratório.

6.6. URINA

A coleta de urina pode ser feita de machos ou de fêmeas, sendo nesse último caso utilizada sonda tipo Folley[®]. Quando se tratar de bovinos, é utilizado o sistema

de luvas prepúcias. O sistema possui um dreno ligado a um recipiente plástico com capacidade de 15 a 20 L. Para fixação do nitrogênio, previamente são adicionados ao recipiente 50,0 mL de solução de ácido sulfúrico, P.A., a 50 % (v/v) (EMBRAPA, 1996). Do volume obtido de um dia de coleta, após agitação, são retirados cerca de 20,0 mL, colocados em tubos de ensaio e congelados para o armazenamento.

Quando a coleta é feita em ovinos, não se usam as luvas prepúcias. O animal fica contido em gaiola metabólica e a urina é coletada em baldes colocados por baixo da gaiola. Ao balde são adicionados 50,0 mL de solução de ácido sulfúrico, P.A., a 50% (v/v). Os demais passos são os mesmos descritos anteriormente.

Observação: O procedimento descrito é apropriado para determinação de nitrogênio.

6.7. EXTRUSA

Designa-se como *extrusa* a amostra da dieta coletada via fístula esofágica. Animais com fístula no esôfago têm sido amplamente utilizados para a obtenção de amostras da dieta selecionada por ruminantes em pastejo. Para a coleta de amostras de extrusa, o número de dias e de animais fistulados a serem utilizados varia de acordo com os objetivos da pesquisa.

Um mínimo de três dias de coleta, com quatro animais, são necessários para estimar as principais características qualitativas da dieta com razoável exatidão.

O seguinte procedimento é adotado para a coleta de amostra de extrusa:

- os animais devem ser presos no curral na noite que antecede ao dia da coleta;
- na manhã do dia da coleta, retiram-se as cânulas dos animais e colocam-se as bolsas coletoras;
- os animais são liberados para pastejarem durante um período de 30 a 40 minutos;

- após esse período de pastejo, recolhe-se os animais ao curral e as amostras são retiradas das bolsas;
- as amostras, devidamente homogeneizadas, são colocadas em sacos plásticos identificados e acondicionadas em caixa de isopor, contendo gelo comum;
- logo em seguida, são transportadas e armazenadas em congelador.

A etapa de pré-secagem das amostras de extrusa, sempre que possível, deve ser feita em liofilizador (“freeze dryer”) com temperatura de -40°C . Quando não for possível, a pré-secagem pode ser feita em estufa com ventilação forçada de ar, a temperatura de 50°C , por período mínimo de 48 horas.

6.8. LEITE

A particularidade relevante desse tipo de amostra é o fato de ser muito perecível e o congelamento ser inviável, por provocar alterações nos resultados das determinações.

Os frascos para coleta são preparados no laboratório. É adicionada solução de dicromato de potássio, P.A., 12,5% (m/v), de forma que a concentração de dicromato no leite seja de 1 mg/mL (AOAC, 1990). Como existem frascos de capacidade variada, o volume de solução de dicromato ou sua concentração podem variar. Após a adição da solução, os frascos são colocados em estufa a 50°C , para evaporação de água e recristalização do dicromato. Os frascos são retirados, tampados, estando prontos para receberem as amostras de leite. A coleta é feita da seguinte forma:

- somente uma ordenha → coleta-se o volume final da amostra;
- duas ordenhas (manhã e tarde) → a coleta é feita em volumes proporcionais à produção de leite ou ao intervalo de ordenha; e,
- três ordenhas (manhã, tarde e noite) → coleta-se 1/3 do volume final da amostra em cada ordenha.

Quando o leite é colocado no frasco, é importante aguardar cerca de 20 min e fazer uma leve agitação. Somente após esse tempo é que os cristais de dicromato de potássio se dissolvem. Para que ele atue com eficiência, conservando a amostra, é necessário que esteja distribuído uniformemente na amostra.

6.9. PÊLO

A amostra de pêlo deve ser coletada da região escapular e sacral, colocada em saco plástico, podendo permanecer à temperatura ambiente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES - ANFAR. **Métodos analíticos de controle de alimentos para uso animal**, São Paulo, 1992. 208p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC 15. ed. **Official methods of analysis**. Virginia, 1990. 1298p., 2v.

BRUNO, O.A.; CASTRO, H.; COMERÓN, E.A.; DIAZ, M.C.; GUAITA, S.; GAGGIOTTI, M.C.; ROMERO, L.A. **Técnicas de muestreo y parametros de calidad de los recursos forrajeros**. Argentina: Publi, 1995. 14p. (INTA - Estacion Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicacion, 56).

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (Juiz de Fora, MG). **Metodologias de análises**. Juiz de Fora, 1996.

FERREIRA, J.R.; GOMES, J.C. **Gerenciamento de laboratórios de análises químicas**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1995. 385p.

FICK, K.R.; DAYRELL, M. de S.; ROSA, I.V. **Métodos de análises de minerais em tecidos de animais e de plantas**. 2.ed. Gainesville: University of Florida, 1980. paginação irregular.

VOGEL, A.; JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R.C. **Vogel: análise química quantitativa**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 712p.

JONES JR.; J.B.; STEYN, W.J.A. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. In: WALSH, L.M.; BEATON, J.D. **Soil testing and plant analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1973. p. 249-270.

PERSTORP ANALYTICAL - TECATOR. **Fiber determination, using the Fibertec I & M Systems**. 1995. 8p. (Application Note AN 304).

SILVA, D.J. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1981. 166p.

JONES JR.; J.B.; STEYN, W.J.A. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. In: WALSH, L.M.; BEATON, J.D. **Soil testing and plant analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1973. p. 249-270.

PERSTORP ANALYTICAL - TECATOR. **Fiber determination, using the Fibertec I & M Systems**. 1995. 8p. (Application Note AN 304).

SILVA, D.J. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1981. 166p.

ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO

José Roberto Ferreira¹
Armando de Andrade Rodrigues²
Francisco Duarte Fernandes³
Geraldo Maria da Cruz²
Gilberto Batista de Souza²
Gustavo Eugênio Gerhard Barrocas⁴
Hernani Guilherme Barbosa Filho¹
Izabela Miranda de Castro⁵
Marcelo Bastos Chaves⁵
Mônica Martini⁶

1. INTRODUÇÃO

As amostras de alimentos podem ser coletadas nos locais de fabricação, preparo, depósito, acondicionamento, transporte e locais de venda. Ponto crucial na análise de alimentos, a amostragem tem como requisito essencial a mais ampla representatividade possível do lote de alimentos a ser analisado. A exatidão analítica perde totalmente sua importância se a amostragem não for feita cuidadosamente e sob critérios precisos e racionais.

Os alimentos são muito variáveis em sua composição, principalmente os alimentos frescos de origem vegetal. Frutas e verduras da mesma variedade têm suas composições variáveis, segundo as mudanças que podem ocorrer no período pós-colheita como resultado de atividade fisiológica descontrolada. Além disso, os métodos de processamento de alimentos causam modificações adicionais na composição dos mesmos.

¹ Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

² Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP

³ Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

⁴ Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

⁵ Embrapa Agroindústria de Alimentos⁶, Rio de Janeiro, RJ

⁶ Coordenadoria de Assistência Técnica Integral de São Paulo, CATI, Campinas, SP

Os cuidados a serem tomados durante a amostragem e o preparo das amostras dependerão do grau e da extensão das variações naturais na composição dos alimentos, frescos ou processados.

Por outro lado, não somente ocorrem diferenças na composição entre frutas e verduras da mesma variedade, mas também entre as várias partes da mesma fruta ou verdura. Isso dependerá da anatomia e fisiologia particulares do vegetal a ser analisado.

Além disso, diversos tipos de alimentos industrializados são constituídos de partes heterogêneas, como sanduíches, por exemplo, e que não podem ser considerados como um todo.

Os processos de preparação envolvem diversas etapas, como secagem, moagem, corte, dissolução, etc. Cada tipo de amostra irá determinar o(s) processo(s) mais indicado para sua preparação.

2. OBJETIVO

Neste capítulo são descritos os procedimentos relativos à amostragem para análise, preparo e armazenagem de amostras de alimentos para consumo humano.

3. FUNDAMENTO

O método baseia-se nos procedimentos adotados e recomendados na literatura sobre análise de alimentos e por órgãos oficiais de controle de alimentos (JOSLYN, 1970; NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4. EQUIPAMENTOS

- “blender” com copos de aço de tamanhos variáveis;
- multiprocessador de alimentos;
- congelador;
- refrigerador;
- facas e espátulas;
- moinhos de martelo e de facas;
- estufa de aquecimento com ventilação;
- estufa de aquecimento a vácuo;
- bandeja de aço ou alumínio;
- frascos de vidro de boca larga com tampa plástica;
- sacos de polietileno de alta densidade;
- etiquetas auto-colantes;
- chapa de aquecimento com agitação.

5. PROCEDIMENTOS

5.1. INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

Observar, antes de se efetuar a solubilização, se há qualquer anormalidade na amostra quanto a seu aspecto físico, odor, cor, condições da embalagem original e manchas; anotar na folha de resultados.

É importantíssimo que as amostras sejam identificadas com etiquetas em que estejam discriminados seu código de origem e/ou interno de laboratório, sua procedência e eventuais precauções que se fizerem necessárias.

5.2. SOLUBILIZAÇÃO DA AMOSTRA

Dividir a amostra recebida pelo laboratório em duas partes aproximadamente iguais. Uma das partes será usada na análise e a outra deverá ser guardada como contraprova.

A contraprova e a amostra para análise, quando não destinadas a utilização imediata, devem ser devidamente acondicionadas em recipientes adequados de acordo com o estado físico do produto, para que as modificações químicas, bioquímicas ou microbiológicas sejam as mínimas possíveis.

Amostras líquidas são acondicionadas em garrafas ou frascos com tampa hermética e amostras sólidas em sacos de polietileno ou frascos de vidro ou plástico.

As amostras destinadas à determinação microbiológica não deverão ser tocadas ou retiradas da embalagem original até que seja retirada a alíquota para aquela determinação.

5.3. PREPARO DA AMOSTRA

Para amostras em pó ou granuladas deve-se proceder ao quarteamento. Retirar, do todo da amostra, porções representativas de vários pontos (lado, fundos, centro, etc.).

Juntar as partes e moer em moinho de martelos até obter a menor granulometria possível, para uma boa homogeneidade da amostra.

Para proceder qualquer uma das determinações, espalhar a amostra sobre uma folha de papel de filtro grande, separar em quatro partes semelhantes, na forma de cruz e devolver 2 segmentos opostos ao frasco ou embalagem da amostra. Com os outros 2 segmentos, juntar e repetir esse processo de quarteamento. Usar 2 segmentos opostos para pesar a amostra para análise em duplicata.

Amostras líquidas devem ser cuidadosamente homogeneizadas no frasco ou em chapa de agitação magnética. Desgaseificar, se for refrigerante, por meio da agitação ou em banho de ultra-som.

Produtos cárneos devem ser separados de ossos, peles, couro e pêlos, e moídos (“blender” ou multiprocessadores) até obter amostra finamente dividida.

Observação: Fazer o quarteamento.

Produtos heterogêneos devem ser homogeneizados em “blender”, liquidificador ou multiprocessador. Se for desejável a determinação em separado de cada uma das partes da amostra, deve-se utilizar processo manual de separação.

Determinadas amostras podem necessitar de secagem antes das determinações, devido ao alto teor de umidade que torna as concentrações dos componentes de interesse muito pequenas, ou devido à maior facilidade de execução de certas determinações na amostra seca. Neste caso, muito aplicável a frutas, hortaliças e polpas, deve-se espalhar a amostra sobre uma bandeja de alumínio ou aço (em tela, se possível), ou em vidro de relógio grande, e colocar para secar em estufa com ventilação ou a vácuo a 45°C. Para a determinação de metais, a temperatura máxima recomendada é de 40°C. Não se deve esquecer de fazer a determinação da umidade na amostra fresca, para posterior cálculo das concentrações reais dos constituintes da amostra. Após secagem, proceder como para amostras granuladas (moagem e quarteamento).

5.4. CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA

Amostras de produtos altamente perecíveis, se não forem usadas imediatamente, devem ser armazenadas em “freezers” ou refrigeradores até sua utilização, obedecendo sua durabilidade nestas condições. Antes de serem efetivamente utilizadas, essas amostras devem ser descongeladas naturalmente até atingirem a temperatura ambiente.

Produtos sujeitos a reações enzimáticas quando desintegradas por corte, moagem, maceragem, etc., não devem ser conservados nesse estado, mesmo a baixas temperaturas. Nesse caso, é preferível conservar o alimento inteiro, sem qualquer preparação, deixando para fazê-lo imediatamente antes das determinações.

No processo de descongelamento, deve-se tomar cuidado de evitar a perda da água congelada da amostra. Amostras não facilmente perecíveis podem ser conservadas por algum tempo sem refrigeração, mas devem estar fora do alcance de insetos e condições ambientais prejudiciais, como calor, luz, gases e poeira.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 3. ed., São Paulo, 1985.
v1.

JOSLYN, M.A.; MAYNARÁ, A. **Methods in Food Analysis** - AP, New York: 1970.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste - CPPSE
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Rod. Washington Luiz, Km 234, Caixa Postal 339 - CEP: 13560-970 - São Carlos - SP
Telefones: (016) 261-5611 - Fax: (016) 261-5754