

## APLICAÇÃO DE MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS NA OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu E Mn EM FOLHAS DE BRAQUIÁRIA

**Diego M. Souza**

Universidade Estadual de Goiás, BR 153, km 98, 75001-970 Anápolis – GO / Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, EMBRAPA, GO 462, km 12, 75375-000 Santo Antônio de Goiás – GO, Brasil

**Beata E. Madari**

Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, EMBRAPA, GO 462, km 12, 75375-000 Santo Antônio de Goiás – GO, Brasil

**Marcelo M. Sena\***

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Recebido em 10/12/10; aceito em 13/6/11; publicado na web em 9/8/11

APPLICATION OF CHEMOMETRIC METHODS TO THE OPTIMIZATION OF EXTRACTION OF Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu AND Mn IN *Brachiaria sp.* LEAVES. This work applied a 2<sup>2</sup> factorial design to the optimization of the extraction of seven elements (calcium, magnesium, potassium, iron, zinc, copper and manganese) in brachiaria leaves, determined by flame atomic absorption spectrometry. The factors sample mass and digestion type were evaluated at two levels: 200/500 mg, and dry/wet, respectively. Principal component analysis allowed simultaneous discrimination of all the significant effects in one biplot. Wet digestion and mass of 200 mg were considered the best conditions. The decrease of 60% in sample mass allowed to save costs and reagents. The method was validated through the estimation of figures of merit.

Keywords: PCA; experimental design; foliar analysis.

### INTRODUÇÃO

A avaliação do estado nutricional das plantas através da análise foliar é de importância fundamental, não só pelo diagnóstico adequado em si, mas principalmente porque a interpretação desses resultados é usada na recomendação e aplicação de nutrientes, fornecendo uma orientação precisa quanto às práticas de manejo para altas produtividades.<sup>1</sup> Dessa forma, essas análises servem como norte para medidas corretivas, tais como uso de fertilizantes, rotação de culturas, adubação verde, uso de cobertura morta, etc. A análise química de plantas é um instrumento avaliador da qualidade dos alimentos destinados ao homem e a animais domésticos, às vezes considerada mais importante que a análise de solos.<sup>2-5</sup>

As técnicas analíticas mais usadas na determinação de elementos nutrientes em plantas são a espectrometria de absorção atômica (EAA) e a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), cuja principal vantagem é o tempo significativamente reduzido de análise em relação às técnicas clássicas, como volumetria e gravimetria. Embora a ICP-OES seja mais operacional, a EAA ainda é a mais utilizada em rotina de laboratórios de análises de solos e plantas, devido ao seu menor custo de investimento e operação. Em um típico laboratório de análise foliar, tal como o Laboratório de Análise Agroambiental do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Goiás, são feitas centenas dessas análises por semana. Este laboratório é certificado pelo Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PIATV).<sup>1</sup> Com a preocupação de economizar reagentes e diminuir a geração de resíduos, procurou-se modificar o método padrão de análise foliar adotado por este laboratório,<sup>6</sup> inferindo-se se a diminuição da massa da amostra utilizada manteria a mesma eficiência na extração dos elementos. Ao mesmo tempo, compararam-se as digestões por via

seca e por via úmida, visando identificar qual seria a alternativa mais eficiente a ser usada juntamente com o espectrômetro de absorção atômica com atomização em chama disponível no laboratório. Para isto, foram estudadas as determinações de sete dos elementos de maior demanda: os macronutrientes cálcio, magnésio e potássio, e os micronutrientes ferro, zinco, cobre e manganês. A matriz escolhida foi a braquiária (*Brachiaria sp.*), pois a sua análise também é uma das maiores demandas nesse laboratório. A braquiária, uma gramínea forrageira, é um dos tecidos vegetais cuja extração dos elementos químicos apresenta maior dificuldade, devido ao seu alto teor de lignina. Ela foi introduzida no Brasil há mais de 50 anos e atualmente possui grande relevância econômica, devido aos seus usos como forragem animal, cobertura e adubo verde em sistemas de produção vegetal. Sua importância na nutrição animal pode ser avaliada através das estimativas da área sob pastagem de braquiárias no Brasil, as quais já atingiam ao redor de 85 milhões de ha em 2002.<sup>7</sup> Dessa forma, este estudo foi conduzido através de um planejamento experimental 2<sup>2</sup>, avaliando-se os fatores massa da amostra (200 e 500 mg) e tipo de digestão (por via seca e por via úmida).

Encontrar as condições ótimas para uma resposta única usando planejamentos experimentais é uma tarefa relativamente simples. Entretanto, quando se tenta simultaneamente otimizar as condições de várias respostas, uma solução de compromisso deve ser procurada, pois mudanças no nível de um fator que aumentem uma resposta podem ter efeito negativo e/ou neutro em outras respostas.<sup>8</sup> Uma alternativa recente para a otimização de determinações multielementares usando espectroscopia atômica é o emprego da análise de componentes principais (PCA).<sup>8,9</sup> A PCA é um método quimiométrico de classificação não supervisionada que permite a redução da dimensionalidade dos dados, mantendo a maior parte da variância significativa. Através dos pesos das componentes principais mais significativas é possível avaliar quais variáveis respostas estão mais ou menos correlacionadas. De maneira recíproca, através dos escores é possível avaliar melhor o comportamento dos objetos que,

\*e-mail: marcsen@ufmg.br

neste caso, correspondem às diferentes combinações fator/nível. Além de seu extensivo uso na análise exploratória de matrizes, tais como solos,<sup>10,11</sup> plantas<sup>12</sup> e alimentos,<sup>13</sup> a PCA também encontrou aplicação recente no planejamento e otimização de misturas.<sup>14-16</sup> Neste trabalho, a PCA foi usada para se obter uma visão sintética e global dos planejamentos experimentais, a fim de se decidir pelas melhores condições de análise. As condições ótimas serão usadas na análise de uma amostra de braquiária fornecida pelo PIATV,<sup>1</sup> para a qual foram determinados os sete elementos químicos. O método foi validado através da estimativa de figuras de mérito.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Instrumentação

Todas as medidas foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer modelo 306, com atomização em chama, nebulização por difusor estático e seleção de comprimento de onda por rede de difração. Foram usadas lâmpadas de cátodo oco como fontes, ar como oxidante, acetileno como combustível e chama oxidante para todos os elementos determinados, com exceção do Ca e do Mg, para os quais se usou chama redutora, visando evitar a formação de óxidos refratários. As demais condições de análise, comprimento de onda de detecção, largura da fenda e corrente da lâmpada, são mostradas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Condições instrumentais para a determinação de cada analito

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Largura da fenda (nm)	Corrente da lâmpada (mA)
Ca	211	4	10
K	383	4	12
Mg	285	4	6
Fe	248	3	30
Zn	214	4	20
Cu	325	4	15
Mn	280	3	20

### Reagentes, soluções e amostragem

Todos os reagentes usados foram de grau analítico. Os ácidos nítrico e perclórico e o óxido de lantânio utilizados foram adquiridos da Merck. As soluções estoque (1000 mg L<sup>-1</sup>) de Ca, K, Mg, Fe, Zn, Cu e Mn foram preparadas a partir de padrões Titrisol (Merck). As soluções padrão foram preparadas em balões volumétricos de 100 mL por diluições sucessivas em água das soluções estoque nas seguintes faixas de concentração, em mg L<sup>-1</sup>: 1,00 a 15,00 (Ca), 0,10 a 1,50 (Mg), 1,00 a 10,00 (K), 0,50 a 5,00 (Fe), 0,10 a 3,00 (Zn), 0,10 a 2,00 (Cu) e 0,20 a 8,00 (Mn). As soluções padrão de Ca, Mg e K foram preparadas conjuntamente nos mesmos balões; para cada uma delas, adicionaram-se 5 mL de uma solução de óxido de lantânio 5% antes do acerto do menisco. A adição de lantânio visa evitar interferências químicas, prevenindo a formação de compostos termicamente estáveis de Ca ou Mg com fosfatos e alumínio. As soluções padrão de Fe, Zn, Cu e Mn foram preparadas conjuntamente nos mesmos balões. Para todas as soluções padrão, adicionaram-se 20 mL de uma solução nitroperclórica antes do acerto do menisco, visando ajustar a matriz dos padrões às matrizes das amostras que foram digeridas na presença de solução nitroperclórica. Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (Milli-Q).

Coletaram-se amostras da cultura braquiária (*Brachiaria ruzi-*

*ziensis*), selecionando-se brotos e folhas verdes. A amostragem foi realizada durante o crescimento vegetativo (novembro a fevereiro). Para a descontaminação o material foliar foi lavado com água destilada, a seguir com detergente neutro (0,1%) e, em seguida, novamente com água destilada. Após a lavagem, as amostras foram submetidas à secagem em estufa com temperatura controlada em 80 °C (+/-5 °C) durante 24 h. A moagem do material seco foi feita em moinho de facas de aço inoxidável (tipo Willey).

### Otimização multivariada

Foi adotado um planejamento fatorial 2<sup>2,17</sup> considerando os fatores massa da amostra, nos níveis 200 (-) e 500 mg (+), e tipo de digestão, nos níveis seca (-) e úmida (+). Todas as análises foram feitas em duplicata. Portanto, foram feitas 8 medidas para a determinação de cada elemento. O tratamento dos dados com o método PCA foi feito usando o programa MATLAB<sup>TM</sup>, versão 6.1 (*The MathWorks*, Natick, EUA), e o pacote PLS Toolbox, versão 2.0 (*Eigenvector Technologies*, Manson, EUA).

### Digestão por via seca<sup>6</sup>

As amostras foram pesadas em cadinhos de porcelana, os quais foram transferidos para uma mufla digital com controle de temperatura, que foi programada da seguinte maneira: 1ª temperatura de 350 °C, com permanência de 2 h e velocidade de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>; 2ª temperatura de 500 °C, com permanência de 6 h e velocidade de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>; 3ª temperatura de 120 °C, com permanência indeterminada e velocidade de resfriamento de 15 °C min<sup>-1</sup>. Após serem retirados da mufla, os cadinhos foram resfriados em dessecador durante 2 h. As cinzas foram solubilizadas em HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) com auxílio de chapa aquecedora a 200 °C. As amostras nos níveis de massa (-) e (+) foram diluídas em balões de 20,0 e 50,0 mL, respectivamente.

### Digestão por via úmida<sup>1</sup>

As amostras foram pesadas em tubos de digestão, aos quais foram adicionados 4,0 e 10,0 mL de uma solução nitroperclórica (HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>, 2:1, v/v), correspondentes às amostras nos níveis de massa (-) e (+), respectivamente. Os tubos de digestão foram transferidos para um bloco digestor digital com controle de temperatura, que foi programado da seguinte maneira: 1ª temperatura de 80 °C, com permanência de 30 min; 2ª temperatura de 160 °C, com permanência suficiente para cessar o desprendimento do gás de coloração castanho (NO<sub>2</sub>); 3ª temperatura de 210 °C, com permanência suficiente para o início do desprendimento do gás de coloração branca (HClO<sub>4</sub>). Após o resfriamento, os extratos contidos nos tubos foram diluídos com água deionizada em balões de 20,0 e 50,0 mL, correspondentes às amostras nos níveis de massa (-) e (+), respectivamente.

### Validação do método analítico

Foram avaliadas as figuras de mérito linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão, esta última nos níveis de repetibilidade e precisão intermediária. Os limites de detecção e quantificação (LD e LQ) foram calculados usando as seguintes equações: LD = (3 x DP<sub>b</sub>)/S e LQ = (10 x DP<sub>b</sub>)/S; onde DP<sub>b</sub> é o desvio padrão do branco (n=10) e S é a inclinação da curva analítica.<sup>18</sup> A repetibilidade foi estimada através do desvio padrão de 4 determinações e a precisão intermediária foi avaliada pela comparação dos resultados de 2 analistas diferentes em 2 dias diferentes. A exatidão foi avaliada

através da determinação dos 7 elementos químicos em uma amostra de referência de braquiária fornecida pelo PIATV.<sup>1</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No planejamento experimental 2<sup>2</sup> adotado,<sup>17</sup> as digestões por via seca e úmida foram consideradas como níveis qualitativos inferior e superior, respectivamente. A digestão por via seca tem as vantagens de não usar ácidos concentrados nem liberar vapores ácidos oxidantes, que exigem sistema de exaustão. Por outro lado, a digestão por via úmida é considerada mais prática operacionalmente por utilizar tubos de digestão em estantes, ao invés de cadinhos de porcelana. Além disso, a digestão por via seca pode levar a uma recuperação ineficiente de alguns elementos (Al, B, Cu, Fe, e Mn) se não houver um controle rígido da temperatura em valores próximos ou acima de 500 °C.<sup>6</sup> O estudo do fator massa da amostra visou determinar se é possível a sua redução em 60%, com a proporcional diminuição da quantidade de ácidos usados na digestão. Por um lado, a redução desse fator gerará uma economia de amostras e reagentes, mas por outro, existe o risco de perda na eficiência da extração para amostras de massas menores.<sup>6</sup> Dessa forma, procurou-se avaliar especificamente a eficiência da etapa de extração, mantendo constante o fator diluição dos extratos na etapa subsequente. Outras variáveis, tais como tipo e proporção de ácidos, temperaturas da mufla e bloco digestor, etc., poderiam também ser estudadas, ampliando o planejamento experimental pela inclusão de mais fatores. No entanto, o Laboratório de Análise Agroambiental da EMBRAPA identificou apenas os fatores tipo da digestão e massa da amostra como críticos na busca por modificações do método analítico que gerassem economia de custos. Dessa forma, optou-se pelo planejamento com apenas dois fatores.

Todos os resultados foram obtidos em duplicata, visando a estimativa do erro experimental. A Tabela 2 mostra esses resultados, em massa do analito por kg de matéria seca. Os teores de macronutrientes encontrados foram compatíveis com as faixas ótimas indicadas para folhas de braquiárias usadas em nutrição animal (2

a 6, 1,5 a 4,5 e 12 a 25 g kg<sup>-1</sup> para Ca, Mg e K, respectivamente).<sup>2</sup> Em particular, o teor de K encontrado está um pouco abaixo dessa faixa, mas se encontra dentro da faixa de valores determinada por fotometria de chama por Carvalho *et al.*,<sup>19</sup> 10,3 a 22,3 g kg<sup>-1</sup>, para amostras de braquiária submetidas a diferentes manejos. Com relação aos micronutrientes, os teores de Zn, Cu e Mn encontrados estão dentro das faixas de concentração determinadas por Mattos usando espectrofotometria de absorção atômica, para folhas de braquiárias de áreas de pastagem degradadas e recuperadas (12,10 a 45,90, 2,90 a 19,60 e 34,50 a 138,40 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente).<sup>20</sup> Embora o teor de Fe mostrado na Tabela 2 esteja bem acima do encontrado por esse último autor (118,30 a 758,50 mg kg<sup>-1</sup>),<sup>20</sup> este valor, assim como os teores de Cu e Mn, é compatível com as determinações feitas por Pereira *et al.*, usando absorção atômica, para braquiárias em áreas de pastagem às margens de rodovias (772,30 a 1137,40, 18,99 a 19,09, 4,75 a 6,17 e 75,83 a 109,08 mg kg<sup>-1</sup> para Fe, Zn, Cu, Mn, respectivamente).<sup>21</sup> Finalmente, os resultados obtidos foram condizentes com as faixas de concentração desses nutrientes consideradas suficientes por Silveira *et al.* para amostras de folhas de braquiárias jovens,<sup>22</sup> com exceção dos teores de K e Fe, que apresentaram valores menores.

Os resultados do planejamento experimental são apresentados na Tabela 3. Os limites de confiança no nível de 95% foram calculados com base no valor da distribuição t de Student com 4 graus de liberdade (2,776). Os efeitos que foram considerados significativos estão assinalados em negrito na tabela. O fator massa da amostra foi considerado significativo apenas para a determinação de K, cujo sinal negativo indica que a maior recuperação ocorreu com a amostra de menor massa. Já o fator digestão foi significativo para K, cujo sinal negativo indica maior recuperação na digestão por via seca, e para Fe, Zn e Mn, cujos sinais positivos indicam maior recuperação na digestão por via úmida. O único efeito de interação significativo foi observado para Cu, cujo sinal negativo indica um antagonismo na interação da massa com a digestão.

No total foram avaliados 21 efeitos. Buscando obter uma visão global e simplificada da otimização simultânea dos sete analitos, foi

**Tabela 2.** Teores dos nutrientes nas amostras de folha de braquiária

massa da amostra	Digestão	Ca <sup>a</sup>	Mg <sup>a</sup>	K <sup>a</sup>	Fe <sup>b</sup>	Zn <sup>b</sup>	Cu <sup>b</sup>	Mn <sup>b</sup>
200	seca	5,01	2,47	11,57	1099,39	36,65	6,75	103,19
200	seca	5,06	2,53	11,92	1022,12	36,02	7,79	102,21
500	seca	5,20	2,52	11,28	1129,55	36,99	8,00	100,96
500	seca	4,80	2,56	10,96	1100,44	36,01	8,00	98,04
200	úmida	4,74	2,49	11,22	1432,71	39,52	7,90	112,64
200	úmida	4,77	2,46	10,89	1401,11	38,75	8,94	107,32
500	úmida	5,19	2,55	10,77	1476,46	40,90	6,98	112,73
500	úmida	5,20	2,52	10,71	1428,86	38,97	6,99	111,91

teores em <sup>a</sup>g kg<sup>-1</sup> e em <sup>b</sup>mg kg<sup>-1</sup>

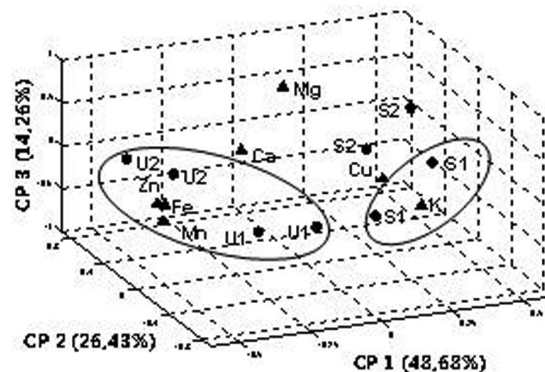
**Tabela 3.** Resultados do planejamento experimental 2<sup>2</sup>. Estimativa da média e dos efeitos para as amostras de folha de braquiária. Efeitos considerados significativos com 95% de confiança estão assinalados em negrito

Efeitos	Ca <sup>a</sup>	Mg <sup>a</sup>	K <sup>a</sup>	Fe <sup>b</sup>	Zn <sup>b</sup>	Cu <sup>b</sup>	Mn <sup>b</sup>
Média	5,00	2,51	11,17	1261,33	37,98	7,67	106,12
Massa (M)	0,20	0,05	<b>-0,47</b>	44,99	0,48	-0,35	-0,43
Digestão (D)	-0,05	-0,01	<b>-0,53</b>	<b>346,91</b>	<b>3,12</b>	0,07	<b>10,05</b>
Interação M*D	0,24	0,01	0,31	-9,25	0,31	<b>-1,08</b>	2,77
t <sub>v=4,95%</sub> x S <sub>efeito</sub>	0,28	0,06	0,40	69,68	1,65	1,02	4,30

valores em <sup>a</sup>g kg<sup>-1</sup> e em <sup>b</sup>mg kg<sup>-1</sup>

aplica uma PCA à matriz de dados 8 x 7, a qual continha nas linhas as duplicatas das quatro combinações de níveis e nas colunas os valores dos teores dos sete elementos nas amostras de braquiária. Os dados foram previamente autoescalados, visando que todas as variáveis/analitos contribuíssem igualmente para o modelo. Um modelo com três componentes principais (CPs) foi selecionado, explicando 89,4% da variância total dos dados. Os resultados são apresentados na forma de um gráfico bivariado (*biplot*), o qual permite a visualização da influência de cada variável em cada objeto/nível do planejamento, através da observação simultânea dos escores e dos pesos (*loadings*) do modelo.<sup>10,23</sup> A Figura 1 mostra o gráfico tridimensional de CP1 x CP2 x CP3, assinalando os dois grupos de efeitos significativos estimados no planejamento. A CP1 (48,7%) foi interpretada como o efeito de contraste entre as digestões por via seca e úmida. Pode-se observar que os analitos Fe, Zn e Mn estão agrupados próximos dos níveis U1 e U2, todos discriminados na parte negativa do eixo de CP1. Este agrupamento representa os efeitos significativos associados positivamente à digestão por via úmida. Em contraste, apenas o K se destaca na parte positiva de CP1, associada diretamente à digestão por via seca. Os analitos Ca, Mg e Cu, que foram projetados próximos de zero nesse eixo, não apresentaram efeitos significativos com relação à digestão. As CPs 2 (26,4%) e 3 (14,3%) foram interpretadas como os efeitos independentes, e de menor importância, da massa da amostra nas digestões por via úmida e seca, respectivamente. Como o único efeito significativo da massa foi estimado para o K, cuja maior recuperação ocorreu no nível menor, a associação entre K e S1 foi o único agrupamento discriminado por esses dois eixos, apresentando projeção negativa em CP3 e próxima de zero em CP2.

A superioridade significativa da recuperação na digestão por via úmida para os elementos Fe, Zn e Mn pode ser explicada por possíveis perdas por volatilização na digestão por via seca, em altas temperaturas (500 °C). Esse efeito foi mais intenso para o Fe, cuja estimativa correspondeu a 27% do valor médio determinado, comparada com as estimativas para o Zn e Mn, que estiveram entre 8 e 10% dos respectivos valores médios (Tabela 3). Por outro lado, o K, o único elemento melhor recuperado na digestão por via seca, teve um efeito estimado em torno de 5% do seu valor médio. Desta forma, o laboratório decidiu adotar a digestão por via úmida. Complementarmente, a ausência de efeito significativo na diminuição da massa da amostra para a maioria dos elementos permitiu adotar o valor de 200 mg no novo procedimento padrão, gerando uma consequente economia de 60% no volume da mistura de ácidos concentrados utilizados na digestão. Um segundo estudo, baseado num planejamento idêntico a este, foi aplicado na determinação dos mesmos elementos em folhas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), um tecido de digestão mais fácil do que a braquiária. Os resultados (não mostrados) foram similares aos relatados aqui. Com isso, o laboratório pôde generalizar a aplicação do método modificado,



**Figura 1.** Gráfico bivariado (*biplot*) tridimensional de CP1 x CP2 x CP3. Os escores estão representados por círculos e os pesos por triângulos. S = digestão por via seca; U = digestão por via úmida; 1 = massa da amostra de 200 mg; 2 = massa da amostra de 500 mg

gerando uma economia de reagentes estimada em R\$1,02 por análise, além da diminuição significativa na geração de resíduos. Considerando uma frequência média de 320 análises por mês, a estimativa total foi de R\$325,76 economizados mensalmente, sem mencionar a redução do passivo ambiental do laboratório por gerar menos resíduos químicos.

#### Validação do método analítico

A Tabela 4 mostra as figuras de mérito estimadas para o método otimizado, visando avaliar a linearidade, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) e a precisão. Os valores dos coeficientes angulares (A), lineares (B) e de determinação ( $R^2$ ) para as retas ajustadas aos modelos de cada analito foram calculados a partir de cinco pontos nas faixas de concentrações mencionadas na Parte Experimental. Todos esses resultados foram considerados satisfatórios. A precisão foi avaliada nos níveis de repetibilidade e intermediária, ambas através dos valores de desvio padrão relativo (DPR). A precisão intermediária foi avaliada pelo cálculo do DPR para os resultados obtidos por dois analistas diferentes (ambos em quadruplicata) no mesmo laboratório. Todos os valores de DPR estiveram abaixo de 5,0%, com exceção da precisão intermediária na determinação do Zn, cujo valor foi 8,5%. A exatidão foi avaliada através da análise de uma amostra de braquiária de referência fornecida pelo PIATV.<sup>1</sup> Os resultados são mostrados na Tabela 5 e ficaram dentro do intervalo de aceitabilidade do programa, com erros máximos inferiores a  $\pm 10\%$ .

#### CONCLUSÃO

A otimização multivariada do método para a extração e determinação de sete elementos nutrientes (Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu e Mn) em folhas de braquiária permitiu estabelecer a digestão por via úmida e

**Tabela 4.** Figuras de mérito estimadas para o procedimento otimizado

Parâmetro	Ca <sup>a</sup>	Mg <sup>a</sup>	K <sup>a</sup>	Fe <sup>b</sup>	Zn <sup>b</sup>	Cu <sup>b</sup>	Mn <sup>b</sup>
A	0,071	0,635	9,893	0,036	0,246	0,050	0,077
B	0,027	0,026	0,857	0,001	0,021	0,002	0,008
$R^2$	0,9996	0,9996	0,9998	0,9999	0,9964	0,9990	0,9964
LD	0,14	0,02	0,01	0,02	0,03	0,002	0,001
LQ	0,47	0,08	0,04	0,06	0,09	0,008	0,003
DPR <sub>repetibilidade</sub> (%)	1,14	1,06	1,86	1,96	2,47	0,64	4,33
DPR <sub>prec intermed</sub> (%)	2,82	1,33	2,57	3,49	8,50	2,59	4,89

valores de LD e LQ em <sup>a</sup>g kg<sup>-1</sup> e em <sup>b</sup>mg kg<sup>-1</sup>

**Tabela 5.** Estimativa da exatidão para o procedimento otimizado na determinação em uma amostra de braquiária

	Ca <sup>c</sup>	Mg <sup>c</sup>	K <sup>c</sup>	Fe <sup>d</sup>	Zn <sup>d</sup>	Cu <sup>d</sup>	Mn <sup>d</sup>
valor estimado <sup>a</sup>	3,71	2,08	43,39	604,22	47,68	9,83	86,31
valor de referência <sup>b</sup>	3,72	2,16	44,94	580,17	43,61	10,84	94,79
grau de recuperação (%)	99,73	96,30	96,55	104,15	109,33	90,68	91,05

<sup>a</sup> valores médios de 4 medidas; <sup>b</sup> fornecidos pelo PIATV<sup>1</sup>; em <sup>c</sup> g kg<sup>-1</sup> e em <sup>d</sup> mg kg<sup>-1</sup>

a redução da massa da amostra de 500 para 200 mg (60%) como as melhores condições de análise. O uso do planejamento experimental demonstrou que essa redução de massa não diminuiu a eficiência do método na recuperação dos analitos, permitindo a redução do volume de ácidos concentrados gasto na digestão. Dessa forma, foi obtida uma economia mensal de R\$325,76 para o laboratório, além da redução na geração de resíduos. O uso da PCA complementou a análise permitindo visualizar e discriminar simultaneamente todos os efeitos significativos em um único gráfico bivariado (Figura 1). A metodologia foi validada através da estimativa de figuras de mérito. Finalmente, os resultados deste trabalho são de grande utilidade para a própria EMBRAPA, que possui alguns programas interlaboratoriais e alguns projetos de produção de amostras certificadas. Pretende-se divulgá-los internamente em eventos, tais como o Encontro Nacional sobre Metodologias de Laboratório da EMBRAPA (MET).

## AGRADECIMENTOS

À G. de F. Machado pela colaboração na validação do método analítico. Ao Laboratório de Análise de Solos e Foliar (LASF) da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da UFG, Goiânia, pelo uso da mufla digital.

## REFERÊNCIAS

- Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PIATV), [www.piatv.com.br/](http://www.piatv.com.br/), acessada em Julho 2011.
- Silva, F. C.; *Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes*, 1ª ed., Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia: Brasília, 1999.
- Jones Jr., J. B.; *Aust. J. Exp. Agric.* **1993**, *33*, 1039.
- Olf, H. W.; Blankenau, K.; Brentrup, F.; Jasper, J.; Link, A.; Lammel, J.; *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2005**, *168*, 414.
- Martins, A. P. L.; Reissmann, C. B.; *Sci. Agrar.* **2007**, *8*, 1.
- Kalra, Y. P.; *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, CRC: New York, 1998.
- Martha Jr., G. B.; Vilela, L.; *Pastagens no Cerrado: Baixa Produtividade pelo Uso Limitado de Fertilizantes*, Documentos/Embrapa Cerrados, Planaltina, 2002, p. 9-10.
- Bezerra, M. A.; Bruns, R. E.; Ferreira, S. L. C.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *580*, 251.
- Froes, R. E. S.; Borges Neto, W.; Silva, N. O. C.; Naveira, R. L. P.; Nascentes, C. C.; da Silva, J. B. B.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2009**, *64*, 619.
- Sena, M. M.; Frighetto, R. T. S.; Valarini, P. J.; Tokeshi, H.; Poppi, R. J.; *Soil Till. Res.* **2002**, *67*, 171.
- de Sena, M. M.; Poppi, R. J.; Frighetto, R. T. S.; Valarini, P. J.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 547.
- Prietzl, J.; Kolling, C.; *Forstw. Cbl.* **1998**, *117*, 137.
- Gromboni, C. F.; Carapelli, R.; Pereira-Filho E. R.; Nogueira, A. R. A.; *Food Anal. Methods* **2010**, *3*, 98.
- Garcia L. M. Z.; Oliveira, T. F.; Soares, P. K.; Bruns, R. E.; Scarminio, I. S.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2010**, *103*, 1.
- Soares, P. K.; Bruns, R. E.; Scarminio, I. S.; *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 644.
- Soares, P. K.; Bruns, R. E.; Scarminio, I. S.; *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 3310.
- Barros Neto, B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como Fazer Experimentos. Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Ed. UNICAMP: Campinas, 2003.
- Analytical Methods Committee; *Analyst* **1987**, *112*, 199.
- Carvalho, F. G.; Burity, H. A.; Silva, V. N.; Silva, L. E. S. F.; Silva, A. J. N.; *Pesq. Agropec. Trop.* **2006**, *36*, 101.
- Mattos, W. T.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2001.
- Pereira, A. A.; Borges, J. D.; Leandro, W. M.; *Biosci. J.* **2010**, *26*, 347.
- Silveira, C. P.; Nachtigall, G. R.; Monteiro, F. A.; *Sci. Agric.* **2005**, *62*, 520.
- Gabriel, K. R.; *Biometrika* **1971**, *58*, 453.