

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE ROTINA PARA
ANÁLISE DE GRÃOS DE CAFÉ VERDE UTILIZANDO
AMOSTRAGEM SÓLIDA POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA EM FORNO DE GRAFITE**

NÉDIO OLESZCZUK

Porto Alegre, janeiro de 2008.

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

NÉDIO OLESZCZUK

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE ROTINA PARA
ANÁLISE DE GRÃOS DE CAFÉ VERDE UTILIZANDO
AMOSTRAGEM SÓLIDA POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO
ATÔMICA EM FORNO DE GRAFITE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Química

Profa. Dra. Maria Goreti R. Vale

Orientadora

Profa. Dra. Márcia Messias da Silva

Co-orientadora:

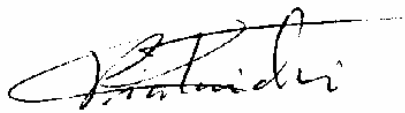
Porto Alegre, janeiro de 2008.

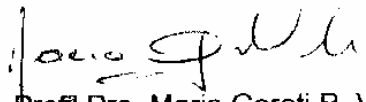
A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre dezembro de 2005 e novembro de 2007, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob Orientação da Professora Doutora Maria Goreti R. Vale e Co-orientação da Professora Doutora Márcia Messias da Silva. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:


Prof.^a Dra. Isa Beatriz Noll


Prof.^a Dra. Elina Bastos Caramão


Prof.^a Dra. Clarisse Maria Sartori Piatnicki


Prof.^a Dra. Maria Goreti R. Vale
Orientadora


Prof.^a Dr.^a Márcia Messias da Silva
Co-orientadora


Nédio Oleszczuk

DEDICATÓRIA

Aos Meus Filhos

Sara Valeska e Alexandre Matheus

DEDICATÓRIA ESPECIAL

“In Memoriam”

Olga Helena Condack

SINCEROS AGRADECIMENTOS

A Deus por eu ter chegado até este momento.

Às Professoras Maria Goreti e Márcia Messias, pela orientação, incentivo, confiança e principalmente estímulo quando este foi necessário.

À Professora Maria das Graças A. Korn e a todo seu grupo de trabalho do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia pelos ensaios realizados em ICP OES que foram valiosos para comparação com a metodologia desenvolvida.

Aos professores e ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da UFRGS pela oportunidade.

Ao Prof. Villiam Krivan da Universidade de Ulm, Alemanha, por ter fornecido as amostras de café pré-analisadas que serviram como material de referência neste estudo.

Aos amigos Jacira T. de Castro e Rennan G. O. Araújo pelos trabalhos desenvolvidos e a grande amizade que se formou.

Ao CNPq, através do Edital Universal, Processo nº 471078/2004-2 o qual proporcionou suporte financeiro para esta realização.

Aos Roger T. Rampazzo, Pedro A. Costa e Bruna N. Nichele, sem os quais muita coisa não poderia ter sido concluída a tempo.

Às minhas grandes amigas Isabel Cristina Ferreira Damin e Morgana Bazzan Dessuy que me auxiliaram nos momentos difíceis. Ao grupo de laboratório, pela ajuda e apoio. Através do convívio nasceu grande amizade.

Ao Café do Mercado por ter fornecido as amostras de café brasileiro utilizadas neste trabalho.

Ao grupo de Laboratório, Tamara, Gláucia, Tainara e Alessandro pela ajuda.

A todos aqueles, os quais, direta ou indiretamente contribuíram para esta realização.

A todos, meu

Muito Obrigado.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA GERADA DURANTE ESTE TRABALHO

Trabalhos resumidos em eventos

1 - 8th Rio Symposium On Atomic Spectrometry

Título: Determination Of Volatile And Non-Volatile Vanadium Compounds In Crude Oil Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

Autoria: Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale, Isabel C. F. Damin, Bernhard Welz, Fábio G. Lepri, Daniel L. G. Borges, Alessandra F. Silva, Nedio Oleszczuk, Uwe Heitmann

Sessão: Pôster

Local: Parati, RJ

Data: 01 a 06 de agosto de 2004

2 - XVII Salão de Iniciação Científica

Título: Determinação de Manganês em Amostras de Café Empregando Análise Direta de Sólidos por GF AAS

Autoria: Bruna N. Nichele, Andréia Pinho Santos, Nedio Oleszczuk, Isabel C. F. Damin, Maria Goreti R. Vale, Márcia M. Silva

Sessão: Pôster

Local: UFRGS, Porto Alegre, RS

Data: outubro de 2004

3 - 13^o Encontro Nacional de Química Analítica

Título: Determinação de Manganês em Amostras de Café Empregando Análise Direta de Sólidos por GF AAS

Autoria: Nédio Oleszczuk, Isabel Cristina F. Damin, Andréia Pinho dos Santos, Maria Goreti R. Vale, Márcia Messias da Silva

Sessão: Pôster

Local: Niterói, RJ

Data: 12 a 16 de setembro de 2006

4 - 13° SBQ Sul – Sociedade Brasileira de Química – Região Sul

Título: Determinação de Manganês em Amostras de Café Empregando Análise Direta de Sólidos por GF AAS

Autoria: Nedio Oleszczuk, Isabel Cristina F. Damin, Andréia Pinho dos Santos, Maria Goreti R. Vale, Márcia Messias da Silva

Sessão: Pôster

Local: Florianópolis, SC

Data: 1 a 3 de novembro de 2005

5 - XVIII Salão de Iniciação Científica

Título: Determinação de Manganês, Cobre e Cobalto em Amostras de Café SS-GF AAS

Autoria: Bruna N. Nichele, Nédio Oleszczuk, Maria Goreti R. Vale

Sessão: Pôster

Local: UFRGS, Porto Alegre, RS

Data: 15 a 20 de outubro de 2006

6 - 14 ° SBQ Sul – Sociedade Brasileira de Química – Região Sul

Título: Desenvolvimento de métodos para determinação de Mn, Cu e Co em Amostras de Café por SS-GF AAS

Autoria: Pedro Agrello Costa, Bruna M. Nichele, Roger Teixeira Rampazzo, Fábio Machado, Nédio Oleszczuk, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

Sessão: Pôster

Local: Erechim, RS

Data: 8 a 10 de novembro de 2006

7 - 9th RIO Symposium on Atomic Spectrometry

Título: Metals determination in coffee samples using direct solid analysis by SS-GF AAS

Autoria: Nedio Oleszczuk, Maria Goreti R. Vale, Márcia M. da Silva , Bruna N. Nichele

Sessão: Pôster

Local: Barquisimeto, Venezuela

Data: 5 a 10 de novembro de 2006

8 - CANAS '07 – Colloquium Analytische Atomspektroskopie

Título: The use of direct solid sampling graphite furnace AAS for the determination trace elements in green coffee samples

Autoria: Nédio Oleszczuk, Pedro Agrello Costa, Roger Teixeira Rampazzo, Cristiano A. Ballus, Maria Goreti R. Vale, Márcia M. Silva, Bruna N. Nichele, Bernhard Welz

Sessão: Pôster

Local: Konstanz, Alemanha

Data: 18 a 21 de março de 2007

9 - 30ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química

Título: Otimização de método analítico para determinação de chumbo em farinha de trigo usando SS-GF AAS

Autoria: Rennan G. O Araújo, Nédio Oleszczuk, Pedro A. Costa, Roger T. Rampazzo, Cristiano A. Ballus, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale, Bernhard Welz e Sérgio L. C. Ferreira

Sessão: Pôster

Local: Águas de Lindóia, SP

Data: 31 de maio a 3 de junho de 2007

10 - II Congresso Ibero- Americano de Química Analítica

Título: Otimização de método analítico para determinação de cádmio em farinha de trigo usando SS-GF AAS.

Autoria: Rennan G. O. Araujo, Nedio Oleszczuk, Pedro A. Costa, Roger T. Rampazzo, Cristiano A. Ballus, Bernhard Welz, B., Marcia M. Silva, Maria G. R. Vale, e Sergio L. C. Ferreira.

Sessão: Pôster

Local: Buenos Aires, Argentina

Data: 27 a 30 de agosto de 2007

11 - II Congresso Ibero- Americano de Química Analítica

Título: Desenvolvimento de método para determinação de Mn, Co e Cu em café verde por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite com amostragem sólida.

Autoria: Marcia M. Silva, Nedio Oleszczuk, Maria G. R. Vale, Jacira T. Castro, Maria G. A. Korn, Bernhard Welz, Pedro A. Costa, Roger T. Rampazzo

Sessão: Apresentação Oral

Local: Buenos Aires, Argentina

Data: 27 a 30 de agosto de 2007

12 - 14º Encontro Nacional de Química Analítica

Título: Estudo da viabilidade do uso amostragem direta de sólidos para a determinação de cádmio em amostras de grãos de café por GF AAS

Autoria: Nédio Oleszczuk, Roger T. Rampazzo, Pedro A. Costa, Jacira T. Castro, Maria das Graças A. Korn, Bernhard Welz, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

Sessão: Pôster

Local: João Pessoa, PB

Data: 7 a 11 de outubro de 2007

13 - 14º Encontro Nacional de Química Analítica

Título: Determinação de cádmio em farinha de trigo por GF AAS: amostragem em suspensão com multi-injeções *versus* amostragem direta de sólidos

Autoria: Sergio L. C. Ferreira, Rennan G. O. Araújo, Nédio Oleszczuk, Pedro A. Costa, Roger T. Rampazzo, Cristiano A. Ballus, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale, Bernhard Welz

Sessão: Pôster

Local: João Pessoa, PB

Data: 22 a 26 de outubro de 2007

14 - XIX Salão de Iniciação Científica

Título: Desenvolvimento de métodos pra a determinação de Co e Cd em amostras de café por SS-GF AAS

Autoria: Pedro A. Costa, Roger T. Rampazzo, Nédio Oleszczuk, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

Sessão: Pôster

Local: UFRGS, Porto Alegre, RS

Data: 22 a 26 de outubro de 2007

15 - XIX Salão de Iniciação Científica

Título: Desenvolvimento de método analítico de rotina para a determinação de chumbo em amostras de farinha de trigo

Autoria: Roger T. Rampazzo, Pedro A. Costa, Nédio Oleszczuk, Márcia M. Silva, Maria Goreti R. Vale

Sessão: Pôster

Local: UFRGS, Porto Alegre, RS

Data: 22 a 26 de outubro de 2007

Artigos completos publicados em periódicos

- 1 - Current Status of Direct Solid Sampling for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry — A Critical Review of the Development between 1995 and 2005**

Autoria: Maria Goreti R. Vale, Nédio Oleszczuk and Walter N. L. dos Santos
Applied Spectroscopy Reviews, **2006**, 41: 377–400.

- 2 - Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry**

Autoria: Nédio Oleszczuk, Jacira T. Castro, Márcia M. da Silva, Maria das Graças A. Korn, Bernhard Welz and Maria Goreti R. Vale
Talanta (Oxford), **2007**, v.73, 862 – 869.

- 3 - Application of polyurethane foam as a sorbent for trace metal pre-concentration — A review**

Autoria: V.A. Lemos, M.S. Santos, E.S. Santos, M.J.S. Santos, W.N.L. dos Santos, A.S. Souza, D.S. de Jesus, C.F. das Virgens, M.S. Carvalho, N. Oleszczuk, M.G.R. Vale, B. Welz, S.L.C. Ferreira.
Spectrochimica Acta Part B 62, **2007**, 4–12.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABELAS	ii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Importância do Café	1
1.2. Elementos Essenciais e a Dieta Humana	2
1.2.1. Micronutrientes	3
1.2.2. Cobre	3
1.2.3. Manganês	4
1.2.4. Cobalto	5
1.2.5. Cádmio	5
1.3. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite	6
1.3.1. Análise Direta de Sólidos em GF AAS	7
1.3.2. Amostragem por Suspensão	8
1.3.3. Emprego de Modificadores Químicos	11
1.4. Determinações de Elementos Traço em Café	12
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivos Específicos	15
3. PARTE EXPERIMENTAL	16
3.1. Equipamentos	16
3.1.1. Espectrômetro de Absorção Atômica	16
3.1.2. Espectrômetro de Emissão Ótica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado	17
3.2. Reagentes e Soluções	18
3.3. Limpeza do Material e Armazenamento de Soluções	19
3.4. Amostras e Materiais de Referência Certificados	19
3.5. Metodologia	20
3.5.1. Preparo das Amostras	20

3.5.2.	Programa de Temperatura	21
3.5.3.	Digestão de Amostras Assistida por Microondas	23
4.	Resultados e Discussão	24
4.1.	Manganês	24
4.1.1.	Otimização dos Parâmetros Instrumentais	24
4.1.2.	Curvas analíticas para Manganês	28
4.2.	Cobre	31
4.2.1.	Otimização dos Parâmetros Instrumentais	31
4.2.2.	Curvas Analíticas para Cobre	33
4.3.	Cobalto	34
4.3.1.	Otimização dos Parâmetros Instrumentais	34
4.3.2.	Curvas Analíticas para Cobalto	37
4.4.	Cádmio	38
4.4.1	Otimização dos Parâmetros Instrumentais	38
4.4.2.	Estudo da Quantidade de Modificador e de Massa de Amostra	41
4.4.3.	Curva Analítica para Cádmio	43
4.5.	Aplicação nas Amostras de Café	44
4.6.	Comparação dos Resultados Analíticos: SS-GF AAS <i>Versus</i> ICP OES	49
4.7.	Figuras de Mérito	52
4.7.1.	Precisão	52
4.7.2.	Exatidão	53
4.7.3.	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	54
4.7.4.	Massa Característica	55
4.7.5.	Figuras de Mérito para Manganês, Cobre, Cobalto e Cádmio	56
5.	Conclusões	59
6.	Etapas Futuras	63
7.	Referências Bibliográficas	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Curvas de pirólise para manganês com e sem modificador	26
Figura 2	Perfil de absorvância para manganês com fluxo mínimo de gás de purga na atomização de 0,1 Lmin ⁻¹	28
Figura 3	Curva de calibração para padrão aquoso de manganês com 5,0 µg de Pd e 3,0 µg de Mg em 0,05% de Triton X-100 e fluxo de gás 0,1 L min ⁻¹ durante a atomização.	29
Figura 4	Curva de correlação para manganês com os materiais de referência certificados com fluxo de gás de 0,1 L min ⁻¹ durante a atomização.	30
Figura 5	Curvas de pirólise para cobre.	32
Figura 6	Perfil de absorvância para cobre em amostra de café Brasil.	33
Figura 7	Curva de correlação com materiais de referência certificados	34
Figura 8	Curvas de pirólise para cobalto.	35
Figura 9	Perfil de absorvância para cobalto.	36
Figura 10	Curva de calibração para padrão aquoso de cobalto.	37
Figura 11	Curvas de pirólise para cádmio.	39
Figura 12	Perfil da absorvância para cádmio com 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100.	40
Figura 13	Otimização da massa de modificador químico, para a determinação de cádmio em amostra de café. .	42
Figura 14	Estudo da massa de amostra de café Brasil usando 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100.	4,
Figura 15	Curva de calibração para padrão aquoso de cádmio com 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador químico.	42

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I	Parâmetros instrumentais para determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio por SS GF AAS.	17
Tabela II	Parâmetros instrumentais para as determinações de manganês, cobre, cobalto e cádmio por ICP OES usando vista axial.	18
Tabela III	Lista de amostras de grão de café verde investigadas.	20
Tabela IV	Programa de temperatura para a determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em amostras de café, utilizando-se SS GF AAS.	22
Tabela V	Influência do tamanho da partícula para café verde (Mogiana) nas medidas das absorvâncias.	25
Tabela VI	Concentração de manganês nos materiais de referência certificados usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso.	30
Tabela VII	Concentração de cobalto em materiais de referência usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso.	38
Tabela VIII	Concentração de cádmio em CRMs usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso.	44
Tabela IX	Teor de manganês em amostras de café verde usando as técnicas de calibração com padrão aquoso e de correlação.	46
Tabela X	Concentração de cobre nas amostras de café usando a curva de correlação com CRMs botânicos.	47
Tabela XI	Concentração de cobalto nas amostras de grãos de café verde usando calibração <i>versus</i> padrão aquoso.	48
Tabela XII	Concentração de cádmio nas amostras de café usando calibração <i>versus</i> padrão aquoso.	49
Tabela XIII	Concentração de manganês, cobre, cobalto e cádmio em amostras de café verde comparando SS GF AAS e ICP OES após digestão ácida assistida por microondas.	51
Tabela XIV	Figuras de mérito para determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em café usando ICP OES após digestão ácida assistida por microondas e análise direta por SS-GF AAS.	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Absorvância (do inglês: absorbance)
AA	Absorção Atômica
AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês: Atomic Absorption Spectrometry).
ABIC	Associação Brasileira das Industrias de Café
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCR	Laboratórios Comunitários de Referência (do inglês: Community Bureau of Reference – BCR)
BEC	Concentração Equivalente ao branco (do inglês: Background Equivalent Concentration)
BG	Sinal de fundo (do inglês: background)
c	Concentração
CRM	Material de Referência Certificado (do inglês: Certified Reference Material)
CV	Coefficiente de variação
ET AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com atomização Eletrotérmica (do inglês: Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry)
ICO	Organização Internacional do Café (do inglês: International Coffee Organization)
ICP MS	Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry).
ICP OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês: Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry).
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)
IDR	Ingestão Dietética de Recomendada
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (do inglês: Flame Atomic Absorption Spectrometry)
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura (do inglês: Food and Agricultural Organization of United Nations)

JECFA	Comitê Científico Misto de Peritos Especialistas em Aditivos Alimentares (do inglês: Joint Expert Committee on Food Additives)
LOD	Limite de detecção (do inglês: Limit of Detection)
LOQ	Limite de quantificação (do inglês: Limit of Quantification)
LMT	Limite Máximo de Tolerância
m	Massa
m ₀	Massa característica
NIES	Instituto Nacional de Estudos Ambientais (do inglês: National Institute for Environmental Studies)
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia) (do inglês: National Institute of Standards and Technology)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCA	Análise dos Componentes Principais
PMTDI	Previsão de Ingestão Máxima Tolerável por dia (do inglês: Provisional Maximum Tolerable Daily Intake)
PTWI	Previsão de Ingestão Máxima Tolerável por semana (do inglês: Provisional Maximum Tolerable Weekly Intake)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês: Relative Standard Deviation)
STPF	Forno com plataforma e temperatura estabilizada (do inglês: Stabilized Temperature Platform Furnace)
SS	Amostragem Sólida (do inglês: Solid Sampling)
SS-GF AAS	Amostragem direta de sólidos por Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês: Solid Sampling Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)
T _p	Temperatura de pirólise
T _a	Temperatura de atomização
WHO	Organização Mundial da Saúde (do inglês: World Health Organization)

RESUMO

O desenvolvimento de métodos para a determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em café verde, usando amostragem direta por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, foi o principal objetivo do projeto. A motivação do estudo deveu-se ao fato que poucos elementos são necessários para a determinação da origem do café verde, não necessitando, assim, de técnicas multielementares. Manganês, cobre e cobalto foram escolhidos como elementos-teste pois foram significativos em prévias investigações; cádmio foi incluído devido à sua toxicidade. Para a determinação de Mn, Co e Cd foi possível utilizar calibração *versus* padrões aquosos, enquanto que para a determinação de Cu foi necessário o uso de materiais de referência certificados (CRM). Os limites de detecção foram 0,012, 0,006, 0,004 e 0,001 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Mn, Cu, Co e Cd respectivamente. Vários CRM botânicos e amostras pré-analisadas de café verde foram utilizados na validação do método; espectrometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado foi usada como método de referência. Não foi observada diferença significativa entre os resultados obtidos com o método proposto e os valores certificados ou determinados independentemente. Sete amostras de café verde brasileiro foram analisadas, porém não foi tentado correlacionar os valores com a origem, já que apenas uma amostra por plantação foi analisada

ABSTRACT

A method has been developed for the determination of manganese, copper, cobalt and cadmium in green coffee using direct solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. The motivation for the study was that only a few elements might be necessary to determine the origin of green coffee and no multi-element technique is necessary. Manganese, copper and cobalt were chosen as test elements as they have been found significant in previous investigations; cadmium was included because of its toxicity. Calibration against aqueous standards could be used for the determination of Mn, Co and Cd, but calibration against solid certified reference materials (CRM) was necessary for the determination of Cu; the limits of detection were 0,012, 0,006, 0,004 and 0,001 $\mu\text{g g}^{-1}$ for Mn, Cu, Co and Cd respectively. Several botanical CRM and pre-analyzed samples of green coffee were used for method validation; inductively coupled plasma optical emission spectrometry was used as reference method. No significant difference was found between the results obtained with the proposed method and certified or independently determined values. Seven samples of Brazilian green coffee have been analyzed, but no attempt was made to correlate the values with the origin, as only one sample was analyzed for each growing area.

1. INTRODUÇÃO

1.1. IMPORTÂNCIA DO CAFÉ

A planta de café é originária da Etiópia, região central da África, onde ainda hoje faz parte da vegetação natural. Foi a Arábia a responsável pela propagação da cultura do café. O nome café não é originário de Kafka, local de origem da planta, e sim da palavra árabe “*qahwa*” que significa vinho. Sendo assim conhecido como vinho da Arábia, quando chegou à Europa no século XIV ¹. Foram os holandeses que conseguiram as primeiras mudas e as cultivaram nas estufas, fato que tornou a bebida uma das mais consumidas no velho continente, passando a fazer parte dos hábitos dos europeus. O crescente mercado consumidor europeu propiciou a expansão do plantio de café em países africanos e a sua chegada ao Novo Mundo. Foi por meio das Guianas que chegou ao norte do Brasil, mais precisamente em Belém, em 1727, a pedido do governador do Maranhão e Grão Pará, pois já naquela época o café possuía grande valor comercial ².

Devido às nossas condições climáticas, o cultivo de café se espalhou rapidamente com produção voltada para o mercado doméstico. Num espaço de tempo relativamente curto, o café passou de uma posição secundária para a de produto-base da economia brasileira. Desenvolveu-se com total independência, ou seja, com recursos nacionais, sendo, afinal, a primeira realização exclusivamente brasileira que visou a produção de riquezas ³. O Brasil é o maior produtor e exportador de café, com uma participação média de 24% nas exportações mundiais.

Existem muitas espécies e variedades de café. As espécies de importância econômica são o *Coffea arábica* e o *Coffea canephora* (conhecida como Robusta). O Brasil produz estes dois cultivares de café: o arábica e o robusta. O Arábica é característico dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná. O Robusta, também conhecido como *conillon*, é plantado, principalmente, no Estado do Espírito Santo.

O café dos tipos arábica e robusta são duas espécies com características próprias. A espécie arábica apresenta aroma intenso e diferenciado, os grãos são plantados em terras altas, sendo maior e mais achatado, tem menor produtividade

com menor teor de cafeína. É o café preferido pelas cafeterias. O robusta apresenta uma menor variedade de aromas e sabor único, possui maior teor de cafeína é empregado na produção de café solúvel, uma vez que a taxa de extração de sólidos no processo de fabricação deste café é maior ao do arábica ⁴.

O elemento tradicional de competitividade do café é o custo de produção, que determina as vantagens comparativas de um determinado país em relação aos demais. Na produção do café arábica o Brasil é o país que possui menor custo, que aliado à elevada produtividade tem garantido a manutenção e o crescimento da participação no mercado internacional ⁵. A produção de grãos é uma atividade extremamente importante para a economia brasileira, pois além de ser uma grande geradora de divisas é responsável por milhões de empregos diretos e indiretos.

1.2. ELEMENTOS ESSENCIAIS E A DIETA HUMANA

Nas últimas décadas, há uma busca por dietas balanceadas, ricas em proteínas, carboidratos e principalmente dos elementos macros e micros de essencialidade. Elas são fundamentais para o bom desempenho das nossas funções biológicas e fisiológicas. A tendência mundial é que, num futuro não muito distante, os alimentos terão tanta importância quanto os remédios, porém, ao contrário destes, atuando de forma preventiva ⁶.

A estimativa da essencialidade dos elementos é estabelecida pela Organização Mundial de Saúde, OMS, através de estudos existentes sobre os níveis de consumo diário dos alimentos que recomenda os valores de ingestão dietética recomendada, IDR em que cada valor referencia o consumo médio diário de nutrientes de indivíduo em diferentes grupos populacionais ⁷⁻⁹. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da resolução de diretoria colegiada, RDC, nº 269, de 22 de setembro de 2005 foi prorrogada pela RDC nº 182 de 03 de outubro de 2006, que regulamenta os valores da IDR brasileira ¹⁰ baseada na resolução da Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura, FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations) ¹¹.

1.2.1. Micronutrientes

A composição química do grão de café varia de acordo com a espécie e essa diferença contribui para que os grãos crus, quando submetidos aos tratamentos térmicos, forneçam bebidas com características sensoriais diferenciadas ^{12,13}.

Aproximadamente 95% da composição química das plantas, expressa em matéria seca, é constituída de carbono, oxigênio e hidrogênio, enquanto que os 5% restantes advêm dos elementos minerais separados em duas categorias: os macronutrientes como o nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre e os micronutrientes como o cobre, manganês, cobalto, zinco, ferro, entre outros ¹⁴. A pequena participação dos elementos minerais na constituição dos vegetais e o próprio termo “micronutrientes” podem sugerir menor grau de importância, mas todos são essenciais para o desenvolvimento e reprodução das plantas. O critério adotado para a separação é meramente quantitativo, uma vez que os micronutrientes desempenham funções importantes no metabolismo vegetal ¹⁴.

Alguns minerais essenciais para o funcionamento metabólico normal de organismo podem ser encontrados no café cru. Dentre esses, destacam-se os macrominerais cálcio, potássio, magnésio, sódio, fósforo e os microminerais cobalto, cromo, cobre, ferro, manganês, zinco. Os microelementos estão presentes numa escala de mg kg^{-1} na matéria vegetal ¹⁴. Devido ao Brasil ser um dos maiores produtores de café no mundo, associado ao elevado consumo da bebida e à necessidade de se definir valores nutricionais e comerciais, torna-se primordial a caracterização da composição química do café.

1.2.2. Cobre

Nos seres humanos, a essencialidade desse metal deve-se à sua incorporação a um grande número de enzimas e proteínas estruturais. O cobre desempenha função enzimática, sendo requerido como co-fator em alguns processos de ação catalítica. Sua presença é essencial para processos fisiológicos normais como respiração celular, síntese da melanina, biosíntese de tecido conectivo, defesa de radicais livres e metabolismo de ferro intracelular. O cobre é fundamental para a assimilação do ferro na formação da hemoglobina e a sua

obtenção provém da dieta alimentar. A concentração de cobre em alimentos varia de país para país de acordo com o tipo de produto, as condições de cultivos (solo, água, uso de fertilizantes e fungicidas que contenham cobre), o tipo de processamento e a utilização do produto. Aproximadamente 30% do cobre ingerido são absorvidos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima a cota de ingestão de cobre (em alimentos) entre 1-3 mg/dia. A ingestão dietética recomendada (IDR), brasileira para o cobre é de 0,9 mg/dia para adultos ¹⁰, enquanto que a ingestão tolerável sugerida pelo Comitê científico misto de peritos especialistas em aditivos alimentares, JECFA (Join Expert Committee on Food Aditives), como PMTDI, previsão de ingestão máxima tolerável por dia (Provisional Maximum Tolerable Daily Intake), é de 0,05 – 0,5 mg Kg⁻¹ diária ¹⁵.

1.2.3. Manganês

O manganês é um dos metais mais abundantes na crosta terrestre. Nos vegetais, atua na síntese da clorofila, pigmento que confere a cor verde às folhas. A deficiência deste micronutriente e a oxidação sucessiva da clorofila são responsáveis pela substituição da cor verde por um tom esbranquiçado das folhas, diminuição na fotossíntese e da produtividade. Funciona, também, em vários processos enzimáticos da planta. Embora, o manganês, satisfaça o critério direto de essencialidade, quando em altas concentrações, na sua forma trocável e solúvel, pode levar os tecidos vegetais a apresentarem quantidades tóxicas do nutriente, afetando severamente a parte aérea das plantas ¹⁶⁻¹⁹. No homem, o manganês é necessário para o crescimento e no sistema reprodutivo. Entretanto, doses elevadas causam anomalias nos pulmões (pneumonia química) e cérebro.

Os alimentos são as principais fontes de absorção de manganês pela população em geral, chegando apenas a índices entre 3-5% de absorção. No Brasil a ANVISA recomenda uma IDR de 2,3 mg/dia ¹⁰.

1.2.4. Cobalto

O cobalto está presente como elemento traço na maioria dos solos e ocorre em inúmeros minerais. É um elemento traço essencial constituindo o átomo central da estrutura da vitamina B12, a qual é responsável pela produção dos glóbulos vermelhos do sangue. Os animais ruminantes requerem cobalto para que a vitamina B12 possa ser sintetizada através de bactérias no estômago primário²⁰. Em regiões onde há falta de cobalto no solo sua deficiência pode ocasionar doenças nos seres vivos.

Nas plantas o cobalto é absorvido como Co(II), sendo transportado pela corrente transpiratória, ocasionando acumulação nas margens e pontas das folhas. Quando é absorvido por via foliar é praticamente imóvel, embora, como acontece com o cobre, ferro, manganês e zinco, tende a formar quelatos. A maior proporção de cobalto se encontra nas raízes, vindo depois as folhas, já os caules são menos ricos. O teor de cobalto na matéria orgânica está normalmente entre 0,02 e 0,5 mg Kg⁻¹. Um excesso de cobalto no meio diminui a absorção de ferro e de manganês¹⁴.

Para o cobalto tanto a ANVISA como a RDC n° 269 não fazem referências sobre os limites relativos a IDR.

1.2.5. Cádmio

O cádmio encontra-se distribuído na terra como consequência de emissões de plantas industriais, especialmente fundições de zinco e ferro e produção de aço, além dos resíduos gerados por plantas de incineração e estações geradoras de energia a carvão²⁰.

Algumas plantas, quando crescem em solo poluído com cádmio, como o arroz, podem acumular grandes concentrações do metal (superior a 1000 µg kg⁻¹). Assim, para os não fumantes, os alimentos constituem a principal fonte ambiental de cádmio²¹.

A ingestão diária média através dos alimentos em países europeus e nos Estados Unidos está entre 15 – 25 µg de cádmio, podendo variar de acordo com a idade e hábitos alimentares. No Japão, a média de ingestão está entre 40 – 50 µg de cádmio, mas podendo ser bem maior em áreas contaminadas²¹.

O grupo de especialistas da WHO/FAO possui recomendação para o limite de ingestão tolerável baseada na ingestão semanal, PTWI (Provisional Maximum Tolerable Weekly Intake), para cádmio em populações adultas. Estes limites de ingestão provisória tolerável semanal, são baseados na ingestão por quilograma de peso corporal que no caso do cádmio é de $0,007 \text{ mg Kg}^{-1}$. Para uma pessoa de 70 Kg de peso corporal o PTWI calculado será de $0,49 \text{ mg Kg}^{-1}$, ou seja de 0,07 mg por dia por pessoa^{22,23}.

Também nesse caso, tanto a ANVISA como a RDC nº 269 não fazem referências sobre os limites relativos a IDR, sendo que resolução de diretoria colegiada, RDC nº 182 de 03 de outubro de 2006 prorroga a RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005, que regulamenta os valores da IDR brasileira¹⁰ cita como referências os valores indicados pela FAO, no entanto Decreto nº 55.781 de 26 de março de 1965, indica o limite máximo de tolerância (LMT), para contaminantes inorgânicos o valor de 1,0 ppm para cádmio²⁴.

1.3. ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Desde que foi introduzida por L'vov em 1957 a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) tem sido muito utilizada na determinação de metais nas mais diversas matrizes, para a determinação de metais em nível de traços e ultratraços.

Em 1981, para superar as dificuldades na determinação de alguns elementos por GF AAS, foi introduzido por Slavin²⁵, um conceito denominado **STPF** (forno com plataforma e temperatura estabilizada). Resumidamente pode ser citado como pontos básicos do conceito de STPF o emprego de plataforma de L'vov, alta velocidade de aquecimento na etapa de atomização, interrupção do gás inerte interno durante a fase de atomização, uso da absorvância integrada nas medidas de sinais analíticos e emprego de modificadores químicos. A utilização dessas condições reduz substancialmente interferências de matriz e, na maioria dos casos, torna possível fazer análises por simples calibração com soluções padrão contendo apenas o analito e o modificador, quando o mesmo for necessário²⁵. Desde então, a

técnica de GF AAS é a mais empregada na determinação de elementos traço, sendo as áreas mais exploradas as de interesse ambiental, clínico e biológico ²⁶.

1.3.1. Análise direta de sólidos em GF AAS

Na maioria dos casos os diferentes tipos de amostras submetidas à análise elementar, se encontram na forma sólida. A forma usual de realizar esse tipo de análise tem sido a conversão da amostra sólida em uma solução por meio de procedimentos de decomposição via seca ou por via úmida para compostos orgânicos, dissolução ácida para sólidos inorgânicos ou por fusão para matrizes refratárias. No entanto, de um modo geral, esses métodos de tratamento de amostra consomem muito tempo, podendo variar de 5 min a 48 h ou mais, dependendo da complexidade da matriz. Além disso, há sempre um maior risco de ocorrência de erros sistemáticos como contaminações ou perdas por volatilização com prejuízo para a exatidão e a precisão dos resultados analíticos ²⁷.

Uma alternativa viável para minimizar e/ou eliminar os problemas gerados pela etapa de pré-tratamento da amostra é utilizar a técnica de amostragem direta de sólidos, de modo a simplificar o procedimento analítico. A aplicação dessa alternativa reduz o tempo de análise e os prováveis riscos de contaminação, pois envolve uma menor quantidade de reagentes e exposição ao analista ²⁸.

A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite para a análise direta de sólidos (SS-GF AAS) é tão antiga quanto a própria técnica, além de ser aplicada aos diversos tipos de amostras orgânicas e inorgânicas ²⁸. O potencial da técnica do forno de grafite, para a análise direta de amostras sólidas, foi imediatamente reconhecido logo quando esta técnica foi introduzida. L'vov, em seu artigo pioneiro sobre o uso do forno de grafite, sugeriu que tal atomizador poderia ser útil para análises diretas de sólidos com espectrometria de absorção atômica (AAS) ²⁷.

A análise direta de sólidos pode ser feita seguindo dois procedimentos distintos: via suspensão ou amostragem direta ²⁹. As vantagens do emprego da análise direta de sólidos, em relação à digestão ácida ou fusão podem ser assim resumidas ²⁷⁻³²:

1. O risco de contaminação é consideravelmente reduzido, bem como o risco de perda do analito;
2. Como as amostras não são diluídas, a sensibilidade do procedimento analítico aumenta;
3. Os resultados são obtidos rapidamente;
4. Geralmente, apenas uma pequena quantidade de amostra é necessária;
5. O uso de reagentes corrosivos e perigosos é evitado, resultando em benefícios econômicos e ambientais.

Segundo relato de muitos pesquisadores, os problemas com a análise direta de sólidos são ²⁹⁻³²:

- i. A dificuldade de manipulação da amostra, especialmente para introduzi-la dentro do forno de grafite;
- ii. As dificuldades de se conseguir uma calibração correta e,
- iii. A grande incerteza que pode caracterizar os resultados obtidos, em função da pequena quantidade de amostras.

1.3.2. Amostragem por suspensão

Um dos procedimentos empregados na análise de amostras sólidas consiste na técnica de preparação de suspensões com o objetivo de facilitar a introdução de diferentes materiais no forno de grafite. Em recente artigo Vale *et al.* ³³ fizeram uma criteriosa revisão sobre este desenvolvimento e dos equipamentos destinados a auxiliá-la. Baseada em extensas pesquisas Miller Ihli ³⁴ realizou uma modificação no amostrador do forno de grafite, no qual as suspensões eram homogeneizadas por um amostrador automático, uma sonda ultra-sônica, sendo as mesmas transferidas, em seguida, para o forno de grafite. Incentivados pelas pesquisas de Miller Ihli ^{34, 35} e pela disponibilidade no mercado da sonda ultra-sônica, Bendicho e Loos-Vollebret ²⁹ em um artigo de revisão sobre amostragem direta por GF AAS, concluíram que "... a técnica de suspensões apresenta melhor performance analítica do que a análise direta de sólidos...". Tal julgamento era baseado nos seguintes fatos: **(i)** as concentrações das suspensões podem ser facilmente modificadas de modo que a concentração do analito seja alterada e enquadrada na faixa linear da curva analítica com padrão aquoso; **(ii)** é possível o emprego de modificadores químicos, para

melhorar a eficiência da técnica, quando se usa as suspensões devido ao contato mais efetivo entre modificador químico e partículas da amostra; e **(iii)** a possibilidade de emprego de agitação automatizada.

A tais vantagens estão aliados problemas, já reconhecidos por Bendicho e Loos-Vollebret ²⁹ que afetam o desempenho da técnica: **(i)** a influência da viscosidade, da altura de tomada da amostra durante a introdução da suspensão no forno de grafite, tamanho das partículas, tipo de diluente, emprego de surfactantes; e **(ii)** a baixa estabilidade das suspensões por longo tempo requerendo constante agitação. O dispositivo, sonda ultra-sônica, especialmente desenvolvida para a homogeneização das suspensões, já não está mais disponível comercialmente o que dificulta bastante a técnica ³⁵.

Outro fator importante nas suspensões refere-se à quantidade de analito que é extraído pela fase líquida, ou seja, solubilizado durante a preparação da suspensão, a qual dependerá do analito, da matriz da amostra, da fase líquida e das condições empregadas na preparação da suspensão ³⁶. A diferença de comportamento entre o analito na fase líquida e o analito na fase sólida, também deve ser levada em conta, pois é uma fonte potencial de erros, particularmente neste caso onde a técnica de adição de analito pode ser empregada para corrigir a sensibilidade entre a suspensão e a calibração com padrão aquoso. Todos estes problemas de sedimentação, extração e distribuição do analito entre as duas fases são, obviamente, inexistentes no caso da análise direta de sólidos ³³.

Enquanto as vantagens no emprego da amostragem sólida permanecem válidas, as desvantagens necessitam de uma reavaliação considerando o progresso recentemente alcançado.

Em relação à introdução de amostras sólidas dentro do forno de grafite, diferentes sistemas agora estão disponíveis comercialmente. Há mais ou menos 10 anos atrás, a *Analytik Jena* (Jena, Alemanha), desenvolveu um acessório especificamente desenhado para esta proposta baseado no modelo de Kurfürst ³¹. Este instrumento é equipado com um sistema que introduz a plataforma contendo a amostra sólida para dentro do forno. O sistema pode ser manual ou automático e resolve satisfatoriamente a questão da introdução da amostra.

A técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite para a análise direta de sólidos ganha destaque por permitir diferentes quantidades de amostra introduzidas na célula de atomização. Vários trabalhos estimaram que a

massa pode variar de aproximadamente 0,01 à 30 mg ³⁷, necessitando de uma micro-balança.

A calibração das diferentes técnicas analíticas de espectrometria atômica é a primeira preocupação do analista que deve encontrar um material e método de calibração adequado ³⁸, mas, devido à forte influência da matriz na análise direta de sólidos, esta tarefa torna-se muito importante.

Com relação ao comportamento físico e químico da matriz e do analito durante o processo analítico, a confiabilidade do resultado final é fortemente influenciada pelo material de calibração ^{39,40} e pela matriz da amostra desconhecida. Um material de calibração ideal deve ter a composição química idêntica à matriz e de preferência ambos tendo conteúdo similar do analito. Essas condições devem existir se os compostos da amostra são substâncias mais ou menos puras, como é geralmente o caso de produtos industriais e matérias primas (ex. polímeros, cimento, produtos farmacêuticos). Para amostras ambientais ou clínicas a composição é variável, sendo mais difícil encontrar um material de calibração com suficiente semelhança de matriz disponível para todos os tipos de amostras ³².

O emprego de soluções aquosas como material de calibração é sempre vantajoso. Os materiais para a preparação de solução referência são disponíveis e baratos, o procedimento de calibração é rápido e facilmente executável. Embora a matriz de materiais sólidos apresente uma forte influência sobre o processo de atomização, resultados satisfatórios são obtidos freqüentemente, sob as condições STPF, usando curvas de calibração estabelecidas com soluções aquosas ³².

Uma outra maneira de se fazer uma calibração é usar um material certificado de referência sólido ^{40,41}, ou então, vários materiais certificados de referência, para compensar o efeito da matriz. Condições analíticas ideais são alcançadas quando um material de referência certificado (CRM) possui a mesma composição da amostra. A tendência natural para a calibração com emprego de padrões sólidos tem sido revertida recentemente, já que diferentes estudos mostraram que, pela integração do sinal e um controle adequado do processo de atomização do analito, é possível obter resultados corretos usando a calibração com padrões aquosos para métodos baseados em SS-GF AAS ³³.

A preocupação com a incerteza dos resultados analíticos torna-se o ponto crítico devido à melhora da introdução da amostra. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) entre 10% a 20% (para $n \pm 20$) podem ser considerados usuais.

Embora esta alta incerteza aumente as suspeitas quanto à qualidade das medidas realizadas, estudos recentes para SS-GF AAS mostraram que a imprecisão dos resultados é explicitamente causada pela ausência de homogeneidade dentro das amostras com massas pequenas (geralmente 0,5-2,0 mg) introduzidas dentro do forno ³⁷. Para diminuir essa falta de homogeneidade, uma moagem adicional ou uso de novas técnicas de moagem (ex. por criogenia) se torna necessária, ainda que aumente os riscos de contaminação ou perdas, e o tempo da análise.

1.3.3. Emprego de modificadores químicos

O uso de modificadores químicos para reduzir as interferências espectrais e não espectrais representou um importante fator para o sucesso do conceito de STPF e foi proposto por Ediger ⁴² em 1975 tendo inicialmente recebido o nome controverso de modificador de matriz.

O emprego de modificadores químicos é uma prática comum na GF AAS. A IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) recomenda para conceituação de modificadores químicos: “são reagentes que tem a finalidade de influenciar os processos que ocorrem no atomizador, os quais quando adicionados ajudam a reter o analito a temperaturas mais elevadas durante a pirólise, com finalidade de remover os concomitantes indesejáveis presentes na matriz ou melhorar a eficiência na atomização ²⁸.” Por esta técnica de uso de aditivos químicos torna-se possível o controle de alterações e combinações das propriedades físicas e químicas da amostra. Assim, a formação de compostos estáveis do analito ou dos concomitantes pode ser realçada ou reprimida ²⁰.

A seleção do modificador químico ótimo é um parâmetro crítico para as determinações em GF AAS. Atualmente a modificação química está dividida em dois grupos, de acordo com a sua aplicação durante o ensaio analítico.

O primeiro grupo, chamado de “modificadores químicos convencionais”, compreende várias substâncias entre as quais, a mais utilizada é a mistura de paládio e magnésio (Pd e Mg(NO₃)₂) a qual ficou conhecida como “modificador universal” por apresentar bom desempenho para um grande número de elementos determinados por GF AAS. Sua aplicação é simples e ocorre quando concentrações elevadas da solução de modificador químico, de alta pureza, são acrescentadas às

amostras e aos materiais de referência, com auxílio do amostrador ou de uma micropipeta. No segundo grupo, denominado de “modificadores permanentes”, estão os modificadores químicos que são introduzidos no tubo de grafite e sofrem um tratamento térmico adequado ou uma eletrodeposição, promovendo a modificação da superfície gráfitica para a amostragem a ser analisada ²⁰. O número de elementos que têm potencial para serem utilizados como modificadores, gira em torno de 15-16, dentre os metais nobres de elevado ponto de ebulição (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru), elementos refratários (Hf, Mo, Nb, Re, Ta, Ti, V, W, Zr) ou formadores de carbetos (B, Si). As vantagens reconhecidas ao uso de modificadores permanentes são: simplicidade, menor custo, menor tempo para a determinação por GF AAS, menores riscos de contaminação e baixos valores de absorvância para ensaios em branco, com a conseqüente melhora nos limites de detecção ⁴³.

Em experimentos anteriores Welz *et al* ^{44,45} demonstraram que no interior de um tubo de grafite o analito move-se e pode migrar a grandes distâncias devido as múltiplas colisões entre as espécies volatilizadas e as paredes do tubo de grafite. Durante os anos 90 o emprego do modificador químico permanente em SS-GF AAS era considerado mais um ponto de complicação, já que, na opinião de muitos pesquisadores, o contato íntimo necessário entre o modificador e a amostra sólida era prejudicado ⁴⁶. Porém, em um trabalho realizado em nosso grupo ficou demonstrado que a modificação química permanente, no caso rutênio, pôde ser empregada com sucesso na determinação de chumbo e cádmio em amostras de carvão por SS-GFAAS ⁴⁶, derrubando assim mais um dos mitos criados contra a SS-GF AAS. Atualmente, o emprego de modificadores químicos permanentes em SS-GF AAS é uma prática comum ³³, acrescentando, assim, a esta técnica todas as vantagens decorrentes da modificação química permanente.

1.4. DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM CAFÉ

A maioria das determinações de elementos traço em alimentos e bebidas ^{47,48} são realizadas por causa de sua importância nutritiva e de seus efeitos toxicológicos ⁴⁹. A determinação de elementos traço a fim de identificar a origem geográfica de produtos alimentícios é uma área relativamente nova, porém a pesquisa é cada vez mais ativa, devido à crescente demanda na indústria agrícola

do mercado globalizado livre e às constantes mudanças tecnológicas ⁵⁰. Incentivos financeiros continuam a levar produtores e comerciantes a buscar uma identificação inequívoca da origem dos produtos alimentícios.

Reconhece-se que a composição de mineral e de metal traço das frutas e dos vegetais é uma reflexão distorcida da composição mineral traço no solo e o ambiente em que a planta cresce ⁵¹. Vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de caracterizar a origem do café empregando descritores como: esteróis, componentes aromáticos, amins ^{52,53}, perfis por cromatografia gasosa e a presença de metais traço. No entanto a maioria deles busca uma diferenciação entre as espécies arábicas e robustas e suas misturas, sendo muito pouco feito no sentido de estabelecer parâmetros que identifiquem a região de sua produção.

Diversos autores empregando a análise elementar, através da espectrometria de emissão ótica de plasma indutivamente acoplado (ICP OES), tentaram diferenciar as origens geográficas do café aplicando métodos estatísticos de reconhecimento padrão, tais como, a análise do componente principal (PCA), análise de agrupamentos, análise fatorial de descritores e análise de modelagem neural. Fernandes *et al.* ⁵⁴ determinaram 15 elementos, mas não conseguiram correlacionar um índice de metal com a origem do café.

Martin *et al.* ⁵⁵⁻⁵⁸ determinaram 11 elementos e encontraram que Cu, Mn e P eram variáveis mais discriminantes entre as espécies arábica e robusta e suas misturas, seja em café verde e/ou torrado. Santos *et al.* ⁵⁹ estudaram 17 elementos as quais aplicaram análise do componente principal (PCA) para estabelecer diferenciação entre os processos de industrialização. Prodolliet *et al.* ⁶⁰ investigaram 174 amostras de café verde de 12 países diferentes e 3 continentes (América, África e Ásia) da espécie Arábica, empregando espectrometria de massas por plasma indutivamente acoplado (ICP MS), através da qual, determinaram 41 elementos. A partir dos resultados obtidos, chegaram a conclusão, que os minerais presentes nos café não apresentavam discriminantes suficientes para permitir uma caracterização das diferentes amostras de café ou de suas origens geográficas.

Anderson e Smith ⁶¹ investigaram 18 elementos e encontraram que diversas áreas geográficas poderiam ser identificadas pelos índices de Al, Mn e Na e a melhor distinção poderia ser obtida adicionando os índices de Cu e Fe. Morgano *et al.* ⁶² investigaram 12 elementos com objetivo de conhecer a composição média de metais presentes no café e compará-los com os valores conhecidos. Amorin Filho *et*

al. ⁶³ realizaram estudos comparativos entre amostras de café a partir da composição dos nutrientes usando análise exploratória de dados para estabelecer diferenciação entre amostras de café verdes e torrados.

O mais detalhado estudo sobre correlação e índice de elementos traço no café e sua origem foi realizado por Krivan *et al.* ⁶⁴ que determinaram 20 elementos em amostras de café de oito países diferentes usando a análise por ativação de nêutrons, espectrometria de absorção atômica de forno de grafite (GF AAS), espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS) e análise elementar da combustão. Esses autores encontraram que entre os elementos investigados o manganês foi melhor indicador para a origem do café, mas os elementos como o cobalto, o cézio, o sódio e o rubídio provaram ser de grande interesse. A partir dos resultados obtidos neste estudo, concluíram que, através da análise de elementos traços em café verde, é possível obter informações interessantes sobre a sua origem. Em 84% dos casos, estatisticamente, as diferentes concentrações de manganês entre as oito amostras de café foi altamente significativa.

A partir do que foi exposto e considerando que, praticamente inexistem dados relativos a metais presentes em café brasileiros, quanto a sua composição química, e que, até o momento, não foram realizadas investigações da técnica de análise direta de sólidos para determinação de metais em café verde, o enfoque neste trabalho, será o desenvolvimento de métodos para determinação de alguns elementos chaves em café verde usando amostragem direta de sólidos por GF AAS e comparando suas performances com ICP OES, após digestão ácida assistida por microondas.

O manganês foi o primeiro elemento pesquisado porque tem sido citado como o melhor identificador da origem do café em diversos artigos, ^{54,56,58,61,64} posteriormente cobre ^{56,58,61,64} e cobalto foram investigados devido aos resultados obtidos por Krivan *et al.* ⁶⁴. Também, foi investigado o cádmio, devido aos seus efeitos toxicológicos nos organismos vivos, e por ele não ter sido determinado por Krivan *et al.* ⁶⁴.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como principal objetivo o desenvolvimento e otimização de métodos analíticos que possam ser aplicados rotineiramente na determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em amostras de grãos de café verde por Espectrometria de absorção Atômica com Forno de Grafite por amostragem sólida (SS-GF AAS).

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudos de procedimentos para determinação direta de metais (Manganês, Cobre, Cobalto e Cádmio) em amostras de grãos de café por SS-GFAAS;

Estudo da possibilidade do emprego de modificadores químicos para a estabilização térmica de elementos como cádmio.

Investigar a possibilidade do uso de padrões aquosos para a calibração;

Otimização da metodologia via SS-GFAAS e estabelecimento dos parâmetros analíticos;

Otimização e validação dos métodos desenvolvidos, usando materiais de referência certificado e comparação dos resultados com outras técnicas;

Aplicação dos métodos validados para determinação de metais em amostras de grãos de café brasileiros e de diferentes países.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. EQUIPAMENTOS

3.1.1. Espectrômetro de absorção atômica

Durante todo o trabalho utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica AAS 5EA (Analytik Jena AG, Alemanha) conectado a um computador IBM PC/AT. Todas as medidas foram realizadas com tubos de grafite, sem orifício, piroliticamente recobertos e com aquecimento transversal (Part N° 07-8130325 Analytik Jena AG, Alemanha) e plataformas de grafite piroliticamente recobertas e otimizadas (Part N° 407-A81312 Analytik Jena AG, Alemanha). Para a introdução das soluções padrão aquoso e amostras sólidas, utilizou-se um amostrador manual SSA 5 (Analytik Jena AG, Alemanha).

Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco de manganês, cobre, cobalto e cádmio (NARVA G. L. E, Berlim, Alemanha) como fontes de radiação, e para medida do sinal de fundo utilizou-se fonte de deutério (NARVA G. L. E, Berlim, Alemanha). Uma microbalança M2P (Sartorius, Göttingen, Alemanha) foi usada para as pesagens das amostras diretamente nas plataformas de grafite. A massa da amostra é transmitida automaticamente ao computador do instrumento para calcular a absorvância normalizada (absorvância integrada por mg de amostra) após cada medida. Um par de pinças, como acessório amostrador manual do SSA 5 (Analytik Jena AG, Alemanha), foi usado para transferir as plataformas ao atomizador. Utilizou-se como gás de purga argônio comercial com 99,996% de pureza (White Martins, São Paulo, Brasil) com fluxo de $2,0 \text{ L min}^{-1}$ durante todas as etapas do programa de aquecimento, exceto durante a atomização, quando o gás é interrompido para os ensaios com cobre, cobalto e cádmio enquanto que para manganês foi reduzido à um fluxo mínimo de argônio ($0,1 \text{ L min}^{-1}$)⁶⁵.

As medidas dos sinais de absorvância integradas baseadas exclusivamente em área de pico foram usadas para todas as medidas. Os parâmetros instrumentais utilizados estão apresentados na Tabela I.

Tabela I. Parâmetros instrumentais para determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio por SS GF AAS.

PARÂMETROS	Manganês	Cobre	Cobalto	Cádmio
Comprimento de onda (nm)	403,1	324,8	240,7	228,8
Corrente de lâmpada (mA)	3,5	3,0	4,5	4,0
Fenda (nm)	0,5	0,5	0,2	0,8
Massa de amostra (mg)	0,050-0,080	0,050-0,080	0,250 – 0,400	1,500 –2,500

3.1.2. Espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado

Os ensaios usando o espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES) foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, UFBA, no Departamento de Analítica ⁶⁶. O equipamento é do tipo simultâneo com visão axial e detector de estado sólido VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália). O sistema óptico do ICP OES foi calibrado com solução de referência multi-elementar e alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de manganês 5,0 mg L⁻¹.

As linhas espectrais foram selecionadas considerando-se as intensidades dos sinais de emissão dos analitos e do sinal de fundo, o desvio padrão das medidas e a sensibilidade adequada para a determinação de elementos presentes em altas e baixas concentrações nas amostras. A Tabela II ilustra as condições experimentais utilizadas para as determinações dos analitos.

Tabela II. Parâmetros instrumentais para as determinações de manganês, cobre, cobalto e cádmio por ICP OES usando vista axial.

Parâmetros instrumentais	
Rádio-freqüência do gerador (MHz)	40
Potência (kW)	1,3
Vazão do gás do plasma (L min⁻¹)	15,0
Vazão de gás auxiliar (L min⁻¹)	1,5
Vazão gás de nebulização (L min⁻¹)	0,70
Linhas analíticas (nm)	
Cd (II)	214,439
Mn (II)	257,611
Cu (I)	327,397
Co (II)	230,786

3.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções e amostras foram preparadas com reagente de grau analítico e com água purificada por um sistema MilliQ-Plus, resistividade específica-18 M Ω cm⁻¹ a 25 °C (Millipore, Bedford, MA, USA) acoplado a um destilador de água de vidro modelo 534 (Fisatom, Brasil). O ácido nítrico concentrado (Merck, Alemanha) foi destilado em destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha).

Para a preparação das soluções padrão de manganês, cobre, cobalto e cádmio foram utilizadas as soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ Mn em 5% HNO₃ (SPEX, EUA), 1000 mg L⁻¹ Cu em 5% HNO₃ (SPEX, EUA), 1000 mg L⁻¹ Co em 5% HNO₃ (SPEX, EUA) e 1000 mg L⁻¹ Cd em 5% HNO₃ (SPEX, EUA). As soluções de trabalho (em 0,014 mol L⁻¹ HNO₃) foram preparadas semanalmente a partir de diluições adequadas das soluções estoque.

Quando necessário foi utilizado modificador químico, 10 \pm 0,2 g L⁻¹ de paládio (como nitrato) em 15% de HNO₃ (Merck, Alemanha) e 10 \pm 0,2 g L⁻¹ de magnésio (como nitrato) em 15% de HNO₃ (Merck, Alemanha) ao qual foi adicionado o surfactante Triton X-100 (Union Carbide) com a finalidade de facilitar a dispersão do

modificador sobre as partículas e melhorar a absorção do modificador pela amostra de grão de café.

Para as medidas com ICP OES todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura, com resistividade específica de $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, de um sistema de purificação Millipore.

Soluções de referência foram preparadas a partir de soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de manganês, cobre, cobalto e cádmio (Merck, Alemanha), no mesmo meio dos digeridos ácidos obtidos. Na execução dos trabalhos experimentais, os seguintes reagentes foram utilizados: ácido clorídrico (Carlo Erba, Itália), ácido nítrico (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30% v/v (Merck, Alemanha).

3.3. LIMPEZA DO MATERIAL E ARMAZENAMENTO DE SOLUÇÕES

Para as medidas com SS-GF AAS todas as soluções foram mantidas em frascos de polietileno, previamente lavados e descontaminados. A descontaminação foi realizada através da inserção dos frascos em um banho de aproximadamente $3 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ por pelo menos 24 horas. A seguir, os frascos foram retirados do banho e lavados no mínimo três vezes, com água destilada e deionizada. Toda a vidraria utilizada no preparo das soluções, também foi descontaminada seguindo o mesmo procedimento.

No caso do uso de ICP OES, todas as vidrarias e frascos foram previamente descontaminados em banho ácido contendo HNO_3 10% v/v, por no mínimo 24 h e lavadas com água deionizada antes do uso.

3.4. AMOSTRAS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA CERTIFICADO

A Tabela III descreve as amostras investigadas; de café verde obtidas da Unidade de Pesquisa e Teste de ICO, International Coffee Organization, (Londres, Grã Bretanha), as quais foram pré-analisadas por Krivan *et al.*⁶⁴ e de café brasileiro, obtidas no Café Mercado (Porto Alegre, Rio Grande do Sul). As amostras são grãos de café dos tipos especiais disponíveis no mercado internacional. Todas as

amostras de café, com uma única exceção, são do tipo arábica. Os seguintes materiais de referência certificados (CRM) foram usados neste trabalho: farelo do milho Corn Bran NIST SRM 8343, farinha de arroz Rice Flour NIST SRM 1568a, farinha de trigo Wheat Flour NIST SRM 1567, folha de maçã Apple Leaves NIST SRM 1515 e folhas cítricas Citrus Leaves NIST SRM 1572 (todas do National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, EUA), farinha de arroz Rice Flour NIES CRM 10a (National Institute for Environmental Studies, Japan Environment Agency, Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki, Japão) e de pão torrado Brown Bread BCR No 191 (Community Bureau of Reference – BCR, Brussels, Belgium).

Tabela III. Lista de amostras de grão de café verde investigadas.

País de origem	Tipo	Safra	Brasil	Safra
Colombia*	Medellin excelso	1987/88	Brasil	2003/04
Costa Rica*	Strictly hard bean	1987/88	Planalto Cerrado (BA)	2004/05
Cuba*	Crystal mountain	1987/88	Robusta (ES)**	2004/05
México*	Strictly hard bean	1987/88	Cerrado Mineiro (MG)	2004/05
Nicarágua*	A	1987/88	Sul de Minas (MG)	2004/05
Panamá*	Chiriqui	1987/88	Apucarana (PR)	2004/05
			Mogiana (SP)	2004/05

* amostras investigadas por Krivan *et al.*⁶⁴; ** todas as amostras são da espécie *arábica* exceto Robusta (ES) da espécie *robusta*.

3.5. METODOLOGIA

3.5.1. Preparo das amostras

Para as análises por SS-GF AAS, as amostras de grão de café foram trituradas em um Micro-Moinho vibratório "pulviresette 0" (Fritsch gmbH, Idar-Oberstein, Alemanha). Durante o estágio de trituração das amostras foi usado

nitrogênio líquido (AGA) para facilitar a operação e alcançar a granulometria desejada. A operação de moagem foi realizada a uma amplitude de 1,5 mm de vibração durante 20 minutos de agitação. Em seguida, as amostras foram peneiradas, utilizando-se uma peneira de poliéster de 150 μm e secas em estufa DeLeo (Brasil), a uma temperatura entre 60-70°C durante duas horas e depois mantidas em dessecador.

3.5.2. Programa de temperatura

Os programas de temperatura utilizados para a determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio por SS GF AAS encontram-se descritos na Tabela IV. As temperaturas de pirólise foram determinadas através do procedimento de curva de temperatura de pirólise descrito por Welz²⁰.

Tabela IV. Programa de temperatura para a determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em amostras de café, utilizando-se SS GF AAS.

Etapas	Manganês	Cobre	Cobalto	Cádmio
Secagem: °C; rampa/s; patamar/s	90; 10; 10	90; 10; 10	90; 10; 10	90; 10; 10
Secagem: °C; rampa/s; patamar/s	120; 7; 10	120; 7; 10	120; 7; 10	120; 7; 10
Secagem: °C; rampa/s; patamar/s	150; 15; 10	150; 15; 10	150; 15; 10	150; 15; 10
Pirólise: °C; rampa/s; patamar/s	900; 400; 50	1100; 1000; 30	1400; 400; 10	800; 100; 60
Atomização: °C; rampa/s; patamar/s	1900*; 2000; 10	2100; 1500; 11	2400; 1500; 7	1600; 2000; 8
Limpeza: °C; rampa/s; patamar/s	2300; 1000; 4	2300; 1000; 3	2500; 500; 4	2300; 1000; 4

* Gás de Purga: argônio ($2,0 \text{ L min}^{-1}$) em todas as etapas, exceto na atomização, quando o gás é interrompido para cobre, cobalto e cádmio, entretanto para manganês o fluxo de argônio é de $0,1 \text{ L min}^{-1}$.

3.5.3. Digestão de amostras assistida por microondas

Cerca de 500 mg de amostra, foram medidos diretamente em frasco de digestão PTFE, aos quais foram adicionados 7,0 mL de ácido nítrico concentrado, 65% m/m e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio H₂O₂ 30% v/v, sendo mantidos em capela durante 1,0 hora, em pré-digestão, para liberação dos gases provenientes da digestão ácida. Após serem colocadas no prato giratório do sistema de microondas foram submetidas ao programa de temperatura.

As amostras de café foram digeridas segundo um programa de temperatura em quatro etapas. Na primeira etapa fez-se um aumento linear de temperatura até 90 °C em 4 minutos, com potência máxima de rotação do *magnetron* de 1000 W. Na segunda etapa a temperatura da amostra foi mantida a 90 °C durante 2 minutos. Na terceira etapa ocorreu um incremento de temperatura até atingir 180 °C em 4 minutos. A quarta etapa manteve-se a amostra em temperatura de 180 °C durante 15 minutos. Depois de encerrado o programa de temperatura, as amostras foram submetidas a resfriamento durante três horas. A solução obtida foi completada a 25,00 mL com água deionizada, em balão volumétrico, e usada na determinação dos analitos por ICP OES⁶⁶.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. MANGANÊS

4.1.1. Otimização dos parâmetros instrumentais

Para estabelecimento dos parâmetros instrumentais como temperatura, tempo, velocidade de aquecimento, fluxo de gás de purga e da curva analítica utilizou-se a amostra sólida de café verde denominada genericamente de Brasil, por não se ter uma origem exata de sua produção.

Para a escolha do comprimento de onda, inicialmente empregou-se o comprimento de onda de 279,8 nm de maior sensibilidade, 100%. Este comprimento de onda apresentou uma absorvância muito elevada para o manganês presente, mesmo em quantidade mínimas de amostra, abaixo de 0,050 mg. Foi realizado estudo no comprimento de onda de 403,1 nm para o qual o sinal de absorvância, por possuir menor sensibilidade (11%), revelou melhor reprodutibilidade quando aplicado fluxo mínimo de gás de 0,1 L min⁻¹, durante a fase de atomização.

Para o estabelecimento das melhores condições experimentais foram levadas em conta a granulometria da amostra, a forma do pico de absorção atômica (AA) e a separação do mesmo do sinal de fundo (BG). O fluxo de gás utilizado foi o máximo de 2,0 L min⁻¹ durante as etapas de secagem, pirólise e limpeza. Na etapa de atomização foi empregado um fluxo de gás mínimo de 0,1 L min⁻¹. Para a remoção completa de todos os componentes voláteis da amostra de café verde, utilizaram-se três etapas de secagem no programa de aquecimento com rampas de aumento gradual de temperatura, pois havia o risco de eclosão da amostra na transição da etapa de secagem para a de pirólise, resultando numa baixa precisão. Essas três etapas de secagem foram empregadas, também, para os demais elementos.

Um fator muito importante na análise direta por SS-GF AAS é o tamanho da partícula, porque somente uma massa muito pequena de amostra da ordem de 1 mg a qual deve ser representativa para o analito na amostra pode, geralmente, ser introduzida no forno. Uma amostra de grãos de café verde (Mogiana Verde) foi então

moída e dividida em quatro frações de granulometrias diferentes: > 150 µm, 85 – 150 µm, 45 – 85 µm e < 45 µm, usando-se peneiras de diferentes tamanhos de malhas. O resultado inicial foi surpreendente, pois diminuindo o tamanho das partículas foi observada uma redução no teor de analito, como é mostrado na Tabela V, para o manganês. A explicação para o problema pode ser devido à natureza higroscópica do café verde, que resultou numa absorção mais rápida da umidade do ambiente para as frações com tamanho de partículas menor, comparada às frações mais grosseiras. Este problema pôde ser resolvido secando as amostras ao peso constante antes da análise ou realizando a correção da umidade, a qual foi determinada previamente numa alíquota em separado da amostra, como pode ser visto na Tabela V. O resultado mais importante desta experiência foi que nem o resultado analítico nem a precisão da análise parecem depender do tamanho da partícula, o que significa que o analito deve estar distribuído de modo homogêneo nos grãos de café. Isto é importante por duas razões: em primeiro, o café verde em contraste com o café torrado é bem mais difícil de ser moído em tamanho de partícula pequena, e em segundo, o problema de absorção da umidade do ambiente é minimizado quando os grãos não são moídos finamente. Assim, durante todo o trabalho e para todos os analitos, as amostras foram peneiradas (< 150 µm) e após secagem mantidas em dessecador.

Tabela V. Influência do tamanho da partícula para café verde (Mogiana) nas medidas das absorvâncias integradas e normalizadas (0,100 mg de amostra) sem e com correção da umidade. Média e desvio padrão para n = 5 medidas.

Tamanho da partícula (µm)	Absorvância integrada normalizada (s)	
	Sem secagem	Umidade corrigida
> 150	0,590 ± 0,030	0,414 ± 0,037
85 – 150	0,537 ± 0,025	0,411 ± 0,017
45 – 85	0,386 ± 0,031	0,415 ± 0,032
< 45	0,334 ± 0,024	0,435 ± 0,018

Foram realizadas curvas de pirólise, segundo Welz ²⁰, para o padrão aquoso de manganês em 0,014 mol L⁻¹ de HNO₃ e amostra de café verde, respectivamente,

como é mostrado na Figura 1. Para construir a curva empregando amostra de café verde Brasil, com as absorvâncias integradas normalizadas para massa de 0,100 mg de amostra, aumentando-se a temperatura foi variando de 300 °C até atingir 1600 °C. Como pode ser observado na Figura 1 as curvas de pirólise estabelecidas com padrões aquosos e a amostra de café são significativamente diferentes. Enquanto o manganês na amostra de café é termicamente estável até 1300 °C, em padrões aquosos a perda de analito é já observada a partir de 700 °C.

Assim, tornou-se necessário a adição de modificador e uma mistura de 5,0 µg de Pd e 3,0 µg de Mg, ambos na forma de nitratos, em 0,05% de Triton X-100, foi considerada ótima para estabilizar o manganês em solução aquosa até uma temperatura de pirólise de 1400 °C para 2,0 ng de manganês padrão aquoso. Na Figura 1 está mostrada, também, a curva de pirólise para manganês em padrão aquoso com e sem emprego de modificador. Vale ainda ressaltar que não houve necessidade do uso de modificador para as amostras sólidas, o que simplificou bastante o procedimento.

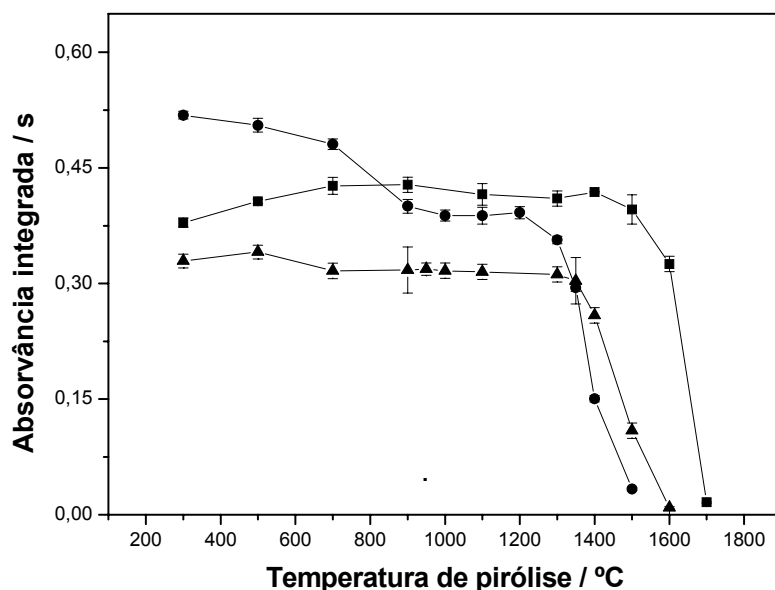
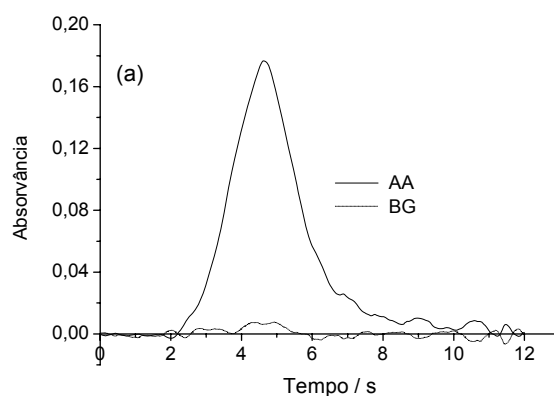


Figura 1. Curvas de pirólise para manganês com e sem modificador; $T_a = 1900\text{ }^{\circ}\text{C}$; -■- 2,0 ng padrão aquoso de manganês sem modificador; -●- 2,0 ng padrão aquoso de manganês com 5,0 µg Pd e 3,0 µg Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador; -▲- café Brasil. Absorvância integrada normalizada para 0,100 mg de amostra.

Os testes realizados com temperatura de atomização revelaram uma temperatura ótima em 1900 °C, a qual é concordante com os dados da literatura para atomização com aquecimento transversal²⁰. Embora a estabilização do analito fosse alcançada até uma temperatura de pirólise em torno de 1200 °C durante todo o trabalho, visando aumentar a vida útil do tubo de grafite, usou-se a temperatura de pirólise de 900 °C.

Na Figura 2 estão dispostos alguns perfis de absorvância para manganês, todos com fluxo mínimo de argônio de 0,1 L min⁻¹ durante a etapa de atomização de 1900 °C, obtidos da seguinte maneira: na Figura 2a, corresponde ao perfil de absorvância para 2,0 ng de padrão aquoso de manganês, empregando 5,0 µg de Pd e 3,0 µg de Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador químico na temperatura de pirólise de 900 °C; a Figura 2b refere-se a 0,091 mg de amostra de café Brasil na temperatura de pirólise de 400 °C sem emprego de modificador químico, onde se observa a formação de um pequeno pico entre 0,0 e 1,0 segundo de integração; e na Figura 2c, encontra-se o perfil de absorvância para 0,166 mg de amostra de café Brasil, sem emprego de modificador químico, na temperatura de 900 °C. Neste último perfil não se observa mais a formação do pequeno pico visto na Figura 2b, sendo este um dos fatores que ajudaram na escolha desta temperatura como ideal para a definição do programa de aquecimento.



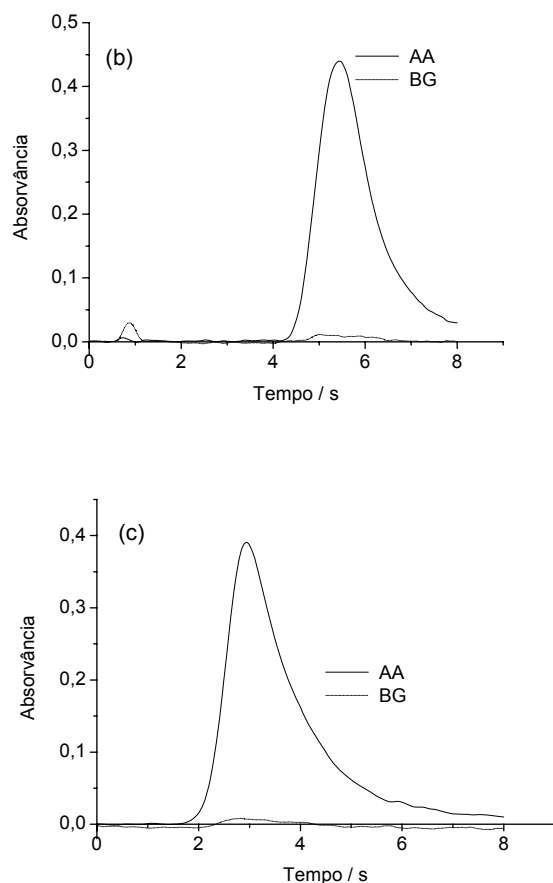


Figura 2. Perfil de absorvância para manganês com fluxo mínimo de gás de purga na atomização de $0,1 \text{ L min}^{-1}$ e $T_a = 1900 \text{ }^\circ\text{C}$: **(a)** 2,0 ng de padrão aquoso com emprego de modificador de 5,0 μg de Pd e 3,0 μg de Mg em 0,05% de Triton X-100 e $T_p = 900 \text{ }^\circ\text{C}$; **(b)** Amostra café Brasil, $T_p = 400^\circ\text{C}$; **(c)** Amostra café Brasil, $T_p = 900^\circ\text{C}$.

4.1.2. Curvas analíticas para manganês

Para a determinação de manganês presente em grãos de café verde de diversas procedências foram obtidas duas curvas analíticas: uma com padrão aquoso em diferentes concentrações e uma segunda utilizando materiais certificados de diferentes concentrações de manganês.

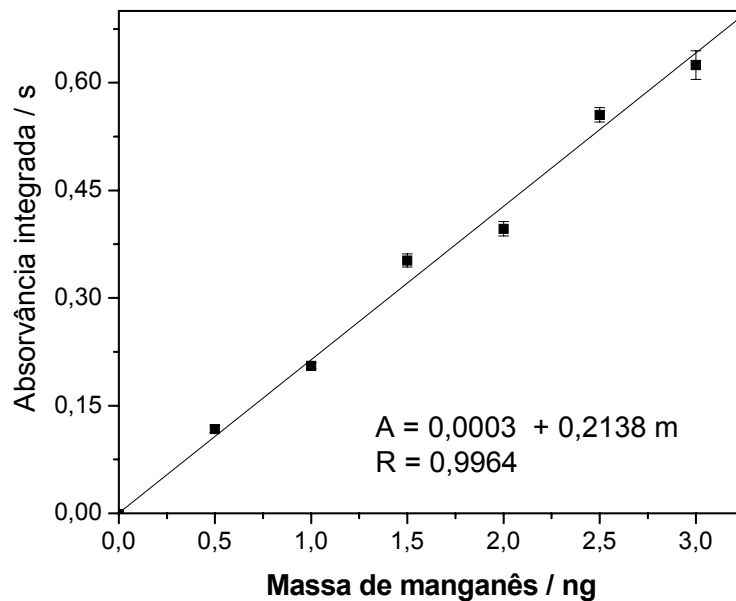


Figura 3. Curva de calibração para padrão aquoso de manganês com 5,0 µg de Pd e 3,0 µg de Mg em 0,05% de Triton X-100 e fluxo de gás 0,1 L min⁻¹ durante a atomização. T_p = 900 °C e T_a = 1900 °C.

A curva de calibração construída a partir de padrões aquosos variando a massa de manganês entre 0,0 e 3,0 ng, mostrada na Figura 3, foi obtida a partir das medidas, em triplicatas, das absorvâncias integradas para diferentes massas de manganês presentes em soluções padrão aquosas com adição de modificador (5,0 µg de Pd e 3,0 µg de Mg em 0,05% de Triton X-100) e conforme programa de temperatura previamente definido (Tabela IV).

Em seguida foram feitas determinações de manganês em diferentes materiais certificados. Usando o programa de aquecimento previamente otimizado, foram medidas as absorvâncias integradas, usando-se cerca de 0,080 mg dos CRMs sem uso de modificador. Para todos os CRM foram feitas, no mínimo, 5 medidas e a partir da equação de regressão linear “ $A = 0,0003 + 0,2138 m$ ”, onde **A** é absorvância integrada (s⁻¹) e **m** a massa (ng) de manganês presente pode-se determinar a quantidade de manganês. Os valores certificados e os obtidos para os CRMs estão na Tabela VI, sendo concordantes entre si aplicando teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95%.

Tabela VI. Concentração de manganês nos materiais de referência certificados usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso. $T_p = 900\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1900\text{ }^\circ\text{C}$.

Material certificado	Valor certificado ng mg^{-1}	Valor obtido ng mg^{-1}
NIST SRM 8433	$2,55 \pm 0,29$	$2,28 \pm 0,2$
NIST SRM 1567 a	$9,4 \pm 0,9$	$14,0 \pm 1,2$
NIST SRM 1568 a	$20,0 \pm 1,6$	$19,3 \pm 1,8$
NIES CRM 10 a	$34,7 \pm 1,8$	$30,3 \pm 1,2$
NIST SRM 1515	54 ± 3	58 ± 2

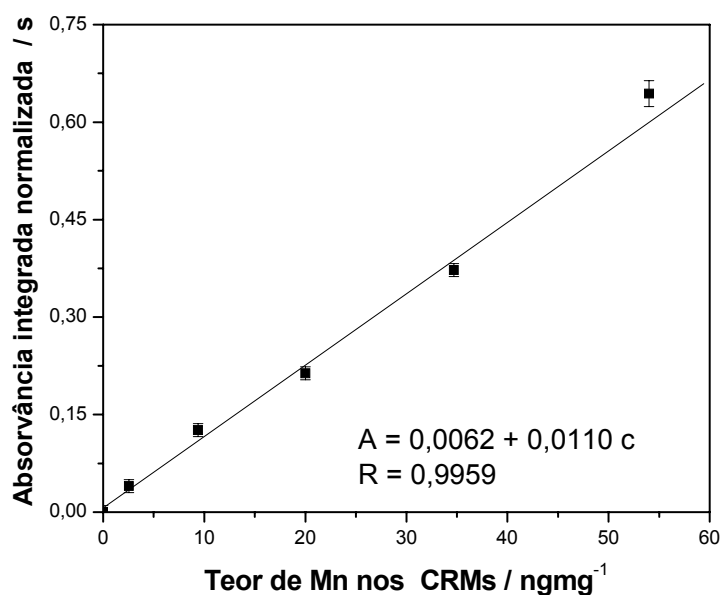


Figura 4. Curva de correlação para manganês com os materiais de referência certificados com fluxo de gás de $0,1\text{ L min}^{-1}$ durante a atomização. Absorvância integrada normalizada em $0,100\text{ mg}$. $T_p = 900\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1900\text{ }^\circ\text{C}$.

A curva de correlação é uma curva analítica obtida através da utilização de materiais de referência certificados com diferentes quantidades do analito de interesse. Para a determinação de manganês em amostras de café foram utilizados os seguintes materiais: Corn Bran NIST SRM 8433, Wheat Flour NIST SRM 1567a,

Rice Flour NIST SRM 1568a, Rice Flour NIES CRM 10a e Apple Leaves NIST SRM 1515. Para a construção da curva de correlação o mesmo programa de temperatura foi usado empregando-se em média 0,080 mg dos CRMs, na faixa de concentrações de manganês entre 0,0 e 54,0 ng mg⁻¹, sem adição de modificador e os valores de absorvâncias normalizadas para 0,100 mg de massa de CRM. A curva resultante é mostrada na Figura 4.

A inclinação desta curva foi usada para calcular o teor de manganês nas amostras de referência de café ⁶⁴, e os valores citados foram comparados com os resultados obtidos usando-se a calibração *versus* padrão aquoso. Usando-se o teste *t-student* pareado não foi observada diferença significativa entre os dois conjuntos de dados a um nível de confiança de 95%. Portanto somente os valores obtidos usando a calibração *versus* padrão aquoso serão apresentados.

4.2. COBRE

4.2.1. Otimização dos parâmetros instrumentais

Para a escolha das melhores condições foram consideradas a forma do pico de absorção atômica e a separação do mesmo do sinal de fundo (BG). Durante todo o trabalho foi utilizada a linha de 324,8 nm que é a mais sensível. O fluxo de gás utilizado foi o máximo, de 2,0 L min⁻¹, durante as etapas de secagem, pirólise e limpeza.

Foram realizadas curvas de pirólise para o padrão aquoso de cobre e para amostra de café verde, respectivamente, como é mostrado na Figura 5. Para construir a curva empregando amostra de café verde Brasil, com as absorvâncias integradas normalizadas para massa de 0,1 mg de amostra, a temperatura foi variada de 300 °C até 1500 °C numa temperatura de atomização de 2100 °C.

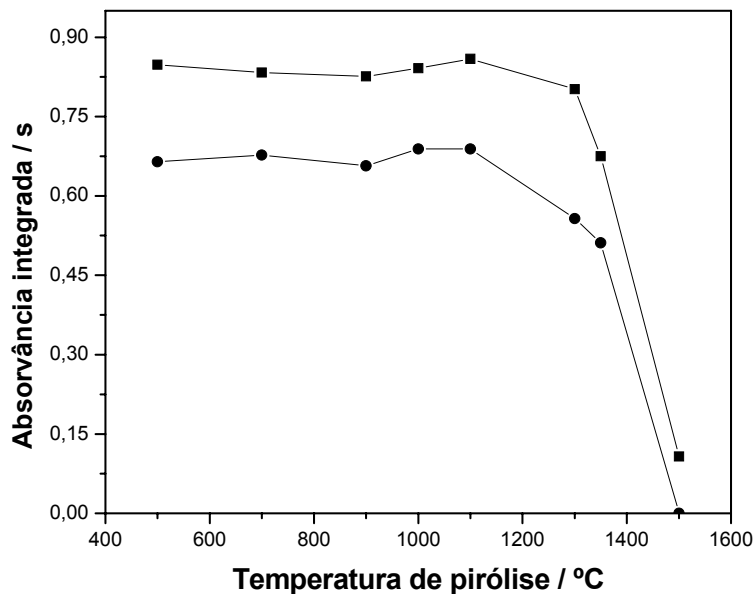


Figura 5. Curvas de pirólise para cobre: - , - 1,0 ng padrão aquoso; -! - café Brasil massa normalizada em 0,100 mg. Ta = 2100 °C.

Observa-se na Figura 5 que o sinal analítico para o cobre presente, tanto na solução padrão como na massa normalizada para 0,100 mg, se mantém constante entre 300 °C até 1100 °C. A partir deste valor de temperatura começa ocorrer um decréscimo no sinal analítico até a temperatura de 1500 °C. Nas duas situações o comportamento térmico do cobre é basicamente igual.

Os testes realizados para definir a temperatura de atomização revelaram uma temperatura ótima em 2100 °C, a qual é concordante com os dados da literatura para atomização com aquecimento transversal²⁰.

Na Figura 6 estão apresentados os perfis de absorvância para cobre presente em amostra de café Brasil na temperatura de 2100 °C em diferentes temperaturas de pirólise, onde se observa que o aumento da temperatura de pirólise auxilia na resolução do sinal transiente de absorvância para este elemento. Assim, para a etapa de pirólise foi selecionada a temperatura de 1100 °C e temperatura de atomização 2100 °C.

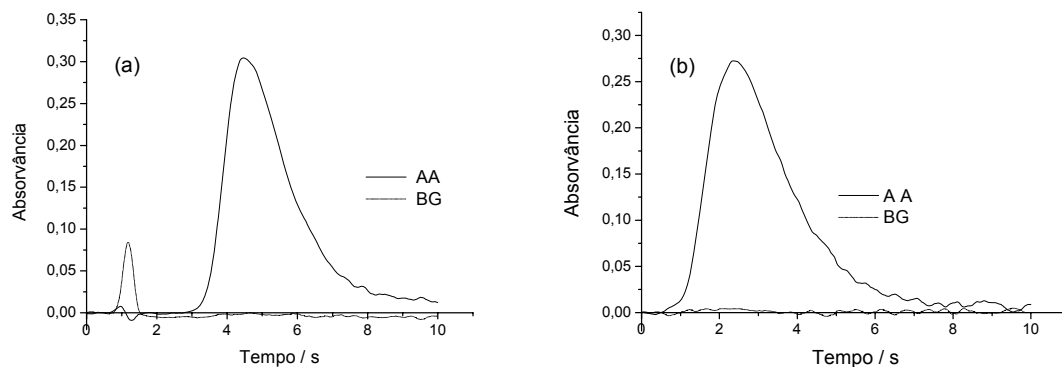


Figura 6. Perfil de absorvância para cobre em amostra de café Brasil: (a) $m = 0,052$ mg, $A = 0,7065 \text{ s}^{-1}$ e $T_p = 400 \text{ }^\circ\text{C}$; (b) $m = 0,050$ mg, $A = 0,7140 \text{ s}^{-1}$ e $T_p = 1100 \text{ }^\circ\text{C}$; ambos em $T_a = 2100 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.2.2. Curvas analíticas para cobre

Para a determinação de cobre presente em grãos de café verde de diversas procedências foram obtidas duas curvas analíticas: uma com padrão aquoso em diferentes concentrações e uma segunda utilizando materiais certificados de diferentes concentrações de cobre.

A partir de um grupo de soluções padrão aquoso de cobre variando a massa de cobre entre 0,00 e 0,88 ng, foi elaborada uma curva de calibração nas condições do programa de aquecimento para cobre (Tabela IV). Utilizando-se a equação linear da reta obtida, " $A = 0,0050 + 1,089 m$ ", foi feita a determinação de cobre nos CRMs botânicos e nas amostras de café de referência⁶⁰. Os resultados foram sempre inferiores aos certificados e reportados por Krivan⁶⁰, os mesmos submetidos ao teste *t-student* pareado o qual indicou que estes eram significativamente muito diferentes dos valores esperados, um indicativo da existência de alguma interferência. Mais, este efeito de matriz afeta não somente as amostras de café mas também todos os CRMs usados. A fonte dessas interferências não pode ser identificada e nem eliminada neste trabalho. Deste modo resolveu-se desenvolver uma curva de correlação com materiais de referência certificados.

Os CRMs utilizados para a curva de correlação forma: NIST SRM 1567; NIST SRM 8433; NIES CRM 10a, NIST SRM 1515e NIST SRM 1572. Outro material, Soja IAEA 361, farinha de soja cujo valor, de referência, é $12,9 \pm 1,5 \text{ ng mg}^{-1}$, também foi

usado. As massas empregadas dos materiais foram em média 0,080 mg sendo as absorvâncias normalizadas para massa de 0,1 mg e determinadas com o programa de aquecimento estabelecido para cobre (Tabela IV). A curva de correlação empregando CRMs com concentrações de cobre variando entre 2,1 ng mg⁻¹ e 16,5 ng mg⁻¹ foi assim obtida e está representada na Figura 7.

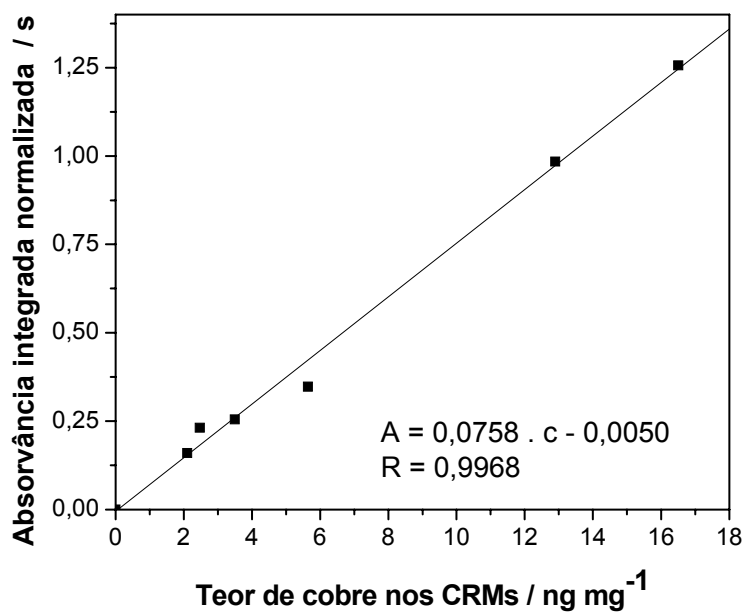


Figura 7. Curva de correlação com materiais de referência certificados com absorvância integrada normalizada para 0,100 mg: T_p = 1100 °C e T_a = 2100 °C.

4.3. COBALTO

4.3.1. Otimização dos parâmetros instrumentais

Mais uma vez, na otimização das condições experimentais foram consideradas a forma do pico e a separação do sinal de fundo (BG). Durante todo o trabalho foi utilizada a linha de 240,7 nm que é a mais sensível. O fluxo de gás utilizado foi o máximo de 2,0 L min⁻¹ durante as etapas de secagem, pirólise e limpeza.

Foram realizadas curvas de pirólise para o padrão aquoso de cobalto e para amostra de café verde, respectivamente, como é mostrado na Figura 8. Para construir a curva empregando amostra de café verde Brasil, com as absorvâncias

integradas normalizadas para massa de 1,000 mg de amostra, a temperatura foi variada de 900 °C até 1800 °C numa temperatura de atomização de 2400 °C. Observa-se na Figura 8 que o sinal analítico para o cobalto presente tanto na solução padrão como na massa normalizada para 1,000 mg se mantém constante entre 900 °C até 1400 °C, a partir deste valor de temperatura começa ocorrer um decréscimo no sinal analítico até a temperatura de 1800 °C. Nas duas situações o comportamento térmico do cobalto é basicamente igual.

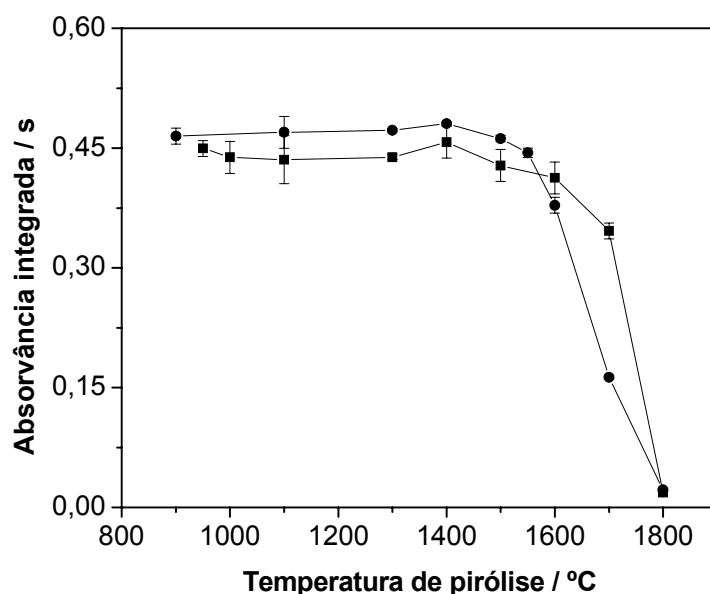


Figura 8. Curvas de pirólise para cobalto: -,- 0,5 ng de padrão aquoso; -!- amostra de café Brasil com massa normalizada em 1,000 mg; Ta = 2400 °C.

Os testes realizados com temperatura de atomização revelaram uma ótima temperatura em 2400 °C, a qual é concordante com os dados da literatura para atomização com aquecimento transversal²⁰, a uma temperatura de atomização de 2400 °C.

Na Figura 9 estão dispostos alguns perfis de absorvância para cobalto a uma temperatura de atomização de 2400 °C. A Figura 9a, corresponde ao perfil de absorvância para 0,5 ng de padrão aquoso de cobalto na temperatura de pirólise de 1400 °C; a Figura 9b refere-se a 0,387 mg de amostra de café Brasil na temperatura de pirólise de 900 °C, onde se vê a formação de elevado sinal de fundo (BG); e na Figura 9c, encontra-se o perfil de absorvância para 0,397 mg de amostra de café Brasil na temperatura de 1400 °C. Neste último perfil não se observa mais a

formação de elevado sinal de fundo (BG) visto na Figura 9b, fator importante na definição da temperatura de pirólise em 1400 °C.

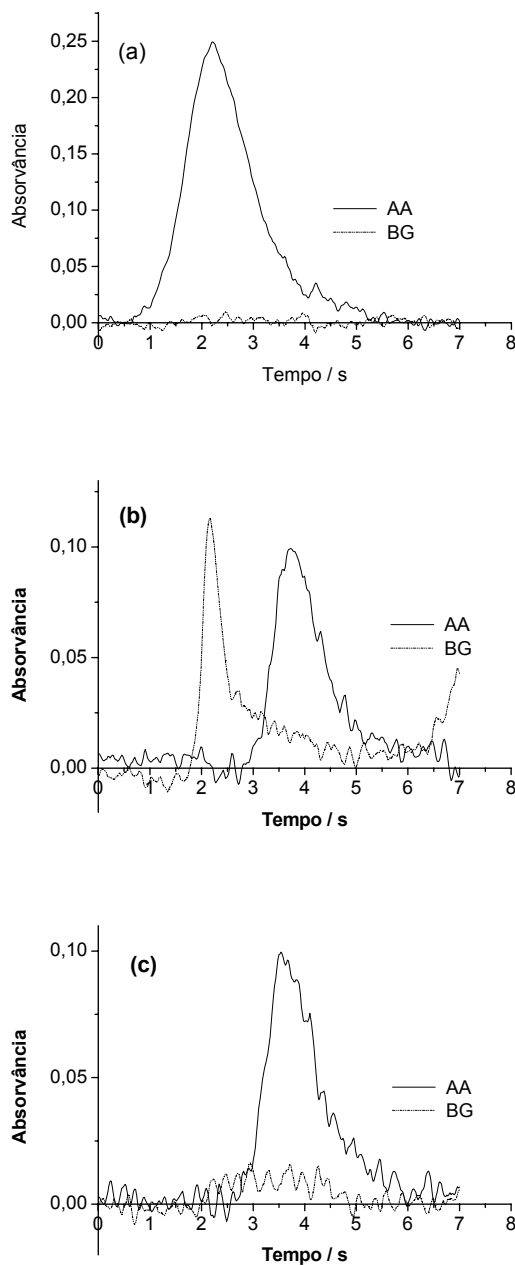


Figura 9. Perfil de absorvância para cobalto em $T_a = 2400\text{ °C}$: **(a)** 0,5 ng de padrão aquoso $T_p = 1400\text{ °C}$; **(b)** Amostra café Brasil, $T_p = 900\text{ °C}$; **(c)** Amostra café Brasil, $T_p = 1400\text{ °C}$.

4.3.2. Curva analítica para cobalto

Para a determinação de cobalto presente em grãos de café verde de diversas procedências foi obtida uma curva analítica: uma com padrão aquoso em diferentes concentrações de cobalto.

A curva de calibração construída a partir de soluções padrão aquoso variando a massa de cobalto entre 0,0 e 1,0 ng, mostrada na Figura 10, foi obtida a partir das medidas, em triplicatas, das absorvâncias integradas para diferentes massas de cobalto presentes em soluções padrão aquosas, sem a necessidade de adição de modificador o que facilitou as determinações analíticas, e conforme programa de temperatura previamente definido (Tabela IV).

Em seguida foram feitas determinações de cobalto em diferentes materiais certificados. Usando o programa de aquecimento previamente otimizado, foram medidas as absorvâncias integradas, usando-se cerca de 0,300 mg dos CRMs sem uso de modificador.

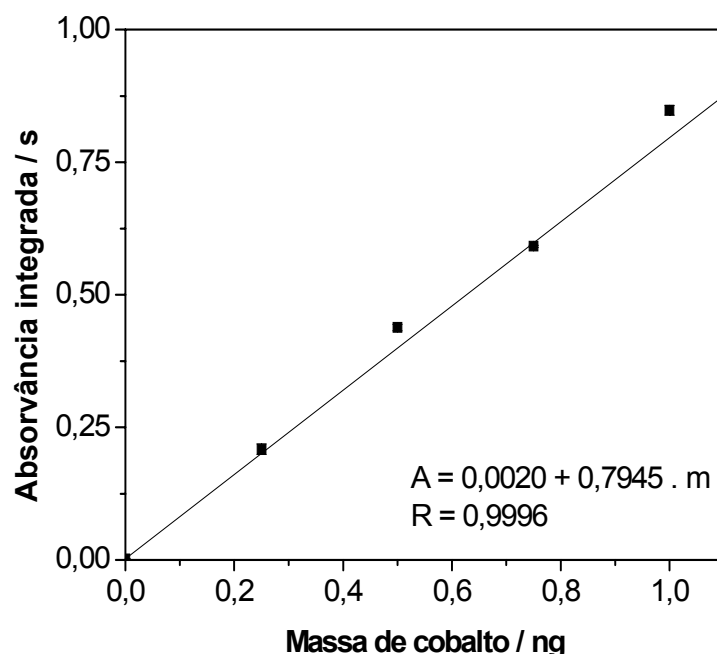


Figura 10. Curva de calibração para padrão aquoso de cobalto: $T_p = 1400 \text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 2400 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para todos os CRMs foram feitas, no mínimo, 5 medidas e a partir da equação de regressão linear " $A = 0,0020 + 0,7945 m$ ", onde **A** é absorvância

integrada (s^{-1}) e m a massa (ng) de cobalto presente foi determinada a quantidade de cobalto. Os valores certificados e os obtidos para os CRMs estão na Tabela VII, sendo concordantes entre si aplicando teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95%.

Tabela VII. Concentração de cobalto em materiais de referência usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso. $T_p = 1400\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 2400\text{ }^\circ\text{C}$.

Material certificado	Valor referência $\mu\text{g g}^{-1}$ (*)	Valor obtido $\mu\text{g g}^{-1}$
NIST SRM 1568 a	0,018	$0,011 \pm 0,002$
NIST SRM 1572	0,09	$0,071 \pm 0,002$

(*) valores não certificados

4.4. CÁDMIO

4.4.1. Otimização dos parâmetros instrumentais

Para a escolha das melhores condições foram levados em conta a forma do pico de absorção atômica, a separação do mesmo do sinal de fundo (BG) e o emprego de modificador já que o cádmio é um elemento termicamente instável. Durante todo o trabalho foi utilizada a linha de 228,8 nm que é a mais sensível. O fluxo de gás utilizado foi o máximo de $2,0\text{ L min}^{-1}$ durante as etapas de secagem, pirólise e limpeza.

Foram realizadas curvas de pirólise para o padrão aquoso de cádmio e para amostra de café verde, respectivamente, com e sem a presença de modificador, conforme mostrado na Figura 11. Para construir a curva empregando amostra de café verde Brasil, com as absorvâncias integradas normalizadas para massa de 2,000 mg de amostra, a temperatura foi variada de $600\text{ }^\circ\text{C}$ até $1100\text{ }^\circ\text{C}$ numa temperatura de atomização de $1600\text{ }^\circ\text{C}$, abaixo de $600\text{ }^\circ\text{C}$ o sinal analítico não podia ser resolvido. Na Figura 11 fica bem clara a importância da presença do modificador, já que, em ambas. solução padrão e amostra de café, o cádmio não

tem estabilidade térmica. Na presença de modificador o cádmio em solução aquosa torna-se estável até uma temperatura de pirólise de 800 °C, a partir de então começa a ser perdido. O mesmo comportamento foi observado na amostra de café, assim foi definida como 800 °C a temperatura otimizada de pirólise.

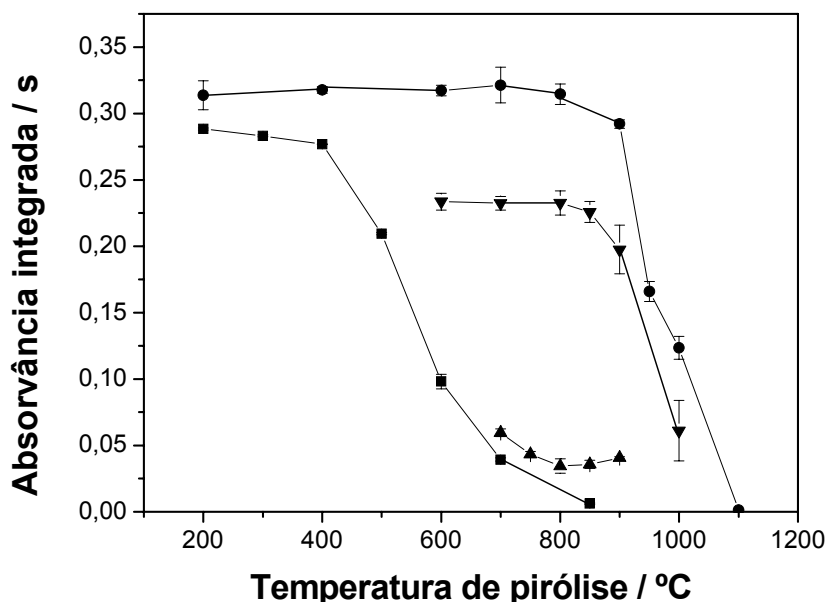


Figura 11. Curvas de pirólise para cádmio: -! - 0,06 ng Cd sem modificador; -,- 0,06 ng Cd com modificador; -7- café Brasil sem modificador; -B- café Brasil com modificador; Ta = 1600 °C. Modificador: 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100; valores de absorvância normalizados para 2,000 mg de amostra.

Os testes realizados com temperatura de atomização revelaram uma ótima temperatura em 1600 °C, a qual é concordante com os dados da literatura para atomização com aquecimento transversal ²⁰.

Na Figura 12 estão dispostos alguns perfis de absorvância para cádmio, todas as medidas foram realizadas na temperatura de atomização de 1600 °C. A Figura 12a, corresponde ao perfil de absorvância para 0,01 ng de padrão aquoso de cádmio com 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100 na temperatura de pirólise de 800 °C, condições usadas na confecção da curva de calibração. A Figura 12b refere-se a 1,990 mg de amostra de café Brasil com 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% Triton X-100 de na temperatura de pirólise de 400 °C, onde se observa a formação de um sinal analítico juntamente com o fundo entre 0 e 2 s. Na Figura 12c, encontra-se o perfil de absorvância para 0,397 mg de amostra de café Brasil com

10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% de Triton X-100 na temperatura de 800 $^{\circ}\text{C}$. Neste último perfil, bem resolvido, não se observa mais a formação do sinal visto na Figura 12b.

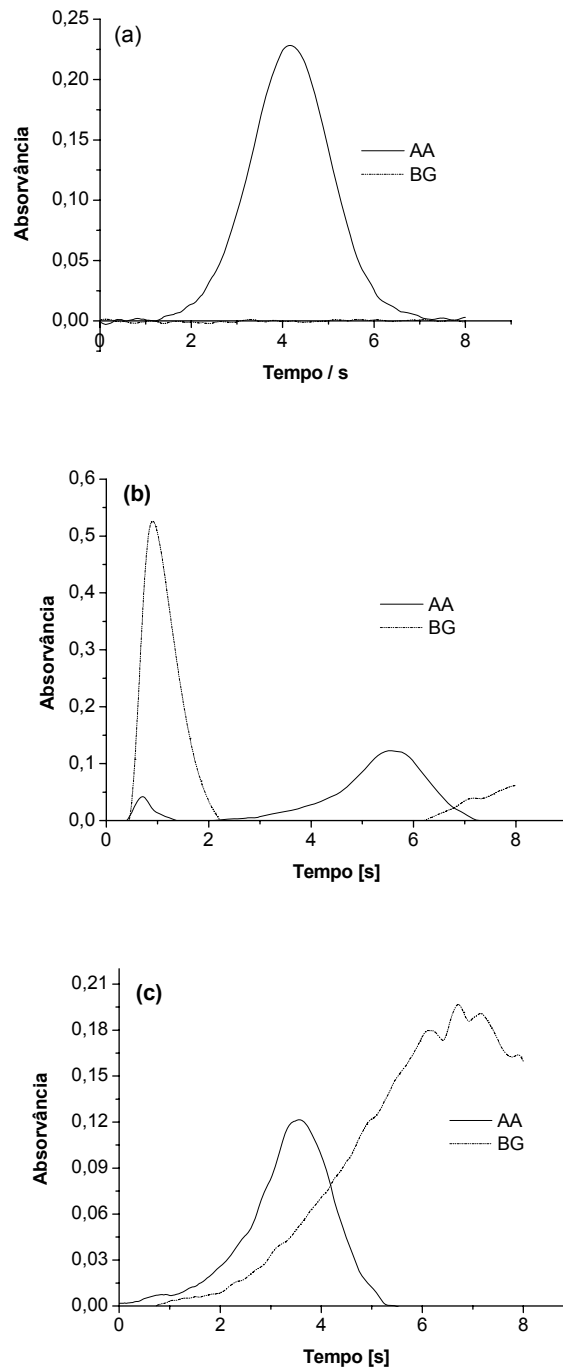


Figura 12. Perfil de absorvância para cádmio com 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% de Triton X-100 em $T_a = 1600$ $^{\circ}\text{C}$: **(a)** 0,1 ng de cádmio em padrão aquoso com absorvância de 0,4974 em T_p ; **(b)** 1,990 mg de amostra de café Brasil absorvância

de 0,2496 (normalizada para 2,0 mg) em $T_p = 600\text{ }^\circ\text{C}$; **(c)** 2,050 mg de amostra de café Brasil absorvância de 0,2050 (normalizada para 2,0 mg) em $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$.

4.4.2. Estudo da quantidade de modificador e da massa de amostra

Foi realizado um estudo de otimização da quantidade de modificador necessária para estabilizar termicamente o cádmio, tanto no padrão aquoso como na amostra de café. A quantidade de modificador estudada variou de 2,5 μg Pd e 0,75 μg Mg até 40 μg Pd e 12 μg Mg em 0,05% Triton X-100. O uso de Triton X-100 foi necessário para facilitar o espalhamento do modificador sobre a amostra na plataforma.

O resultado deste estudo está representado na Figura 13, indicando que a quantidade de 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% Triton X-100 é suficiente para a estabilização térmica do cádmio.

Em seguida foi investigada a influência da massa de amostra no sinal analítico para o cádmio. Para isto foi variada a quantidade de amostra de café de 0,500 mg até 5,000 mg, utilizando 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% Triton X-100 como modificador químico os resultados podem ser vistos na Figura 14, na qual se observa que o sinal de absorvância é proporcionalmente linear à massa de amostra até cerca de 5,000 mg. Assim, durante todo o trabalho foi usada uma massa média de cerca de 2,000 mg de modo a alocar a quantidade na região central da reta.

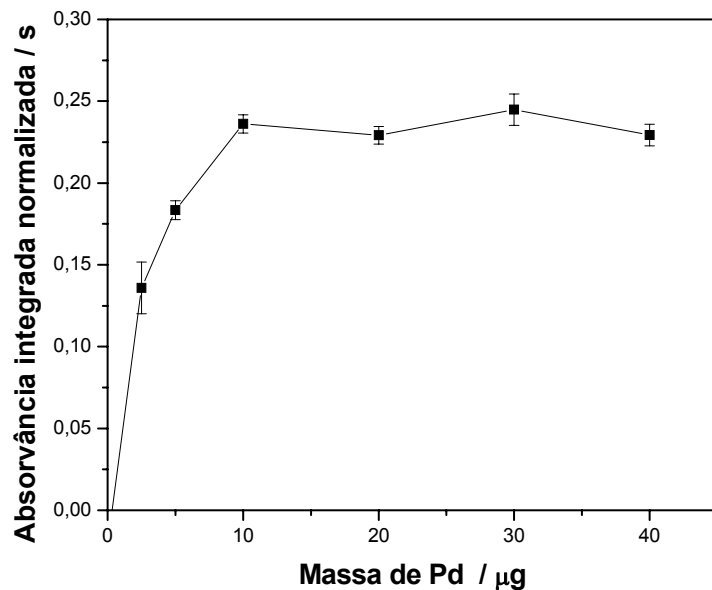


Figura 13. Otimização da massa de modificador químico, para a determinação de cádmio em amostra de café. $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1600\text{ }^\circ\text{C}$. Modificador: Pd e Mg em 0,05% de Triton X-100 (massa de Mg igual a 30% massa de Pd). Valores de absorvância integrada normalizados para 2,000 mg de amostra de café.

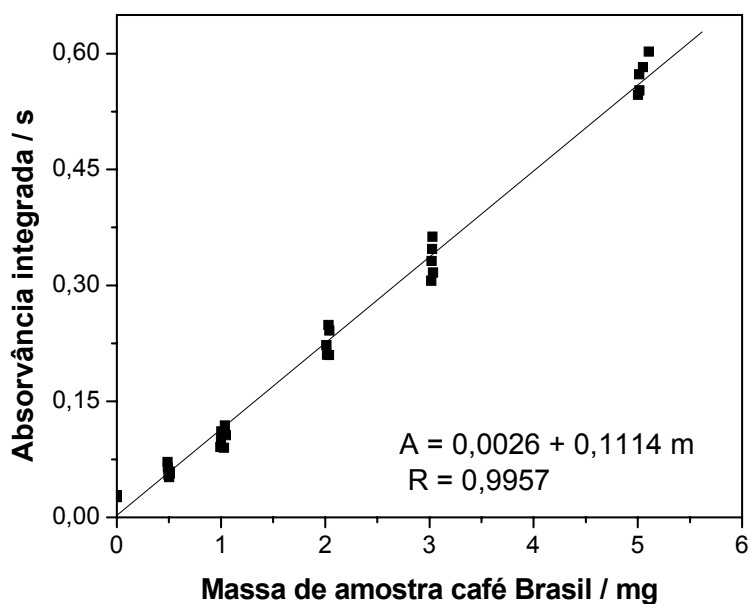


Figura 14. Estudo da massa de amostra de café Brasil usando 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% de Triton X-100. $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1600\text{ }^\circ\text{C}$.

4.4.3. Curva analítica para cádmio

Para a determinação de cádmio presente em grãos de café verde de diversas procedências foi obtida uma curva analítica com padrão aquoso em diferentes concentrações de cádmio.

A curva de calibração construída a partir de soluções padrões aquosos variando a massa de cádmio entre 0,005 e 0,1 ng, mostrada na Figura 15, foi obtida a partir das medidas, em triplicatas, das absorvâncias integradas para diferentes massas de cádmio presentes em soluções padrão aquosas, com a adição de 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador químico, e conforme programa de temperatura previamente definido (Tabela IV). A equação de regressão linear foi " $A = 0,0260 + 5,037 m$ ", onde **A** é absorvância integrada (s^{-1}) e **m** a massa (ng) de cádmio presente e o coeficiente de correlação 0,9994.

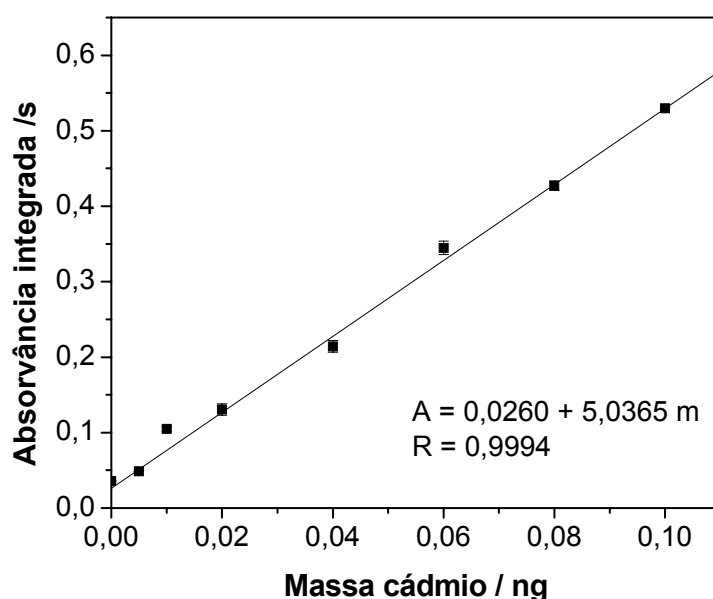


Figura 15. Curva de calibração para padrão aquoso de cádmio com 10 μg Pd e 3 μg Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador químico. $T_p = 800$ °C e $T_a = 1600$ °C.

Em seguida foram feitas determinações de cádmio em diferentes materiais certificados. Usando o programa de aquecimento previamente otimizado, foram medidas as absorvâncias integradas, usando-se cerca de 2,000 mg dos CRMs com

a adição de 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100 como modificador químico. Para todos os CRMs foram feitas, no mínimo, 5 medidas. Os valores certificados e os obtidos para os CRMs estão na Tabela VIII, sendo concordantes entre si aplicando teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95%.

Tabela VIII. Concentração de cádmio em CRMs usando a técnica de SS-GF AAS com padrão aquoso. $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1600\text{ }^\circ\text{C}$.

Material certificado	Valor certificado / $\mu\text{g g}^{-1}$	Valor obtido / $\mu\text{g g}^{-1}$	RSD %
BCR 191	0,0284 ± 0,002	0,035 ± 0,002	6,6
NIST 1567	0,026 ± 0,002	0,031 ± 0,001	3,2
NIES 10 a	0,023 ± 0,003	0,034 ± 0,001	3,9
NIST 1515	0,013 ± 0,002	0,021 ± 0,001	4,6

4.5. APLICAÇÃO NAS AMOSTRAS DE CAFÉ

Após a otimização das condições instrumentais, estabelecimento das curvas de calibração / correlação e das figuras de mérito para os quatro analitos, foram realizadas as análises nas amostras de café referência⁶⁰ e nas amostras de café verde de diferentes procedências no Brasil.

Na Tabela IX estão apresentados os resultados para manganês para as amostras de referência e as amostras de origem brasileira. Na mesma tabela, para as amostras de referência, são mostrados os dados obtidos usando-se a calibração *versus* padrão aquoso a partir da equação de regressão linear “ $A = 0,0003 + 0,2138 m$ ” e a curva de correlação com CRMs botânicos “ $A = 0,0062 + 0,0110 c$ ” (item 4.1.2).

Como já comentado na secção 4.1.2 os valores encontrados para o manganês, em materiais de referência certificados foram concordantes, quando da aplicação das duas técnicas analíticas; curva de calibração com padrão aquoso e curva de correlação com CRMs botânicos. A mesma concordância foi observada quando são comparados os valores obtidos para as amostras de referência⁶⁴. A concordância foi confirmada pela análise estatística, teste *t-student* pareado, com

nível de confiança de 95%. Assim, foi definida a aplicação da técnica de calibração *versus* padrão aquoso para determinação das amostras de café verde brasileiras, cujos valores obtidos estão também dispostos na Tabela IX.

Tabela IX. Teor de manganês em amostras de café verde usando as técnicas de calibração com padrão aquoso e de correlação.
 Tp = 900 °C e Ta = 1900 °C

Origem do Café	Valor de referência $\mu\text{g g}^{-1}$	Valor obtido $\mu\text{g g}^{-1}$	
		Versus padrão aquoso	Versus correlação
Costa Rica*	33,3 ± 6,5	32,4 ± 1,4	28,6 ± 1,3
Colômbia*	46,5	49,4 ± 1,3	46,5 ± 1,3
Cuba*	42,4 ± 3,0	39,6 ± 3,0	39,9 ± 3,1
Panamá*	19,4 ± 1,1	22,1 ± 1,8	21,7 ± 1,9
México*	57,7 ± 4,0	53,8 ± 6,0	52,8 ± 6,0
Nicarágua*	18,0 ± 1,0	19,8 ± 0,5	19,4 ± 0,6
Brasil		36,2 ± 6,8	
Apucarana (PR)**		34,0 ± 0,8	
Cerrado Mineiro (MG)**		18,3 ± 0,3	
Planalto Cerrado (BA)**		15,8 ± 0,5	
Mogiana (SP)**		31,8 ± 2,2	
Robusta (ES)**		19,1 ± 0,7	
Sul de Minas (MG)**		28,1 ± 0,9	

* Amostras de café verde da espécie *arábica* fornecidas por Krivan⁶⁴;

** Amostras de café verde adquiridas no Café Mercado sendo da espécie *arábica* exceto o café Robusta da espécie *robusta*.

Os valores encontrados para cobre estão na Tabela X a partir da aplicação da equação de regressão linear “ $A = 0,0758.c - 0,0050$ ”, determinada usando CRMs botânicos (item 4.2.2). Os valores foram submetidos a análise estatística aplicando-se o teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95% para as amostras de café de referência ⁶⁰, sendo concordantes entre si.

Tabela X. Concentração de cobre nas amostras de café usando a curva de correlação com CRMs botânicos. $T_p = 1100\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 2100\text{ }^\circ\text{C}$.

Origem do Café	Referência ng mg⁻¹	Obtido ng mg⁻¹
Costa Rica	15,3 ± 1,1	14,5 ± 0,8
Colômbia	13,7 ± 1,0	13,3 ± 0,9
Cuba	14,0 ± 0,8	15,5 ± 1,7
Panamá	15,0 ± 0,5	12,7 ± 0,8
México	12,1 ± 0,9	11,8 ± 1,2
Nicarágua	19,8 ± 0,4	17,2 ± 1,5
Brasil	n.d.	13,8 ± 1,1
Apucarana (PR)	n.d.	17,2 ± 1,1
Cerrado Mineiro (MG)	n.d.	14,6 ± 0,1
Planalto Cerrado (BA)	n.d.	10,9 ± 0,2
Mogiana (SP)	n.d.	11,4 ± 0,8
Sul de Minas (MG)	n.d.	13,6 ± 0,6
Robusta (ES)	n.d.	16,0 ± 0,8

n.d. não determinado pelo autor ⁶⁴

Na Tabela XI são mostrados os valores para cobalto nas amostras de café de referência e as brasileiras, baseando-se na calibração *versus* padrão aquoso a partir da equação de regressão linear “ $A = 0,0020 + 0,7945 m$ ” (item 4.3.2). Na referida tabela verifica-se que os valores são concordantes como os valores fornecidos pela

literatura de referência ⁶⁴. Foi, também, realizada a análise estatística, teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95% os dados não são significativamente diferentes entre si.

Tabela XI. Concentração de cobalto nas amostras de grãos de café verde usando calibração *versus* padrão aquoso. $T_p = 1400\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 2400\text{ }^\circ\text{C}$

Origem do Café	Referência ng mg⁻¹	Valor obtido ng mg⁻¹
Costa Rica	0,15 ± 0,02	0,19 ± 0,01
Colômbia	0,13 ± 0,002	0,18 ± 0,01
Cuba	0,095 ± 0,02	0,082 ± 0,001
Panamá	0,064 ± 0,008	0,066 ± 0,001
México	0,18 ± 0,02	0,13 ± 0,01
Nicarágua	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,002
Brasil	n.d.	0,62 ± 0,02
Apucarana (PR)	n.d.	0,23 ± 0,001
Cerrado Mineiro (MG)	n.d.	0,020 ± 0,002
Planalto Cerrado (BA)	n.d.	0,019 ± 0,001
Mogiana (SP)	n.d.	0,24 ± 0,003
Sul de Minas (MG)	n.d.	0,51 ± 0,02
Robusta (ES)	n.d.	0,36 ± 0,01

n.d. não determinado pelo autor ⁶⁴.

Usando a calibração *versus* padrão aquoso a partir da equação de regressão linear “ $A = 0,0260 + 5,0365 m$ ” (item 4.4.3.), foram feitas medidas para a determinação de cádmio nas amostras de café verde, e os resultados estão na Tabela XII.

Como não foram realizadas determinação de cádmio nas amostras de referência ⁶⁴, não foi possível fazer a comparação estatística dos resultados.

Tabela XII. Concentração de cádmio nas amostras de café usando calibração *versus* padrão aquoso. $T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1600\text{ }^\circ\text{C}$

Origem do Café	Valor obtido ng g⁻¹
Costa Rica	10 ± 0,5
Colômbia	15 ± 0,7
Cuba	59 ± 1,2
Panamá	5,4 ± 0,2
México	14 ± 0,9
Nicarágua	4,4 ± 0,4
Brasil	20 ± 1,0
Apucarana (PR)	4,0 ± 0,2
Cerrado Mineiro (MG)	3,8 ± 0,3
Planalto Cerrado (BA)	1,2 ^a
Mogiana (SP)	5,0 ± 0,1
Sul de Minas (MG)	8,4 ± 0,6
Robusta (ES)	< LOD ^b

(a) RSD não apresentado, valor menor que LOQ = 3,4 ng g⁻¹

(b) LOD = 1,0 ng g⁻¹

4.6. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS ANALÍTICOS: SS-GF AAS *versus* ICP OES

Com a colaboração da Profa. Dra. Maria das Graça A. Korn, do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, UFBA, sete amostras de café verde de diferentes regiões do Brasil foram analisadas por ICP OES, após digestão ácida assistida por microondas em frascos fechados e, os resultados comparados com os obtidos com análise direta de sólidos por GF AAS.

No caso de ICP OES, a calibração foi obtida a partir de curvas analíticas estabelecidas com padrões aquosos e os resultados foram corrigidos para a interferência do ácido nítrico⁶⁶.

Na determinação por SS GF AAS a calibração para manganês, cobalto e cobre foi feita através de curvas analíticas estabelecidas com padrões aquosos, somente para o cobre foi utilizada calibração usando curva de correlação estabelecida com CRMs botânicos, conforme foi descrito na secção 4.2.2.

Os resultados da comparação estão mostrados na Tabela XIII. De acordo com teste *t-student* pareado não há significativa diferença entre as duas técnicas para manganês e cobre. Entretanto os resultados, com ICP OES, para cobalto e cádmio não puderam ser usados como referência para uma comparação estatística, já que a maioria é menor que o LOQ da técnica. A técnica de SS GF AAS é, obviamente, muito melhor para determinação de concentrações muito baixas de cobalto e cádmio devido à elevada sensibilidade e ausência de qualquer preparação das amostras, exceto a moagem, que, também, é necessária para ICP OES antes da etapa da digestão.

Tabela XIII. Concentração de manganês, cobre, cobalto e cádmio em amostras de café verde comparando SS GF AAS e ICP OES após digestão ácida assistida por microondas.

Amostra	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Co ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	ICP OES	SS-GF AAS ^a	ICP OES	SS-GF AAS ^b	ICP OES	SS-GF AAS ^a	ICP OES	SS-GF AAS ^a
Café Brasil	32,0 ± 0,2	36,2 ± 6.7	13,4 ± 0,2	13,8 ± 1,1	0,1 ^c	0,62 ± 0,02	0,0013 ^c	0,62 ± 0,02
Planalto Cerrado BA	15,7 ± 0,2	15,8 ± 0.5	10,1 ± 0,1	10,9 ± 0,2	0,1 ^c	0,019 ± 0,001	< LOD ^d	0,0012 ^c
Robusta ES	16,9 ± 0,1	19,1 ± 0.7	16,2 ± 0,1	16,0 ± 0,8	0,2 ^c	0,36 ± 0,01	< LOD ^d	< LOD ^e
Cerrado Mineiro MG	18,7 ± 0,4	18,3 ± 0.3	13,4 ± 0,2	14,6 ± 0,1	0,1 ^c	0,020 ± 0,002	< LOD ^d	0,0038 ± 0,0003
Sul de Minas MG	28,6 ± 0,5	28,1 ± 0.9	13,9 ± 0,2	13,6 ± 0.6	0,3 ± 0.03	0,51 ± 0,02	< LOD ^d	0,0084 ± 0,001
Apucarana PR	30,5 ± 0,4	34,0 ± 0,8	13,4 ± 0,1	17,2 ± 1,1	0,3 ± 0,04	0,23 ± 0,01	< LOD ^d	0,0040 ± 0,0002
Mogiana SP	27,2 ± 0,5	31,8 ± 2,2	10,8 ± 0,2	11,4 ± 0,8	0,3 ± 0,03	0,24 ± 0,01	0,012 ^c	0,0050 ± 0,0001

^a Calibração versus padrão aquoso

^b Calibração versus CRMs sólidos

^c RSD não reportado, valores abaixo do LOQ.(ICP OES) = 0,37 $\mu\text{g Co g}^{-1}$; LOQ (SS-GF AAS) = 0,0034 $\mu\text{g Cd g}^{-1}$

^d LOD (ICP OES) = 0,11 $\mu\text{g Cd g}^{-1}$

^e LOD (SS-GF AAS) = 0,0010 $\mu\text{g Cd g}^{-1}$; LOQ (SS-GF AAS) = 0,0034 $\mu\text{g Cd g}^{-1}$

4.7. FIGURAS DE MÉRITO

4.7.1. Precisão

A precisão é um termo geral para avaliar a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Os três modos de expressá-la são por meio da repetitividade (precisão intra-corrida), precisão intermediária (precisão inter-corridas) e a reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial). A precisão de um método analítico usualmente é expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (RSD), ou ainda pelo coeficiente de variação (CV) de uma série de medidas, conforme a equação:

$$RSD = \frac{\sigma}{CMD} 100\% \quad \text{Equação 1}$$

onde, σ , é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada para uma série de medidas analíticas.

Em análise direta de sólidos a precisão é na maioria dos casos pior quando comparada à análise de soluções líquidas e suspensões. Diversos fatores contribuem para a redução da precisão na técnica de amostragem direta de sólidos, como por exemplo, a quantidade de amostra sólida colocada na plataforma, a distribuição do tamanho das partículas, a não homogeneidade da amostra, etc. Todos os fatores citados podem ser ajustados, de modo a minimizar os erros. A partir de uma avaliação teórica desenvolvida segundo Belarra e colaboradores³⁷ uma precisão de +/- 20% para análise direta de sólidos, com o grau de certeza de 95% pode ser tolerada, entretanto segundo revisão feita por Carl-Prieto e colaboradores³⁰, para o mesmo grau de certeza observa-se com frequência uma precisão de aproximadamente 10%.

A precisão neste trabalho, baseado em cinco replicatas, com exceção para o manganês (Café Brasil RSD ~ 20%), foi tipicamente melhor do que 10% RSD, o que está de acordo com o esperado para análises direta de sólidos, Vale ressaltar que um valor de RSD < 10% é um indicativo de uma boa homogeneidade dos analitos nas amostras. Este valor para amostra em estudo pode ser considerado excelente,

onde a heterogeneidade natural no teor de elementos traço das amostras de café para a mesma área de plantação e para uma mesma região provavelmente excede os valores de 10%.

4.7.2. Exatidão

A exatidão de um método analítico é confirmada pela proximidade dos resultados individuais encontrados em um determinado ensaio, em relação a um valor verdadeiro de referência aceito como o mais provável. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaios, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico são: uso de materiais de referência certificados, materiais de referência, participação em comparações interlaboratoriais, comparação de métodos, ensaios de adição/recuperação. A investigação da exatidão foi evidenciada pela comparação dos resultados com os valores das amostras de referência realizadas por Krivan e seus colaboradores⁶⁴ e com o uso de materiais de referência certificados. Os valores foram comparados através da análise estatística aplicando-se o teste *t-student* pareado, com nível de confiança de 95% tanto para as amostras de café⁶⁴, bem como dos materiais de referência certificados indicando que os mesmos não eram significativamente diferentes entre si. Foram, também, realizados testes de exatidão pela comparação dos dados obtidos por SS-GF AAS com os encontrados por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) pela análise de algumas das amostras de café verde após digestão. Os ensaios foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, UFBA, no Departamento de Analítica⁶⁶, e os resultados das figuras de méritos para manganês, cobre, cobalto e cádmio estão apresentados na Tabela XIV, na qual foram incluídos os dados obtidos pelos ensaios de ICP OES⁵⁰.

Tabela XIV. Figuras de mérito para determinação de manganês, cobre, cobalto e cádmio em café usando ICP OES após digestão ácida assistida por microondas e análise direta por SS-GF AAS.

Técnica	Parâmetro	Mn	Cu	Co	Cd
ICP OES	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,31	2,5	2,0	0,84
ICP OES	LOD ^a ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,015	0,13	0,10	0,112
SS-GF AAS	LOD ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,012	0,006	0,004	0,0010
ICP OES	LOQ ^a ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,050	0,42	0,33	0,372
SS-GF AAS	LOQ ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,040	0,021	0,012	0,0034
SS-GF AAS	m_0 (pg)	19	5,8	5,6	0,80

(a) Baseado em 500 mg de amostra em 25 mL de solução após digestão.

(b) Baseada na introdução de 1 mg de amostra dentro do forno de grafite.

4.7.3. Limite de detecção e limite de quantificação

Uma característica importante de um método ou técnica analítica é o limite de detecção (LOD); uma designação alternativa recomendada pela IUPAC é o valor mínimo detectável. O limite de detecção é uma medida na qual a concentração ou massa do analito quando excedida, é reconhecida com uma dada certeza estatística, indicando a quantidade do analito presente na amostra é maior que a do branco da mesma. No caso de amostragem direta de sólidos, o termo 'branco' é questionável, ou seja, no caso do café, seria uma amostra que não contenha nenhum analito detectado. Na impossibilidade de utilização desta da 'amostra em branco', Kurfürst³¹, propôs a utilização do 'resposta de massa zero', que consiste na introdução da plataforma de SS vazia varias vezes no tubo de grafite e realização das medidas do valor 'branco'. O limite de detecção, LOD, é, normalmente, determinado através de 10 medidas do branco da amostra pela equação 2⁶⁷:

$$LOD = 3\sigma / s$$

Equação 2

onde, σ é o desvio padrão de resposta calculado através do desvio padrão do branco, do desvio padrão residual da linha de regressão ou do desvio padrão da intersecção da reta no eixo das ordenadas e o s é o coeficiente angular da curva de calibração, também conhecido como sensibilidade.

Para fazer o cálculo do limite de detecção utilizou-se a plataforma do forno de grafite com massa zero para o caso do cobre e cobalto e com modificador químico para manganês e cádmio obtendo-se os valores os quais estão apresentados na Tabela XIV, os mesmos foram concordantes com os dados reportados na literatura²⁰.

O limite de quantificação (LOQ) pode ser definido como a menor massa ou concentração do analito que pode ser determinada quantitativamente, com um risco de erro de 5%. É matematicamente expresso pela razão entre o desvio padrão do sinal analítico do branco (obtido por no mínimo 10 medidas), multiplicado por um fator de dez, dividido pela inclinação da curva analítica, expressa pela equação 3:

$$LOQ = 10\sigma / s \quad \text{Equação 3}$$

onde, σ é o desvio padrão da resposta e s é o coeficiente angular da curva analítica de calibração.

4.7.4. Massa característica

Na atomização eletrotérmica, um volume definido da solução da amostra é dispensado dentro do atomizador e a temperatura vai sendo aumentada para remover o solvente e a maioria dos concomitantes antes da atomização. A alíquota introduzida dentro do tubo de grafite é atomizada em um tempo muito curto (tipicamente 1 s) e um sinal transiente é estabelecido, cuja área (absorvância integrada) é proporcional à massa do analito na solução medida. Tendo em vista que o sinal observado na espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) depende da massa do analito, o termo “massa característica” é usado como uma medida da sensibilidade do forno para um dado analito. A massa característica de um analito é definida como a massa do analito necessária para

produzir um sinal, absorvância *versus* tempo, com área integrada de 0,0044 s, ou seja 1% de absorção.

Os resultados encontrados de massa característica, para os analitos investigados, foram concordantes com dados reportados na literatura ²⁰ são mostrados na Tabela XIV.

4.7.5. Figuras de mérito para manganês, cobre, cobalto e cádmio.

As mais importantes figuras de mérito para as técnicas de ICP OES e SS GF AAS estão resumidas na Tabela XIV.

Os valores de LOD para ICP OES foram obtidos usando-se a concentração equivalente de fundo (BEC) para o analito, a qual foi calculada a partir de valores de dez medidas do branco e a inclinação da curva analítica. O LOD foi calculado como três vezes o desvio padrão do branco. O LOD expresso em $\mu\text{g L}^{-1}$, foi relacionado com a solução introduzida no equipamento. Enquanto que o LOD, expresso em $\mu\text{g g}^{-1}$, foi baseado nos cálculos de massa de 500 mg presentes em 25 mL de solução após digestão ácida e diluição introduzidas no equipamento.

O LOD para SS GF AAS foi obtido de acordo com a proposta de Kürfurst ³¹ de resposta de massa zero, isto é, por inserção da plataforma vazia com somente modificador, caso ele seja usado, em dez medidas no forno de grafite com ciclo completo de atomização. O LOD é, então, calculado como três vezes o desvio padrão das leituras em branco. O limite de quantificação, LOQ, é baseado nas mesmas medidas, usando dez vezes o desvio padrão das leituras do branco.

O LOD e o LOQ para manganês na amostra original foram comparáveis com as duas técnicas, mas deve-se levar em conta que a sensibilidade para SS GF AAS foi deliberadamente reduzida pela escolha de uma linha analítica menos sensível e com manutenção de fluxo mínimo de gás inerte no tubo durante a medida do sinal de absorvância no espectrômetro. Para cobre e cobalto, para os quais as linhas analíticas primárias puderam ser usadas, os valores de LOD e LOQ em SS GF AAS são vinte vezes melhores que os obtidos por ICP OES, devido a ausência de qualquer diluição dessa técnica. No caso do cádmio os valores de LOD e LOQ por SS-GF AAS, são cerca de duas ordens de grandeza melhores do que os calculados

por ICP OES. Esta diferença em sensibilidade nas duas técnicas não foi problema no caso de cobre já que as concentrações deste elemento, essencialmente, em todas amostras investigadas são maiores que o LOQ o que possibilita uma boa precisão em ambas as técnicas. Entretanto, este não foi o caso para determinação de cobalto e cádmio, pois, essencialmente, os teores desses analitos nas amostras investigadas são muito menores que o LOQ do ICP OES. Assim medidas quantitativas no ICP OES não são possíveis e, somente valores aproximados são indicados. Este fato também explica as diferenças significativas observadas nos valores encontrados para cobalto e cádmio entre SS GF AAS e ICP OES.

A precisão obtida com SS GF AAS neste trabalho para amostras reais baseada em cinco replicatas, com uma exceção manganês (café Brasil com $RSD \cong 20\%$) foi tipicamente inferior a 10%, a qual é normal para análise direta de amostras sólidas, mas freqüentemente até mesmo melhores que 5% RSD para todos quatro analitos, indicando boa homogeneidade na distribuição do analito na amostra. A precisão obtida em ICP OES na determinação de manganês e cobre foi tipicamente melhor que 5% RSD e variou entre 2-3% RSD, o que está de acordo com a expectativa para análise de soluções. Entretanto, a questão que pode ser levantada é se a improvável precisão é importante na presente investigação. A natural heterogeneidade dos elementos traços contidos nas amostras, mesmo nas áreas de plantação e ainda da mesma região, provavelmente, pode exceder em 10%, assim um $RSD < 10\%$ é aceitável.

A comparação do tempo requerido para a análise com ICP OES após digestão ácida assistida por microondas com SS-GF AAS pode ser feita, obviamente, somente pelo equipamento e condições experimentais usadas neste trabalho. Isto inclui todo o processo digestão para ICP OES onde são preparadas triplicatas, isto é, três amostras são digeridas para corrida, enquanto que, para SS-GF AAS, cinco porções de amostras independentes são pesadas e determinadas por elemento. A preparação de amostra por ICP OES inclui digestão e aquecimento durante 270 minutos para cada triplicata de três amostras. O tempo das medidas por ICP OES é essencialmente negligenciável neste contexto. Isto significa que o tempo requerido por elemento e por amostra é em torno de 30 minutos. Por outro lado, o programa de temperatura para o forno de grafite para SS GF AAS envolve 90 segundos, acrescido de 30 segundos de resfriamento e outros 30 segundos para pesagem e introdução da plataforma, isto é, uma medida

leva 2,5 minutos e as 5 medidas lidas por elemento necessitam de 12,5 minutos. Assim, as medidas das amostras são mais rápidas num fator 2 no caso de SS GF AAS quando comparadas com a digestão por ICP OES.

5. CONCLUSÕES

Foram desenvolvidos e otimizados métodos para a determinação direta de manganês, cobre, cobalto e cádmio via SS-GF AAS para a análise de grãos de café verde. Conforme as investigações realizadas pode-se estabelecer as seguintes conclusões:

- Ainda que a análise direta de sólidos seja reconhecidamente influenciada pela granulometria da amostra e a absorção de umidade, nos estudos realizados em diferentes frações granulométricas na amostra de grãos de café (> 150 μm , 85 – 150 μm , 45 – 85 μm e < 45 μm) observou-se que resultados analíticos confiáveis podem ser obtidos independentemente da granulometria das amostras desde que seja realizada a correção da umidade. Este resultado é um indicativo que o analito deve estar uniformemente distribuído nos grãos de café;

- Estudos realizados durante a otimização dos programas de aquecimento, indicaram a necessidade de se empregar três etapas de secagem das amostras inseridas no forno de grafite. Essas etapas proporcionam uma completa remoção dos componentes voláteis e evitam a ocorrência de eclosão da amostra durante a transição da etapa de secagem para pirólise o que acarretaria uma baixa precisão analítica;

- O manganês está presente, nas amostras de café, em altas concentrações, não permitindo sua determinação num comprimento de onda de maior sensibilidade (279,8 nm). Este problema foi resolvido empregando-se uma linha analítica de menor sensibilidade (403,1 nm), associado à manutenção de um fluxo mínimo de gás inerte (0,1 Lmin⁻¹) durante a etapa de atomização, quando ocorre a medida do sinal analítico,

- Pela comparação das curvas de pirólise para manganês em padrão aquoso e em amostra de café verde foi observado, inicialmente, um comportamento térmico bastante diferente entre si. Enquanto o manganês na amostra de café é termicamente estável até 1300 °C, em padrões aquosos a perda de analito ocorre a partir de 700 °C. Este problema pôde ser resolvido pelo emprego de uma mistura de 5,0 μg de Pd e 3,0 μg de Mg como modificador químico;

- A calibração para a determinação de manganês pôde ser feita com curva de calibração com padrões aquosos usando modificador químico, o que facilita bastante o ciclo analítico;

- Os resultados obtidos para CRMs botânicos e amostras de referências⁶⁰ na determinação de Mn por SS-GF AAS foram concordantes entre si, dando assim credibilidade aos valores encontrados para as amostras de café em estudo;

- Para a determinação de cobre foi empregada a linha analítica de maior sensibilidade (324,8 nm);

- Neste comprimento de onda e a uma temperatura de atomização de 2100 °C observou-se, por meio das curvas de pirólise, o mesmo comportamento térmico para o cobre, tanto em solução aquosa como o presente na matriz de café. Entretanto, ao se empregar a curva de calibração para cobre com padrões aquosos na determinação do analito nas amostras de café de referência⁶⁰ os resultados obtidos foram significativamente menores. O problema foi resolvido adotando-se a curva de correlação com materiais de referência certificados, Usando a curva de correlação os resultados obtidos para as amostras de café de referência⁶⁰ foram estatisticamente semelhantes, permitindo, assim, a determinação de cobre nas amostras de grãos de café verde desconhecidas,

- Para a determinação de cobalto foi empregada a linha analítica de maior sensibilidade (240,7 nm);

- No comprimento de onda de trabalho e a uma temperatura de atomização de 2400 °C observou-se, por meio das curvas de pirólise, o mesmo comportamento térmico para o cobalto, tanto em solução aquosa como o presente na matriz de café;

- A calibração para a determinação de cobalto pôde ser realizada com curva de calibração com padrões aquosos, simplificando bastante o ciclo analítico;

- Os resultados obtidos para CRMs botânicos e amostras de referências⁶⁰ na determinação de cobalto foram concordantes entre si, assim os valores encontrados para as amostras de café podem ser considerados exatos;

-- Para a determinação de cádmio foi empregada a linha analítica de maior sensibilidade (228,8 nm);

- Como já era esperado, houve a necessidade do emprego de modificador, 10 µg Pd e 3 µg Mg em 0,05% de Triton X-100 para a estabilização térmica do cádmio em ambas, solução padrão e amostras de café;

- Nas condições otimizadas de temperatura ($T_p = 800\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_a = 1600\text{ }^\circ\text{C}$) e com o uso de modificador os valores de absorvância integrada são diretamente proporcionais à massa de amostra até uma quantidade de 5,000 mg;

- Usando-se calibração *versus* padrões aquosos e modificador foi possível realizar a determinação de cádmio com boa exatidão em CRMs botânicos;

- Pelo item anterior podemos inferir que os dados obtidos para as amostras de referência (nestas não foram determinadas previamente cádmio) são plenamente confiáveis;

- As figuras de mérito para manganês, cobre, cobalto e cádmio obtidas foram concordantes com os valores reportados na literatura;

- Com uma única exceção, manganês (Café Brasil RSD ~ 20%), a precisão foi tipicamente melhor do que 10% RSD, o que está de acordo com o esperado para análise direta de sólidos;

- Os valores de LOD e LOQ obtidos por SS-GF AAS para cobre, cobalto e cádmio foram melhores do que os determinados por ICP OES. Somente para manganês os valores foram comparáveis nas duas técnicas, devido ao fato de ter sido usado uma linha analítica menos sensível e fluxo de gás mínimo na etapa de atomização em SS-GF AAS;

- A diferença em sensibilidade nas duas técnicas não foi problema no caso de cobre já que as concentrações deste elemento, essencialmente, em todas amostras investigadas são maiores que o LOQ o que possibilita uma boa precisão em ambas as técnicas;

- ICP OES não foi uma boa alternativa como técnica de referência no caso de cobalto e cádmio, pois, essencialmente os teores desses analitos, nas amostras investigadas, são muito menores que o LOQ do ICP OES.

Assim, mesmo sendo uma técnica mono-elementar, a SS-GF AAS por não requerer qualquer preparação da amostra, somente a moagem dos grãos de café, pode ser uma alternativa atrativa quando comparada com outras técnicas multielementares.

A sua fantástica sensibilidade, devido especialmente ao fato de não haver qualquer diluição, é outro ponto forte para determinação de elementos traço como cobalto e cádmio e podendo assim ser estendida para a outros elementos traço importantes.

Pelo exposto pode-se concluir que a SS-GF AAS é uma poderosa ferramenta analítica para a determinação rotineira de elementos traços selecionados presentes em amostras de café verde.

Este trabalho faz parte de um projeto maior que é o desenvolvimento de métodos analíticos por SS- GF AAS, para caracterizar a origem geográfica dos grãos de café através da determinação de elementos traço selecionados e técnicas supervisionadas de reconhecimento de padrões. No entanto, nesta dissertação, não será tentado correlacionar o conteúdo de metais encontrados nas amostras de café brasileiro investigadas com a sua origem pois somente uma amostra de cada região foi analisada, não sendo, assim, possível uma análise estatística. Num futuro pretende-se aumentar o número de amostras e de elementos de modo a estabelecer uma base de dados para a determinação da origem do café.

6. ETAPAS FUTURAS

1. Desenvolvimento e otimização de métodos para a determinação de outros metais traço, como selênio, arsênio e chumbo;
Após validação dos métodos, as mesmas serão aplicadas para determinação de metais em amostras de grãos de café brasileiros e de diferentes países;
Aplicação de técnicas quimiométricas de reconhecimento padrão, de modo a se ter uma combinação adequada de elementos traço que possa ser usada no reconhecimento da origem geográfica do café.
2. Utilizando os métodos desenvolvidos e otimizados para a determinação de elementos traço como cádmio e chumbo, fazer uma investigação minuciosa sobre o teor destes em amostras de grãos de café verde e seus respectivos grãos torrados comercialmente. Neste trabalho poderão ser incluídos outros metais potencialmente tóxicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Coffee Organization (ICO), disponível em: <http://www.ico.org>, Acessado em 22/03/2007.
2. Toledo. V. V. de, Gancho, V. C., Sua Majestade o Café, Ed. Moderna, 2ª edição, 16ª impressão, São Paulo, **2003**.
3. Associação Brasileira das Indústrias de Café (ABIC), disponível em: <http://www.abic.com.br>. Acessado em 23/03/2007.
4. Revista Veja, edição 1982, nº45, de 15/11/2006.
5. Saes, M. S. M., Nakazone, D., Estudo da competitividade de cadeias integradas no Brasil: Impactos das zonas de livre comércio: Cadeia Café, UNICAMP, **2002**.
6. Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos / NEPA – UNICAMP – Campinas: NEPA-UNICAMP, **2004**, p.6.
7. Disponível em: <http://www.foodcomp.dk>. Acessado em 28/03/2007.
8. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/publications>. Acessado em 02/04/2007
9. Recommended dietary allowances- National Research Council, 10ª edição. National Academy of Sciences, Washington (DC), **1989**, 224.
10. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showact>. Acessado em 02/04/2007.
11. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/y2809e/y2809e00.pdf>. Acessado em 22/03/2007
12. Monteiro M. C. e Trugo L. C., Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado – Química Nova, **2005**, 28, 4, 637.
13. Lucciardi, R., Pereira, R. G. F. A., Mendonça, L. M. V. L., Furtado, E. F. Avaliação físico-química de café torrados e moídos, de diferentes marcas comerciais, da Região Sul de Minas Gerais – Ciênc. Tecnol. Aliment. **2005**, 24, 3, 425.
14. Malavolta, E., Vitti, G. C., Oliveira, S. A, Avaliação do estado nutricional das plantas princípios e aplicações, 2 ed., rev. e atual. Piracicaba: POTAFOS. **1997**.
15. Disponível em: <http://jecfa.ilsil.org/evaluation.cfm?chemical=COPPER&keyword=COPPER>). Acessado em 22/10/2007.

16. Pavan, M. A., Bingham, F. T., Toxidez de metais em plantas. I. Caracterização de toxidez de Manganês em cafeeiros, *Pesq. Agropec. Brás.*, **1981**, 16, 6, 815.
17. Veloso, C. A. C., Muraoka, T., Malavolta, E., Carvalho, J. G. de, Influência do manganês sobre a nutrição mineral e crescimento da pimenteira do reino (*Piper nigrum*, L.), *Sci. Agric.*, **1995**, 52(2), 376.
18. Oliveira Junior, J. A., de, Malavolta, E., Cabral, C. P., Efeitos do Manganês sobre a soja cultivada em solos do Cerrado Mineiro, *Pesq. Agropec. Brás.* **2000**, 35, 8, 1629.
19. Salvador, J. O, Moreira, A., Malavolta, E. Cabral, C. P., Influência do boro e do manganês no crescimento e na composição mineral de mudas de Goiabeira, *Ciênc. Agrotec, Lavras.*, **2003**, 27,2, 325.
20. Welz, B, Sperling, M., *Atomic absorption spectrometry*, 3rd edn, Wiley-VCH, Weinheim, New York, **1999**.
21. WHO. World Health Organization. *Air Quality Guidelines*. 2nd edition. Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2000. Disponível em: <http://www.euro.who.int/document/aiq/6_3cadmium.pdf>. Acessado em: 10/09/2007.
22. Caroli, S., *The Determination of Chemical Elements in Food: Applications for Atomic and Mass Spectrometry*, John Willey & Sons, Inc., Publications, **2007**, p 69.
23. Disponível em:
<http://jecfa.ilsa.org/evaluation.cfm?chemical=CADMIUM&keyword=CADMIUM>.
Acessado em 22/03/2007.
24. Brasil, Leis, Decreto Nº 55781, 26 de março de **1965**.
25. Slavin, W., Manning, D. C., Carnrick, G. R., The stabilized temperature platform furnace, *Atomic Spectroscopy*, **1981**, 25, 137.
26. Anjos, A. P. dos, *Estudo de modificadores químicos e superfícies modificadas para a determinação de estanho por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite – Tese de Doutorado- UNICAMP*, **1997**.
27. Krug, F. J., *VI Workshop sobre preparo de amostras*, UFSM, **2006**.
28. Silva, A. F., da, *Desenvolvimento de métodos para determinação de mercúrio e tálio em amostras ambientais usando GF AAS e ETV-ICP-MS*, Tese de Doutorado, UFSC, **2004**.

29. Bendicho, C. and de Loos-Vollebregt, M. T. C., Solid sampling in electrothermal atomic absorption spectrometry using commercial atomizers, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1991**, 6, 353.
30. Carl-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M., Carlosena, A., Andrade, J. M., López-Mahia, P., Muniategui, S., Prada, D., Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ET AAS), A literature review from 1990 to 2000, *Talanta*, **2002**, 56, 1.
31. Kurfürst, U., Solid sampling analysis, Springer-Erlag, Berlin-Heidelberg, Germany, **1998**.
32. Belarra, M. A., Resano, M., Moens, F. V., Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how?, *Trends in Analytical Chemistry*, **2002**, 21, 12, 828.
33. Vale, M. G. R., Oleszczuk, N., Santos, W. N. L. dos, Current Status of Direct Solid Sampling for Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry—A Critical Review of the Development between 1995 and 2005, *Applied Spectroscopy Reviews*, **2006**, 41, 377.
34. Miller-Ihli, N.J., Automated ultrasonic mixing accessory for slurry sampling into a graphite furnace atomic absorption spectrometer. *J. Anal. At. Spectrom.*, **1989**, 4 (3): 295-297.
35. Miller-Ihli, N.J., Slurry Sampling Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry: Results From the Second Phase of an International Collaborative Study. *J. Anal. At. Spectrom.*, **1997**, 12, 2, 205.
36. Silva, M.M., Vale, M.G.R. and Caramão, E.B., Slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry: determination of trace metals in mineral coal. *Talanta*, **1999**, 50, 5, 1035.
37. Belarra, M. A, Crespo, C., Martinez-Garbayo, M. P., Castillo, J. R., Direct determination of metals in solid samples by graphite-furnace atomic absorption spectrometry: Does sample mass influence the analytical results?, *Spectrochimica Acta Part B*, **1997**, 52, 1855.
38. Chui, Q. S. H., Bispo, J. M. A., Iamashita, C. O., O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos, *Quim. Nova*, **2004**, 27,6, 993.

39. Kurfürst, U., Rehenert, A, Muntau, H., Uncertainty in analytical results from solid materials with electrothermal atomic spectrometry: a comparison of methods, *Spectrochimica Acta Part B*, **1996**, 51, 229.
40. Kurfürst, U., Consideration of the uncertainty in the CRM value with the analysis of solid materials using atomic spectrometry: Part 1. Evaluation and benefit of method uncertainty using certified reference materials, *Accred. Qual. Assur.*, **1998**, 3, 406.
41. Herber, R. F. M., Solid sampling atomic absorption spectrometry and matrix composition of organic reference materials, *Pure & Appl. Chem.*, **1991**, 63, 8, 1213.
42. Ediger, R. D., Atomic absorption analysis with graphite furnace using matrix modification, *At. Absorpt. Newsletter*, **1975**, 14, 5, 127.
43. Bianchin, L., Uso de modificadores químicos permanentes na determinação de cádmio em suspensão de carvão por GF AAS convencional e de alta resolução, *Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, **2005**.
44. Welz, B., Akman, S., Schlemmer, G., Investigations of interferences in graphite furnace atomic absorption spectrometry using a dual-cavity platform, Part 1. Influence of nickel chloride on the determination of antimony, *Analyst*, **1985**, 110, 459.
45. Welz, B., Akman, S., Schlemmer, G., Investigations of interferences in graphite furnace atomic absorption spectrometry using a dual-cavity platform, Part 2. Influence of sodium chloride and nickel chloride on the atomization of lead, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1987**, 2, 793.
46. Vale, M. G. R., Silva, M. M., Welz, B., Lima, É. C., Determination of cadmium, copper and lead in mineral coal using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **2001**, 56, 1859.
47. Ribeiro, A. S., Moretto, A. L., Arruda, M. A. Z., and Cadore, S., Analysis of powdered coffee and milk by ICP OES after sample treatment with tetramethylammonium hydroxide, *Microchim. Acta*, **2003**, 141, 149.
48. Asfaw, A., Wibetoe, G., Simultaneous determination of hydride (Se) and non-hydride-forming (Ca, Mg, K, P, S and Zn) elements in various beverages (beer, coffee and milk), with minimum sample preparation, by ICP-AES and use of dual-mode sample-introduction system, *Anal. Bioanal. Chem*, **2005**, 382, 173.

49. Roberts H. R., Food safety, Willey, New York, **1981**.
50. Oleszczuk N., Castro, J. T., Silva, M. M. da, Korn, M. das G. A., Welz, B. and Vale, M. G. R., Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Talanta*, **2007**, 73, 862.
51. Esechie, H., Distribution of chemical constituents in the plants parts of six tropical origin forage grasses at early anthesis, *J. Sci. Food Agric.*, **1992**, 59, 435.
52. Freitas, A. M. C., Mosca, A. I., - Geographic origin – an aid to coffee differentiation, *Food Research International*, **1999**, 32, 565.
53. Vasconcelos, A. L. S., Franca, A. S., Gloria, M. B. A., Mendonça, J. C. F., A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans, *Food Chemistry*, **2007**, 101, 26.
54. Fernandes, A. P., Santos, M. C., Lemos, S. G., Ferreira, M. M. C., Nogueira, A. R. A., Nóbrega, J. A., Pattern recognition applied to mineral characterization of Brazilian coffees and sugar cane spirits, *Spectrochim Acta, Part B*, **2005**, 60, 717.
55. Martin, M. J., Pablos, F., González, A. G., Application of pattern recognition to the discriminations of roasted coffees, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 320, 191.
56. Martin, M. J., Pablos, F., González, A. G., Characterization of green coffee varieties according to their metal content, *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 358, 177.
57. Martin, M. J., Pablos, F., González, A. G., Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition, *Talanta*, **1998**, 46, 1259.
58. Martin M. J., Pablos, F., González, A. G., Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content, *Food Chem*, **1999**, 66, 365.
59. Santos, E. J. dos, Oliveira, E. de, Determination of mineral nutrients and toxic elements in brazilian soluble coffee by ICP-AES, *Journal of Food Composition and Analysis*, **2001**, 14, 523.
60. Prodoliet, J., Zbinden, P., Andrey, D., Baumgartner, M., Determination of the geographical origin of green coffee by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS), ASIC, 19th International Scientific Colloquium on Coffee – Trieste, **2001**.

61. Anderson, K. A, Smith. B. W., Chemical profiling to differentiate geographics growing origins of coffee, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50: 2068.
62. Morgano, M. A, Pauluci, L. F., Mantovani, D. M. B., Mory, E. E. M., Determinação de minerais em café cru, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **2002**, 22, 11, 19.
63. Amorim Filho, V. R., Polito, W. L., Gomes Neto, J. A., Comparative studies of the sample decomposition of green and roasted coffee for determination of nutrients and data exploratory analysis, *J. Bras. Chem. Soc.*, **2007**, 18, 1, 47.
64. Krivan, V., Barth, P., Morales, A. F., Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin, *Mikrochim Acta*, **1993**, 110, 217.
65. Franke, N.; Lücker, E.; Herz, M. – Fast Analysis of Copper in Biological Matrices by Direct Solid Sampling GF AAS – reference n°: Lit_AA_07_99_e|Hz – disponível em <http://www.analytikjena.com>. Acessado em 15/01/2006.
66. Castro, J. T., Avaliação de métodos analíticos para determinação de metais e ametais em amostras de café por espectrometria atômica, Tese de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, **2007**.
67. Beaty, D. and Kerber, J. D., *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrometry*, Perkin Elmer Corporation, **1999**, 5.1.