

MULTI-ELEMENT DETERMINATION OF CALCIUM, POTASSIUM AND MAGNESIUM IN MEDICINAL PLANT BY HIGH-RESOLUTION CONTINUUM SOURCE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

Tiago Varão Silva, Jardes Figuerêdo Rêgo, Mercedes de Moraes,
Alberto José Cavalheiro, José Anchieta Gomes Neto¹

Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, CP 355, 14801-970 Araraquara - SP, Brasil

Jorge Luiz Raposo Júnior

Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, CP 533, 79804-970 Dourados - MS, Brasil

1 Autor para correspondência. Tel: 16 33019611; Fax: 16 33019692.

E-mail: anchieta@iq.unesp.br (J.A. Gomes Neto)

A simple and rugged method to determine Ca, K and Mg in a single aliquot of medicinal plants by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry is proposed. Secondary lines for Ca (239.856 nm) and K (404.414 nm), and the alternate line measured at wing of the secondary line for Mg at 202.588 nm allowed calibration within the 20 – 500 mg L⁻¹ Ca and K, and 1.0 – 80 mg L⁻¹ Mg. Twenty samples and three plant certified materials were analyzed. Results were in agreement at a 95% confidence level with reference values. Limits of detection were 2.4 mg L⁻¹ Ca, 1.9 mg L⁻¹ K and 0.3 mg L⁻¹ Mg. The RSD (n=12) were ≤ 5.1% and recoveries were between 83 and 108% for all analytes.

Keywords: macronutrients; medicinal plants; HR-CS FAAS

INTRODUÇÃO

Conhecer a composição de plantas medicinais é uma forma de garantir a população brasileira o acesso seguro e o uso racional dessas plantas, promover o uso sustentável da biodiversidade e desenvolver a cadeia produtiva nacional. As plantas medicinais podem apresentar alto valor nutritivo e a determinação do teor total de um elemento é relevante [1]. O estabelecimento de métodos de análise desta classe de plantas voltados a um controle de qualidade eficiente, visando minimizar a probabilidade de ocorrência de problemas toxicológicos, afigura-se como promissor. Entre as técnicas analíticas, a espectrometria de absorção atômica [2] ocupa um espaço importante no campo das análises químicas elementares.

A determinação de Ca, K e Mg em plantas medicinais por espectrometria de absorção atômica em

chama é feita frequentemente em espectrômetros com fontes de radiação discretas (LS FAAS) [3]. Esta determinação é uma tarefa simples, contudo trabalhosa e morosa porque requer otimizações instrumental e operacional específicas para cada elemento, tais como: a troca e o condicionamento das fontes de radiação, os espaços temporais relativamente longos entre calibrações, os ajustes da diluição da amostra aos respectivos intervalos lineares das curvas analíticas que consomem tempo e aumentam os custos analíticos. Estes aspectos negativos podem ser minimizados se vários elementos puderem ser determinados conjuntamente numa única alíquota da amostra [4]. Apesar dos teores de Mg em tecidos vegetais serem inferiores aos usualmente encontrados para Ca e K [5], a utilização da linha atômica principal ou secundária do Mg não permite determiná-lo na mesma alíquota de amostra utilizada para determinar Ca e K, uma vez que os limites superiores de resposta linear são baixos (0,5 e 10 mg L⁻¹ Mg, respectivamente), exig-

indo diluições subsequentes da amostra.

Diferentemente da LS AAS, a espectrometria de absorção atômica em chama com fonte contínua e alta resolução (HR-CS FAAS) [6] possibilita monitorar a absorbância dos elementos em diferentes comprimentos de onda, desde os mais sensíveis até aqueles localizados nas regiões adjacentes ao máximo de uma linha (side pixel registration - SPR) [7], viabilizando assim determinações multielementares em ampla faixa de concentração numa mesma alíquota de amostra [8].

Este trabalho consiste em avaliar a redução da sensibilidade e o aumento do intervalo linear de trabalho com vistas ao desenvolvimento de um método simples e rápido para determinar de modo sequencial rápido Ca, K e Mg numa mesma alíquota de digeridos de plantas medicinais por HR-CS FAAS.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes, soluções analíticas e amostras

Todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza obtida a partir de um sistema de osmose reversa Millipore Rios 5TM combinado com deionizador Millipore Milli-Q academic. Para a digestão das amostras de folhas de plantas medicinais, ácido nítrico 70% (Spectrum Chemical[®]) e peróxido de hidrogênio 30% (m/v) de grau analítico foram utilizados.

Solução estoque 1000 mg L⁻¹ Mg foi preparada a partir do respectivo padrão espectroscópico (Chemis[®]) por diluição do conteúdo da ampola em balão volumétrico de 1000 mL com água.

Solução estoque 5009 mg L⁻¹ Ca foi preparada a partir de CaCO₃ (Mallinckrodt Baker, Xalostoc, México). Uma massa de 3,127 g CaCO₃ previamente seco em estufa (100 °C) foi dispersa em cerca de 100 mL de água e dissolvida após adição de pequenas alíquotas de HNO₃ concentrado. A solução resultante foi diluída a 250 mL com água deionizada e em seguida padronizada com EDTA.

Solução estoque 5000 mg L⁻¹ K foi preparada a partir da dissolução de 2,383 g KCl (Mallinckrodt Baker, Xalostoc, México) previamente seco em estufa (100 °C), e diluição a 250 mL com água deionizada.

Solução estoque 5% (m/v) La foi preparada pela dissolução de 58,6 g La₂O₃ (J. T. Baker[®], México) em 250 mL de ácido clorídrico concentrado e diluição a 1000 mL com água. Todas as soluções es-

toque foram armazenadas em frascos de polipropileno (Nalgene[®], EUA) de alta densidade e mantidas sob refrigeração.

Para a determinação dos teores de Ca, Mg e K, soluções analíticas multielementares contendo 20 – 500 mg L⁻¹ Ca, K e 1,0 – 80 mg L⁻¹ Mg foram preparadas por diluição apropriada de soluções estoque individuais em meio 1,0% (v/v) HNO₃ e 1,0% (m/v) La.

As amostras de plantas medicinais foram adquiridas na Casa de Ervas São Francisco, Araraquara-SP, ou junto ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – CPQBA/Unicamp.

Materiais de referência certificados 1572 Citrus Leaves, 1515 Apple Leaves e 1547 Peach Leaves do National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, EUA) foram utilizados para avaliar a exatidão do método. As soluções analíticas e amostras foram introduzidas no sistema nebulizador/queimador do espectrômetro com auxílio do amostrador SFS6. Todas as medidas foram feitas em triplicata. A vidraria e os frascos empregados no preparo e armazenamento das soluções foram previamente limpos por imersão em banho de HNO₃ 10% (v/v) por 24 h e posteriormente lavados com água deionizada.

Instrumentação e acessórios

A determinação dos elementos Ca, K e Mg foi feita com auxílio de um espectrômetro de absorção atômica em chama com fonte contínua e de alta resolução ContraAA 300 (Analytik Jena[®], Alemanha) equipado com uma lâmpada de arco curto de xenônio 300W (GLE, Berlim, Alemanha) com fonte de radiação contínua compreendida entre 190 a 900 nm e queimador de 50 mm. Devido aos elevados teores naturais desses macronutrientes em plantas medicinais, as medidas de absorbância foram feitas nos comprimentos de onda secundários do Ca (239,856 nm) e do K (404,414 nm). As absorbâncias do Mg foram medidas no comprimento de onda adjacente (202,588 nm) ao secundário (202,582 nm), ou seja, localizado em parte da asa do sinal de absorção atômica do elemento. Este procedimento permitiu estender a faixa linear de trabalho para Mg e determinar conjuntamente Ca, K e Mg na mesma alíquota de digerido da amostra. No caso do procedimento de medida por SPR, os comprimentos de onda 202,575 nm, 202,577 nm, 202,586 nm e 202,588 nm foram avaliados. Como o objetivo era re-

duzir a sensibilidade da medida para Mg, a absorvância integrada no comprimento de onda foi equivalente a 1 pixel, a mínima permitida pelo programa gerenciador do espectrômetro.

A mistura ar-acetileno (acetileno 99,7%, Air Liquide, Sertãozinho-SP, Brasil) foi utilizada para atomizar Ca, K, Mg. A taxa de aspiração da amostra foi fixada em $5,0 \text{ mL min}^{-1}$, e os demais parâmetros instrumentais (vazão dos gases, altura de observação e tipo de queimador) foram otimizados e constam da Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais otimizados para determinar Ca, K e Mg em plantas medicinais por HR-CS FAAS.

Elemento – linha atômica (nm)	Altura de observação (mm)	Acetileno (L h^{-1})	ar (L h^{-1})	Tipo de queimador (mm)
Ca – 239,856	7	70	514	50
K – 404,414	6	60	514	50
Mg – 202,588	7	70	514	50

As amostras de plantas medicinais foram secas em estufa com circulação forçada de ar (TE-394/2 Tecnal[®]) a 40°C por 72 h e moídas em moinho de facas (Willey Tecnal[®] 648) com peneira de abertura de aproximadamente 0,84 mm (20 mesh). A digestão das amostras foi feita em forno de microondas Anton Paar Multiwave[®] 300 (Graz, Áustria) de 48 posições equipado com frascos de polietileno com capacidade de 25 mL.

Um espectrômetro de absorção atômica em chama e com fonte de linhas Perkin-Elmer AAnalyst[®] 100 foi empregado para comparação de resultados.

Decomposição ácida assistida por radiação microondas

O preparo de soluções das amostras de plantas medicinais e dos materiais de referência utilizados na avaliação do método de determinação de Ca, K, e Mg foi feito em forno de microondas com controle de pressão e temperatura [9]. Massas de aproximadamente 0,25 g de folhas secas e moídas das plantas medicinais Melissa (*Melissa officinalis*), Ginkgo Biloba (*Ginkgo biloba* L.), Hortelã (*Mentha* s.p.), Sene (*Senna alexandrina*), Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana*), Graviola (*Annona muricata*), Poejo (*Mentha longifolia*), Ginseng (*Panax ginseng*), Pata de Vaca (*Bauhinia forficata*), Erva Doce (*Pimpinella anisum*), Boldo do

Chile (*Plectranthus barbatus* Andrews), Camomila (*Matricaria chamomilla*), Centelha Asiática (*Centella asiatica*), Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), Chapéu de Couro (*Echinodorus grandiflorus*), Erva Cidreira (*Lippia alba*), Espinhadeira Santa (*Maytenus ilicifolia*), Guaco (*Mikania glomerata*), Carqueja (*Baccharis crispa* Spreng) e Cavalinha (*Equisetum arvense*), foram pesadas com precisão de 0,1 mg, transferidas para os frascos digestores do forno de microondas seguidas da adição de alíquotas de 3,0 mL de HNO_3 + 1,0 mL de H_2O_2 + 2,0 mL de água. Em seguida, os frascos contendo amostra e reagentes foram dispostos no interior das “jaquetas” do forno de microondas, acomodados no rotor e então submetidos ao programa de aquecimento proposto para decomposição dos tecidos vegetais [10]. Os digeridos foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL e o volume completado com água deionizada em meio de 1,0% (m/v) La. Todas as soluções de amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno de alta densidade (Nalgene, Rochester, EUA) e mantidas sob refrigeração até o momento da análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários experimentos foram realizados visando estabelecer o intervalo linear das curvas analíticas e os comprimentos de onda ótimos para a determinação dos três elementos num mesmo digerido. Considerando que os analitos em questão são macronutrientes [11], as medidas foram realizadas utilizando-se apenas 1 pixel, em cada comprimento de onda empregado. Inicialmente foram realizadas medidas nos comprimentos de onda mais sensíveis (422,673 nm - Ca, 766,490 nm - K e 285,213 nm - Mg) que forneceram os seguintes intervalos lineares: 0,1 a 10 mg L^{-1} Ca, 0,1 a 10 mg L^{-1} K e 0,1 a $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ Mg. Esses intervalos não atendiam a faixa de aplicação em virtude das altas concentrações de Ca, K e Mg nos digeridos das amostras. Optou-se então por construir curvas analíticas utilizando os comprimentos de ondas secundários dos elementos: 239,856 nm (Ca), 404,414 nm (K) e 202,582 nm (Mg). Nesta situação, as faixas lineares obtidas foram de 10 a 250 mg L^{-1} Ca; 10 a 250 mg L^{-1} K e 0,5 a 5 mg L^{-1} Mg. Visando diminuir ainda mais a sensibilidade, estes mesmos experimentos foram repetidos empregando-se o queimador de 50 mm, em vez daquele de 100 mm utilizado nos experimentos anteriores. Nestas condições, os intervalos lineares obtidos foram 20 a 500 mg L^{-1} Ca, 20 a 500 mg L^{-1} K e 1,0 a 10 mg L^{-1} Mg. Os valores de absorvâncias de Ca e K obtidos para a grande maioria dos digeridos das amostras

situaram-se entre os limites inferiores e superiores destas curvas. Por outro lado, várias amostras apresentaram teores de Mg superiores a 10 mg L^{-1} (limite superior de resposta linear), exigindo diluições sucessivas. Em seguida avaliou-se a influência do SPR na absorvância do Mg. Os comprimentos de onda 202,575 nm, 202,577 nm, 202,586 nm e 202,588 nm, localizados na asa da linha secundária do Mg, forneceram respectivamente os seguintes intervalos lineares (em mg L^{-1}): 1,0 – 30; 1,0 – 20; 1,0 – 35; 1,0 – 80. A linha 202,588 nm foi escolhida para os experimentos subsequentes porque forneceu o mais amplo intervalo de trabalho e o maior limite superior de resposta linear. Desta maneira, os comprimentos de onda ideais para determinar conjuntamente esses três elementos em alíquotas de digeridos de plantas medicinais sem a necessidade de diluição corresponde aos comprimentos de onda 239,856 nm para Ca, 404,414 nm para K e 202,588 nm para Mg. As curvas analíticas otimizadas para determinação Ca, K e Mg num mesmo digerido, foram construídas e estão ilustradas na Figura 1.

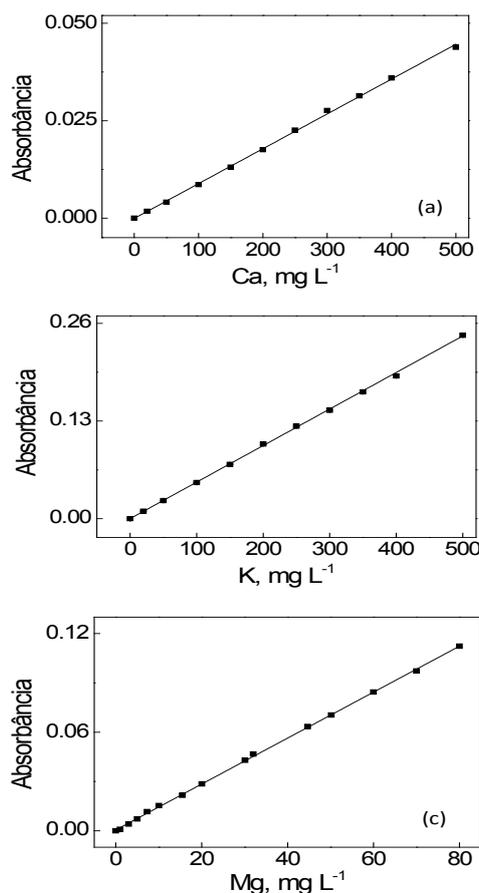


Figura 1. Curvas analíticas otimizadas para (a) Ca em 239,856 nm (λ secundário); (b) K em 404,414 nm (λ secundário); (c) Mg em 202,588 nm (asa do λ secundário), obtidas por HR-CS FAAS com absorvância integrada no comprimento de onda equivalente a 1 pixel, empregando-se queimador de 50 mm.

Nessas condições, os limites de quantificação [12] obtidos por HR-CS FAAS foram $8,0 \text{ mg L}^{-1}$ Ca, $6,3 \text{ mg L}^{-1}$ K e $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ Mg. A precisão associada a 12 medidas sucessivas de uma solução contendo 100 mg L^{-1} Ca, 200 mg L^{-1} K e 50 mg L^{-1} Mg foi de 4,3%, 3,9% e 5,1%, respectivamente. As linhas 239,856 nm, 404,414 nm e 202,588 nm permitiram determinar respectivamente Ca, K e Mg em todas as amostras de plantas sem diluição de seus digeridos. As principais figuras de mérito analítico dessas linhas utilizadas para calibrar o espectrômetro na determinação de Ca, K e Mg estão resumidas na Tabela 2.

Tabela 2. Figuras de mérito analítico das linhas selecionadas para análise.

Elemento	Linha Atômica (nm)	Intervalo Linear (mg L^{-1})	Sensibilidade (A L mg^{-1})	R	LOD (mg L^{-1})	LOQ (mg L^{-1})	R.S.D (%)
Ca	239,856	20 – 500	$8,9 \cdot 10^{-5}$	0,9991	2,4	8,0	4,3
K	404,414	20 – 500	$4,8 \cdot 10^{-4}$	0,9995	1,9	6,3	3,9
Mg	202,588	1,0 – 80	$1,4 \cdot 10^{-3}$	0,9977	0,3	1,0	5,1

Tabela 3. Resultados (média \pm desvio padrão) expressos em mg g^{-1} da determinação ($n=3$) de Ca, K e Mg nos materiais de referência certificados 1572 Citrus Leaves, 1515 Apple Leaves e 1547 Peach Leaves por HR-CS FAAS

Analito	Citrus Leaves		Apple Leaves		Peach Leaves	
	obtido	certificado	obtido	certificado	obtido	certificado
Ca	$3,06 \pm 0,21$	$3,15 \pm 0,10$	$1,53 \pm 0,01$	$1,53 \pm 0,02$	$1,51 \pm 0,06$	$1,56 \pm 0,02$
K	$1,79 \pm 0,04$	$1,82 \pm 0,06$	$1,58 \pm 0,06$	$1,61 \pm 0,02$	$2,37 \pm 0,08$	$2,43 \pm 0,03$
Mg	$0,52 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,03$	$0,26 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,01$

A exatidão do método proposto foi avaliada após análise de três materiais de referência e os resultados obtidos para Ca, K e Mg não foram significativamente diferentes dos valores certificados ao nível de 95% de confiança (Tabela 3).

Após análise dos materiais de referência certificados e avaliação positiva da eficiência do método para determinar Ca, K e Mg em material vegetal (plantas medicinais), o método foi em seguida aplicado na determinação conjunta desses três analitos em 20 amostras de plantas medicinais amplamente comercializadas e consumidas no país (Tabela 4).

As concentrações dos analitos nos digeridos das amostras de plantas medicinais analisadas variaram de 25,86 - $475,2 \text{ mg L}^{-1}$ Ca, 36,88 - $402,5 \text{ mg L}^{-1}$ K e 3,14 - $80,88 \text{ mg L}^{-1}$ Mg. Essas concentrações estão situ-

adas dentro das respectivas faixas lineares de trabalho definidas a partir das calibrações obtidas para as linhas secundárias do Ca (239,856 nm) e K (404,414 nm) e a linha alternativa do Mg (202,588 nm), revelando que o método desenvolvido atendeu os objetivos propostos. Os teores dos analitos nas amostras de plantas medicinais analisadas expressos em mg g^{-1} (massa seca) estão compilados na Tabela 4. Os resultados apresentados pelo método proposto não foram significativamente diferentes daqueles obtidos com a técnica alternativa (LS FAAS) ao nível de 95% de confiança. Testes de adição e recuperação de analito conduzidos em cinco digeridos de amostras forneceram os seguintes intervalos de recuperação: 88 - 104% (Ca), 89 - 105% (K) e 83 - 108% (Mg).

Tabela 4. Teores de Ca, K e Mg (em mg g^{-1} , média \pm desvio padrão) determinados ($n=3$) em plantas medicinais empregando o método proposto por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (CS AAS) e por espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas (LS AAS)

Amostra	Ca		K		Mg	
	CS AAS	LS AAS	CS AAS	LS AAS	CS AAS	LS AAS
Melissa	13,2 \pm 0,5	13,9 \pm 0,2	22,7 \pm 0,9	22,2 \pm 0,1	4,7 \pm 0,2	4,3 \pm 0,3
Ginkgo Biloba	33,3 \pm 1,9	32,5 \pm 2,5	9,3 \pm 0,4	9,0 \pm 0,1	7,2 \pm 0,4	6,7 \pm 0,1
Hortelã	18,4 \pm 0,6	17,8 \pm 0,1	22,8 \pm 0,7	23,6 \pm 0,5	8,4 \pm 0,3	8,0 \pm 0,2
Sene	45,9 \pm 0,2	46,3 \pm 0,3	9,1 \pm 0,6	9,7 \pm 0,1	3,9 \pm 0,2	3,6 \pm 0,1
Cáscara Sagrada	16,9 \pm 1,1	16,1 \pm 0,7	3,9 \pm 0,2	3,6 \pm 0,1	1,7 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1
Graviola	11,5 \pm 0,7	10,8 \pm 0,1	9,4 \pm 0,3	9,8 \pm 0,1	3,3 \pm 0,3	3,5 \pm 0,2
Poejo	7,7 \pm 0,4	7,3 \pm 0,1	25,6 \pm 1,8	26,9 \pm 2,0	2,1 \pm 0,2	2,0 \pm 0,1
Ginseng	2,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	25,0 \pm 0,8	25,5 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1
Pata de Vaca	20,3 \pm 0,8	19,7 \pm 0,5	16,1 \pm 1,0	16,9 \pm 0,1	2,4 \pm 0,2	2,7 \pm 0,2
Erva Doce	7,3 \pm 0,4	6,8 \pm 0,4	18,7 \pm 1,1	19,4 \pm 0,9	1,8 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
Boldo do Chile	7,9 \pm 0,3	7,2 \pm 0,3	13,7 \pm 0,6	14,3 \pm 0,2	1,0 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1
Camomila	5,5 \pm 0,2	5,2 \pm 0,1	27,9 \pm 1,1	28,4 \pm 0,6	2,3 \pm 0,2	2,2 \pm 0,2
Centelha Asiática	6,6 \pm 0,3	6,0 \pm 0,2	25,1 \pm 1,2	24,7 \pm 0,4	2,2 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1
Guaçatonga	7,8 \pm 0,4	8,2 \pm 0,1	26,4 \pm 0,9	25,6 \pm 0,9	4,4 \pm 0,4	4,7 \pm 0,3
Chapéu de Couro	8,5 \pm 0,3	8,1 \pm 0,1	38,3 \pm 1,3	39,6 \pm 1,5	2,5 \pm 0,2	2,8 \pm 0,2
Erva Cidreira	2,7 \pm 0,2	2,5 \pm 0,1	25,7 \pm 0,8	26,9 \pm 0,5	0,43 \pm 0,06	0,40 \pm 0,03
Espinheira Santa	9,2 \pm 0,5	8,5 \pm 0,7	10,2 \pm 0,5	10,7 \pm 0,4	2,4 \pm 0,2	2,6 \pm 0,1
Guaco	10,7 \pm 0,9	10,0 \pm 0,8	25,7 \pm 0,7	25,1 \pm 0,8	1,1 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1
Carqueja	5,3 \pm 0,4	5,9 \pm 0,1	18,5 \pm 0,6	18,1 \pm 0,7	0,35 \pm 0,02	0,32 \pm 0,02
Cavalinha	12,8 \pm 0,5	12,2 \pm 0,5	19,1 \pm 1,1	19,5 \pm 1,4	2,2 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1

CONCLUSÕES

O arranjo instrumental da técnica HR-CS FAAS permitiu monitorar de modo rápido e sequencial as linhas secundárias do Ca em 239,856 nm, do K em 404,414 nm e a linha alternativa do Mg em 202,588 nm. Medir a absorvância do Mg na asa do comprimento de onda secundário foi essencial para estender a faixa linear de trabalho até 80 mg L⁻¹ e viabilizar a determinação conjunta de Ca, K e Mg em alíquotas únicas de digeridos de plantas medicinais, evitando diluições sucessivas de amostra. Os resultados foram compatíveis com os obtidos por espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (Proc. 09/52480-0) e FUNDUNESP (Proc. 01113/11) pelo auxílio concedido, a CAPES pela bolsa de estudos de J.F.R, e ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa de J.A.G.N.

REFERÊNCIAS

- [1] Andrade, E. C. B.; Alves, S. P.; Takase, I. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25 (2005) 844.
- [2] Welz, B.; Sperling, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd ed. Weinheim: Wiley-VCH; 1999.
- [3] Weng, D. *Spectrosc. and Spectral Anal.* 24 (2004) 1458.
- [4] Oliveira, S. R.; Gomes Neto, J. A.; Nóbrega, J. A.; Jones, B. T. *Spectrochim. Acta Part B* 65 (2010) 316.
- [5] Oliveira, S. R.; Raposo Jr. J. L.; Gomes Neto, J. A. *Spectrochim Acta Part B* 64 (2009) 593.
- [6] Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U. *High-Resolution Continuum Source AAS. The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry*. 1st ed. Weinheim: Wiley-VCH; 2005.
- [7] Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Vale, M.G.R. *J. Braz. Chem. Soc.* 14 (2003) 220.
- [8] Raposo Jr, J. L.; Oliveira, S. R.; Caldas, N. M.; Gomes Neto, J.A. *Anal. Chim. Acta* 627 (2008) 198.
- [9] Krug F.J. (Ed.). *Métodos de Preparo de Amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*. 1st ed. Piracicaba; 2008.
- [10] Cardili, C.; Raposo Jr., J. L.; Cavalheiro, A. J.; Gomes Neto, J. A. *Braz. J. Anal. Chem.*, prelo.

[11] Malavolta, E. *Elementos de nutrição mineral de plantas*. 1st ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda; 1980.

[12] Currie, L. A. *Anal. Chim. Acta* 391 (1999) 105.