

# Comunicado 196

## Técnico

ISSN 1678-961X  
Dezembro, 2010  
Santo Antônio de Goiás, GO

Foto: Lorrana Nara N. Nóbrega



## Metodologia Científica: Aperfeiçoamento metodológico para digestão assistida via micro-ondas na análise mineral de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Diego Mendes de Souza<sup>1</sup>  
Priscila Zaczuk Bassinello<sup>2</sup>  
Lorrana Nara Naves Nóbrega<sup>3</sup>

### Introdução

A Embrapa Arroz e Feijão, apoiada pelos programas Harvest-Plus, Agrosalud e projeto Monsanto-Embrapa, vem atuando na biofortificação do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com os minerais ferro (Fe) e zinco (Zn), no intuito de desenvolver cultivares comerciais com fontes elevadas desses nutrientes, dada a sua importância na alimentação humana (NUTTI et al., 2010). O processo se inicia por meio do desenvolvimento de populações segregantes a partir de cruzamentos genéticos entre acessos provenientes do banco de germoplasma previamente selecionados. Nesse sentido, o processo de extração mineral em amostras dos grãos de interesse e sua determinação são requisitos na avaliação e na seleção das cultivares genéticas melhoradas. Para a determinação dos nutrientes presentes em amostras de tecido vegetal, como os grãos de feijoeiro comum, deve-se promover a oxidação

da matéria orgânica, disponibilizando-os à forma aquosa. O método de extração mineral normalmente utilizado para este fim é a digestão por via úmida, que se utiliza do ataque promovido por meio ácido e térmico (SILVA, 1999). Ainda que a digestão via úmida nitro-perclórica em bloco digestor seja uma técnica tradicional na dissolução de tecidos vegetais, especialmente por solubilizar quase totalmente a amostra e ser menos onerosa, o seu processo apresenta algumas limitações tais como: emissão de vapores tóxicos, o que implica necessidade de utilização de equipamentos especiais (capela de exaustão de gases); tempo para o processo de digestão demasiado longo; alta probabilidade de contaminação; e riscos de segurança aos analistas devido à capacidade explosiva do ácido perclórico (BERNARDI et al., 2008). Um método alternativo é a digestão assistida de amostras por micro-ondas, digestor específico para laboratórios analíticos, que traz vantagens como a eliminação do uso de ácido perclórico, redução de tempo e menor contaminação

<sup>1</sup> Químico Industrial, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, [diego@cnpaf.embrapa.br](mailto:diego@cnpaf.embrapa.br)

<sup>2</sup> Engenheira agrônoma, Doutora em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, [pzbassin@cnpaf.embrapa.br](mailto:pzbassin@cnpaf.embrapa.br)

<sup>3</sup> Química Industrial, Bolsista PIBIQ do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - IFG, Goiânia, GO, [lrrananara@cnpaf.embrapa.br](mailto:lrrananara@cnpaf.embrapa.br)

das amostras (MELO; SILVA, 2008). Embora a metodologia tradicional apresente boa recuperação de minerais em amostras de feijão, há a necessidade de um método rápido de extração para rotina laboratorial e, assim, de ajustes na técnica de digestão assistida em sistema fechado de micro-ondas. Para este fim, comparou-se a técnica de digestão ácida com a técnica de digestão assistida. Aplicou-se para a amostra de feijoeiro comum tipo preto, proveniente do Banco de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão (BRS Valente), a digestão úmida nitro-perclórica e realizaram-se testes utilizando diferentes volumes de ácido nítrico na digestão assistida em micro-ondas. Optou-se por apenas uma amostra, para viabilizar um estudo da recuperação mineral com maior número de repetições (grau de liberdade), aumentando a confiabilidade das inferências estatísticas, o que significa intervalos de confiança mais estreitos.

Para garantir a qualidade de um resultado analítico, é importante verificar as incertezas a ele associadas. A exatidão de um resultado pode ser comprovada através do emprego de materiais de referência obtidos pela participação em programas interlaboratoriais, que, ao trabalharem com métodos independentes, podem comparar quantitativamente os resultados obtidos quando levam em consideração todos os fatores de influência para as variabilidades do processo de medição envolvido. Quando se deseja avaliar o desempenho técnico dos laboratórios, especialmente em testes de proficiência, são adotadas técnicas estatísticas como o *Z Score*. O conceito da estatística "z" da distribuição normal é a base matemática desta técnica (CHUI et al., 2004). Outras medidas estatísticas para aceitação ou rejeição de dados que seguem uma distribuição normal podem ainda ser empregadas no intuito de comparar o valor obtido em um experimento a um valor obtido por um método de referência. Nesse caso, podem-se empregar os testes de hipótese nula  $H_0$  para a média e a variância dos métodos estudados, também conhecidos como teste T de Student e teste F, respectivamente (SKOOG et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência na recuperação de minerais por meio do método de digestão em micro-ondas adaptado e analisar se essa recuperação é confiável com o uso de menor volume de ácido nítrico, otimizando-se, desta forma, o método. Neste comunicado, são relatadas todas

as etapas e procedimentos para a condução das análises, assim como, discutidos os resultados e o alcance dos principais objetivos do trabalho com base em análise estatística e cálculo do *Z Score*.

## Materiais e métodos

### Reagentes

- Ácido Nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) 65% P.A. (Merck)
- Ácido Perclórico 70% P.A. (QM)
- Água deionizada (Milli-Q)
- Solução de mistura nitro-perclórica (2:1)
- Solução estoque de Fe 1000 mg.kg<sup>-1</sup>(SpecSol)
- Solução estoque de Zn 1000 mg.kg<sup>-1</sup>(SpecSol)
- Solução de ácido nítrico 5% (20 L)
- Detergente com pH neutro

### Materiais

- Sacos plásticos transparentes (11 cm x 16 cm)
- Espátula de plástico
- Placas – Petri (diâm. 6 cm)
- Torquímetro
- Tubos de polifluór alcoxí etileno (PFA) para micro-ondas
- Tubos de ensaio em vidro (Vidrolabor)
- Suporte para tubos de ensaio em aço inoxidável
- Suporte giratório para tubos de PFA (carrossel)
- Balões volumétricos de 100 mL (Vidrolabor)
- Frascos âmbar de vidro 150 mL (Vidrolabor)
- Micropipeta eletrônica até 100  $\mu\text{L}$  (Pipetman)
- Tubos de polifluór alcoxí etileno para acondicionamento de extrato
- Peneira de plástico
- Papel toalha

### Equipamentos

- Digestor de amostras micro-ondas (Mars)
- Bloco digestor de aquecimento
- Espectrômetro de absorção atômica (Perkin Elmer 306 - 1979)
- Moinho de bolas de zircônio (Restch)
- Agitador de tubos tipo vortex (Biomixer)
- Estufa retilínea (Fanem)
- Balança analítica (Celtac)

## Preparo de Soluções

### Solução nitro-perclórica (2:1)

Adicionaram-se 200 mL de ácido nítrico 65% e 100 mL do ácido perclórico 70% a uma proveta graduada de 500 mL. Transferiu-se a solução obtida para um recipiente de armazenamento devidamente identificado e estocou-se a mistura em laboratório à temperatura ambiente.

## Preparo das soluções padrão

Prepararam-se as soluções padrão a partir de diluições de solução estoque SpecSol (1.000 mg.kg<sup>-1</sup>) para os minerais Fe e Zn. As diluições foram realizadas utilizando-se 20% do ácido nítrico 65%, completando-se o volume com água deionizada (Milli-Q), utilizando micropipetas e balões volumétricos de 100 mL.

Construiu-se então uma curva de calibração com as concentrações variando de 0,0 mg.kg<sup>-1</sup> a 2,0 mg.kg<sup>-1</sup> a cada 0,5 mg.kg<sup>-1</sup>. Devido à liberação de calor no preparo da solução, aguardaram-se 24 horas até que a temperatura da solução se estabilizasse, e então, aferiu-se o menisco. Agitaram-se as soluções manualmente, e transferiram-se para frascos de vidro âmbar devidamente descontaminados.

## Métodos

### Procedimento para limpeza e descontaminação de vidrarias

A adequada limpeza e descontaminação dos materiais empregados para a determinação de micronutrientes em amostras de feijão é uma etapa importante e imprescindível para a obtenção de resultados confiáveis e seguros. Especialmente o elemento Fe<sup>+2</sup>, que se apresenta bastante solúvel, pode servir como fonte de contaminação, já que está presente na composição de diversos equipamentos e materiais de laboratório e, em sua forma oxidada, representa uma fonte contaminante ainda maior. (ANALISA, 2009). Dessa forma, os materiais foram previamente lavados em água destilada e posteriormente descontaminados, sendo imersos em uma solução de ácido nítrico a 5% por 24 horas.

## Procedimentos Operacionais

### Preparo da amostra

#### • Coleta

Foram coletadas manualmente 20 vagens na altura do terço médio das plantas, de forma aleatória e sem o contato dos grãos com o solo, para evitar a contaminação da amostra. As amostras foram coletadas na região de Porangatu-GO sem estresse hídrico ao final de 2008. Em seguida, os grãos recém colhidos foram armazenados em câmara fria à temperatura de 10 °C até o momento do preparo da amostra para a realização dos testes.

#### • Moagem

Para o processo de extração mineral, lavaram-se os grãos de feijão com água destilada (2x), utilizando-se peneira de plástico para evitar a contaminação das amostras por metais. Secaram-se os grãos com papel toalha para remoção do excesso de umidade e, posteriormente, em estufa à 60 °C por 12 horas. Em seguida, moeram-se os grãos utilizando-se o moinho de bolas de zircônio.

#### • Pesagem

Para a pesagem das amostras, utilizaram-se espátulas e luvas de plástico para que não houvesse contaminação de metais na amostra. Para a determinação de Zn em feijão, não é indicada a manipulação da amostra com a utilização de luvas látex, já que o talco apresenta em sua composição óxido de zinco, servindo como fonte de contaminação. Utilizou-se balança analítica previamente calibrada nas pesagens.

### Procedimentos para extração mineral de feijoeiro comum

Este trabalho teve como objetivo o aperfeiçoamento do método de digestão em sistema micro-ondas e a avaliação de sua precisão com a variação do volume de ácido. Assim, para a realização dos testes, optou-se por utilizar a mesma massa da amostra adotada no método tradicional adaptado (digestão úmida nitro-perclórica), já que esta quantidade é representativa da população amostral e, com menor massa, pode-se otimizar o tempo de moagem, acelerando a realização das análises. Para reduzir interferências, a digestão das amostras pelos diferentes métodos foi realizada no mesmo dia, assim como a leitura das amostras. O teste prosseguiu utilizando a mesma amostra de feijão preto BRS Valente, aumentando-se o grau de liberdade para oito, a fim de melhorar a exatidão e reduzir o erro.

### Digestão úmida nitro-perclórica (2:1)

Seguindo a adaptação do método tradicional descrito por Horwitz (1997) para digestão nitro-perclórica, pesou-se 0,200 g da amostra de feijão. Adicionaram-se 2 mL da mistura ácida nitro-perclórica (2:1), e então prosseguiu-se o aquecimento gradativamente até a temperatura de 210 °C. Para isso, elevou-se a temperatura em 50°C a cada meia hora. Após três horas de digestão à temperatura máxima, retiraram-se as amostras do bloco de aquecimento a fim de se adicionarem

mais 2 ml da mistura ácida. A digestão prosseguiu até que o volume final estivesse baixo e o extrato límpido. Ao final da digestão, resfriaram-se as amostras, pesaram-se os extratos finais em balança analítica, e então, diluíram-se as mesmas utilizando 20 g de água deionizada (Milli-Q).

### **Digestão assistida em micro-ondas com volume reduzido de ácido**

Pesou-se 0,200 g da amostra de feijão em tubos de polipropileno descontaminados. Na primeira bateria, adicionaram-se 2 mL de ácido nítrico e completou-se o volume com 3 ml de água deionizada (Milli-Q). Fecharam-se os tubos utilizando um torquímetro e programou-se o equipamento para 15 minutos de digestão à temperatura de 170 °C, determinando-se o tempo de rampagem de 10 minutos. Ao finalizar a digestão, retiraram-se os tubos do carrossel (suporte giratório), pesaram-se os extratos em balança analítica e então diluíram-se as amostras com 20 g de água deionizada (Milli-Q).

### **Digestão assistida em micro-ondas (sistema fechado) com maior volume de ácido**

Pesou-se 0,200 g da amostra de feijão em tubos de polipropileno descontaminados. Na primeira bateria, adicionaram-se 3 mL de ácido nítrico e completou-se o volume com 3 ml de água deionizada (Milli-Q). Fecharam-se os tubos utilizando um torquímetro e programou-se o equipamento para 15 minutos de digestão à temperatura de 170 °C, determinando-se o tempo de rampagem de 10 minutos. Ao finalizar a digestão, retiraram-se os tubos do carrossel (suporte giratório), pesaram-se os extratos em balança analítica e então se diluíram as amostras com 20 g de água deionizada (Milli-Q).

### **Determinação de umidade**

O método empregado para a determinação de umidade seguiu o procedimento gravimétrico descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (ZENEBON; PASCUET, 2005), baseado na remoção da água por aquecimento. Inicialmente, identificaram-se as placas de Petri e prosseguiu-se o teste, colocando-as em estufa durante 16 horas à 105 °C ± 5°C, até que atingissem o peso constante. Após esse período, as placas foram removidas da estufa e colocadas no dessecador durante 1 hora a fim de resfriarem e não absorverem umidade. Pesaram-se então as placas em balança analítica e anotaram-se os valores das massas. Adicionou-se 1,000 g - 1,0010 g da

amostra, e anotou-se o peso novamente. Após a pesagem, colocaram-se novamente as placas de Petri com amostra em estufa até que atingissem o peso constante. Após retirar as placas com amostra da estufa, colocaram-nas no dessecador durante 1 hora. Pesaram-se as placas com amostra, registrando-se os pesos.

### **Determinação de minerais Fe e Zn por espectrometria de absorção atômica em chama de ar/acetileno**

O equipamento utilizado para a determinação de Fe em espectrometria de absorção atômica foi o espectrofotômetro da Perkin Elmer 306 em chama de ar/acetileno. As amostras foram armazenadas em tubos de polipropileno e identificadas com a sigla de sua nomenclatura. Para a realização da leitura de Fe e Zn, calibrou-se o equipamento selecionando-se os comprimentos de onda no UV-VIS a 248,3 nm e 213,9 nm, respectivamente. Ajustou-se a corrente da lâmpada de cátodo de acordo com a especificação da lâmpada e a posição do feixe de luz colinear com a fenda do queimador. Aguardaram-se 15 minutos até que a lâmpada estivesse aquecida e estável, e então realizou-se a leitura das amostras.

### **Procedimentos para tratamento estatístico e avaliação de dados**

#### **Índice de desempenho, exatidão**

Calculou-se o valor de “z” para cada método através da expressão  $z = (x - \mu)/s$ , onde “x” é o valor do resultado obtido pelo método para a amostra do programa interlaboratorial FAPAS; “ $\mu$ ” é a estimativa do valor verdadeiro obtido pelos laboratórios participantes (fornecido pelo FAPAS); e “s” é a estimativa do desvio padrão para “ $\mu$ ”. A aceitação do resultado obtido pelo método seguiu o seguinte critério: se  $|z| < 2$ , indica desempenho satisfatório; se  $2 < |z| < 3$ , o desempenho é questionável; e quando  $|z| > 3$ , o desempenho é considerado não satisfatório (CHUI et al., 2004).

#### **Análise de variância e comparação de médias**

Para determinar se as diferenças das variâncias e médias encontradas para as amostras de feijoeiro comum entre as medidas dos dois métodos são estatisticamente significantes, aplicou-se respectivamente os testes F e T. Aplicou-se  $\alpha$  ao nível de significância de 0,05 e 8 graus de liberdade. O nível de significância representa a

probabilidade de se ter um erro pela rejeição da hipótese nula. Com  $\alpha$  a 0,05, tem-se 95% de confiabilidade de que a resposta fornecida pelo teste seja verdadeira (SKOOG et al., 2007).

## Discussão dos Resultados

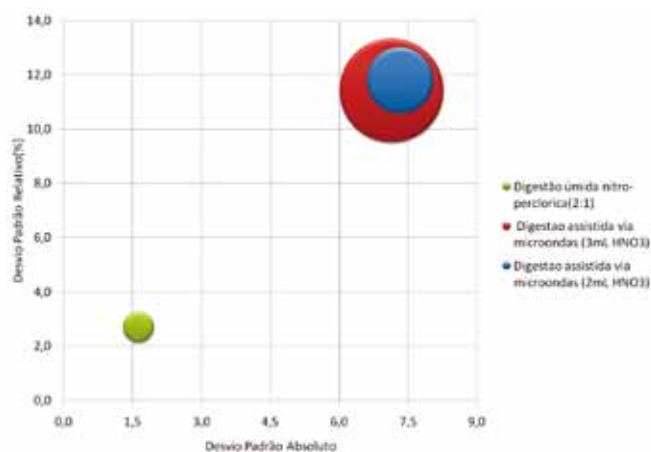
Os resultados das concentrações de Fe e Zn obtidos para a amostra BRS Valente no espectrofotômetro de absorção atômica podem ser observados na Figura 1. Para a avaliação do índice de desempenho de cada método, utilizou-se uma amostra controle de origem vegetal do programa de proficiência laboratorial FAPAS, cujos teores de Fe e Zn são



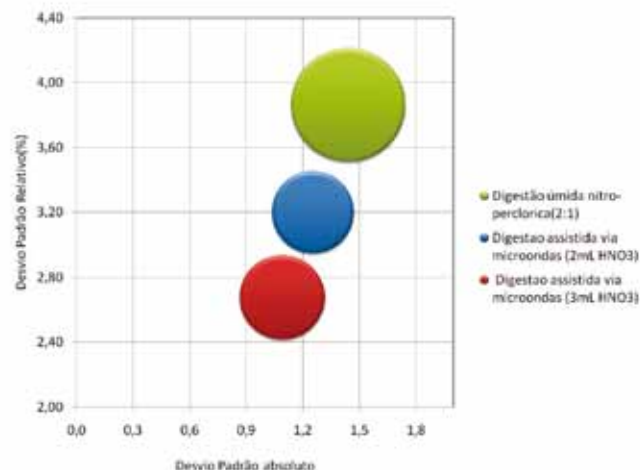
**Figura 1.** Teores de Fe e Zn obtidos para a amostra BRS Valente por diferentes métodos de digestão.

conhecidos.

Para a avaliação da dispersão dos dados na determinação de Fe e Zn para a amostra BRS Valente e a sua exatidão, utilizaram-se gráficos



**Figura 2.** Dispersão de valores em precisão para a leitura de ferro.



de bolhas representados nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

**Figura 3.** Dispersão de valores em precisão para a leitura de zinco.

Para a determinação de Fe, os resultados obtidos apresentaram melhor precisão pela metodologia tradicional, porém, observa-se que para todos os métodos a dispersão dos valores foi baixa. Calculando-se o  $|z|$  da amostra proveniente do programa interlaboratorial FAPAS para fins de comprovação estatística, os valores obtidos para Fe situaram-se dentro da faixa de desempenho satisfatório ( $|z| < 2$ ), mostrando que as determinações obtidas pelos métodos estudados estão em ótima faixa de exatidão. Para as determinações de Zn, observa-se que os resultados apresentaram linearidade, onde o método da digestão assistida em micro-ondas utilizando-se maior volume de ácido apresentou menor dispersão. Calculando-se ainda o  $|z|$ , observou-se que, pelo método tradicional, este índice apresentou seu valor um pouco acima da faixa aceitável, desempenho questionável, demonstrando que a exatidão para este mineral é melhor pela digestão assistida via micro-ondas. Observando-se que a exatidão na leitura de Fe e Zn foi satisfatória para ambos os métodos de extração mineral via micro-ondas, a opção pelo método de digestão utilizando menor volume é vantajosa, já que se minimizam os custos em reagentes e a geração de resíduos. Para se avaliarem diferenças estatísticas entre os métodos da digestão assistida via micro-ondas com 2 mL de ácido nítrico e a digestão úmida nitro-perclórica, aplicaram-se os testes F e T com  $\alpha$  a 0,05 e 8

graus de liberdade. O valor tabelado de F foi de 3,79, enquanto os valores para Fe e Zn calculados foram de 20,15 e 2,39, respectivamente.

Observando-se que para o Fe o valor encontrado foi maior que o tabelado, infere-se que para esta leitura houve diferença estatisticamente significativa entre as variâncias. A fim de determinar se as médias também apresentaram diferenças estatísticas, aplicou-se o teste T, com a hipótese de heterocedastia (variâncias diferentes) para o mineral Fe. Os valores obtidos então para Fe e Zn foram de 0,5501 e 0,0154 respectivamente, enquanto o tabelado foi de 2,306. Os resultados evidenciam que, para as médias, não houve diferenças estatísticas para ambas as determinações minerais pelos diferentes métodos de digestão. A diferença estatística entre as variâncias para a determinação de Fe pode ser justificada pela alta variação na leitura para este mineral pelo equipamento da Perkin Elmer 306, de baixa sensibilidade e precisão em relação a amostras de baixos conteúdos desses minerais. A literatura registra que o espectro do ferro, devido à sua complexidade em linhas espectrais, pode ocasionar várias interferências espectrais (JAEGER et al., 2000). Observa-se ainda que este é um espectrofotômetro antigo, fabricação datada em 1974, apresentando oscilações freqüentes da chama. Com isso, a validação dos resultados por meio do teste T (hipótese de médias iguais) e o cálculo do índice  $|z|$  foram fundamentais, mostrando que os resultados se apresentaram com satisfatória exatidão na determinação mineral pelo método de digestão assistida em micro-ondas para ambos os minerais. Conclui-se então que o método de extração mineral por digestão assistida via micro-ondas com 2 mL pode ser aplicado com confiabilidade e precisão para a análise de feijoeiro comum.

## Referências

ANALISA: kit para determinação de ferro por metodologia colorimétrica-ferrozina. 2009. Disponível em: <<http://www.goldanalisa.com.br/produtos/FERRO.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2010.

BERNARDI, A. C. de C.; SOUZA, G. B. de; OKA, S. H.; RASSINI, J. B. **Equivalência de métodos na extração de potássio da parte aérea de alfafa e de capim-tanzânia**

**com água ou com solução ácida concentrada ou diluída.** São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008. 5 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Comunicado técnico, 86).

CHUI, Q. S. H.; BISPO, J. M. de. A.; IAMASHITA, C. O. O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 993-1003, 2004.

HORWITZ, W. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1997. v. 1, cap. 3, p. 3-4.

JAEGER, H. V.; SANTOS JÚNIOR, A. de F.; CABRAL, A. M. V.; KORN, M. das G. A.; COSTA, A. C. S. Avaliação preliminar de interferências provocadas por ferro na determinação de íons metálicos empregando espectrometria de absorção atômica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas. **Resumos**. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0561-1/index.html>>. Acesso em: 20 mar. 2010.

MELO, L. C. A.; SILVA, C. A. Influência de métodos de digestão e massa de amostra na recuperação de nutrientes em resíduos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 556-561, 2008.

NUTTI, M. R.; WATANABE, E.; CARVALHO, J. L. V. de; FUKUDA, W.; SILVA, J. B. C. da; DEL PELOSO, M. J.; BASSINELLO, P. Z.; NEVES, P. de C. F.; ROCHA, M. de M.; SCHAFFERT, R. E.; SHEEREN, P. L.; RAMOS, S. R. R.; CARVALHO, H. W. L. de; CURADO, F. F.; FIGUEIREDO, R.; SALVADOR, L.; SILVA, E. M. M. da; RANGEL, C. N.; BOUIS, H. Strategies for biofortification in Brazil. In: SERAGELDIN, I.; MASSOD, E.; EL-FAHAM, M.; EL-WAKIL, M. (Ed.). **From promises to practice: applications of science and technology in food, healthcare, energy and environment**. Alexandria: Bibliotheca Alexandrina, 2010. p. 177-193.

SILVA, F. C. da (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizante**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 49-73, 171-223.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2007. p. 133-147.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S. (Coord.). **Métodos físico-**



**Comunicado Técnico, 196**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Arroz e Feijão**  
Rod. GO 462 Km 12 Zona Rural Caixa Postal 79  
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO  
**Fone:** (62) 3533 2123  
**Fax:** (62) 3533 2100  
**E-mail:** sac@cnpaf.embrapa.br



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



**1ª edição**  
Versão online (2010)

**Comitê de publicações**

**Presidente:** *Luís Fernando Stone*  
**Secretário-Executivo:** *Luiz Roberto R. da Silva*  
**Membro:** *Eduardo da Costa Eifert*  
*Flávia Aparecida Alcântara*

**Expediente**

**Supervisão editorial:** *Camilla Souza de Oliveira*  
**Revisão de texto:** *Camilla Souza de Oliveira*  
**Normalização bibliográfica:** *Ana Lúcia D. de Faria*  
**Tratamento das ilustrações:** *Fabiano Severino*  
**Editoração eletrônica:** *Fabiano Severino*