



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio Mesquita Filho”



Instituto de Química de Araraquara

Dissertação de Mestrado

**“Desenvolvimento de método analítico para a
determinação de vanádio em material vegetal por
espectrometria de absorção atômica em forno de
grafite”**

Beatriz Ambrozini

Junho
2007

BEATRIZ AMBROZINI

**Desenvolvimento de método analítico para a
determinação de vanádio em material vegetal por
espectrometria de absorção atômica em forno de
grafite**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Química, área de concentração Química
Analítica.

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

**Araraquara
2007**

BEATRIZ AMBROZINI

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 25 de junho de 2007.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. José Anchieta Gomes Neto
(Orientador)
Instituto de Química – UNESP,
Araraquara.

Prof^o. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento
Faculdade de Ciências Farmacêuticas –
UNESP, Araraquara.

Prof^o. Dr. Marco Aurélio Zezzi Arruda
Instituto de Química – Unicamp, Campinas.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Dolores e Orlando**

Com amor, admiração e gratidão pela dedicação com a minha formação e desenvolvimento e pelo exemplo de vida.

Ao meu namorado **Danilo**

Pelo amor, estímulo, confiança e compreensão.

Às minhas irmãs **Rita e Raquel**

Pela estrutura familiar e apoio em todas as etapas da minha vida.

É com todo o meu carinho que lhes dedico este trabalho.

Agradecimentos

Agradeço a todos que juntos contribuíram para a concretização deste trabalho.

Em especial gostaria de agradecer,

A Deus, por todas as oportunidades que tenho em minha vida;

Ao Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto pelos inúmeros ensinamentos, amizade, paciência e excelente orientação;

Ao Prof. Dr. Luis Vitor Sacramento pela amizade, incentivo e valiosas sugestões;

À Profa. Dra. Mercedes de Moraes, pela amizade, apoio e contribuições durante o trabalho;

A todos os professores do IQ que contribuíram com seus ensinamentos;

A todos os colegas de laboratório: Vanessa, Silvana, Naíse, Volnei, Jorge, Roberta, Patrícia e Marielsa pela constante ajuda, paciência, união e amizade a qualquer hora;

A todos os funcionários do IQ, principalmente, as secretárias da seção de pós-graduação e as bibliotecárias por todo auxílio e prestabilidade na solução de inúmeros problemas;

À Coordenação de Auxílio à Pesquisa CAPES pela bolsa concedida.

A todos, minha eterna gratidão.

Reverência ao destino

Falar é completamente fácil, quando se tem palavras em mente que se expresse sua opinião...

Difícil é expressar por gestos e atitudes, o que realmente queremos dizer.

Fácil é julgar pessoas que estão sendo expostas pelas circunstâncias...

Difícil é encontrar e refletir sobre os seus próprios erros.

Fácil é fazer companhia a alguém, dizer o que ela deseja ouvir...

Difícil é ser amigo para todas as horas e dizer a verdade quando for preciso.

Fácil é analisar a situação alheia e poder aconselhar sobre a mesma...

Difícil é vivenciar esta situação e saber o que fazer.

Fácil é demonstrar raiva e impaciência quando algo o deixa irritado...

Difícil é expressar o seu amor a alguém que realmente te conhece.

Fácil é viver sem ter que se preocupar com o amanhã...

Difícil é questionar e tentar melhorar suas atitudes impulsivas e as vezes impetuosas, a cada dia que passa.

Fácil é mentir aos quatro ventos o que tentamos camuflar...

Difícil é mentir para o nosso coração.

Fácil é ver o que queremos enxergar...

Difícil é saber que nos iludimos com o que achávamos ter visto.

*Fácil é ditar regras e,
Difícil é segui-las...*

(Carlos Drummond de Andrade).

RESUMO

Os modificadores químicos W, Rh e BaF₂ foram avaliados no desenvolvimento de método analítico para a determinação de vanádio em material vegetal por espectrometria de absorção atômica simultânea em forno de grafite. O comportamento térmico do vanádio foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização em meio de uma matriz composta pela suspensão de fragmentos de folhas ou raízes de plantas de salsa (*Petroselinum* sp). Os melhores comportamentos de vanádio foram observados quando não se usa modificador e para o BaF₂. Curvas analíticas (0,0 a 50 µg L⁻¹ V) construídas por compatibilização de matriz forneceram boas correlações lineares ($r^2 = 0,9989$). As concentrações de vanádio em salsinhas cultivadas via hidroponia variaram de 0,69 a 2,23 µg g⁻¹. Os resultados obtidos para o material vegetal analisado com e sem modificador foram concordantes ao nível de 95% de confiança. Os limites de detecção (LOD) foram 0,94 e 0,74 µg L⁻¹, sem e com modificador, respectivamente. O desvio padrão relativo (r.s.d) foi 4,2% (sem modificador) e 2,6% (BaF₂) e as respectivas massas características foram 17 pg V e 15,8 pg V. Dois materiais de referência certificados da National Institute of Standards and Technology (Tomato leaves 1573a e Spinach Leaves 1570a) foram analisados e os valores encontrados foram concordantes ao nível de 95% de confiança com os valores certificados. A validação dos métodos desenvolvidos envolveu o emprego do estudo de adição e recuperação de padrão. As recuperações variaram de 93 a 108% e de 88 a 102%, sem e com modificador, respectivamente. O emprego de BaF₂ não eliminou os efeitos de memória causados pela formação de carbeto de vanádio refratários na plataforma do tubo de grafite.

Palavras-chave: vanádio, *Petroselinum* sp., GF AAS, suspensão, modificador químico.

ABSTRACT

Diferent chemical modifiers were evaluated at the development of analytical method to determinate vanadium in garden parsley samples enriched with vanadium by hydroponic system by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) technique. The electrothermal behavior of V was studied by means of pyrolysis and atomization temperature curves in the garden parsley matrix. The evaluated modifiers were: W, Rh, BaF₂ and modifier absence. The V better behaviors were observed for the BaF₂ modifier and in the absence of modifier, once they presented better transient signal profiles, better r.s.d and better characteristic masses were obtained. Analytical curves were built within 0,0-50,0 µg L⁻¹ interval using matrix matching calibration. Digest samples were employed to help the validation of the method. The V concentrations at the aerial parts of the garden parsley varied from 0,7 to 2,23 µg g⁻¹ and from 0,69 to 2,21 µg g⁻¹, in the modifier absence and in the presence of BaF₂, respectively. The limit of detection (LOD) were 0,94 and 0,74 µg L⁻¹, in the modifier absence and in the presence of BaF₂, respectively. The characteristic mass were 17 pg V and 15,8 pg V, in the modifier absence and in the presence of BaF₂, respectively. The relative standard deviation (r.s.d.) was ≤ 4,2 % in the modifier absence and ≤ 2,6% in the presence of BaF₂. At the roots of the enriched garden parsley, the concentrations varied from 2,93 to 3,44 µg g⁻¹ V and from 2,92 to 3,43 µg g⁻¹ V, without and with modifier, respectively. The limit of detection (LOD) were 0,64 and 0,70 µg L⁻¹, in the modifier absence and in the presence of BaF₂, respectively. The relative standard deviation (r.s.d.) was ≤ 3,3 % and ≤ 2,3%, in the modifier absence and in the presence of BaF₂, respectively. A paired t-test showed that results between all methods were in agreement at 95% confidence level. Two standard reference materials from the National Institute of Standards and Technology (Tomato leaves 1573a and Spinach leaves 1570a) were also analyzed and results were in agreement with certified values at a 95% confidence level. The BaF₂ use didn't reduce the memory effects caused by the formation of vanadium carbide at the graphite tube plataform. So, its utilization isn't necessary, as the literature shows, where the great parte of the samples don't ask for modifiers to V determination.

Keywords: vanadium, *Petroselinum* sp., GF AAS, slurry, chemical modifiers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica ²⁶	32
Figura 2. Esquema do conjunto do atomizador eletrotérmico.....	34
Figura 3. Representação de tubos de grafite HGA (A) e THGA (B).....	34
Figura 4. Processo de cavitação.....	44
Figura 5. Espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer SIMAA 6000.....	56
Figura 6. Diagrama com os principais componentes ópticos do espectrômetro utilizado. As letras entre parênteses correspondem a (a) lâmpadas HCL's ou EDL's; (b) espelhos; (c) tubos de grafite THGA [®] ; (d) fenda; (e) sistema dispersor (prisma e grade de difração Echelle); (f) detector de estado sólido.....	57
Figura 7. Casa de vegetação onde as amostras de salsinha foram cultivadas por hidroponia.....	62
Figura 8. Moinho criogênico e alguns dos seus principais componentes. (a) Moinho criogênico, (b) Tubo de policarbonato de maior capacidade e barra magnética e (c) tubo de policarbonato de menor capacidade e barra magnética.....	63
Figura 9. Suspensões de material vegetal. Na figura (a), uma amostra moída e prestes a ser diluída em 0,2% (v/v) HNO ₃ . Na figura (b), os balões correspondem às suspensões da parte aérea (esquerda) e da raiz (direita) de salsinha.....	64
Figura 10. Foto do procedimento para a digestão das amostras em microondas: (a) frascos de quartzo com capacidade para 50 mL contendo 50 mg de amostra + 3mL de ácido nítrico concentrado + 1 mL de H ₂ O ₂ 30% (m/m); (b) frascos de quartzo acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica e dispostos no rotor do forno de microondas; (c) amostras submetidas ao programa de aquecimento do forno de microondas descrito na Tabela 4	66
Figura 11. Curvas de pirólise e atomização na ausência de modificador químico referentes a 25 µg L ⁻¹ V em solução HNO ₃ 0,2% (v/v) (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO ₃ (B)	79
Figura 12. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a 25 µg L ⁻¹ V em solução 0,2% (v/v) HNO ₃ (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos na ausência de modificador químico.....	80

Figura 13. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando W como modificador químico e referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO_3 (B).....	82
Figura 14. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando W como modificador químico permanente.....	83
Figura 15. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando Rh como modificador químico e referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO_3 (B).....	84
Figura 16. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando Rh como modificador químico permanente.....	85
Figura 17. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando BaF_2 como modificador químico e referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO_3 (B).....	87
Figura 18. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando BaF_2 como modificador químico.....	88
Figura 19. Influência dos tempos de patamar nas medidas de absorbância e desvio padrão de suspensão de material vegetal na ausência de modificador (A) e na presença de BaF_2 (B).....	90
Figura 20. Efeito da massa de BaF_2 sobre o sinal de absorbância de vanádio.....	91
Figura 21. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) obtidos para vanádio presente em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida, obtidos na ausência de modificador, com o programa de aquecimento sem (A) e com (B) a etapa de pirólise assistida por ar.....	92
Figura 22. Curvas analíticas para V obtidas em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 (-■-), suspensão 0,5% (m/v) de parte aérea de salsinha, (-●-) e suspensão 0,5% (m/v) de raiz de salsinha (-▲-) na ausência de modificador (A) e na presença de BaF_2	96

Figura 23. Produção de matéria seca de parte aérea (MS-PA) e de raiz (MS-RZ) de salsa.....	105
Figura 24. Teor de vanádio em parte aérea (PA) e em raiz (RZ) de salsa enriquecida.....	106
Figura 25. Réplicas de amostras de salsinhas enriquecidas por hidroponia, nas concentrações 0,0; 1,5 e 3,0 mg L ⁻¹ , respectivamente, após trinta dias de cultivo.....	107
Figura 26. Partes aéreas das salsas cultivadas por hidroponia nas diferentes concentrações de vanádio.....	107
Figura 27. Raízes das salsas cultivadas por hidroponia nas diferentes concentrações de vanádio.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do vanádio ¹	18
Tabela 2. Razão N^*/N_0 e a dependência com a temperatura e comprimento de onda.....	31
Tabela 3. Programa de moagem criogênica para as amostras de salsinha.....	64
Tabela 4. Programa otimizado de forno de microondas para a digestão das salsinhas e SRMs.....	65
Tabela 5. Programa de aquecimento do tubo de grafite usado para depositar os modificadores permanentes Ru e W^{35}	67
Tabela 6. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento eletrotérmico do V em 0,2 % (v/v) HNO_3	68
Tabela 7. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento eletrotérmico do V em suspensão de material vegetal.....	70
Tabela 8. Principais características analíticas.....	89
Tabela 9. Influência da presença de gás auxiliar (ar) na pirólise a 600 °C na absorvância (A), no sinal de fundo (BG) e na repetibilidade (n=4).....	93
Tabela 10. Resultados comparativos para a representatividade da amostra.....	94
Tabela 11. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão (n=4) da determinação de V em amostras de parte aérea.....	98
Tabela 12. Recuperações (n=3) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de partes aéreas enriquecidas preparadas com $10\mu g L^{-1}$ e $20\mu g L^{-1}$ V e analisadas na ausência do modificador.....	100
Tabela 13. Recuperações (n=3) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de partes aéreas enriquecidas preparadas com $10\mu g L^{-1}$ e $20\mu g L^{-1}$ V e analisadas na presença de BaF_2	100
Tabela 14. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão (n=4) da determinação de V em amostras de raiz.....	101
Tabela 15. Recuperações (n=3) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de raízes enriquecidas preparadas com $10\mu g L^{-1}$ e $20\mu g L^{-1}$ V e analisadas na ausência do modificador.....	102
Tabela 16. Recuperações (n=3) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de raízes enriquecidas preparadas com $10\mu g L^{-1}$ e $20\mu g L^{-1}$ V e analisadas na presença de BaF_2	103

Tabela 17. Características analíticas dos métodos propostos para a determinação de V em amostras de salsinha enriquecidas via hidroponia.....	104
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAS	Espectrometria de absorção atômica , do acrônimo em inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
F AAS	Espectrometria de absorção atômica em chama , do acrônimo em inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite , do acrônimo em inglês <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
SIMAAS	Espectrometria de Absorção Atômica Simultânea , do acrônimo em inglês <i>Simultaneous Multi-element Atomic Absorption Spectrometry</i>
HR-CS AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua , do acrônimo em inglês <i>High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry</i>
THGA	Tubo de grafite com aquecimento transversal , do acrônimo em inglês <i>Transversely-Heated Graphite Atomizer</i>
HGA	Tubo de grafite com aquecimento longitudinal , do acrônimo em inglês <i>Heated Graphite Atomizer</i>
STPF	Forno com plataforma e temperatura estabilizada , do acrônimo em inglês <i>Stabilized Temperature Platform Furnace</i>
HCL	Lâmpada de catodo oco , do acrônimo em inglês <i>Hollow Cathode Lamp</i>
EDL	Lâmpada de Descarga sem eletrodo , do acrônimo em inglês <i>Electrodeless Discharge Lamp</i>
T_p	Temperatura de pirólise
T_a	Temperatura de atomização

ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado , do acrônimo em inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ICP MS	Espectrometria de Massa com fonte de Plasma Indutivamente Acoplado , do acrônimo em inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético , do acrônimo em inglês <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
SRM	Material de Referência Certificado , do acrônimo em inglês <i>Standard Reference Material</i>
s.d.	Desvio padrão , do acrônimo em inglês <i>Standard Deviation</i>
r.s.d.	Desvio Padrão Relativo , do acrônimo em inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
m_0	Massa característica
L.D.	Limite de detecção , do acrônimo em inglês <i>Limit of Detection</i>
L.Q.	Limite de quantificação , do acrônimo em inglês <i>Limit of Quantification</i>
BG	Sinal de fundo , do inglês <i>Background</i>
GPa	gigaPascal

• SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Vanádio	17
1.1.1. Histórico.....	17
1.1.2. Vanádio no solo.....	19
1.1.3. Vanádio nos alimentos.....	21
1.1.4. A importância do vanádio para a saúde humana.....	23
1.1.4.1. Diabetes Mellitus.....	26
1.2. A espectrometria de absorção atômica – princípios básicos	29
1.3. Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite	33
1.3.1. Modificador químico.....	37
1.3.2. Amostragem de sólidos.....	40
2. REVISÃO DE LITERATURA	47
3. PROPOSTA DE TRABALHO	55
4. PARTE EXPERIMENTAL	56
4.1. Material	56
4.1.1. Instrumentos e acessórios.....	56
4.1.2. Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados.....	58
4.1.3. Preparo das amostras.....	59
4.1.3.1. Tratamento de salsinha com vanádio.....	59
4.1.3.2. Enriquecimento de vegetais via hidroponia.....	60
4.1.3.3. Secagem da amostra.....	62
4.1.3.4. Moagem criogênica dos vegetais.....	62
4.1.3.5. Preparo das suspensões.....	64
4.1.3.6. Digestão em forno microondas.....	64
4.1.4. Descontaminação e armazenamento.....	66

4.2. Métodos	66
4.2.1. Recobrimento do tubo de grafite.....	67
4.2.2. Estudo do comportamento eletrotérmico de vanádio na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos.....	67
4.2.3. Estudo da influência do tempo de pirólise na absorbância de vanádio	70
4.2.4. Estudo do efeito da massa de BaF ₂ na absorbância do vanádio.....	70
4.2.5. Influência da matriz na absorbância.....	71
4.2.6. Influência da concentração da suspensão.....	71
4.2.7. Determinação de vanádio em suspensão de salsinha enriquecida.....	71
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
5.1. Estudo do comportamento eletrotérmico do V na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos	77
5.1.1. Ausência de modificadores químicos.....	78
5.1.2. Modificadores permanentes.....	80
5.1.2.1. Tungstênio.....	80
5.1.2.2. Ródio.....	83
5.1.3 Fluoreto de bário.....	85
5.2. Estudo da influência do tempo de pirólise na absorbância de vanádio	89
5.3. Efeito da massa de BaF₂ na absorbância do vanádio	91
5.4. Influência da presença de ar como gás auxiliar	91
5.5. Representatividade da amostra	93
5.6. Efeito de matriz	94
5.7. Determinação de vanádio	97
5.7.1. Determinação de vanádio nas partes aéreas das salsinhas.....	97
5.7.2. Determinação de vanádio nas raízes de salsinhas.....	100
5.8. Avaliação do procedimento de enriquecimento de vegetais	104
6. CONCLUSÃO	109

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
---	------------

1. INTRODUÇÃO

1.1. Vanádio

1.1.1. Histórico

O vanádio foi descoberto no ano de 1801 pelo mineralogista espanhol Andres Manuel del Rio, Diretor da Escola Real de Minas em Nueva España (México), estudando um minério de chumbo marrom de Zipaman. Por causa da cor vermelha dos sais produzidos pela acidificação ou aquecimento, ele chamou-o de *erythronium*. Entretanto, em 1802, del Rio reconsiderou suas afirmações e atribuiu tal comportamento ao cromato de chumbo, enquanto que H.V. Collet Descotils, um químico francês, declarou, em 1804, que as descobertas de Del Rio eram devido a uma forma impura de cromo¹.

Em 1830, o químico sueco N. F. Sefström, discípulo de Berzelius, redescobriu o vanádio enquanto investigava um minério de ferro que dava uma ampla e rica variedade de cores aos compostos. Wöhler, em 1831, disputou a originalidade das descobertas de Sefström, provando que o material era realmente o antes “novo” e depois “rejeitado” *erythronium* de del Rio¹.

Então, Berzelius propôs (talvez sem acreditar muito no que eles diziam) que o novo metal deveria ser chamado de vanádio por causa de Vanadis, a deusa Escandinávia da beleza e juventude (que tinha a reputação de ser muito prestativa para com os visitantes mais sérios) e não economizou favores ao tenaz Wöhler enquanto ignorava seu estudante Sefström¹.

O vanádio é um metal reluzente (brilhante), prateado, com estrutura metálica bcc e dois isótopos de ocorrência natural: ⁴⁹V 99,75% e ⁵⁰V 0,25% ¹. O

vanádio puro é relativamente macio e condutor, mas as impurezas geralmente têm um efeito endurecedor e enfraquecedor. Algumas de suas propriedades físico-químicas estão classificadas na **Tabela 1**¹.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do vanádio.¹

PROPRIEDADES	
Nº atômico	23
Massa atômica	50,9415
Configuração eletrônica	[Ar] 3d ² 4s ²
Ponto de fusão	1915 °C
Ponto de ebulição	3350 °C
Densidade (20 °C)	6,11 g cm ⁻¹
Resistência Elétrica	≅ 25μΩ cm

Apesar de o vanádio apresentar estados de oxidação de +5 a -1, os de estado +5 são os mais estáveis sob condições normais e estão presentes nos compostos mais importantes. Os vanadatos são principalmente os pentóxidos. A química do estado de oxidação +4 é dominada pelas espécies oxo VO²⁺ estáveis (vanadilo) que exercem um papel fundamental em uma ampla variedade de reações e formam muitos complexos¹.

Existem 18 elementos incluindo quatro metais de transição (ferro, titânio, manganês e zircônio) mais abundantes que o vanádio, sendo a sua abundância natural nas rochas da crosta terrestre estimada em 136 mg kg⁻¹ (i.e. 0,0136%)². O vanádio é encontrado principalmente em rochas máficas (basalto

200-250 mg kg⁻¹) e xisto (100-130 mg kg⁻¹), concentrações menores foram encontradas em pedras calcárias (10-45 mg kg⁻¹)³.

A principal jazida do metal encontra-se na África do Sul, mas também é encontrado na antiga União Soviética, na China e nos EUA.

Apesar de pelo menos 135 diferentes minerais de vanádio terem sido descritos até 1990, sedimentos contendo mais do que 1 ou 2% são muito escassos. Portanto, é comum se obter vanádio como um co-produto de outros materiais incluindo cinzas e produtos da queima de óleos¹. Este elemento é tido como um poluente do meio ambiente por causa dos seus altos níveis nos óleos combustíveis residuais e a subsequente emissão como matéria de pequenas partículas da combustão destes óleos em áreas urbanas⁴. O vanádio é o principal metal traço em produtos do petróleo, especialmente nas frações maiores⁵. A queima de combustíveis fósseis produz cerca de 110000 t ao ano de V que entram na atmosfera³.

O principal uso industrial do vanádio está nas catálises, particularmente naquelas nas quais o dióxido de enxofre é oxidado a H₂SO₄. Os outros principais usos do V são para endurecimento do aço, ingrediente de pigmentação de fotografia e como ingrediente de alguns inseticidas⁴.

1.1.2. Vanádio no solo

A concentração de vanádio no solo depende do material de origem e dos processos associados ao seu desenvolvimento. A composição do material de origem tem menos relação no teor do elemento em solos maduros e desenvolvidos. Mitchell⁵ relatou níveis de 20 a 250 mg V kg⁻¹ em solos escoceses e

relacionou essas diferenças ao material de origem de cada solo. Estudos na Polônia indicaram um nível médio de $18,4 \text{ mg V kg}^{-1}$ de solo com níveis mais altos em solos sedimentares e argilosos e níveis mais baixos em solos arenosos. Swaine⁵ dá uma variação de $20\text{-}500 \text{ mg V kg}^{-1}$ de solo para o conteúdo de V em solos “normais”, e um valor médio freqüentemente citado de 100 mg V kg^{-1} de solo é tirado de Vinogradov e Hopkins⁵.

A extração de compostos de vanádio do solo está ligada ao extrator, ao tipo de solo e a sua drenagem. Estudos mostraram conteúdo vanádico “extraível” de uma variedade de solos escoceses correspondente a $0,03\text{-}26 \text{ mg kg}^{-1}$, dependendo do grau de drenagem do solo, e do tipo do extrator usado. O EDTA foi um extrator mais eficiente do que o ácido acético, indicando uma fração de V ligada à matéria orgânica⁵.

Existe uma escassez de informação sobre a forma e o comportamento de vanádio no solo. Durante a formação do solo, V(III) na rede mineral é oxidado a V(V). Ânions oxidáveis de V(V) são solúveis a uma ampla variação de pH, e são geralmente considerados como sendo as formas móveis de vanádio nos solos, sendo o grau de mobilidade dependente de fatores físicos e geoquímicos predominantes. Há quatro grupos de fatores que podem causar precipitação dos compostos menos solúveis⁵:

- (i) presença de agentes redutores;
- (ii) concentrações locais de elementos (Ca, por exemplo) que produzem vanadatos insolúveis;
- (iii) precipitação na presença de cátions uranila $(\text{UO}_2)^{2+}$;
- (iv) presença de Al ou íons férricos.

Agentes redutores, tais como matéria orgânica, são importantes no ciclo do vanádio no solo. Estudos demonstraram a redução de íons vanadato por ácido húmico, com subsequente enriquecimento geoquímico⁵.

Em laboratório ou experimentos de campo, os resultados indicaram uma forte tendência desse elemento se acumular em raízes, apesar de algumas informações de Baisouny⁵ indicarem uma distribuição maior em tomateiros cultivados em vasos. Quando o vanádio é fornecido para plantas como VO^{2+} - V(IV) ou VO_3^- - V(V) existe uma pequena diferença na distribuição entre essas duas formas na planta. Estudos indicam a formação de VO^{2+} em raízes de cevada inicialmente tratadas com VO_3^- . Esta redução poderia explicar uma preferência da planta por VO^{2+} , indicando uma imobilização de vanádio na raiz⁵.

A literatura relata longos debates sobre a essencialidade do vanádio para o desenvolvimento normal de plantas. Reconhece-se esse elemento como um micronutriente essencial para certas algas verdes, e possivelmente para certas algas marinhas. Pesquisadores cultivaram várias plantas agrícolas para crescimento em soluções nutritivas contendo $2-4 \mu\text{g L}^{-1}$ de V. É provável que nenhuma necessidade de vanádio exigida pelas plantas superiores é encontrada a níveis acima deste. Estudos relacionados sobre a toxicidade de V em plantas mostraram que os diferentes tipos de solo exercem uma influência considerável sobre a reação da planta⁵.

1.1.3. Vanádio nos alimentos

A presença de vanádio nos alimentos está diretamente relacionada com a origem tanto do alimento quanto das matérias-primas⁶.

Estudos fornecem evidências que esse elemento seja um nutriente essencial tanto para mamíferos quanto para pássaros. A probabilidade que o vanádio seja também essencial na nutrição humana renovou o interesse a respeito da presença e da bio-disponibilidade deste elemento na dieta⁶⁻⁸.

A informação é escassa a respeito do conteúdo de vanádio em alimentos^{3,6}. A maioria dos alimentos possui uma baixa quantidade desse elemento. A maioria dos gêneros alimentícios ricos em amido e açúcar é pobre em vanádio ($5 - 40 \mu\text{g kg}^{-1}$ de matéria seca). Entre os alimentos ricos em vanádio incluem-se os cogumelos, os mariscos, a pimenta do reino, o rabanete e a salsa. Os alimentos processados contêm mais vanádio do que aqueles não processados. Além dos fatores geoquímicos, quantidades significativas desse elemento aparentemente são introduzidas por meios mecânicos durante o processamento de alimentos. A presença de vanádio em cervejas e vinhos foi detectada em teores variando de 30 a $40 \mu\text{g V L}^{-1}$ ^{3, 6, 9, 10}.

O conteúdo de vanádio em plantas pode refletir fatores geoquímicos tais como o tipo e a sua concentração no solo. No Brasil, os solos são pobres em vanádio, por consequência, a maioria dos alimentos apresenta baixos teores desse elemento. O aumento do teor desse elemento em vegetais produzidos e disponibilizados no mercado para consumo humano, sem alterar a saúde das plantas, vai de encontro à tendência moderna da produção de alimentos funcionais ou enriquecidos, uma alternativa de alimentação por meio da qual são fornecidos elementos essenciais em quantidades adequadas para suprir as doses diárias recomendadas por instituições governamentais da área da Saúde. Os alimentos

funcionais são aqueles que nutrem e modificam o metabolismo do organismo, trazendo benefícios à saúde, na forma de prevenção e controle de certas doenças¹¹. Já os alimentos enriquecidos são os alimentos que na sua forma natural possuem pouco ou nenhum valor nutricional, mas com a adição de algumas proteínas e sais minerais, funcionam como complemento adicional à alimentação¹¹. Entretanto, aspectos toxicológicos devem ser levados em consideração, uma vez que em algumas situações, como para o vanádio, o intervalo entre a essencialidade e a toxicidade é estreito. Como nutriente ao ser humano, a dose diária de vanádio recomendada pela *Food and Drug Administration* (FDA)¹² é de 1,8 mg dia⁻¹ para mulheres e homens adultos. O nível inicial de toxicidade para o vanádio é maior que 3 mg dia⁻¹³. Estabelecidas as condições agrônômicas de cultivo e produção de plantas enriquecidas com vanádio para servirem de alimento, o gerenciamento dos processos de produção por meio de análises químicas que garantam um controle de qualidade efetivo é sem dúvida relevante.

1.1.4. A importância do vanádio para a saúde humana

O vanádio está presente na constituição de seres vivos como os vertebrados, em espécies marinhas, especialmente invertebrados como as várias espécies de tunicados da família *Ascidiaceae* e em algumas plantas, como as espécies de cogumelos do gênero *Amanita*. Os seres vivos adquirem vanádio pela ingestão de alimentos e suplementos vitamínicos, sendo esta a forma que fornece os mais altos teores do elemento^{10, 13}.

Nos últimos anos a busca por uma melhor qualidade de vida tem provocado o interesse das pessoas pelo consumo de alimentos enriquecidos,

funcionais e suplementos vitamínicos. Esta procura tem por objetivo suprir o organismo de elementos potencialmente saudáveis, que os alimentos comuns não têm em sua composição ou estão presentes em concentrações aquém das recomendadas pelas instituições da Saúde.

Uma dieta rica em vanádio a base de suplementos deve ser feita sob orientação médica, para não se ultrapassar os limites considerados saudáveis ao homem^{10, 12,13}. Segundo a Portaria SVS/MS n° 32 de 13/01/1998, os suplementos vitamínicos e/ou minerais devem conter no mínimo 25% e no máximo até 100% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção indicada pelo fabricante¹⁴.

O vanádio tem sido estudado em diversas pesquisas experimentais, pois se trata de um elemento químico capaz de mimetizar os efeitos da insulina nos principais órgãos atingidos por ela – músculos, gordura e fígado. Foi demonstrado que o V reduz a glicose sangüínea em ratos que apresentavam um quadro diabético¹⁵⁻¹⁸. Devido ao fato de aumentar a captação de aminoácidos pelos músculos, lhe é atribuída a característica de aumentar a massa muscular; o V, na forma de sulfato de vanádio é amplamente utilizado como um suplemento alimentar para atletas. Estudos com animais demonstraram que uma deficiência de V resulta em índices aumentados de aborto.^{3, 4, 13}

O mecanismo dos compostos de vanádio ainda não foi totalmente esclarecido. Embora alguns estudos tenham demonstrado ação dos sais de vanádio via ativação do receptor tirosina quinase, vários estudos sugerem que a ação do vanádio não está envolvida com o receptor da insulina^{19, 20}. A maioria dos estudos apontam, como mecanismo da ação, a inibição de proteínas tirosina fosfatases (PTPs), resultando em estimulação indireta da fosforilação da tirosina²⁰.

Ainda não se têm dados e poucos são os modelos experimentais que permitem estudar quais PTPs específicas são inibidas pelo vanádio. Os estudos das últimas décadas apontam que as ações antidiabéticas do vanádio podem ser atribuídas: 1) inibição de proteínas fosfotirosina fosfatases e ativação de proteínas tirosina quinases não receptor; 2) inibição de várias outras enzimas que participam no metabolismo de glicose e gordura, como frutose-2-6-bisfosfatase, glicose-6-fosfatase e lipase hormônio sensível; 3) aumento ou redução nos níveis de RNAm da piruvatoquinase tipo L e da fosfoenolpiruvato carboxiquinase, respectivamente²¹.

A ação tóxica do V está bastante restrita ao trato respiratório. Bronquite e broncopneumonia são mais freqüentes em trabalhadores expostos a poeira de V_2O_5 , sendo característico o aspecto preto-esverdeado da língua. Uma atividade irritante na pele e nos olhos também foi atribuída à exposição ao vanádio. Aflição gastrointestinal, náuseas, vômitos, dor abdominal, palpitação cardíaca, tremores, depressão nervosa, e danos ao rim, também já foram relacionados à exposição ao elemento. Quando o trabalhador é removido do local da exposição, o prognóstico é favorável em muitos casos^{1,3}.

1.1.4.1. Diabetes Mellitus

A insulina é um hormônio capaz de induzir respostas anabólicas no fígado, tecido muscular, tecido adiposo, sendo importante para a homeostase de lipídios e carboidratos e, conseqüentemente, para o funcionamento do organismo. Além disso, a insulina regula vários processos fisiológicos em diferentes tipos celulares e tecidos, como fluxo de íons, captação de aminoácidos,

expressão gênica, proliferação celular, apoptose, rearranjo do citoesqueleto e regulação de enzimas celulares.^{13,15}

Deficiência na secreção e/ou na ação da insulina resulta na doença *Diabetes Mellitus* que é caracterizada, principalmente, pela presença de hiperglicemia e pode causar sérias complicações crônicas no sistema circulatório, excretório e nervoso²².

A palavra *diabetes* vem do grego *diabeneim* e significa fluir através, enquanto o termo *mellitus*, do latim, significa doce. Existem relatos detalhados dos sintomas *Diabetes Mellitus* há mais de 2000 anos²³.

O *Diabetes Mellitus* é um importante e crescente problema de Saúde Pública para todos os países, independentemente do grau de desenvolvimento dos mesmos. No Brasil, a situação não é muito diferente, onde se estima que 7,6% da população, ou seja, cerca de 14 milhões de pessoas sejam diabéticas, das quais 10% são do tipo 1 e 90% são do tipo 2. E o pior é que a metade dessas pessoas desconhecem completamente a sua condição de doentes, a qual, provavelmente, será identificada no futuro através de uma complicação da doença²⁴.

O *Diabetes Mellitus* pode ser classificado, atualmente, em: a- Diabetes tipo I; b- Diabetes tipo II; c- Outros tipos específicos; d- Diabetes gestacional²⁵.

- Diabetes tipo I: Inicialmente também conhecida como diabetes “juvenil”, o diabetes tipo I ocorre devido a destruição das células β por um processo auto-imune (tipo A) ou por causa desconhecida (forma idiopática ou tipo β). Na forma auto-imune que é a mais comum, ocorre um processo de insulite e

- a presença de auto-anticorpos (antidescarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina), enquanto a forma idiopática caracteriza-se pela ausência de insulite e de auto-anticorpos. O fato de haver ausência de insulina no diabetes tipo I, resulta em manifestações clínicas evidentes possibilitando rápido diagnóstico quando comparada com o diabetes tipo II²⁵.
- Diabetes tipo II: O diabetes tipo II é o mais comum, correspondendo a 90% dos casos. Este tipo ocorre devido a distúrbios na ação e secreção da insulina. Anteriormente conhecida como diabetes da maturidade, por ser muito freqüente em indivíduos acima de 40 anos, hoje esta denominação caiu em desuso, devido a alta incidência de diabetes tipo II em indivíduos jovens. O diabetes tipo II é uma doença multifatorial, sendo resultado de uma combinação de genes (“diabetogenes”) e de fatores ambientais. Devido a quantidades significativas de insulina residual, hiperglicemia e a cetoacidose no organismo não sejam tão acentuadas nos indivíduos diabéticos do tipo II, torna difícil o diagnóstico precoce da doença. Por esta razão, a diabetes tipo II causa complicações crônicas em nível microvascular (retinopatias, nefropatias) e macrovascular (doenças coronárias, doenças vasculares periféricas). Neuropatias também ocorrem comumente, afetando nervos motores, sensoriais e autonômicos²⁵.
 - Outros tipos específicos: ocorrem devido a defeitos genéticos da função da célula β ; defeitos genéticos na ação da insulina; doença do pâncreas exócrino; endocrinopatias; indução por drogas ou produtos químicos; infecções; e formas incomuns de diabetes imuno-mediado²⁵.
 - Diabetes gestacional: no diabetes gestacional ocorre tolerância diminuída aos carboidratos, podendo esta tolerância persistir, ou não, após o parto²⁵.

Dieta e atividades físicas são recomendadas para melhorar a glicemia de indivíduos diabéticos, sem, no entanto restaurar completamente a ação da insulina. Diferentes fármacos são utilizados na clínica até o momento, como: sulfonilúreas, tiazolidinedionas, metformina e inibidores de α -glicosidase. Embora uma certa quantidade de drogas com potencial anti-diabético esteja sendo extensamente utilizada, existem algumas limitações encontradas nas terapias atuais como: (i) muitos pacientes diabéticos tipo II não apresentam controle da glicemia com o uso dos agentes citados acima; (ii) os agentes não restabelecem o estado normal da sensibilidade à insulina ou o funcionamento das células β ; (iii) o uso intenso da insulina pode aumentar a adiposidade e agravar a resistência à insulina²⁶.

Os transplantes vascularizados do pâncreas, os transplantes de ilhotas de Langerhans isoladas e os sistemas bio-híbridos, apesar de serem grandes avanços na ciência, também apresentam limitações de ordem técnica e imunológica, além de riscos da cirurgia e da imunossupressão crônica. A utilização das “células tronco”, com perspectivas alentadoras no tratamento do diabetes do tipo I, especialmente em relação às lesões crônicas, ainda esbarra em alguns problemas como o elevado custo da coleta, manipulação e procedimentos cirúrgicos, restringindo-se a apenas um grupo de pacientes privilegiados economicamente, além de ser um método ainda pouco consolidado²⁵.

Por estas razões, a utilização de elementos químicos como o vanádio, para o tratamento das lesões crônicas do diabetes sobre os rins e fígado, pode ser uma alternativa viável, pois se trata de um elemento químico relativamente abundante na natureza, sendo encontrado em diversas fontes alimentares. Ao considerar a potencialidade dos compostos de vanádio para tratar

o diabetes humano, um estudo sobre sua presença em alimentos é muito importante^{25, 26}.

Por se tratar de um micronutriente, as concentrações do vanádio nos alimentos e nos seres vivos apresentam-se em níveis reduzidos. Para o vanádio dietético, que é armazenado na forma orgânica, a margem entre a exigência nutricional e o limite tóxico é muito estreita, o que dificulta a quantidade exata deste micronutriente a ser utilizado na dieta humana^{3,4}.

Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, simples e robustos que permitam a quantificação segura dos nutrientes metálicos, os quais são utilizados em baixas concentrações na nutrição animal e no tratamento de doenças, como no caso do vanádio, torna-se importante tanto do ponto de vista acadêmico, nutricional, ambiental e do setor de agronegócio. Neste contexto, a determinação de vanádio em suspensões de material vegetal por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS), apresenta-se como promissora.

1.2. A espectrometria de absorção atômica – princípios básicos

A espectrometria de absorção atômica é uma técnica analítica baseada na medida da absorção da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte de radiação por átomos no estado fundamental. A grandeza física de medida é a absorbância e a relação matemática entre absorbância e concentração é dada pela Lei de Lambert-Beer^{27, 28}.

Átomos no estado gasoso fundamental podem absorver energia e passarem para um estado excitado. Um determinado átomo absorve linhas ou raias de radiação somente em comprimentos de ondas específicos, correspondentes à energia necessária para que a transição eletrônica do estado fundamental para o estado excitado ocorra, característicos de cada elemento e dado pela equação de Planck:

$$\varepsilon = hc / \lambda \quad (1)$$

Na Equação 1 ε é a energia responsável pela transição eletrônica do átomo do estado fundamental para o estado excitado, h é a constante de Planck ($h = 6,62608 \times 10^{-34}$ Js), c é a velocidade da luz ($c = 2,99792 \times 10^8$ ms⁻¹) e λ é o comprimento de onda.

Somente algumas transições eletrônicas são possíveis e estas definem o espectro de linhas de emissão / absorção de cada elemento. Entretanto, a fração de átomos excitados em um determinado nível de energia é uma função da temperatura e do comprimento de onda (Tabela 2) e é dado pela distribuição de Boltzmann:

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^* e^{-\Delta E / KT}}{g_0} \quad (2)$$

Na Equação 2 N^* é o número de átomos no estado excitado e N_0 é o número de átomos no estado fundamental; E é a energia específica da excitação; K é a constante de Boltzmann ($k = 1,38066 \times 10^{-23}$ JK⁻¹) e T é a temperatura absoluta²⁷.

Tabela 2. Razão N^*/N_0 e a dependência com a temperatura e comprimento de onda.

Elemento	Energia de Excitação (eV)	λ (nm)	g^*/g_0	N^*/N_0		
				2000 K	3000 K	4000 K
Zn	5,80	213,9	3	$7,29 \cdot 10^{-15}$	$5,58 \cdot 10^{-10}$	$1,48 \cdot 10^{-7}$
Cu	2,93	422,7	3	$1,21 \cdot 10^{-7}$	$3,69 \cdot 10^{-5}$	$6,03 \cdot 10^{-4}$
Na	2,11	589,0	2	$0,86 \cdot 10^{-4}$	$5,88 \cdot 10^{-4}$	$4,44 \cdot 10^{-3}$
Cs	1,46	852,1	2	$4,44 \cdot 10^{-4}$	$7,24 \cdot 10^{-3}$	$2,98 \cdot 10^{-2}$

Considerando os princípios citados acima, chega-se à lei de Lambert-Beer²⁷, que relaciona a absorvância (A) ou densidade óptica com o número de átomos no estado fundamental (N):

$$A = \log \frac{\Phi_0(\lambda)}{\Phi_r(\lambda)} = 0,43 N l k(\lambda) \quad (3)$$

Onde: $\Phi_0(\lambda)$ é a potência radiante emitida em λ ; $\Phi_r(\lambda)$ é a potência radiante transmitida em λ ; N é o número de átomos livres na camada absorvedora; l é o comprimento da camada absorvedora e $k(\lambda)$ é o coeficiente de absorção atômica espectral. Como o número de átomos no estado fundamental produzidos no atomizador é dependente da concentração do elemento numa solução, simplificada-se se reduz a Lei de Lambert Beer a: $A = ak \cdot c$

A técnica AAS apresenta alta seletividade e relativamente poucas interferências, uma vez que as transições eletrônicas ocorrem em comprimentos de onda específicos para cada elemento. Os espectrômetros de absorção atômica são constituídos de seis componentes principais: 1) fonte de radiação, 2) sistema de introdução de amostras, 3) sistema de atomização; 4) monocromador; 5) sistema de detecção e 6) dispositivos de leitura. Esses componentes são

combinados de forma adequada e compacta, conectados a sistemas computadorizados para o controle operacional do equipamento e o tratamento de dados. Na Figura 1 está ilustrado um diagrama representativo dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica.

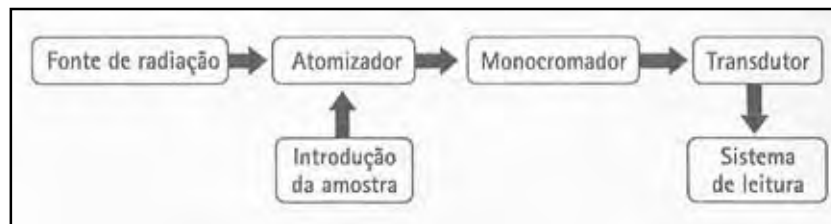


Figura 1. Diagrama dos principais componentes de um espectrômetro de absorção atômica²⁹.

Os primeiros espectrômetros de absorção atômica utilizavam a chama como atomizador (FAAS) e atualmente espectrômetros à base de chama são fabricados e amplamente difundidos³⁰. O acoplamento de um forno de grafite ao espectrômetro de absorção atômica deu origem à chamada espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS), sendo que o tubo de grafite é o atomizador. Recentemente, depois de esforços de vários pesquisadores, surge um novo conceito em AAS, a espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução (HR-CS AAS). O espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua é equipado com uma lâmpada de alta densidade de arco curto de xenônio com uma fonte de radiação contínua, monocromador de alta resolução com rede echelle e um detector constituído por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD) com uma resolução ao redor de 2 pm por pixel em todo intervalo ultravioleta. Esta técnica torna-se “quase simultânea” e multielementar: as linhas analíticas de todos

os elementos estão disponíveis nesta fonte primária de radiação. Tanto as linhas principais quanto secundárias são úteis e podem ser utilizadas até concomitantemente; a medida em vários comprimentos de onda para um mesmo elemento pode levar a excelentes limites de detecção se as absorbâncias forem somadas; ainda, a utilização de linhas principais e secundárias (mais fracas) poderá estender a faixa linear de trabalho em relação aos equipamentos de fonte discreta^{31,32}.

1.3. Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite

Como dito anteriormente, o acoplamento de um forno de grafite ao espectrômetro de absorção atômica deu origem à chamada espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. O esquema da montagem deste forno no espectrômetro está ilustrado na Figura 2^{27,28}.

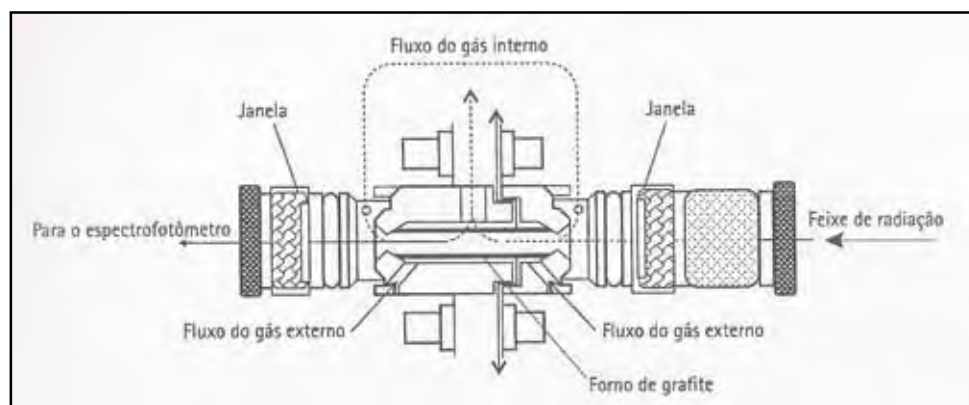
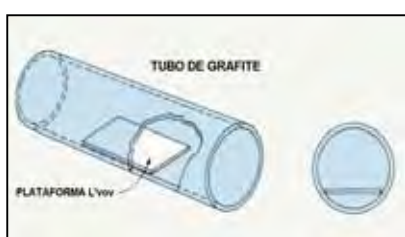


Figura 2. Esquema do conjunto do atomizador eletrotérmico.

A amostra é introduzida no tubo de grafite através de um orifício no tubo, por meio de micropipeta ou amostrador automático. A amostra pode ser dispensada diretamente na parede do tubo ou sobre uma plataforma de L'vov ajustada na parte interior do tubo. Há diferentes configurações de tubos de grafite, sendo os de aquecimento longitudinal – HGA (Figura 3A) e os de aquecimento transversal – THGA (Figura 3B) os mais difundidos.



(A)



(B)

Figura 3. Representação de tubos de grafite HGA (A) e THGA (B).

A configuração THGA permite uma distribuição mais uniforme da temperatura ao longo do tubo de grafite, minimizando assim eventuais condensações nas extremidades do tubo, melhorando a sensibilidade e minimizando interferências. O uso da plataforma é importante em várias situações analíticas. Para tubos HGA, existe um gradiente de temperatura entre a superfície do tubo e a atmosfera no interior do mesmo. Assim, quando a superfície do tubo atinge a temperatura de atomização, o analito é atomizado e atinge uma atmosfera mais fria, onde sofrerá condensação e recombinação. Para os tubos THGA, a plataforma tem contato mínimo com a superfície do tubo, e o aquecimento da mesma se dá pela atmosfera do interior do tubo. Assim, o analito é atomizado em uma atmosfera isotérmica, evitando perda na sensibilidade por condensação.

Após a injeção da amostra no tubo de grafite, este é submetido a um programa de aquecimento que inclui usualmente cinco etapas básicas: 1) secagem, 2) queima ou pirólise, 3) atomização 4) limpeza do forno e 5) resfriamento. Na etapa de secagem, o solvente é evaporado lentamente da amostra de maneira controlada, para evitar respingos e perda do analito. A etapa de pirólise tem como objetivo remover a matriz tanto quanto possível antes da atomização, diminuindo a possibilidade de interferência e reduzindo a magnitude do sinal de fundo. Essa etapa é particularmente crítica na determinação de elementos voláteis como Hg, As, Se, Cd e Pb, que podem ser parcial ou totalmente volatilizados junto com a matriz. O tempo e a temperatura de pirólise devem ser controlados de tal forma que se elimine o máximo dos componentes da matriz sem perdas do analito, ou seja, são determinados pelas estabilidades térmicas relativas do analito e da matriz. O tempo de pirólise deve ser suficientemente longo para permitir que o sinal de fundo retome à linha base antes da atomização. Na etapa

de atomização são formados átomos livres no estado vapor. A temperatura de atomização deve ser alta suficiente para garantir a completa e rápida volatilização do analito. Uma velocidade de aquecimento rápida e uma baixa temperatura de atomização são desejáveis a fim de prolongar o tempo de vida útil do tubo. A limpeza é feita elevando a temperatura do atomizador até um valor máximo por um curto período de tempo, para eliminar qualquer resíduo que tenha permanecido no tubo. O resfriamento é feito para garantir que a plataforma esteja à temperatura ambiente antes da introdução de uma nova amostra. Em cada etapa, é utilizada uma rampa de aquecimento e um tempo de permanência. A rampa é a elevação gradual e controlada de temperatura entre duas etapas em um programa de aquecimento do forno e a permanência é o tempo em que o forno mantém determinada temperatura.

Uma atmosfera inerte durante todo o programa de temperatura é obtida por dois fluxos independentes de um gás inerte, geralmente argônio. O fluxo externo passa ao redor do tubo de grafite protegendo-o da degradação a altas temperaturas por contato com oxigênio da atmosfera, enquanto que o fluxo interno elimina o ar e carrega vapores da matriz da amostra durante todo o programa, exceto na etapa de atomização. Durante a atomização, o fluxo interno de gás é interrompido e o tubo de grafite é aquecido rapidamente até uma temperatura suficientemente elevada para que o analito seja atomizado. Os átomos vaporizados absorvem a radiação que passa através do tubo na direção horizontal e a intensidade da radiação transmitida é medida^{27, 28,33}.

Esse acoplamento proporciona sensibilidade muito maior do que quando se emprega a chama, pois quase a totalidade do analito introduzido no tubo de grafite é atomizada dentro do caminho óptico. No caso da atomização via chama, a maior

parte da amostra aspirada ($\approx 95\%$) é descartada via dreno do nebulizador, e a fração dos átomos produzidos no caminho óptico encontra-se bem diluída nos gases formadores da chama. Outra característica da GFAAS é a operação com pequenas quantidades de amostra, da ordem de 5 – 20 μL de solução. Além disso, a técnica permite a introdução de amostras com altos teores de matéria orgânica ou de sólidos totais dissolvidos, até mesmo de suspensões e amostras sólidas, uma vez que a matriz da amostra pode ser separada e eliminada, pelo menos parcialmente, do tubo de grafite antes da atomização do analito^{27, 33}.

Obviamente, para se obter o máximo de desempenho da técnica, todos os parâmetros instrumentais devem ser otimizados, trabalhando-se, preferencialmente, com condições definidas pelo conceito "STPF" (Stabilized Temperature Platform Furnace)²⁷⁻²⁹. Estas condições consistem no uso de tubos de grafite pirolítico e com plataforma, uso de modificador químico, aquecimento rápido do forno, interrupção do gás interno na atomização, processamento rápido do sinal, aquisição do sinal analítico em absorvância integrada e uso de corretor de fundo por efeito Zeeman.

1.3.1. Modificador químico

A determinação elementar por GF AAS, principalmente para os mais voláteis, está comumente ligada ao uso de modificadores químicos, que têm como objetivo criar um ambiente químico favorável à detecção dos analitos pela melhor separação deste da matriz durante a etapa de pirólise³⁴. O modificador é uma substância adicionada ao tubo de grafite antes, durante ou após a introdução da amostra. O modificador atua diminuindo a estabilidade térmica dos concomitantes

ou convertendo analitos voláteis em espécies mais estáveis termicamente, permitindo temperaturas de pirólise mais altas, favorecendo a remoção da matriz antes da atomização³⁵. No caso de elementos refratários, os modificadores podem ser utilizados para desestabilizar esses elementos, ao contrário do que se faz usualmente. FLORES *et al.* utilizaram Rh para desestabilizar o Sc utilizando-se acetilacetona para facilitar a volatilização do analito³⁶.

Alguns modificadores já são bem conhecidos e recomendados pelos fabricantes dos instrumentos, e vários outros têm sido propostos mais recentemente. Uma mistura dos sais de nitrato de paládio e de magnésio foi denominada modificador universal por Welz *et al.*³⁴ por ser adequada para vários elementos e não apresentar problemas relacionados ao sinal de fundo e contaminações. A escolha de um modificador deve levar em conta aquele que promova um aumento na temperatura de pirólise, mas que não eleve consideravelmente o sinal do branco nem gere sinais de fundo de difícil correção³⁵. Além disso, como os modificadores são usados em concentrações relativamente elevadas, não devem conter elementos que são freqüentemente determinados no mesmo espectrômetro, para evitar possíveis contaminações.

Mecanismos de atuação dos modificadores convencionais ou permanentes são sugeridos, mas ainda há várias propostas no sentido de elucidar melhor esse assunto. Yang e colaboradores³⁷ sugeriram que o modificador forma uma solução sólida intermetálica com o analito, estabilizando-o durante a etapa de pirólise. Em mais recente trabalho, Ortner e colaboradores³⁸ demonstraram que o modificador e o analito penetram no carbono do tubo de grafite, formando compostos de intercalação com fortes ligações covalentes entre modificador, analito e carbono, levando a estabilização térmica de analitos voláteis. Também em

um recente trabalho, Volynsky e Wennrich³⁸ argumentam que, embora nenhuma hipótese que tente explicar mecanismos de modificadores seja totalmente elucidativa, também nenhuma é totalmente errônea, mesmo que algumas tenham falhas. Estes autores propõem que interações químicas efetivamente contribuem para o processo de estabilização, pois caso contrário poderia se fazer uma correlação simples e direta entre propriedades físicas de analitos ou modificadores e as temperaturas de pirólise e atomização, o que nem sempre é possível.

Atualmente, os chamados modificadores permanentes têm ganhado destaque, pois apresentam algumas vantagens quando comparados aos modificadores em solução. O modificador permanente é obtido pela deposição térmica ou eletrolítica de um revestimento metálico sobre as paredes do tubo ou sobre a plataforma. Esse recobrimento pode ser utilizado para várias determinações, evitando, portanto a adição do modificador a cada ciclo analítico, reduzindo, assim, o tempo de análise bem como riscos de contaminação. Esse tipo de modificação apresenta como vantagens a possibilidade do emprego de reagentes de moderada pureza, pois o tratamento térmico do tubo durante ou após a modificação normalmente purifica (elimina eventuais impurezas) *in situ*. Além disso, a formação de filmes de alta resistência química, como os produzidos com elementos formadores de carbetos, protegem as paredes internas do tubo de grafite, prolongando a vida útil do tubo. Geralmente, são utilizados elementos formadores de carbetos (por exemplo, W, Zr, Nb, Ta), metais do grupo da platina pré reduzidos (por exemplo, Pd, Pt, Ru, Rh, Ir) ou ainda uma mistura de um metal formador de carbeto com outro do grupo da platina^{27, 37-39}.

A interação do modificador químico com suspensões assemelha-se com a de padrões aquosos e é muito maior do que na amostragem direta de sólidos.

Um problema associado com a atomização de suspensões é a formação de resíduo carbonáceo no interior do tubo, podendo, em alguns casos, bloquear o feixe de luz. Isso pode ser evitado ao se usar uma etapa de pirólise assistida com ar/O₂. Outra forma de amenizar este inconveniente foi proposta por um grupo de pesquisadores espanhóis e baseia-se no uso de um modificador químico oxidante que tem um efeito similar àquele exercido pelo O₂ na etapa de pirólise assistida⁴⁰.

1.3.2. Amostragem de suspensão

Na literatura recente observa-se um interesse crescente por métodos de análise direta, como a amostragem de sólidos em espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)⁴¹, em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS)⁴², em espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIP-OES)⁴³ e a vaporização eletrotérmica acoplada a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP OES)⁴⁴ ou na espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP MS)⁴⁵. Embora o avanço tecnológico no desenvolvimento dessas técnicas visando à amostragem e a análise direta de sólidos, a maioria dos métodos propostos em espectrometria atômica para determinações de elementos em baixas concentrações ainda requer que a amostra esteja na forma de solução aquosa.

A amostragem de sólidos na forma de suspensão apresenta algumas vantagens sobre os procedimentos de digestão convencionais, como a redução no tempo de preparo da amostra, diminuição nas perdas do analito por manipulação excessiva ou retenção a produtos insolúveis, redução de possibilidade de contaminação da amostra e minimização da exposição do analista a ácidos perigosos⁴⁶.

Para amostragem de suspensões alguns cuidados são requeridos para garantir uma boa exatidão e precisão das medidas: homogeneidade da suspensão, emprego de agentes protetores e antiaglutinantes, controle no tamanho das partículas, uso de corretor de fundo, sendo o baseado no efeito Zeeman o mais indicado e o emprego de modificador químico adequado⁴⁶, neste caso quando se trabalha com GF AAS. A objeção mais comumente encontrada para análise de suspensões é a necessidade de partículas com tamanho diminutivo. É importante observar que o tamanho das partículas do material sólido tem papel decisivo na estabilidade das suspensões durante a aspiração, transporte ou introdução da amostra, bem como na eficiência da atomização²⁷. A introdução de suspensões em plasma, por exemplo, requer que a eficiência no transporte do analito (i.e. ocluso na partícula) através do sistema de introdução da amostra, bem como a eficiência da atomização, sejam idênticas àquelas obtidas para o analito em solução⁴⁷. Se esse critério for alcançado, possivelmente a curva analítica de calibração poderá ser feita com soluções aquosas⁴⁶. Em geral, o melhor tamanho de partícula para introdução de suspensões em plasmas está abaixo de 5 μm ⁴⁶. Para alcançar uma fração da amostra com esse tamanho de partícula são utilizados procedimentos de moagem, os quais, dependendo da amostra, podem se estender de minutos a muitas horas, aumentando a possibilidade de contaminação⁴⁶.

Para a introdução de suspensões em GFAAS, alguns autores sugerem que o tamanho de partículas não deve exceder 30 - 50 μm ^{48, 49}. Para materiais biológicos, Miller-Ihli⁵⁰ sugere que tamanhos de partículas da ordem de 30 μm não são críticos. O melhor tamanho de partículas depende essencialmente da composição da amostra. Esse efeito é mais acentuado nos sistemas de atomização com chamas e com plasmas em comparação aos sistemas eletrotérmicos e, provavelmente por essa razão, tem-se dado maior preferência aos sistemas eletrotérmicos na análise direta de suspensões. De acordo com Miller-Ihli⁵⁰ a análise direta de suspensões em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) pode tolerar partículas de materiais biológicos com tamanhos até 500 μm . Geralmente, a análise de suspensões de alimentos por GFAAS não sofre tão severamente a influência da distribuição do tamanho das partículas como as técnicas com nebulização pneumática.

Contudo, um dos problemas pertinentes na amostragem direta de sólidos e na amostragem de suspensões refere-se à falta de homogeneidade na distribuição dos elementos químicos nas amostras para massas menores que 1 mg. Por exemplo, a maioria dos materiais de referência certificados (CRMs) apresenta homogeneidade atestada apenas para massas maiores que 100 mg⁴⁶. Dessa forma, as etapas de cominuição das amostras visando uma distribuição granulométrica mais homogênea das partículas, bem como a representatividade de pequenas massas de amostra, necessitam de investigações bem detalhadas.

No aspecto da falta de homogeneidade das amostras para massas menores que 1 mg, seria difícil compreender, por exemplo, o emprego com sucesso da amostragem de suspensões na espectrometria atômica com atomização eletrotérmica, uma vez que massas menores que 500 μg são

introduzidas nos atomizadores. No entanto, uma fração significativa dos elementos determinados é parcialmente extraída para a fase líquida das suspensões durante os procedimentos de agitação ultra-sônica, aumentando consideravelmente a massa representativa da análise.

Nos procedimentos de amostragem de suspensões com agitação ultra-sônica é comum que uma fração significativa do analito seja extraída para a fase líquida, melhorando, em alguns casos, a precisão das medidas. Entretanto, isto não é um pré-requisito para exatidão das análises.

Com base nos resultados observados sobre a extração dos analitos para a fase líquida, vários autores propuseram estudos mais detalhados sobre os efeitos do ultra-som no preparo de suspensões. Neste sentido, vários trabalhos foram propostos apenas com a extração dos analitos assistida por ultra-som e a amostragem apenas do sobrenadante⁴⁶.

A reação sonoquímica origina-se de um processo denominado cavitação acústica, que é caracterizado pela formação, crescimento e colapso implosivo de vacúolos gasosos na solução (Figura 4). Esse colapso das bolhas originário da sonicação das soluções resulta em gradientes de temperatura e pressão locais extremamente elevados (cerca de 5000 K e 10 GPa, respectivamente), o que auxilia no preparo da amostra, uma vez que radicais livres e outros compostos são formados⁵¹.

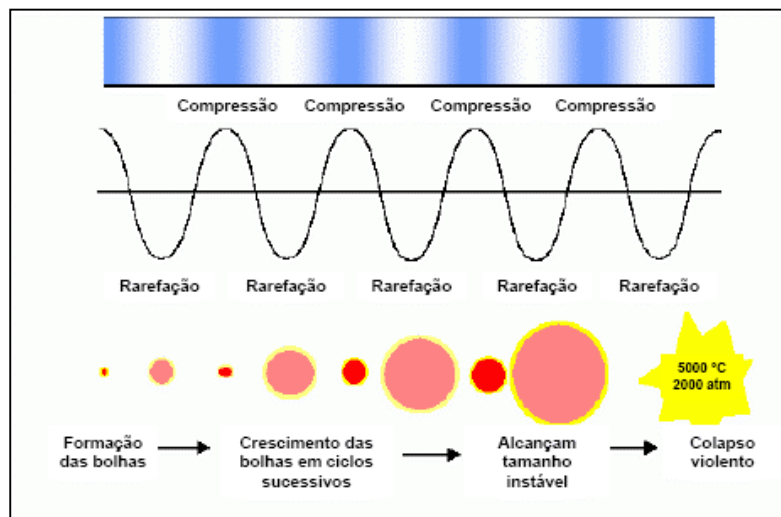


Figura 4. Processo de cavitação.

Comparando-se com a amostragem de suspensões, a extração do analito para a fase líquida tem sido ressaltada na literatura com as seguintes vantagens: a- o uso de agentes surfactantes pode ser dispensado, uma vez que não é necessário manter uma suspensão homogênea. Neste aspecto, os erros devido às diferentes taxas de sedimentação também são eliminados; b- a massa representativa é proporcional à massa utilizada para o preparo das suspensões (e.g. 50 - 500 mg). Conseqüentemente, melhor exatidão dos resultados é esperada, quando comparada à análise de suspensões ou amostragem direta de sólidos de materiais pouco homogêneos; c- são evitados erros volumétricos devido à falta de homogeneidade no tamanho das partículas (i.e. amostragem direta de suspensões); d- as diluições podem ser implementadas pelo uso do próprio autoamostrador; e- menor efeito de matriz, melhor ação dos modificadores químicos e maior possibilidade de calibração utilizando-se padrões aquosos; f- baixo consumo de ácidos; g- maior tolerância ao tamanho de partículas, comparando-se com a amostragem de suspensões e a introdução da amostra por

nebulização (e.g. ICP OES, ICP MS). Partículas menores que 300 μm já foram utilizadas, combinando-se diferentes soluções extratoras e tempo de extração; h- o princípio de frasco único pode ser implementado, onde a amostra é preparada diretamente no frasco do autoamostrador ou em tubos de centrífuga volumétricos, minimizando-se os riscos de contaminação; i- maior segurança quando comparada aos procedimentos de decomposição da amostra via úmida à quente, uma vez que, em geral, os métodos de extração ultra-sônica são conduzidos à temperatura ambiente.

Entretanto, a literatura também ressalta algumas limitações dos procedimentos de extração assistidos por ultra-som, entre elas: a- a massa de amostra é geralmente menor do que aquela usada nos processos de digestão em sistemas abertos. Nesse aspecto, deve-se destacar que não existe uma limitação bem definida e que, para a maioria dos casos, existe um compromisso entre tamanho do frasco utilizado para extração, composição de reagentes e tempo de sonificação; b- o tamanho das partículas pode ser crítico e deve ser avaliado. Novamente, deve-se ressaltar que não existe na literatura uma definição do melhor tamanho das partículas. O melhor tamanho deve ser obtido estaticamente, assumindo-se, também, um compromisso com outros parâmetros, como o tempo de sonificação, composição e concentração da solução extratora; c- a robustez dos procedimentos de extração utilizando-se banhos ultra-sônicos é questionável, uma vez que a distribuição da intensidade ultra-sônica no interior da cavidade não é homogênea e pode variar de acordo com o volume de água na cavidade do banho, com o número de frascos utilizados dentro do banho e posição do transdutor ultra-sônico; d- embora o tempo de extração seja baixo (i.e. geralmente < 20 min), a freqüência analítica é drasticamente limitada ao número de frascos que podem ser

utilizados dentro da cavidade do banho sem que haja prejuízo para a distribuição da energia ultra-sônica^{52,53}.

Frente às vantagens e limitações inerentes a qualquer procedimento analítico, é possível inicialmente inferir que a extração ultra-sônica apresenta potencialidades como uma alternativa aos procedimentos convencionais utilizados no preparo de amostra em espectrometria atômica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Determinação de vanádio por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite

Vários trabalhos são descritos na literatura a respeito do uso da técnica GFAAS na determinação de vanádio nas mais diversas matrizes tais como material biológico, urina, óleos combustíveis, cabelo, dentre outras⁵⁴. Entretanto, pouca informação está disponível na literatura sobre a determinação de vanádio em suspensão de material vegetal empregando GFAAS.

Um procedimento de pré-concentração direta em tubo pré-aquecido foi proposto para a determinação de vanádio em leite por BERMEJO-BARRERA *et al.*⁵⁵ O procedimento de pré-concentração apresentou várias vantagens sobre o procedimento convencional, incluindo a redução do tempo de preparo da amostra, diminuição da possibilidade de perdas do analito durante a etapa de pré-concentração e redução da possibilidade de contaminação da amostra devido à adição de reagentes. Esse procedimento também demonstrou que foram obtidos um maior sinal analítico de V e menor sinal de fundo quando três alíquotas sucessivas de leite foram introduzidas no atomizador, inserindo uma etapa de pirólise entre cada injeção, em tubo pré-aquecido a 110 °C e na última injeção, o programa foi implementado até a etapa de atomização e limpeza. Os limites de detecção e quantificação obtidos para leite bovino, leite materno e leite infantil formulado foram 0,5 e 1,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ V; 0,7 e 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ V e 0,6 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ V, respectivamente.

FERNANDES *et al.*⁵⁴ propuseram a determinação direta de vanádio em amostras de urina por GFAAS usando injeção à quente e pré-concentração dentro do tubo de grafite. Três alíquotas de 60 µL foram injetadas seqüencialmente dentro do atomizador pré-aquecido a uma temperatura de 110°C. As etapas de secagem e pirólise foram repetidas após cada injeção. Às amostras de urina foi adicionado o modificador químico fluoreto de bário. Os limites de detecção e quantificação sem pré-concentração foram, respectivamente, 0,54 e 1,82 µg L⁻¹, e com pré-concentração 0,11 e 0,37 µg L⁻¹.

TEISSÈDRE *et al.*⁹ descreveram um método, utilizando HNO₃ como modificador químico, para determinação de vanádio em vinhos utilizando GFAAS. Este método deu resultados insignificamente diferentes daqueles obtidos usando digestão ácida de amostras de vinho, com um limite de detecção de 42 pg. Um total de 68 amostras de vinho de diferentes regiões da França e da Califórnia foi analisado. Os níveis de vanádio variaram entre 7,0 a 90,0 µg L⁻¹ em vinhos tintos e entre 6,6 a 43,9 µg L⁻¹ em vinhos brancos. Este método também foi adaptado para determinação de vanádio em 12 amostras de uvas de diferentes variedades após digestão ácida. O conteúdo de vanádio variou de 2 a 17 µg Kg⁻¹ para uva branca e de 5 a 11 µg Kg⁻¹ para uma variedade de uvas vermelhas.

CHAKRABORTY *et al.*⁵⁶ desenvolveram um método rápido, livre de interferências, pra determinação de vanádio em sedimentos alcalinos por GFAAS. Nitrato de cromo foi usado como modificador químico. Os limites de detecção e quantificação foram 0,5 e 1,9 ng V, respectivamente. O desvio padrão relativo (r.s.d.) determinado para análise de cinco replicatas foi 1,5% para 101,8 µg g⁻¹ de vanádio.

SAAVEDRA *et al.*⁵⁷ desenvolveram um método pra determinação de vanádio em mexilhões por GFAAS. Após a digestão das amostras por microondas, um programa usando temperaturas de 1600°C e 2600°C para pirólise e atomização respectivamente, sem o uso de modificadores químicos, foi desenvolvido. Este método produziu resultados satisfatórios, uma vez que se aproximaram dos valores certificados dos materiais de referência. O limite de detecção foi 0,03 mg Kg⁻¹, indicando que o método é adequado para análise de amostras de mexilhões. Este método foi aplicado para vários mexilhões cultivados e selvagens da costa da Galícia (Espanha), produzindo níveis de vanádio abaixo de 1 mg Kg⁻¹.

HIRANO *et al.*⁵⁸ estudaram a influência do gás auxiliar (oxigênio) na pirólise para determinação de vanádio em cabelo por GFAAS. A pirólise assistida por ar parece ser efetiva para elementos formadores de carbetos, pois ela elimina resíduos carbonáceos que aceleram a formação de carbetos metálicos, resultando na supressão da atomização do analito. Neste artigo, também se estudou a influência de HNO₃ e a mistura HNO₃ + Mg(NO₃)₂ como modificadores químicos. A concentração de vanádio obtida na ausência de modificador e na ausência da pirólise assistida por ar foi 0,085 ± 20,7 mg Kg⁻¹. Na presença da etapa de pirólise assistida por ar as concentrações de vanádio encontradas foram 0,138 ± 9,7; 0,146 ± 5,5 e 0,146 ± 7,5 mg Kg⁻¹ de vanádio na ausência de modificador, na presença de HNO₃ e na presença da mistura HNO₃ + Mg(NO₃)₂, respectivamente.

Um método para determinação de vanádio em frações de óleo diesel e asfaltano foi proposto por AUCÉLIO *et al.*⁵⁹. As amostras de diesel foram estabilizadas como microemulsões (sem detergentes), misturando-se 1-propanol e ácido nítrico. A fração de óleo asfaltano sólido foi preparada e dissolvida em

diclorometano antes de misturar esta solução com 1-propanol e ácido nítrico. Nenhum modificador químico foi usado. Para diesel, a solução analítica aquosa pode ser usada para calibração. Para asfalto, a calibração foi feita com solução analítica preparada em diclorometano+1-propanol+ácido nítrico, enriquecida com solução padrão inorgânica. Variação linear acima de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ foi observada. Os limites de detecção foram $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $4 \mu\text{g g}^{-1}$ para diesel e asfalto, respectivamente.

WILLSKY et al.²² estudaram a administração oral de vanadil sulfato (IV) em pacientes e ratos diabéticos tipo 2 durante 6 semanas e a administração por injeção intraperitoneal de bis(maltolato)oxovanádio (IV) em ratos diabéticos tipo 2. As amostras de urina e soro foram coletadas durante o tratamento e vanádio foi determinado por GFAAS. Segundo os autores, esses resultados demonstram que trabalhos posteriores precisam ser feitos para ambos os compostos, a fim de identificar quais pacientes responderiam melhor à terapia com vanádio, e para determinar se formas coordenadas do vanádio seriam mais efetivas terapeuticamente do que o simples sal.

CAMPILLO *et. al.*⁶⁰ desenvolveram procedimentos para a determinação de vanádio, molibdênio e cromo em suspensão de solos, sedimentos e lamas. As amostras foram em suspensões e metodologia com rápido programa foi usada. Nenhum modificador, à exceção do ácido hidrofúorídrico, foi requerido e a calibração foi realizada em meio aquoso. Temperaturas de atomização variaram entre 2200 e 2650°C . O máximo sinal para vanádio e molibdênio foi conseguido na máxima temperatura permitida pelo equipamento (2650°C). Contaminação cruzada, devido à retenção de vanádio e molibdênio no tubo, foi verificada fazendo-se dez injeções sucessivas de ambos os padrões aquosos e uma amostra de

suspensão de solo usando os programas otimizados na ausência e na presença de uma etapa de limpeza a 2650 °C por 3s. Com nenhum estágio de limpeza, os sinais aumentaram em 25% e 20% para vanádio e molibdênio, respectivamente. Também altos valores de r.s.d. de 13% e 22% para V e Mo, respectivamente, foram obtidos. Não houve nenhum aumento do sinal e valores de rsd para vanádio aquoso ou molibdênio, ou para as injeções repetitivas das amostras de suspensão quando a etapa de limpeza foi incluída no programa. As massas características encontradas foram 31, 9 e 5.8 pg para V, Mo e Cr, respectivamente, e os limites de detecção correspondentes foram 70, 22 e 11 pg.

SOTELO *et. al*⁶¹ compararam duas metodologias para a determinação direta de Cr, Ni e V em suspensão de solos, sedimentos e cinzas. As suspensões foram preparadas em 0,5% HNO₃. Ácido fluorídrico e HNO₃ foram avaliados como modificadores químicos. Quando o V foi medido nas suspensões a 318.0 nm, usando 0,5% (v/v) de HNO₃ como modificador, as temperaturas de pirólise e atomização foram 1400 °C e 2600 °C, respectivamente, com ótimo sinal de absorção atômica e desprezível sinal de fundo. Os pesquisadores observaram que o uso de HF como modificador requer uma baixa temperatura de pirólise, 800 °C, a qual poderia ser atribuída à formação de compostos voláteis de fluoreto, tais como, VF₅ (temperatura de ebulição 111,2°C), VF₄ (temperatura de decomposição a 325°C) ou VF₃ (temperatura de sublimação a 800°C). Vanádio foi satisfatoriamente quantificado e o limite de detecção (LOD) encontrado foi de 0,80 µg g⁻¹.

BENCS *et al*⁶² desenvolveram um método para a determinação de cromo, molibdênio e vanádio em óxido duplo de bismuto e telúrio Bi₂TeO₅, usando como atomizador um tubo de grafite com aquecimento transversal e corretor de efeito Zeeman longitudinal. O óxido foi dissolvido em HCl e o modificador utilizado foi

citrato de triamônio (TAC), que permitiu que os constituintes da matriz fossem removidos por vaporização durante a etapa de pirólise. Pela aplicação da dispensa múltipla da amostra (5 x 20 µL) e pré vaporização da matriz, a calibração pode ser realizada em padrões aquosos. Para vanádio, o limite de detecção foi 4,7 µg L⁻¹. A curva de calibração para V foi linear até 400 µg L⁻¹ e a massa característica encontrada foi de 58 pg.

A especiação e a determinação de V (IV) e V (V) em plantas foram estudadas por MANDIWANA *et. al.*⁶³. Isto foi possível pelo tratamento da amostra com solução 1,0 mol L⁻¹ (NH₄)₂HPO₄ que extrai somente as espécies solúveis V(V) para a solução, deixando as espécies V(IV) na parte sólida da solução da amostra. V (IV) é transferido da solução pela secagem do precipitado e dissolução em ácido diluído (mistura de HNO₃ e HCl). Estimativas estatísticas indicam que a soma das concentrações das espécies V(IV) e V(V) é a mesma que a concentração total de vanádio determinado por um método independente para a mesma amostra de planta, ao nível de 95% de confiança.

Sendo o vanádio um metal presente em grande quantidade em produtos derivados do petróleo, CASSELLLA *et. al.*⁶⁴ desenvolveram um método para a determinação direta de vanádio em águas salinas derivadas da exploração do petróleo. As melhores condições foram alcançadas com adição de 10 µg NH₄H₂PO₄ como modificador químico, empregando temperaturas de pirólise e de atomização de 1500 °C e 2700 °C, respectivamente. Neste tipo de amostra, o V pode ser determinado pelo método de adição padrão ou empregando uma tentativa de calibração externa com soluções padrões em 0,8 mol L⁻¹ de NaCl. O limite de detecção, limite de quantificação e o desvio padrão relativo em 0,8 mol L⁻¹ NaCl foram também calculados e os valores obtidos foram 1,9 µg L⁻¹, 6,3 µg L⁻¹ e 5,6%.

A determinação de vanádio em amostras de óleo diesel foi realizada por LUZ *et.al*⁶⁵, empregando o nitrato de magnésio como modificador químico. As temperaturas ótimas de pirólise e de atomização obtidas tanto na presença quanto ausência de modificador foram de 1100 e 2700 °C, respectivamente. A exatidão do método foi comparada com voltametria de redissolução adsortiva (VRAd). O limite de detecção e de quantificação para as medidas espectrométricas foi de 12,0 e 40,0 ng L⁻¹, respectivamente.

PASCHAL *et al*⁶⁶ desenvolveram um método rápido e direto para a determinação de V em urina. A amostra de urina foi diluída com 2% (v/v) HNO₃ e 0,001% (v/v) Triton X-100. As medidas de absorvância foram feitas em um espectrômetro de absorção atômica com efeito Zeeman. A massa característica foi de 34 pg, a qual é comparável com os valores relatados na literatura para soluções aquosas. Os coeficientes angulares obtidos para os padrões aquosos e urina foram aproximadamente idênticos, o que permite utilizar padrões aquosos para a calibração. O método apresentou limite de detecção de 1,9 µg L⁻¹ e o desvio padrão relativo foi de 3.5%.

Devido à natureza refratária do vanádio e seus compostos, o desempenho em GFAAS é criticamente afetado por parâmetros experimentais como velocidade de aquecimento do atomizador, qualidade do revestimento do tubo de grafite, aquecimento longitudinal ou transversal do atomizador, tipo de corretor de fundo, uso de modificador químico e volume de amostra⁵⁴. Nesse sentido, um estudo sistemático a respeito do comportamento eletrotérmico do vanádio em presença de

diferentes modificadores químicos para a determinação de V em suspensões de material vegetal apresenta-se como promissor.

3. PROPOSTA DE TRABALHO

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver um método analítico confiável para a determinação de vanádio em suspensão de material vegetal por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Os principais pontos que merecem destaque e que foram alvo de estudo neste trabalho são os seguintes:

- a) Avaliar o comportamento eletrotérmico de V em meio 0,2% (v/v) HNO₃ e em suspensão de material vegetal tanto na ausência como em presença de W, Rh e BaF₂ como modificadores químicos;
- b) Avaliar a influência da matriz do material vegetal nas absorbâncias do analito;
- c) Avaliar o procedimento de enriquecimento de plantas de salsa (*Petroselinum* sp.) com vanádio, visando sua utilização em dietas alimentares, bem como as condições ideais de enriquecimento e acúmulo de vanádio na diferentes partes da planta.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Material

4.1.1. Instrumentos e acessórios

O equipamento utilizado foi um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite Perkin Elmer SIMAA[®] 6000 (Figura 5) equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal e amostrador automático Perkin Elmer AS-72, agitador ultrassônico Perkin Elmer USS-100 e tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal (THGA[®]) padrão contendo plataforma L'vov integrada (Part N^o: B3 000641).



Figura 5. Espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer SIMAA 6000.

A parte ótica e o detector conferem a este equipamento a capacidade de detectar simultaneamente até 6 elementos. Os componentes principais desse

espectrômetro estão apresentados na Figura 6⁶⁷. Os feixes de radiação emitidos por até quatro lâmpadas de catodo oco (HCL) ou lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL) (a) são colimados e direcionados por espelhos (b) ao interior do tubo de grafite (c), onde haverá absorção parcial desses feixes por átomos gasosos no estado fundamental. Por meio de uma fenda (d), os feixes de radiação atingem o sistema dispersor do espectrômetro (e) para separá-los em função dos comprimentos de onda selecionados. Um detector de estado sólido (f) contém um arranjo de 60 fotodínodos dispostos bidimensionalmente e controlados independentemente. O detector está conectado com oito canais paralelos de processamento dos sinais e desta forma, as diferentes radiações separadas em duas dimensões são registradas⁶⁸.

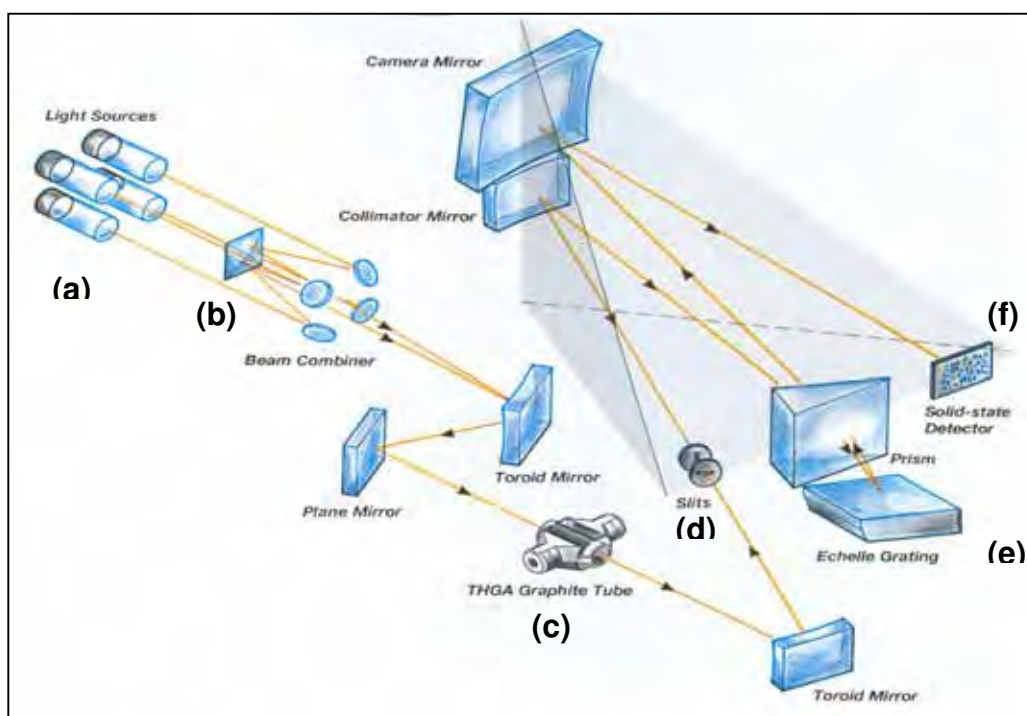


Figura 6. Diagrama com os principais componentes ópticos do espectrômetro utilizado. As letras entre parênteses correspondem a (a) lâmpadas HCL's ou EDL's; (b) espelhos; (c) tubos de grafite THGA; (d) fenda; (e) sistema dispersor (prisma e grade de difração Echelle); (f) detector de estado sólido.

Como fonte de radiação para determinação de vanádio foi usada uma lâmpada HCL operada a 40 mA. O monocromador foi ajustado de modo a selecionar o comprimento de onda de 318,5 nm; a largura da fenda espectral selecionada foi de 0,7nm. Argônio com 99,999% de pureza (White Martins) foi empregado como gás protetor do tubo e como gás de purga a uma vazão de 250 mL min⁻¹. Como gás auxiliar foi utilizado ar sintético (White Martins, (20,0 ± 0,5)% de O₂ e (80,0 ± 0,5)% de N₂) a 250 mL min⁻¹.

Para a digestão das amostras foi utilizado um forno de microondas Perkin Elmer - Anton Paar Multiwave[®] (Graz, Austria) equipado com frascos de quartzo com capacidade de 50 mL.

Entre outros equipamentos e materiais volumétricos utilizados destacam-se balança analítica Sartorius BL 210 S, moinho criogênico Spex-Freezer Mill 6800-115, estufa Tecnal TE 394/2, micropipetas *Eppendorf* (100 – 1000 µL) e Boeco (5 - 100 µL).

4.1.2. Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ cm⁻¹) obtida a partir de um sistema de osmose reversa Millipore Rios 5[®] combinado com desionizador Millipore Milli-Q academic.

Ácido Nítrico Suprapur[®] (*Merck*) foi utilizado para o preparo de todas as soluções.

Solução estoque de 1000 mg L⁻¹ V foi preparada a partir do padrão espectroscópico *Normex*[®] (Carlo Erba) por diluição do conteúdo da ampola

em 1000 mL de água. A solução estoque foi armazenada em frasco de polipropileno de alta densidade e sob refrigeração e as soluções analíticas de referência 5,00 - 50,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas diariamente por diluição apropriada da solução estoque.

Solução 1000 mg L^{-1} Rh (RhCl_3) e W (Na_2WO_4) (Fluka) foram utilizadas como modificadores permanentes sem prévia diluição.

Solução 1000 mg L^{-1} BaF_2 , usada como modificador químico, foi preparada dissolvendo-se 100 mg do sal (Merck, 99,999%) em 100 mL de água.

Solução 1000 mg L^{-1} V utilizada no enriquecimento dos materiais vegetais, foi preparada por dissolução de 1,15g NH_4VO_3 (Vetec) em 500mL de água.

Dois materiais de referência certificados (Tomato Leaves 1573a; Spinach 1570a), da *National Institute of Standards and Technology* (Gaithersburg, MD, USA) foram também analisados para verificar a exatidão do método proposto.

4.1.3. Preparo das amostras

4.1.3.1. Tratamento de salsa com vanádio

Neste procedimento, realizado no laboratório de Espectroanalítica do Instituto de Química-UNESP, algumas plantas de salsa com cerca de 30 dias, foram colhidas em plantações comerciais próximas à cidade de Araraquara. Suas raízes foram imersas em uma solução de vanádio (6 mg L^{-1} V) por um período de 24 horas. Esta solução foi obtida pela diluição da solução estoque de 1000 mg L^{-1} . Após este período, as plantas foram lavadas abundantemente com água desionizada e submetidas a uma secagem em estufa com circulação de ar a 60°C . Para todos os estudos, exceto para a determinação

de vanádio em material vegetal, foram utilizadas as plantas enriquecidas por este tratamento.

4.1.3.2. Enriquecimento de vegetais via cultivo hidropônico.

A hidroponia é uma técnica para cultivar vegetais sem a utilização do solo, mas sim com água apenas, normalmente associada a elementos essenciais para o bom desenvolvimento das plantas. Existem várias vantagens e aplicações para o cultivo hidropônico. Em geral, é mais utilizado para o cultivo de hortaliças, plantas medicinais e flores ornamentais, em pequenas áreas. Apesar disso, existem por todo o mundo grandes áreas dedicadas à hidroponia, com a qual é possível alcançar um grau de produtividade elevado. É muito útil em locais onde não há disponibilidade de solo adequado para o cultivo, ou para regiões de climas mais inóspitos, pois o cultivo hidropônico pode ser feito, e geralmente o é, em locais fechados, como estufas.

Este experimento foi conduzido na casa de vegetação do Horto de Plantas Medicinais e Tóxicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP. Em casa de vegetação contendo um controle de umidade relativa e temperatura, sementes de salsa (*Petroselinum* sp.) foram postas para germinar numa placa de ISOPOR[®] de orifícios próprios para o desenvolvimento das plantas, contendo substrato PLANTIMAX[®]. Após a formação das mudas, as quais ao atingirem aproximadamente 10 cm de altura, foram retiradas das placas e suas raízes após serem lavadas em água desmineralizada, as salsas foram transferidas para vasos contendo solução nutritiva, de Hoagland, composta pelas seguintes concentrações de macro e micronutrientes: 6,0 mmol L⁻¹ de nitrato de potássio, 4,0 mmol L⁻¹ nitrato de cálcio, 1,0 mmol L⁻¹ de fosfato de amônio, 2,0 mmol L⁻¹ de sulfato de

magnésio, $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ Fe (III), $40 \mu\text{mol EDTA}$, $19 \mu\text{mol L}^{-1}$ de ácido bórico, $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ sulfato de zinco, $0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ molibdato de amônio, $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ sulfato de cobre e $7,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cloreto de manganês. Foram transferidos 3,2 L desta solução a vasos plásticos opacos com capacidade de 3,5 L, sendo cobertos com tampas plásticas opacas contendo dois orifícios. As mudas eram fixadas no orifício central, e o outro, mais lateral, serviu de acesso a uma mangueira para o arejamento da solução nutritiva. As plantas foram cultivadas em diferentes concentrações de NH_4VO_3 , a saber: 0, 1,5 e 3,0 mg L^{-1} . Os vasos permaneceram fechados em constante condição de arejamento por 30 dias. Cada tratamento com as concentrações de vanádio possuía 4 réplicas, e foram distribuídos aleatoriamente sobre uma bancada da casa de vegetação. O pH das soluções foi ajustado para $6,0 \pm 0,2$ com o auxílio solução $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de NaOH. Na Figura 7 encontra-se uma ilustração do cultivo das plantas após 30 dias da transferência para a solução nutritiva. A solução nutritiva dos vasos foi trocada a cada 7 dias de cultivo.

Para a determinação de vanádio nas partes aéreas e nas raízes das salsas, em suspensão e em material digerido, foram utilizadas as plantas cultivadas por este modo de enriquecimento. Para testes de adição e recuperação, essas salsas também foram utilizadas.



Figura 7. Casa de vegetação onde as amostras de salsa foram cultivadas por hidroponia.

4.1.3.3. Secagem da amostra

O objetivo desta etapa é obter um valor de referência constante pela determinação do peso seco, uma vez que o peso líquido é difícil de quantificar e pode influenciar na exatidão e precisão dos resultados obtidos^{69, 70}.

Além da eliminação de água das amostras, a etapa de secagem é empregada para proteger os materiais vegetais contra a decomposição microbiana durante seu armazenamento^{71, 72}.

As amostras de salsa foram secas em estufa de circulação forçada de ar aquecido a 60°C por 48 horas até massa constante. Em seguida as amostras foram armazenadas em sacos de papel para posterior moagem.

4.1.3.4. Moagem criogênica dos vegetais

As amostras secas foram moídas em moinho criogênico (Figura 8) para o preparo das suspensões.

Uma massa da amostra foi colocada em frasco de policarbonato juntamente com a barra magnética, o qual foi devidamente fechado, adaptado ao suporte do moinho e imerso em nitrogênio líquido. Os impactos ($20 \text{ impactos s}^{-1}$) entre a amostra e a barra magnética gerados por um campo magnético oscilante pulverizam a amostra produzindo partículas com granulometria $< 55 \mu\text{m}$ ⁷³.

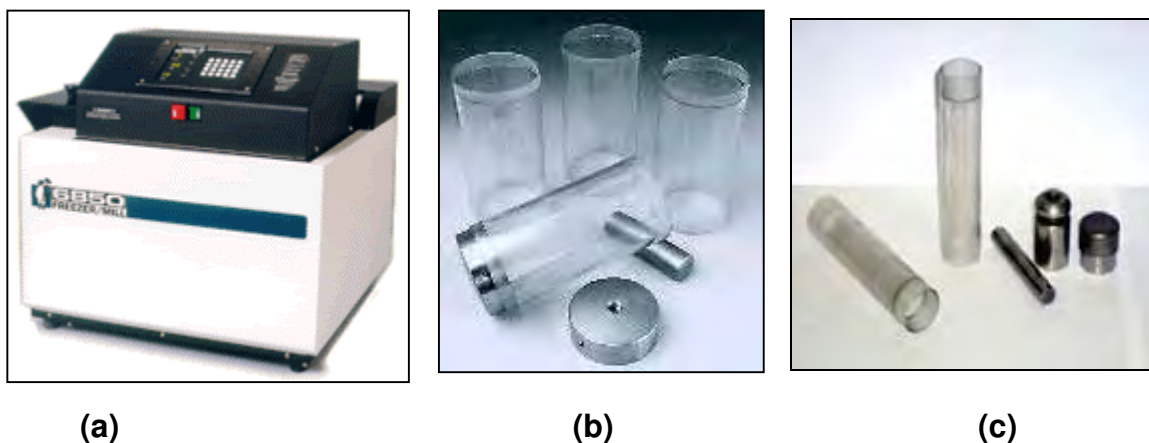


Figura 8. Moinho criogênico e alguns dos seus principais componentes. **(a)** Moinho criogênico, **(b)** Tubo de policarbonato de maior capacidade e barra magnética e **(c)** tubo de policarbonato de menor capacidade e barra magnética.

O programa de moagem criogênica compreendeu as etapas de pré-congelamento e de moagem, e está apresentado na Tabela 3. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno e armazenadas ao abrigo da luz e da umidade.

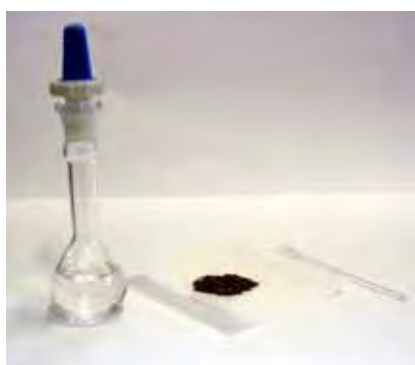
Tabela 3. Programa de moagem criogênica para as amostras de salsinha.

Etapa	Tempo, min
Pré-congelamento	2
Moagem*	2
Congelamento entre moagens	2

* 2 ciclos de moagem

4.1.3.5. Preparo das suspensões

Uma massa de 250 mg do material vegetal, seco em estufa e moído em moinho criogênico, foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e acrescida de 100 μ L de HNO₃ e 500 μ L de solução 5% (v/v) de Triton X-100, e água suficiente para completar o volume para 50 mL. Para as suspensões de SRMs uma massa de 250 mg foi transferida para uma balão volumétrico de 10 mL acrescida de 100 μ L de HNO₃ e 500 μ L de solução 5% (v/v) de Triton X-100, e água suficiente para completar o volume a 10 mL.



(a)



(b)

Figura 9. Suspensões de material vegetal. (a): uma amostra moída prestes a ser diluída em 0,2% (v/v) HNO₃. (b): os balões correspondem às suspensões da parte aérea (à esquerda) e da raiz (à direita) de salsinha.

4.1.3.6. Digestão em forno de microondas.

Para fins de comparação de resultados, as amostras do material vegetal foram digeridas com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio com aquecimento assistido por radiação microondas. A digestão foi obtida transferindo-se 50 mg de salsinha enriquecida via hidroponia e 250 mg dos materiais certificados Tomato Leaves 1573a e Spinach 1570a para frascos de quartzo com capacidade para 50mL (Figura 10a). Adicionaram-se às amostras 3 mL de HNO₃ concentrado e 1mL de H₂O₂ 30% (m/m). Em seguida, os frascos foram acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica, dispostos no rotor do forno de microondas (Figura 10b) e submetidos ao programa de aquecimento descrito na Tabela 4 (Figura 10c). As amostras digeridas foram transferidas para um balão volumétrico de 10 mL e o volume completado com água desionizada. Alíquotas de 20 µL destas soluções foram injetadas sobre a plataforma do tubo de grafite.

Tabela 4. Programa otimizado do forno de microondas para a digestão das salsinhas e SRMs.

Etapa	Potência inicial, W	Potência final, W	Tempo, min
1	100	500	5
2	800	800	15
3	0	0	15

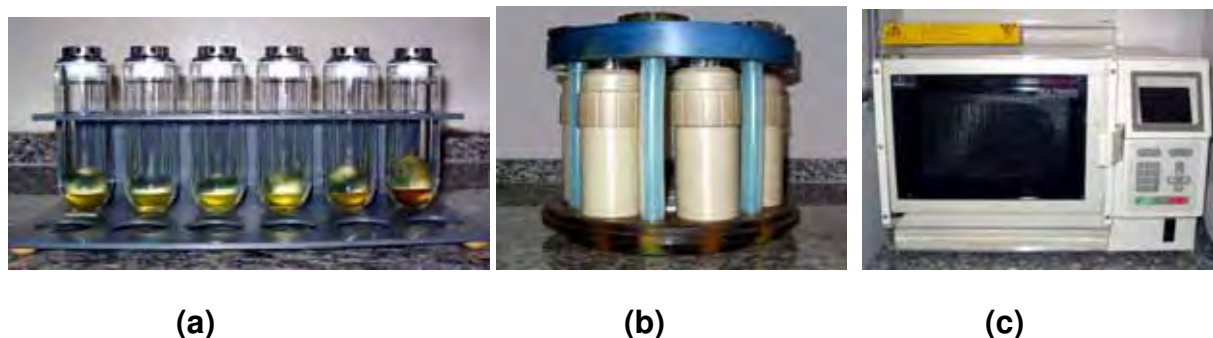


Figura 10. Foto do procedimento para a digestão das amostras em microondas: (a) frascos de quartzo com capacidade para 50 mL contendo 50 mg de amostra + 3mL de ácido nítrico concentrado + 1 mL de H_2O_2 30% (m/m); (b) frascos de quartzo acomodados em seus respectivos vasos de cerâmica e dispostos no rotor do forno de microondas; (c) amostras submetidas ao programa de aquecimento do forno de microondas descrito na **Tabela 4**.

4.1.4. Descontaminação e armazenamento

Os copinhos do auto-amostrador AS-72[®], os balões volumétricos, os frascos para armazenamento de soluções, entre outros materiais volumétricos utilizados no preparo de soluções, foram deixados imersos em solução 10% (v/v) HNO_3 e enxaguados abundantemente com água desionizada antes do uso. Todas as soluções e amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno de alta densidade (Nalgene[®], Rochester, E.U.A) descontaminados e sob refrigeração.

4.2. Métodos

As medidas foram feitas em triplicata e todo o estudo foi feito sob as condições STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*)²⁷, as quais compreendem o uso de tubo de grafite com plataforma de L'vov, o aquecimento rápido do forno, o processamento rápido do sinal, a medida da área do pico (integração do sinal), a parada do fluxo de gás interno durante atomização, o uso de modificadores químicos e o uso de corretor de fundo por efeito Zeeman para minimizar as interferências na fase vapor e melhorar a sensibilidade.

4.2.1. Recobrimento do tubo de grafite

O programa de aquecimento do tubo de grafite para recobrir a plataforma do mesmo com Rh e W (Tabela 5) foi o mesmo proposto por Krug e colaboradores³⁹. Para as deposições de Rh, uma alíquota de 50 μL da solução padrão 1000 mg L^{-1} foi introduzida no tubo de grafite. Este processo foi repetido 10 vezes, resultando numa massa de 500 μg do metal na plataforma. Para o recobrimento das plataformas do tubo de grafite com W, o mesmo processo foi repetido 5 vezes, permitindo que 250 μg de W fossem depositados.

Tabela 5. Programa de aquecimento do tubo de grafite usado para depositar os modificadores permanentes Ru e W³⁹.

Etapas	Temperatura, ° C	Tempo de rampa, s	Tempo de permanência, s	Fluxo de gás, mL min⁻¹
1	110	5	25	250
2	150	10	25	250
3	600	10	20	250
4	1200	10	20	250
5	2000	3	2	250
6	2200	0	5	0

4.2.2. Estudo do comportamento eletrotérmico de vanádio na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos

O comportamento eletrotérmico do vanádio foi avaliado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização tanto na ausência de modificador químico como na presença dos seguintes modificadores: a) modificador convencional (BaF_2); b) modificador químico permanente (Rh); c) modificador químico permanente (W). O estudo inicial foi feito com vanádio em meio 0,2% (v/v) de HNO_3 (solução 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ V + 0,2% (v/v) de HNO_3) e, em

seguida, com vanádio na presença da suspensão do material vegetal enriquecido [0,5% (m/v) de salsinha + 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO₃]. As curvas de temperatura de pirólise tanto na ausência como na presença dos modificadores químicos foram obtidas fixando-se a temperatura de atomização em 2600°C e variando-se a de pirólise em intervalos de 200°C, a partir de 800°C. Fixou-se, então, a temperatura de pirólise ótima em cada situação e variou-se a temperatura de atomização em intervalos de 100°C, a partir de 2200°C. O programa de aquecimento otimizado para vanádio em meio 0,2% (v/v) HNO₃ está ilustrado na Tabela 6. O tempo total de um ciclo é de 118 s, a temperatura do tubo durante a injeção foi 20°C e a amostra foi injetada a uma velocidade correspondente a 80% da velocidade máxima.

Para o meio aquoso, as curvas de temperatura de pirólise e de atomização foram construídas injetando-se 20 µL de solução 0,2% v/v HNO₃ contendo 25 µg L⁻¹ V. O branco analítico foi obtido injetando-se o mesmo volume de apenas 0,2% (v/v) HNO₃. Para o modificador convencional, uma alíquota de 6 µL da solução 1000 mg L⁻¹ BaF₂ era injetada juntamente com a amostra.

Tabela 6. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento eletrotérmico do V em 0,2% (v/v) HNO₃.

Etapa	T, °C	Rampa, s	Patamar, s	Fluxo de Ar, mL min⁻¹	Leitura
Secagem	110	1	30	250	Não
Secagem	130	15	30	250	Não
Pirólise	T _p *	10	20	250	Não
Atomização	2600	0	6	0	Sim
Limpeza	2600	1	5	250	Não

* T_p= 1600°C (sem modificador), 2000°C (W), 1800°C (Rh) e 1600°C (BaF₂).

As curvas de temperaturas de pirólise e de atomização para vanádio em suspensão de vegetal foram feitas da mesma maneira que já descrito para 0,2% (v/v) HNO₃. O programa de aquecimento está ilustrado na Tabela 7 e apresenta um ciclo de 102 segundos. A temperatura do tubo durante a injeção foi 20°C e a amostra também foi injetada a uma velocidade correspondente a 80% da velocidade máxima.

As curvas de pirólise e de atomização construídas tanto na ausência como na presença de Rh e W envolveram a injeção de 20 µL de uma suspensão contendo 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida + 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% HNO₃ (v/v). O branco analítico foi uma solução contendo 0,05% (v/v) Triton X-100 e 0,2% HNO₃ (v/v). No caso do BaF₂, uma alíquota de 6 µL da solução 1000 mg L⁻¹ BaF₂ era injetada juntamente com a alíquota da suspensão. Neste caso, o branco era obtido pela injeção de 20 µL de solução 0,05% (v/v) Triton X-100 e 0,2% HNO₃ (v/v) seguidos de 6 µL da solução do modificador BaF₂.

Esse estudo permitiu avaliar a necessidade ou não do emprego de modificadores químicos na determinação de V em material vegetal por meio das temperaturas de pirólise e de atomização, da sensibilidade obtida, do perfil dos sinais de absorção atômica e de fundo, dos desvios padrões para cada modificador ou na ausência deste.

Tabela 7. Programa de aquecimento do tubo de grafite para o estudo do comportamento eletrotérmico do V em suspensão de material vegetal.

Etapa	T, °C	Rampa, s	Patamar, s	Fluxo de Ar, mL min⁻¹	Leitura
Secagem	110	5	10	250	Não
Secagem	140	5	20	250	Não
Pirólise	T _p *	10	40	250	Não
Atomização	2600	0	6	0	Sim
Limpeza	2600	1	5	250	Não

* T_p= 1700°C (sem modificador e W), 1600°C (Rh e BaF₂).

4.2.3. Estudo da influência do tempo de pirólise na absorbância de vanádio

O efeito do tempo de pirólise no sinal de vanádio foi avaliado na ausência de modificador e na presença do modificador BaF₂. Injetou-se 20 µL de uma suspensão 0,5% (m/v) de suspensão de salsinha enriquecida contendo 0,2% (v/v) de HNO₃ + 0,05% (v/v) de Triton X-100 5%. O tempo de patamar da pirólise foi variado de 5 a 50 s. As outras condições de medidas foram as mesmas descritas na Tabela 7.

4.2.4. Estudo do efeito da massa de BaF₂ na absorbância do vanádio

Neste estudo foi avaliado o efeito da variação da massa de BaF₂ (2, 4, 6, 10, 12, 16, e 24 µg) sobre a atomização eletrotérmica do vanádio em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida. A temperatura de pirólise e de atomização usada foi de 1600°C e 2600°C, respectivamente, mantendo-se as condições da Tabela 7. O volume de suspensão injetado foi de 20 µL.

4.2.5. Influência da matriz na absorvância

A interferência da matriz do material vegetal foi avaliada na presença do modificador BaF_2 e na ausência desse modificador. Avaliou-se a interferência da matriz comparando-se os coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração construídas em suspensão 0,5% (m/v) do material vegetal não enriquecido (parte aérea separadamente das raízes) com a inclinação da curva analítica em meio 0,2% (v/v) HNO_3 . Curvas analíticas com coeficientes angulares semelhantes sugerem a mesma intensidade de interferência, ou até mesmo nenhuma interferência significativa.

4.2.6. Influência da concentração da suspensão

Neste estudo foi avaliada a influência da concentração da suspensão do material vegetal na representatividade da amostragem. Suspensões de material vegetal enriquecidas foram preparadas nas seguintes concentrações: 0,1% (m/v), 0,3% (m/v) e 0,5% (m/v) contendo 0,2% (v/v) HNO_3 e 0,05% (v/v) de Triton X-100.

4.2.7. Determinação de vanádio em suspensão de salsinha enriquecida

As curvas de calibração para determinar vanádio em amostras das salsinhas enriquecidas e em dois materiais de referência certificados, foram construídas em suspensões 0,5% (m/v) de matéria seca das plantas com compatibilização de matriz, no intervalo de 5,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Foram analisadas 8 amostras de salsinhas, sendo que a parte aérea foi analisada separadamente da raiz e também os dois materiais de referência Tomato Leaves 1573a e Spinach 1570a. O preparo das amostras, bem como dos padrões para a construção das curvas de calibração em meio de suspensão de salsinha, para a determinação de vanádio, foi feito como descrito anteriormente (item 4.1.3.5). Na ausência de modificador químico, injetaram-se 20 μL da suspensão 0,5% (m/v) sobre a plataforma do tubo de grafite. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de 20 μL de uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 contendo 500 μL de uma solução 5% (v/v) de Triton X-100. Para os materiais de referência certificados, injetou-se 20 μL da suspensão 2,5% (m/v) de SRM sobre a plataforma do tubo de grafite. O branco neste caso, foi obtido pela injeção de 20 μL de uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 contendo 500 μL de uma solução 5% (v/v) de Triton X-100. No caso do BaF_2 , injetaram-se 20 μL da suspensão 0,5% (m/v) de parte aérea ou de raiz de salsinha enriquecida via hidroponia + 6 μL de uma solução 1000 mg L^{-1} de BaF_2 sobre a plataforma do tubo de grafite. O branco neste experimento foi obtido pela injeção de 20 μL de uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 contendo 500 μL de solução 5% (v/v) de Triton X-100 + 6 μL de BaF_2 . Para os materiais de referência certificados, injetou-se 20 μL da suspensão 2,5% (m/v) de SRM sobre a plataforma do tubo de grafite + 6 μL de uma solução 1000 mg L^{-1} de BaF_2 . O branco neste caso, foi obtido pela injeção de 20 μL de uma solução 0,2% (v/v) de HNO_3 contendo 500 μL de uma solução 5% (v/v) de Triton X-100 + 6 μL de BaF_2 .

A exatidão do método também foi avaliada a partir de testes de adição e recuperação de padrão, na ausência e na presença de modificador BaF_2 . Para ambos os casos, foram adicionados 100 e 200 μL de solução 1 mg L^{-1} V em

balões de 10 mL contendo suspensões 0,5 % (m/v) de partes aéreas ou da raiz de salsa enriquecida + 0,2 % (v/v) de HNO₃ + 0,05 % (m/v) Triton X-100 5 %. O branco nestes experimentos foram obtidos pela injeção de 20 µL de uma suspensão 0,5 % (m/v) de partes aéreas ou da raiz de salsa enriquecida + 0,2 % (v/v) de HNO₃ + 0,05 % (m/v) Triton X-100 5 %. A repetibilidade do método foi avaliada por meio da estimativa do desvio padrão relativo de 12 medidas sucessivas da absorbância de V referentes a uma suspensão 0,5 % (m/v) de salsinha enriquecida com vanádio.

A estimativa do desvio padrão foi calculada de acordo com a equação 4:⁷⁴

$$s.d. = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N-1}} \quad (4)$$

Na qual **s.d.** é a estimativa do desvio padrão, **X_i** é o valor individual de uma medida, \bar{X} é a média das determinações e **N** é o número de determinações.

O desvio padrão relativo (r.s.d.) foi calculado de acordo com a Equação 5:⁷⁴

$$r.s.d. = \frac{s.d.}{\bar{X}} \times 100 \quad (5)$$

Onde: **s.d.** é o desvio padrão e \bar{X} a média das determinações.

Os resultados das determinações e dos testes de adição e recuperação foram avaliados por meio de testes estatísticos. A concordância entre as médias foi verificada pelo teste t de *Student* e as variâncias foram comparadas por meio do teste F ⁷⁴⁻⁷⁶.

Os resultados das análises das amostras foram comparados por meio do teste t de acordo com a Equação 6, para verificar a existência de diferença significativa entre as médias dos resultados obtidos pelos métodos propostos⁷⁶.

$$t_{calc} = \frac{d}{S_{agrupado}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (6)$$

$$S_{agrupado} = \sqrt{\frac{s^2_1(n_1-1) + s^2_2(n_2-1)}{n_1+n_2-2}}$$

Onde: d é a diferença entre os valores das médias de cada método, s é o desvio padrão das médias, n é o número de repetições, t_{calc} é comparado com o $t_{tabelado}$ para $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade, $S_{agrupado}$ é o desvio-padrão agrupado fazendo uso de ambos os grupos de dados.

Os resultados encontrados pela análise dos materiais de referência certificados foram comparados com os valores certificados por meio do teste t de *Student*⁷⁶ de acordo com a Equação 7, para verificar se existe diferença significativa entre os resultados obtidos pelos métodos propostos.

$$t_{calc} = \frac{|\bar{X} - \text{valor conhecido}|}{s.d.} \sqrt{n} \quad (7)$$

Na qual \bar{X} é a média das determinações, **s.d.** o desvio padrão n e o número de determinações.

A concordância entre as médias foi verificada pela comparação do $t_{\text{calculado}}$ com o t_{tabelado} , pois se $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$ ao nível de confiança de 95%, os dois resultados são considerados diferentes.

O teste $F^{74,75}$ foi usado para comparar as precisões dos conjuntos de dados obtidos pelos métodos propostos. Calcula-se pela equação 8:

$$F = \frac{s_a^2}{s_b^2} \quad (8)$$

Onde: s_a^2 é o desvio padrão do conjunto de dados a e s_b^2 é o desvio padrão do conjunto de dados b.

Se $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ é possível concluir que não há diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança.

A massa característica (m_0), que corresponde à massa de um elemento (em pg) que absorve 1% da potência da radiação analítica incidente, foi calculada pela expressão:

$$m_0 = \frac{(\text{Volume injetado, } \mu\text{L}) \cdot (\text{Concentração, } \mu\text{g/L}) \cdot (0,0044)}{(\text{Abs}_{\text{integrada amostra}}) - (\text{Abs}_{\text{integrada branco}})} \quad (9)$$

O limite de detecção (L.O.D) é a concentração mínima de uma solução de um elemento, que pode ser claramente diferenciada de zero e que produz um sinal de absorção igual a três vezes o desvio padrão de 10 ou mais medidas do sinal observado para um branco da amostra^{77,78}.

O cálculo do limite de detecção foi feito de acordo com a equação:

$$L.O.D. = \frac{3 s.d._{branco}}{b} \quad (10)$$

Onde: $s.d._{branco}$ corresponde ao desvio padrão das medidas do branco e b ao coeficiente angular da curva analítica de calibração.

O limite de quantificação (L.O.Q) representa o menor valor quantificável da concentração de um elemento em solução, que produz um sinal de absorção com desvio padrão relativo, geralmente de 10% o qual pode ser obtido multiplicando-se por dez o desvio padrão de 10 ou mais medidas do sinal observado para um branco da amostra^{77,78}. Recomenda-se calcular L.O.D e L.O.Q através dos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável.

O cálculo do limite de quantificação foi feito de acordo com a equação:

$$L.O.Q. = \frac{10 s.d._{branco}}{b} \quad (11)$$

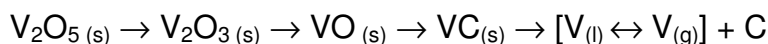
Onde: $s.d._{branco}$ corresponde ao desvio padrão das medidas do branco e b ao coeficiente angular da curva analítica de calibração.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo do comportamento eletrotérmico do V na ausência e na presença de diferentes modificadores químicos

Um dos problemas na determinação de vanádio utilizando tubos de grafite como atomizadores é a formação de carbeto refratários (VC) durante o processo de atomização. Essa formação causa uma pronunciada diminuição na sensibilidade, pois o VC é estável termicamente, principalmente nas condições de trabalho com tubos THGA. Uma maneira de minimizar esse problema é usar tubo de grafite pirolítico e/ou adicionar modificadores químicos.

Com relação aos mecanismos de atomização de vanádio em forno de grafite, Matousek e Powell⁷⁹ utilizaram a técnica de difração de raios-x para sugerir a seqüência de reações que ocorrem no tubo de grafite e que levam à formação de átomos de V em temperaturas na faixa de 800 a 2700°C. O processo de atomização proposto é a redução dos óxidos até o carbeto correspondente, seguido da decomposição térmica deste último:



Como o vanádio é um elemento com tendência de formar compostos refratários de elevada estabilidade térmica, tal como o carbeto de vanádio (VC), produzido quando em contato com o atomizador (grafite) e de difícil degradação dificultando a formação de átomos de V no estado fundamental, pretendeu-se estudar o comportamento do vanádio empregando modificadores químicos que aumentassem a volatilidade do V, como o BaF₂, ou que impedissem a formação de carbeto por meio de revestimento da plataforma com um metal preferencialmente formador (W) e com outro preferencialmente não formador (Rh) de carbeto. O comportamento eletrotérmico do V nos meios 0,2% (v/v) HNO₃ e em suspensão de

material vegetal foi estudado por meio de curvas de temperatura de pirólise e de atomização tanto na ausência como na presença desses modificadores.

5.1.1. Ausência de modificadores químicos

O comportamento eletrotérmico de vanádio em meio 0,2% (v/v) HNO_3 e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida na ausência de modificador químico está ilustrado pelas curvas de pirólise e de atomização da Figura 11.

As temperaturas de pirólise e atomização obtidas experimentalmente para vanádio na ausência de modificadores químicos foram 1600°C e 2600°C para o meio aquoso e 1700°C e 2600°C para suspensão.

Análise da Figura 11 revela que o comportamento eletrotérmico do V é semelhante tanto em solução 0,2% (v/v) HNO_3 como em suspensão 0,5% (m/v) de salsa. A temperatura de atomização a 2600°C não foi suficiente para que houvesse uma completa atomização do V, devido à sua natureza refratária e à formação de carbetos de vanádio. Deve ser comentado que temperaturas de atomização mais altas não foram avaliadas em função da limitação instrumental.

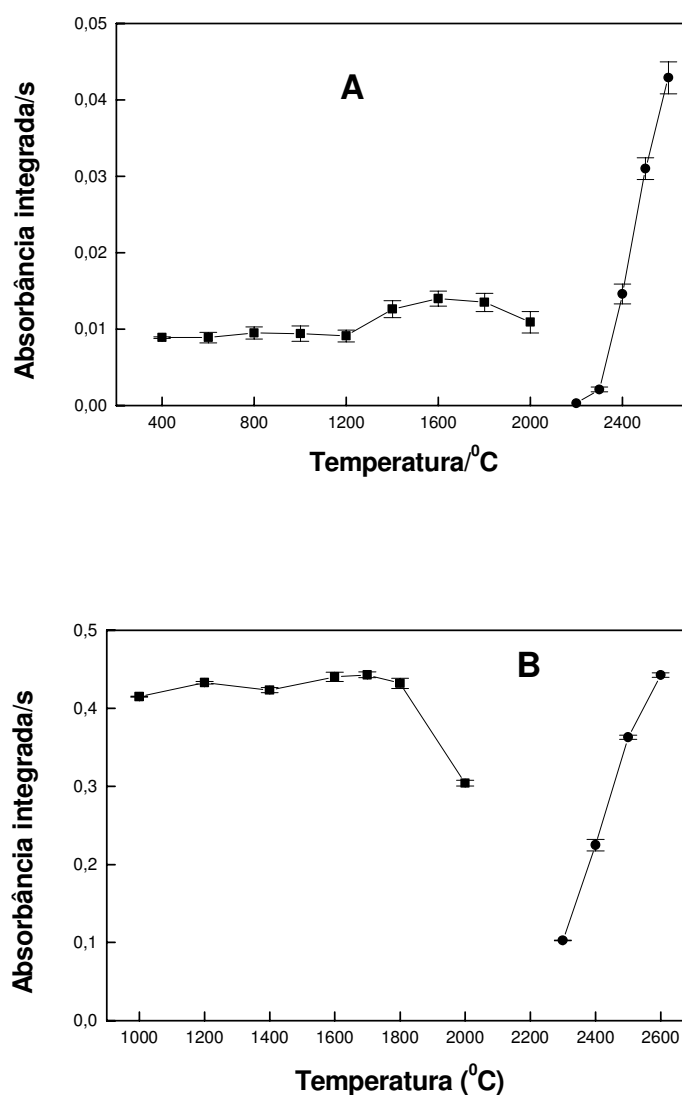


Figura 11. Curvas de pirólise e atomização na ausência de modificador químico referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução HNO_3 0,2% (v/v) **(A)** e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO_3 **(B)**.

A análise do perfil dos sinais de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) transientes obtidos para vanádio em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (Figura 12A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha (Figura 12B) revela um comportamento semelhante do vanádio nos dois meios estudados e um transiente de absorção atômica típico de um elemento refratário, com dificuldade de retorno à linha.

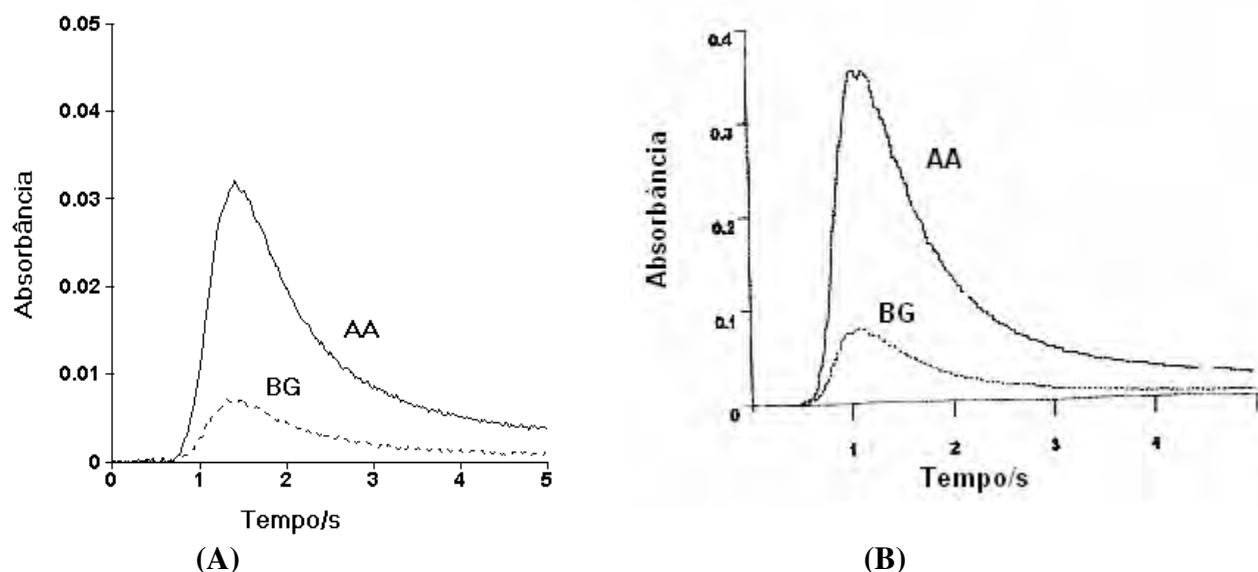


Figura 12. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos na ausência de modificador químico.

5.1.2. Modificadores permanentes

O emprego de modificadores químicos permanentes apresenta uma série de vantagens sobre os convencionais, como ciclo analítico mais rápido, pois não há necessidade de se injetar os modificadores pelo auto-amostrador, o branco analítico é usualmente mais baixo, devido à eliminação de impurezas voláteis do modificador durante o tratamento térmico do tubo de grafite, levando a melhora no limite de detecção, aumento da vida útil do tubo de grafite, e conseqüentemente reduzindo os custos analíticos³⁸.

5.1.2.1. Tungstênio

A formação de depósitos de carbetos (ou oxicarbeto) metálicos sobre a plataforma do tubo de grafite, ou diretamente sobre a parede do tubo, é uma estratégia de modificação interessante para prolongar a vida útil do tubo de grafite quando se trabalha com solventes ou matrizes agressivas³⁹. Além

de atuar como revestimento do tubo e/ou como modificador, esses carbetos podem promover a decomposição da matriz por meio de efeitos catalíticos³⁹.

Sendo o vanádio e o tungstênio formadores de carbetos, decidiu-se, então, investigar o efeito deste último metal como revestimento da plataforma do tubo de grafite para minimizar, ou mesmo impedir, a formação de carbeto de vanádio. O comportamento eletrotérmico do vanádio em meio 0,2% (v/v)HNO₃ e em suspensão 0,5% (m/v) de material vegetal enriquecido está ilustrado pelas curvas de pirólise e de atomização da Figura 13.

A temperatura de pirólise foi de 2000°C e a de atomização foi 2600°C para V em meio aquoso. Para a suspensão, essas temperaturas foram 1700°C e 2600°C, respectivamente. Os perfis dos sinais transientes são bem semelhantes para os dois meios estudados, inclusive na dificuldade de o sinal retornar à linha base. Os sinais analíticos mostraram uma cinética de atomização mais lenta na presença do modificador W. Picos mais largos foram observados. Isso se deve a uma interação modificador-analito bastante forte, seja pela formação de intermetálicos, carbetos ou ainda óxi-carbetos mistos, os quais dificultam a liberação do V na etapa de atomização, acarretando, ao longo das medidas, efeitos de memória bastante pronunciados.

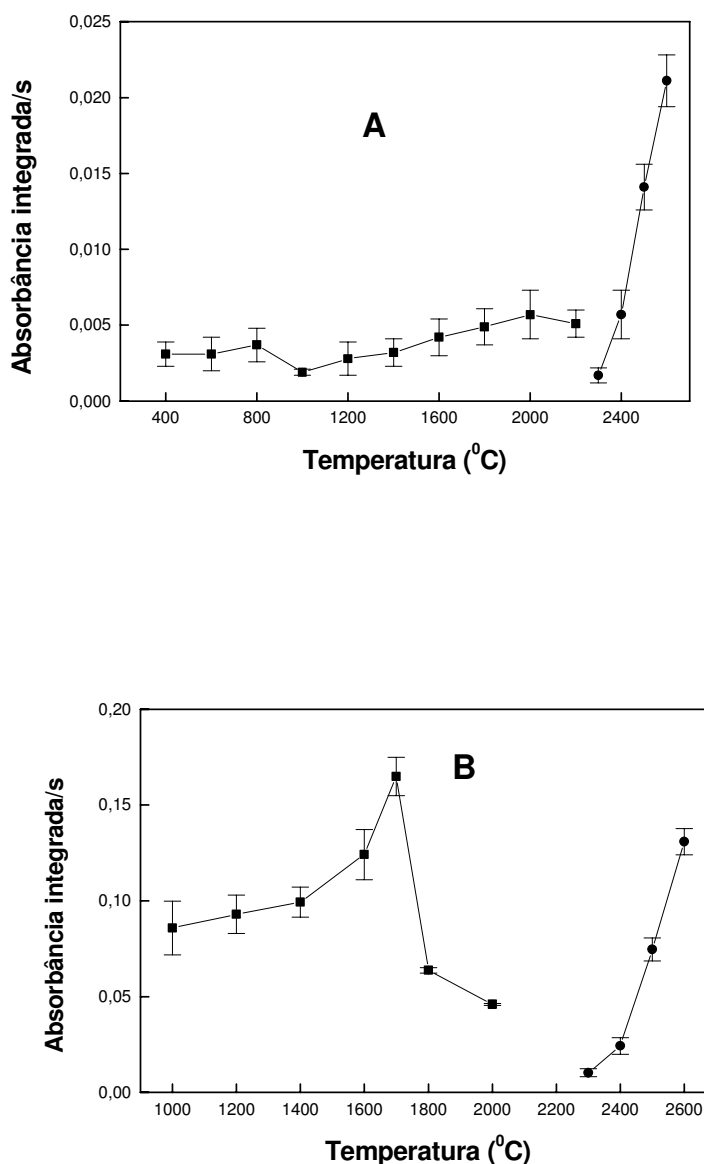


Figura 13. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando W como modificador químico e referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO_3 (B)

A temperatura de pirólise foi de 2000°C e a de atomização foi 2600°C para V em meio aquoso. Para a suspensão, essas temperaturas foram 1700°C e 2600°C , respectivamente. Os perfis dos sinais transientes são bem semelhantes para os dois meios estudados, inclusive na dificuldade de o sinal

retornar à linha base. Os sinais analíticos mostraram uma cinética de atomização mais lenta na presença do modificador W. Picos mais largos foram observados. Isso se deve a uma interação modificador-analito bastante forte, seja pela formação de intermetálicos ou carbetos e óxi-carbetos mistos, os quais dificultam a liberação de V gasoso no estado fundamental, acarretando, ao longo das medidas efeitos, de memória bastante pronunciados.

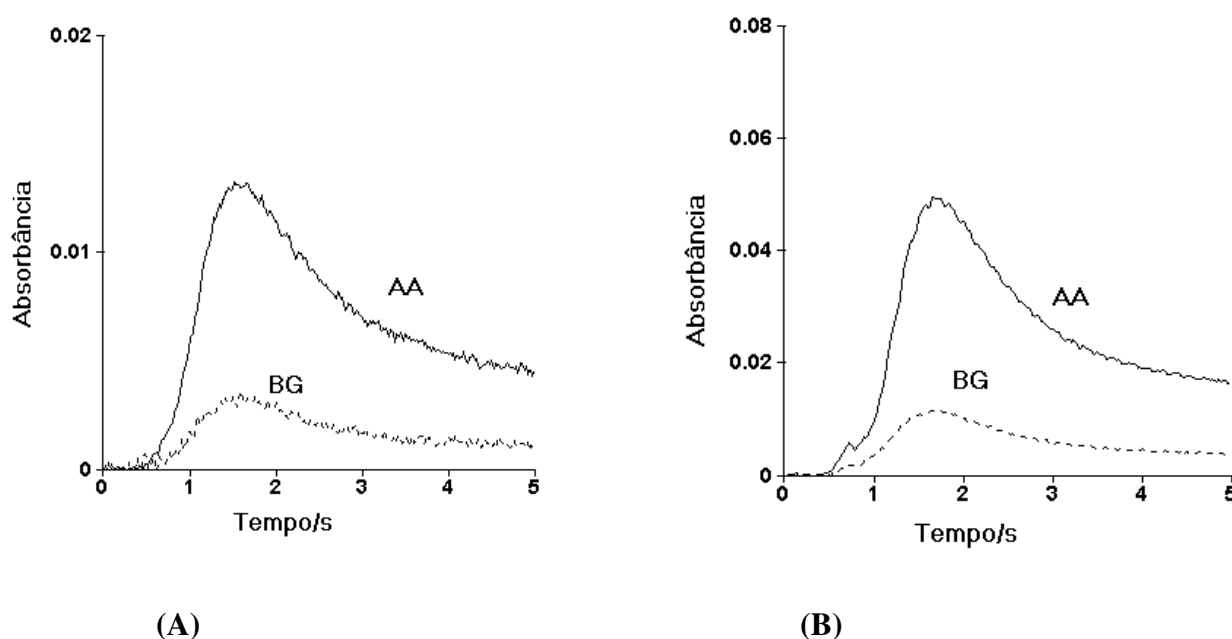


Figura 14. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando W como modificador químico permanente.

5.1.2.2. Ródio

O recobrimento da plataforma de grafite com metais nobres como os metais do grupo da platina de baixa volatilidade (Rh, Ru e Ir) têm sido usados como modificadores permanentes em vários trabalhos^{80,81}. Nesse sentido, optou-se escolher o Rh no intuito de recobrir a plataforma do tubo de grafite com um

metal não formador de carbeto, dificultando a interação do analito com a plataforma do tubo e, assim, minimizando a formação de carbeto de vanádio.

O comportamento eletrotérmico do vanádio em meio 0,2% (v/v) HNO₃ e em suspensão 0,5% (m/v) de material vegetal está representado pelas curvas de temperatura de pirólise e de atomização (Figura 15).

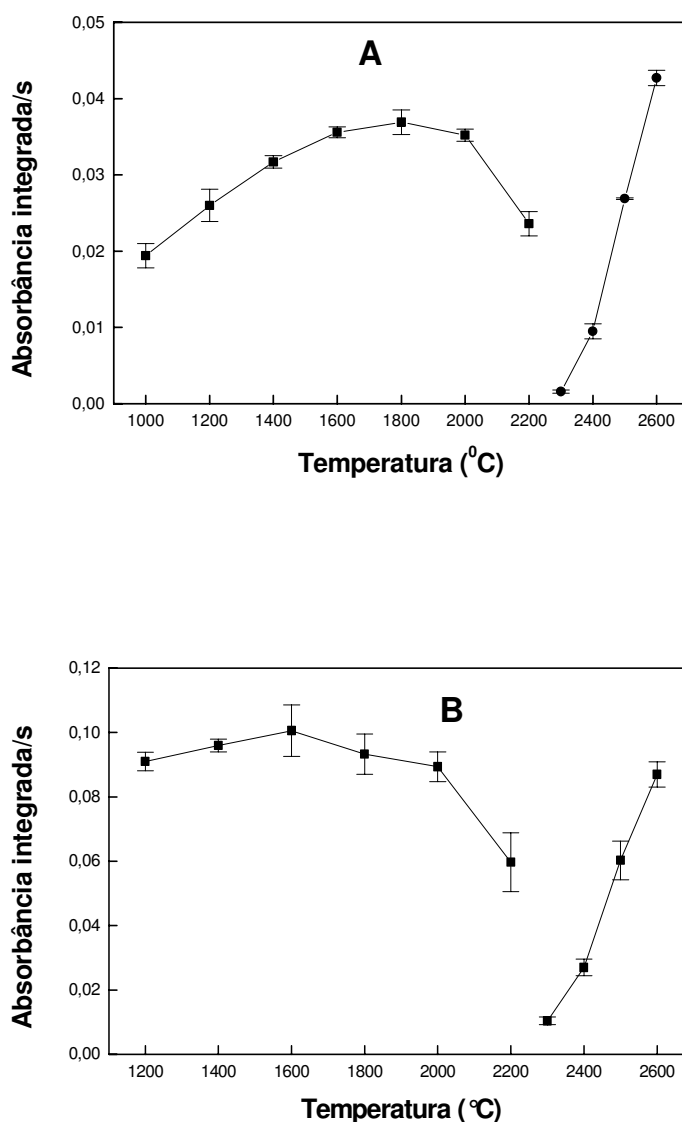


Figura 15. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando Rh como modificador químico e referentes a 25 µg L⁻¹ V em solução 0,2% (v/v) HNO₃ (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO₃ (B).

Análise da Figura 15 revela que as temperaturas de pirólise e de atomização para V empregando o modificador Rh foram 1800°C e 2600°C para o meio 0,2% (v/v) HNO₃ e 1600°C e 2600°C para a suspensão de salsinha.

Os perfis dos sinais transientes revelam que o Rh, assim como o W, favoreceu a retenção do analito, necessitando de temperaturas elevadas para a liberação do mesmo, sendo assim observados efeitos de memória.

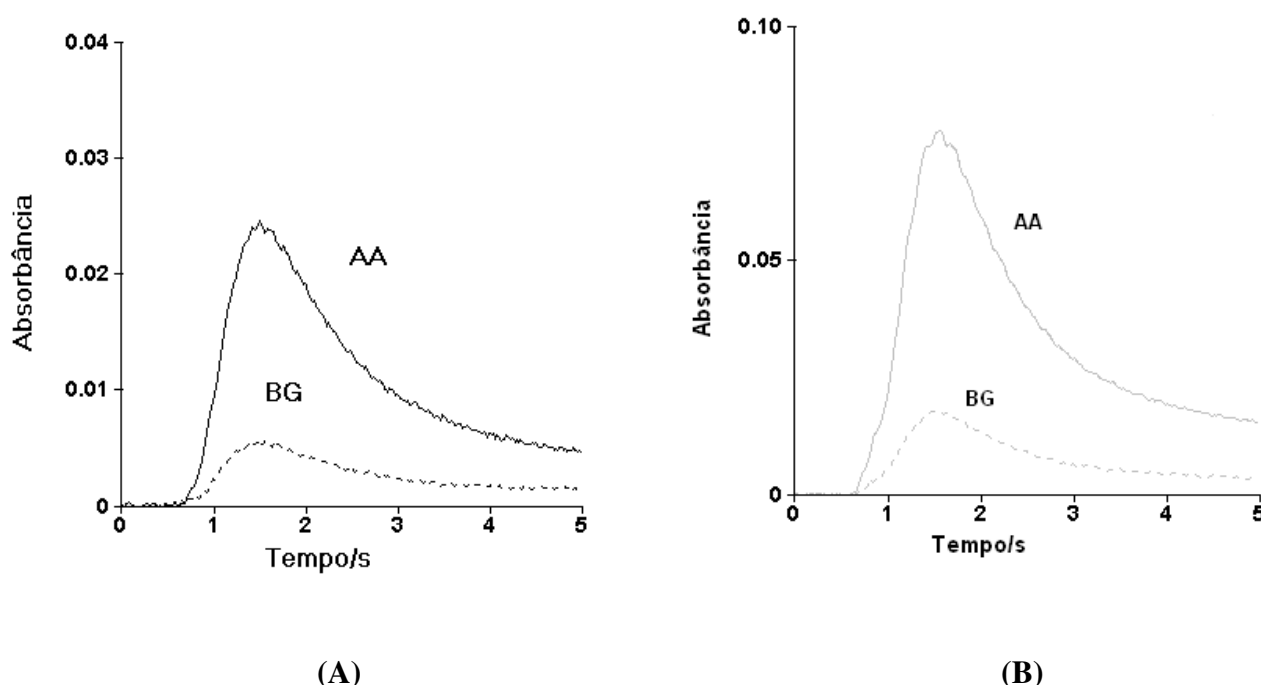


Figura 16. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a 25 µg L⁻¹ V em solução 0,2% (v/v) HNO₃ (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando Rh como modificador químico permanente.

5.1.3. Fluoreto de bário

Um dos problemas na determinação de vanádio utilizando tubos de grafite como atomizadores é a formação de carbetos refratários durante o processo de atomização. Esse processo causa uma pronunciada diminuição da sensibilidade, além

de sérios efeitos de memória que afetam a precisão. Segundo BERMEJO-BARRERA e colaboradores⁵⁵, melhor sensibilidade na determinação de vanádio em amostras de leite por GFAAS com aquecimento longitudinal pode ser obtida com a utilização do modificador químico BaF_2 . Esse efeito sobre a sensibilidade foi causado pela provável formação de compostos voláteis entre vanádio e fluoreto, como por exemplo, fluoreto de vanádio (IV) que se decompõe em temperaturas menores que $325^\circ C$, exceto o fluoreto de vanádio (III) que possui ponto de fusão de $1406^\circ C$, enquanto o fluoreto de vanádio (III) trihidrato se decompõe em baixas temperaturas⁵⁴.

O comportamento eletrotérmico do V foi investigado com a adição de BaF_2 como modificador químico (Figura 17).

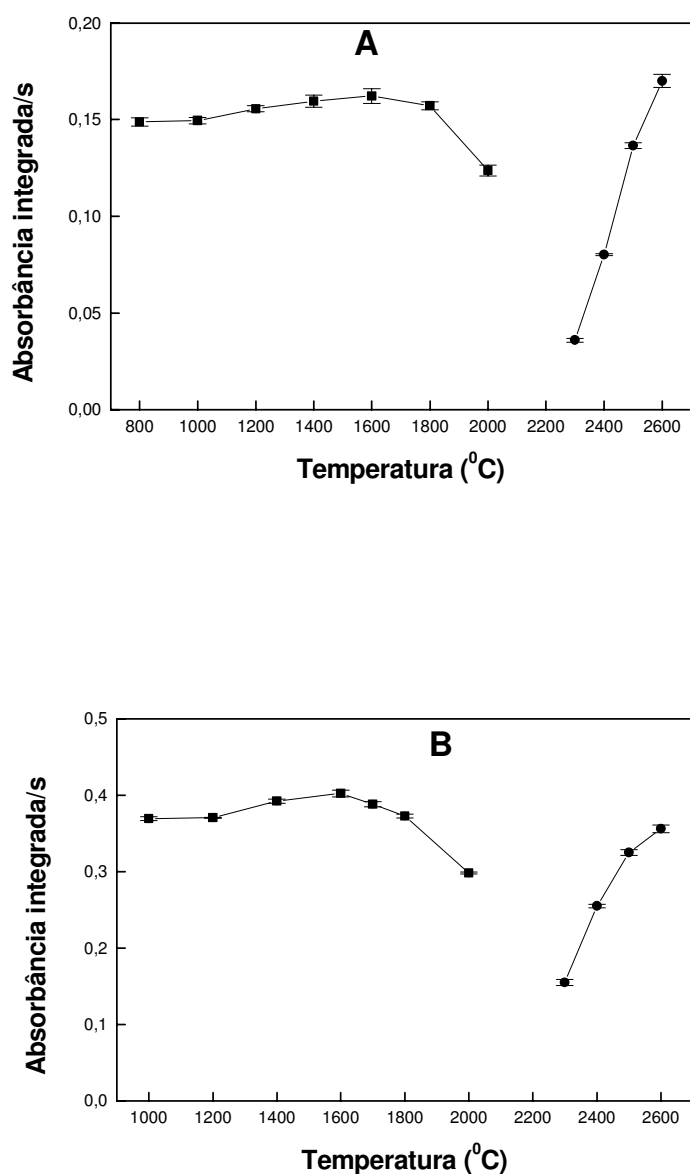


Figura 17. Curvas de temperatura de pirólise e de atomização empregando BaF₂ como modificador químico e referentes a 25 µg L⁻¹ V em solução 0,2% (v/v) HNO₃ (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida contendo 0,05% (v/v) de Triton X-100 + 0,2% de HNO₃ (B).

As temperaturas ótimas de pirólise e de atomização obtidas experimentalmente para vanádio na presença de BaF₂ como modificador químico foram 1600 °C e 2600 °C respectivamente, tanto para o meio 0,2% (v/v) HNO₃ como

para a suspensão. A análise do perfil dos sinais atômicos transientes obtidos para V em solução aquosa e suspensão não variou muito em relação aos perfis dos sinais transientes obtidos sem modificador.

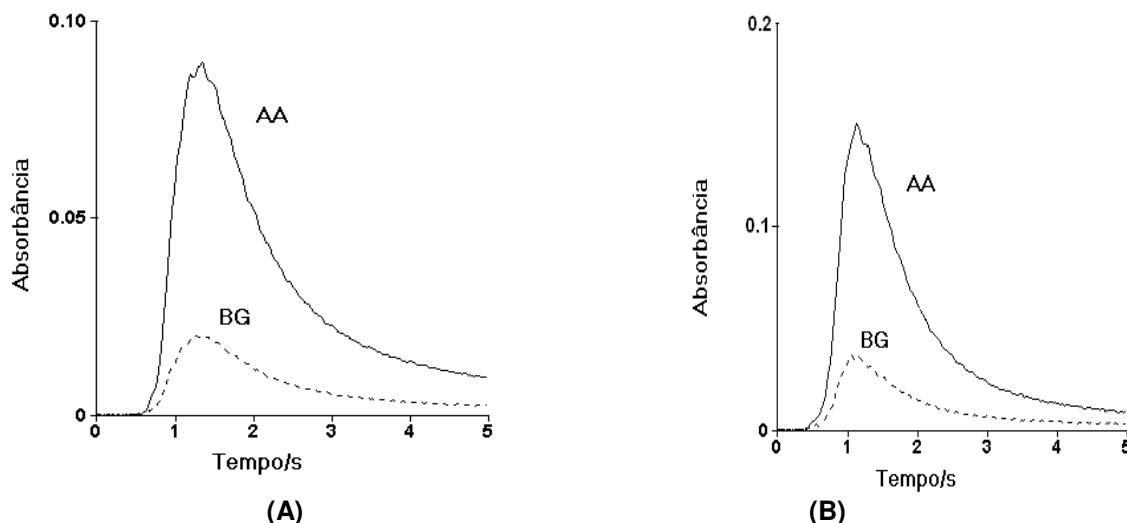


Figura 18. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) referentes a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ V em solução 0,2% (v/v) HNO_3 (A) e em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida (B) obtidos empregando BaF_2 como modificador químico.

As principais características analíticas obtidas para todos os modificadores estudados tais como temperatura de pirólise, temperatura de atomização, massa característica, desvios padrões relativos e absorção de fundo (background) estão resumidos na Tabela 8. Os valores de r.s.d., na presença dos modificadores W e Rh, foram altos devido ao pronunciado efeito de memória ao longo das medidas. Estes modificadores permanentes também reduziram o sinal de fundo obtido, sugerindo assim, um maior efeito catalítico destes modificadores na degradação da matriz de salsinha. Menores massas características e menores

r.s.d. foram obtidos na ausência de modificador e na presença de BaF₂. A partir dessas características, optou-se por continuar os estudos somente com BaF₂ e na ausência de modificadores.

Tabela 8. Principais características analíticas.

Modificador	T _p (°C)	T _a (°C)	m ₀ (pg)	r.s.d. (%)	Bg (A)
Ausente					
HNO ₃ 0,2%	1600	2600	32	4.4	0,0094
suspensão	1700	2600	17	0.6	0,1026
W					
HNO ₃ 0,2%	2000	2600	104	10.7	0,0160
suspensão	1700	2600	58	9.8	0,0285
Rh					
HNO ₃ 0,2%	1800	2600	52	11.2	0,0091
suspensão	1600	2600	37	10.8	0,0302
BaF ₂					
HNO ₃ 0,2%	1600	2600	20	1.9	0,0371
suspensão	1600	2600	15.8	1.3	0,0808

A análise desta tabela revela que para qualquer situação estudada, há diferença significativa entre calibrar o sistema com solução aquosa e com suspensão, pois massas características distintas foram obtidas. A sensibilidade do método é maior quando a calibração é feita em meio de suspensão de salsinha, pois massas características menores são observadas.

5.2. Estudo da influência do tempo de pirólise na absorvância de vanádio

Um maior tempo de duração na etapa de pirólise pode possibilitar uma maior degradação da matriz e melhor sinal analítico para o vanádio. Pode ser verificada na Figura 19 que foi obtido uma maior intensificação do sinal analítico no tempo de patamar de 40s, tanto na ausência de modificador, como na presença de BaF_2 .

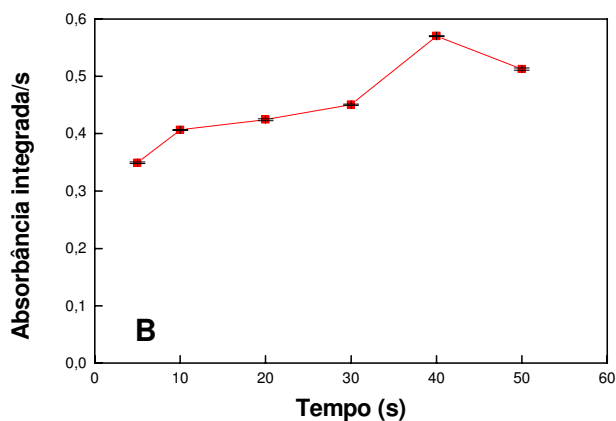
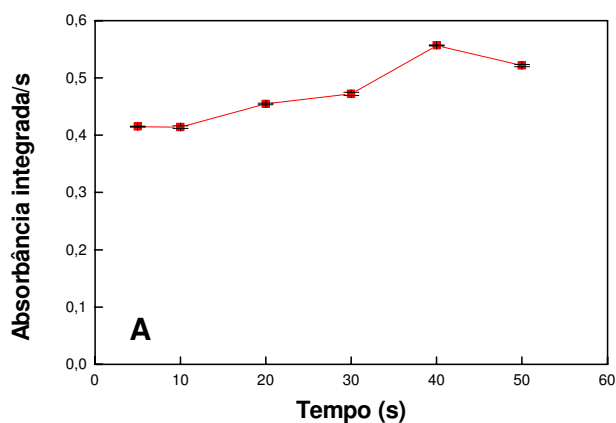


Figura 19. Influência dos tempos de patamar nas medidas de absorbância e desvio padrão de suspensão de material vegetal na ausência de modificador (**A**) e na presença de BaF_2 (**B**).

5.3. Efeito da massa de BaF₂ na absorvância do vanádio

Depois de verificada que as melhores condições de trabalho ocorreram em meio contendo BaF₂ e na ausência de modificador, buscou-se estudar a influência da massa de BaF₂ sobre o sinal de absorvância e a estabilidade do V em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida. A Figura 20 ilustra o efeito da variação da massa de BaF₂ adicionada à amostra de suspensão de salsinha sobre a absorvância do vanádio. O melhor sinal analítico do vanádio ocorreu em meio contendo 6 µg de BaF₂.

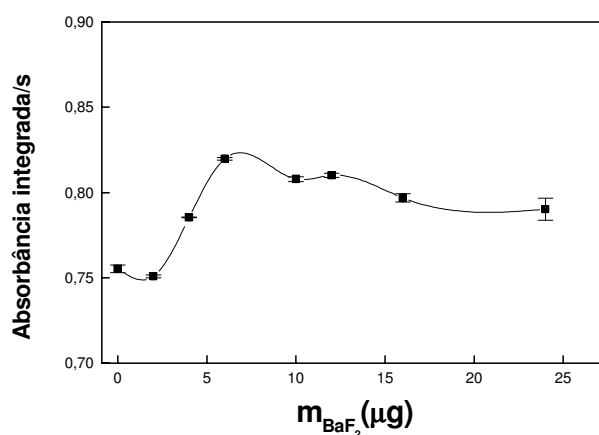


Figura 20. Efeito da massa de BaF₂ sobre o sinal de absorvância de vanádio.

5.4. Influência da presença de ar como gás auxiliar

Pelo fato de vegetais apresentarem grandes quantidades de matéria orgânica, testou-se um programa de aquecimento que apresentou duas etapas de pirólise, sendo a primeira a 600°C assistida por ar para garantir a remoção da maior parte do material orgânico da amostra. Nesta situação é necessário incluir no

programa de aquecimento uma etapa de purga com argônio durante um tempo relativamente longo (40s a 20 °C) antes de elevar a temperatura novamente para continuar a segunda etapa de pirólise a 1700 °C, caso contrário haveria combustão do tubo de grafite. Neste sentido, resolveu-se avaliar a necessidade da primeira etapa de pirólise assistida por ar por meio da avaliação do perfil do sinal de absorção atômica transiente e da observação visual de eventual acúmulo de resíduo de carvão sobre a plataforma do tubo de grafite. A seguir encontram-se os perfis dos sinais atômicos transientes para o vanádio em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida obtidos na ausência de modificador químico.

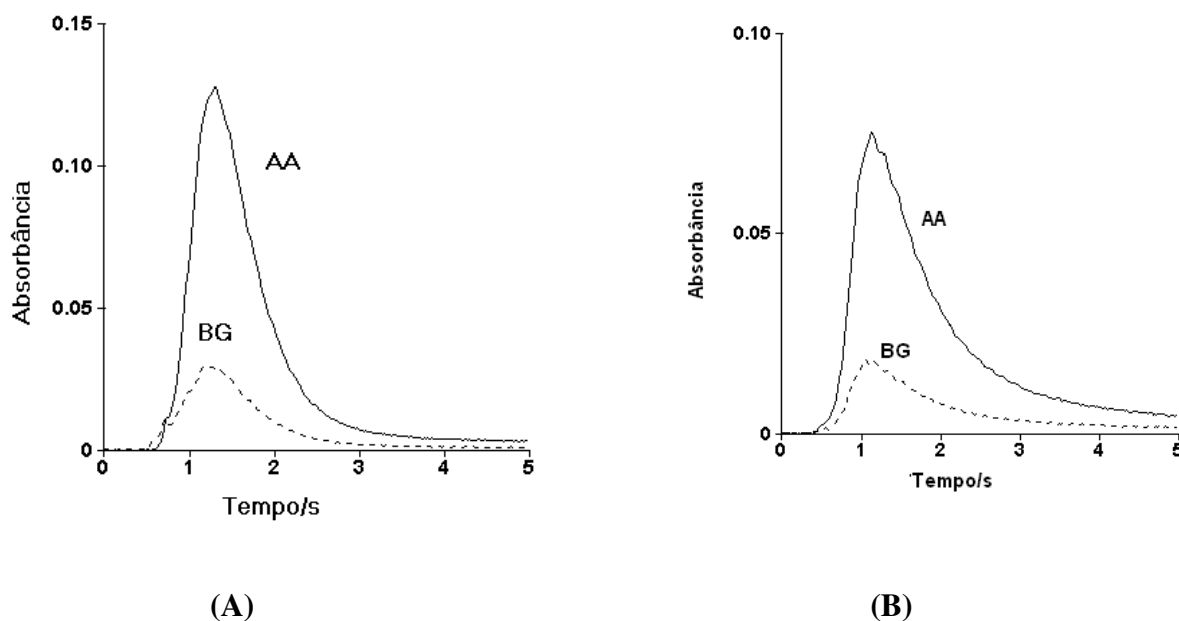


Figura 21. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) obtidos para vanádio presente em suspensão 0,5% (m/v) de salsinha enriquecida, obtidos na ausência de modificador, com o programa de aquecimento sem (A) e com (B) a etapa de pirólise assistida por ar.

Observa-se na figura que na ausência da pirólise assistida por ar (Figura 21A) a tendência de retorno do sinal transiente à linha base é maior que na situação com ar. Isso se deve provavelmente à reação entre o oxigênio oriundo do gás auxiliar (ar sintético) e o carbeto de vanádio, levando à formação de óxido de

vanádio ou até mesmo de oxi-carbetos de vanádio, cujas espécies químicas devem apresentar um caráter bem refratário, dificultando a completa atomização do vanádio inclusive por reações de recombinação entre V e O.

Tabela 9. Influência da presença de gás auxiliar (ar) na pirólise a 600°C na absorvância (A), no sinal de fundo (BG) e na repetibilidade (n=4).

<i>Suspensão de material vegetal</i>	<i>Abs. integrada</i>	<i>BG</i>	<i>r.s.d. (%)</i>
<i>Com ar</i>	0.1080	0.0255	11
<i>Sem ar</i>	0.1331	0.0272	2.3

Apesar de nas duas situações os sinais de fundo terem sido muito próximos, o uso de gás auxiliar provocou um efeito de memória muito pronunciado ao longo das medidas, ocasionando um alto valor de r.s.d. (Tabela 9).

5.5. Representatividade da amostra

Considerando que a amostra não se apresentou homogênea por se tratar de uma suspensão, e a amostragem é uma etapa essencial da seqüência analítica, pois pode induzir a erros significativos, avaliou-se a influência da concentração da suspensão, na concentração de vanádio⁸². A análise da Tabela 10 revela que os teores de vanádio determinados para as concentrações das suspensões menores que 0,5% (m/v) de parte aérea de salsinha enriquecida não foram representativos, uma vez que as concentrações das suspensões apresentaram valores abaixo do LOQ dos métodos desenvolvidos. Desse modo, a suspensão de salsinha de 0,5% (m/v) foi a mais representativa, sendo esta a concentração selecionada para fazer

a determinação de vanádio nas amostras do vegetal enriquecidas via hidroponia. Além disto, a suspensão apresentou uma boa homogeneidade.

Tabela 10. Resultados comparativos para a representatividade da amostra

<i>Amostra</i>	$[V] / \mu\text{g L}^{-1}$	$[V] / \mu\text{g g}^{-1}$
0.1% (m/v)	0.81 ± 0.02	0.16 ± 0.12
0.3% (m/v)	1.97 ± 0.0009	0.39 ± 0.08
0.5% (m/v)	3.50 ± 0.01	0.70 ± 0.10

5.6. Efeito de matriz

Os efeitos de matriz foram avaliados na ausência de modificador e na presença de BaF_2 , comparando os coeficientes angulares das curvas analíticas com soluções de referência em meio aquoso e por compatibilização de matriz. As sensibilidades obtidas variaram dependendo do meio. Sendo assim, foi usado o método de compatibilização de matriz para determinação de vanádio em amostras de salsinha enriquecida.

Embora a calibração em meio aquoso não possa ser aplicada, a compatibilização de matriz é relativamente simples, cuja ressalva é a necessidade de amostra que produza baixos brancos analíticos.

A curva analítica foi obtida na ausência de modificador com soluções de referência preparadas pelo método de compatibilização de matriz, contendo de 5,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ V. Na presença do modificador BaF_2 , a curva analítica foi obtida da mesma maneira com co-injeção de 6 μL de BaF_2 . O meio utilizado para a preparação de todas as soluções foi uma suspensão 0,5% (m/v) de parte aérea ou de raiz de salsinha + 0,2% (v/v) de HNO_3 + 0,05% (v/v) de Triton X-100. O teor de vanádio determinado nas amostras de salsinha

utilizadas para a calibração por compatibilização de matriz foi menor que o LD dos métodos. A análise da Figura 22A revela que há diferença significativa entre calibrar o meio em 0,2% (v/v) HNO₃ ou em suspensão de salsinha, uma vez que as curvas apresentaram coeficientes angulares diferentes: 0,00419(ácido nítrico), 0,00581 (suspensão de parte aérea de salsinha) e 0,00609 (suspensão de raiz de salsinha). Na presença do modificador BaF₂ (Figura 22B) observou-se, também, que os efeitos de matriz não foram corrigidos, pois as inclinações das curvas analíticas em 0,2% (v/v) HNO₃ e em suspensão de salsinhas apresentaram diferentes coeficientes angulares (b): 0,00458 (ácido nítrico), 0,00646 (suspensão de parte aérea de salsinha) e 0,00682 (suspensão de raiz de salsinha). Pode ser concluído através dos coeficientes angulares que não há diferença significativa na sensibilidade dos métodos de calibração quando folhas ou raízes de salsinhas foram utilizadas. Do ponto de vista prático, recomenda-se o emprego da parte aérea do vegetal, pois o propósito deste trabalho é avaliar o teor de V na parte comestível da planta.

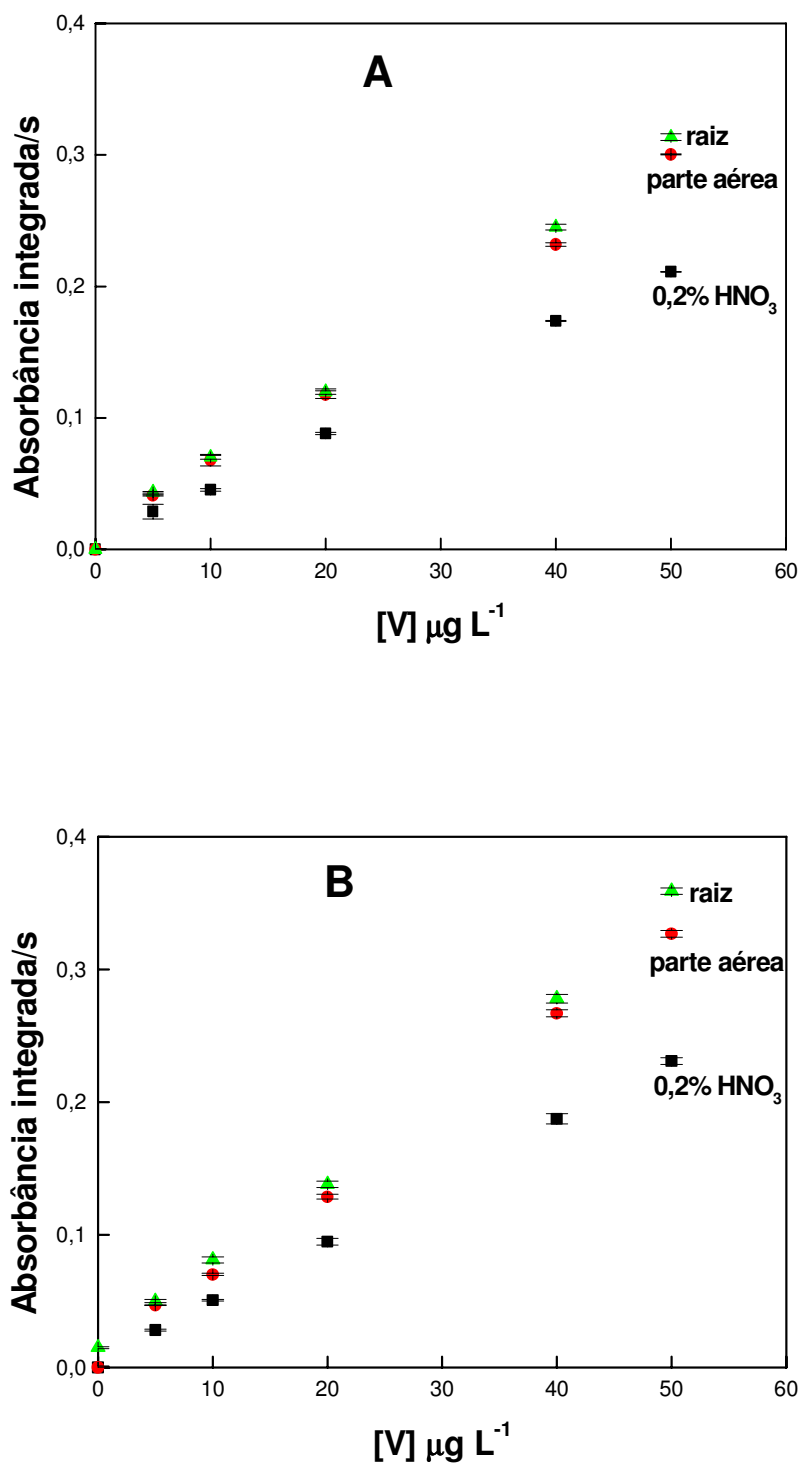


Figura 22. Curvas analíticas para V obtidas em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 (-■-), suspensão 0,5% (m/v) de parte aérea de salsinha, (-●-) e suspensão 0,5% (m/v) de raiz de salsinha (-▲-) na ausência de modificador (A) e na presença de BaF_2 (B).

5.7. Determinação de vanádio

Depois de método otimizado, a aplicabilidade e a precisão do procedimento proposto para determinação de vanádio empregando BaF_2 e na ausência de modificador foram investigadas em 8 amostras de suspensões das amostras das partes aéreas e das raízes das salsinhas oriundas do cultivo hidropônico realizado na casa de vegetação. Para fins de comparação de resultados, a determinação também foi feita nas amostras após a digestão via microondas.

5.7.1. Determinação de vanádio nas partes aéreas das salsinhas

A determinação de vanádio em partes aéreas de salsinhas foi feita na ausência de modificador e na presença de BaF_2 . O programa de aquecimento otimizado para determinação de vanádio em salsinha está descrito na Tabela 7. As suspensões foram preparadas como descrito no item 4.1.3.5. As amostras foram divididas em dois grupos diferentes, de acordo com o tratamento ao qual foram submetidas: no primeiro tratamento, que foi chamado de T_1 , a planta foi enriquecida com $1,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ V}$ e quatro réplicas foram analisadas (R_1 , R_2 , R_3 e R_4); no segundo tratamento, chamado de T_2 , a planta foi enriquecida com $3,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ V}$ e também quatro réplicas foram analisadas (R_1 , R_2 , R_3 e R_4).

A Tabela 11 apresenta os valores para a determinação de V em amostras de salsinha enriquecidas com o modificador BaF_2 e na ausência do mesmo.

Tabela 11. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão ($n=4$) da determinação de V em amostras de parte aérea.

Amostras	V ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
	Ausência de modificador		BaF ₂	
	Suspensão	Digerido	Suspensão	Digerido
T ₁ R ₁	0,70 ± 0,10	0,67 ± 0,08	0,69 ± 0,09	0,66 ± 0,12
T ₁ R ₂	0,90 ± 0,18	0,88 ± 0,15	0,89 ± 0,11	0,85 ± 0,09
T ₁ R ₃	1,09 ± 0,16	1,11 ± 0,13	1,07 ± 0,12	1,04 ± 0,08
T ₁ R ₄	1,53 ± 0,21	1,55 ± 0,19	1,52 ± 0,14	1,46 ± 0,10
$\bar{X}_{(T_1)}$	1,05 ± 0,16	1,05 ± 0,14	1,04 ± 0,11	1,00 ± 0,10
T ₂ R ₁	2,23 ± 0,22	2,25 ± 0,16	2,21 ± 0,17	2,16 ± 0,13
T ₂ R ₂	1,87 ± 0,15	1,84 ± 0,12	1,86 ± 0,17	1,73 ± 0,13
T ₂ R ₃	1,72 ± 0,13	1,67 ± 0,16	1,71 ± 0,07	1,67 ± 0,09
T ₂ R ₄	2,05 ± 0,15	2,01 ± 0,13	2,04 ± 0,10	1,96 ± 0,12
$\bar{X}_{(T_2)}$	1,97 ± 0,16	1,94 ± 0,14	1,95 ± 0,13	1,88 ± 0,12
SRM 1*	0,66 ± 0,09	0,65 ± 0,08	0,65 ± 0,09	0,64 ± 0,08
SRM 2**	0,90 ± 0,06	0,88 ± 0,05	0,89 ± 0,06	0,88 ± 0,07

SRM 1*: Spinach 1570a (0,57 ± 0,03)

SRM 2*: Tomato Leaves 1573a (0,83 ± 0,01)

\bar{X} : média das determinações

As concentrações de vanádio determinadas nas amostras em suspensão variaram de 0,70 a 2,23 $\mu\text{g g}^{-1}$ V e de 0,69 a 2,21 $\mu\text{g g}^{-1}$ V, na ausência de modificador e na presença de BaF₂, respectivamente. As concentrações de vanádio nas partes aéreas das salsinhas sem enriquecimento (chamadas de testemunha) foram menores que o LD do método, variando de 0,89 a 0,91 $\mu\text{g L}^{-1}$, na ausência de modificador e 0,69 a 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ na presença de BaF₂. Esses dados evidenciam que não houve

contaminação por vanádio nas plantas testemunhas. Testes estatísticos foram aplicados com o objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados. As médias das determinações, tanto no material vegetal em suspensão e após digestão, na ausência de modificador e na presença de BaF₂ foram avaliadas pelo teste *t-Student*, pelo qual se pode constatar que não houve diferença significativa entre elas ao nível de 95% de confiança. A análise estatística revelou que as médias encontradas para os materiais certificados são compráveis com os valores certificados e que os resultados obtidos são precisos a 95% de confiança, segundo o teste F.

A Tabela 11 lista os desvios padrões obtidos na ausência de modificador (0,10 - 0,22) e na presença de BaF₂ (0,07 - 0,17). A variância dos resultados para a determinação na ausência de modificador e na presença de BaF₂, em suspensão e após digestão em microondas, foi comparada por meio do teste F, e não há uma diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança. Para complementar avaliação do desempenho do método, foram feitos testes de adição e recuperação de V em amostras de suspensões de salsinha. Este tem como principal objetivo avaliar possíveis efeitos múltiplos de matriz, ou seja, calcular a concentração da espécie química de interesse na amostra após a adição de uma quantidade conhecida desse analito à amostra⁷¹. Os testes de adição e recuperação de padrão foram feitos para as 4 amostras do primeiro tratamento (T₁) que foram enriquecidas com vanádio. As recuperações obtidas na ausência de modificador e na presença de BaF₂ encontram-se nas Tabelas 12 e 13, respectivamente.

Tabela 12. Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de partes aéreas enriquecidas preparadas com $10\mu\text{g L}^{-1}$ e $20\mu\text{g L}^{-1}$ V e analisadas na ausência do modificador.

Amostras	Recuperação %	
	$10\mu\text{g L}^{-1}$ V	$20\mu\text{g L}^{-1}$ V
T ₁ R ₁	98 (1,5)	108 (1,5)
T ₁ R ₂	96 (2,3)	105 (1,5)
T ₁ R ₃	93 (1,8)	103 (1,2)
T ₁ R ₄	103 (1,4)	106 (1,6)

Tabela 13. Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de partes aéreas enriquecidas preparadas com $10\mu\text{g L}^{-1}$ e $20\mu\text{g L}^{-1}$ V e analisadas na presença de BaF₂.

Amostras	Recuperação %	
	$10\mu\text{g L}^{-1}$ V	$20\mu\text{g L}^{-1}$ V
T ₁ R ₁	95 (1,9)	99 (1,5)
T ₁ R ₂	92 (2,1)	102 (1,7)
T ₁ R ₃	93 (1,8)	101 (1,3)
T ₁ R ₄	88 (1,4)	98 (1,6)

Na ausência de modificador, as recuperações variaram de 93% a 108% e para o modificador BaF₂ variaram de 88% a 102%. Os limites de detecção calculados na ausência de modificador e na presença de BaF₂ foram 0,94 e 0,74 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os respectivos limites de quantificação foram 3,15 e 2,48 $\mu\text{g L}^{-1}$. A massa característica calculada foi de 17 pg na ausência de modificador e 15,8 pg na presença de BaF₂. Estes dois métodos são consideravelmente sensíveis, se as massas características forem comparadas com o valor apresentado no manual do equipamento, que é de 42 pg na ausência de modificador químico e em meio 0,2% (v/v) HNO₃.

5.7.2. Determinação de vanádio nas raízes de salsinhas

A determinação de vanádio foi feita nas raízes das respectivas partes aéreas das salsinhas descritas no item 5.7.1. O programa

de aquecimento utilizado está descrito na Tabela 7. As suspensões foram diluídas para 0,5 % (m/v) de raiz enriquecida.

A Tabela 14 ilustra os valores para a determinação de V em amostras de raízes de salsinhas enriquecidas.

Tabela 14. Resultados comparativos dos teores e dos desvios padrão ($n=4$) da determinação de V em amostras de raiz.

Amostras	V ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
	Ausência de modificador		BaF ₂	
	Suspensão	Digerido	Suspensão	Digerido
T ₁ R ₁	3,20 ± 1,00	2,90 ± 0,68	3,19 ± 0,42	3,23 ± 0,38
T ₁ R ₂	3,29 ± 0,19	3,17 ± 0,12	3,28 ± 0,19	3,35 ± 0,16
T ₁ R ₃	3,38 ± 0,44	3,29 ± 0,27	3,37 ± 0,17	3,38 ± 0,15
T ₁ R ₄	3,44 ± 0,13	3,56 ± 0,10	3,43 ± 0,15	3,46 ± 0,35
\bar{X} (T ₁)	3,40 ± 0,44	3,23 ± 0,29	3,31 ± 0,23	3,35 ± 0,26
T ₂ R ₁	2,93 ± 0,25	3,01 ± 0,17	2,92 ± 0,25	2,93 ± 0,25
T ₂ R ₂	2,98 ± 1,00	3,16 ± 0,32	2,97 ± 0,34	3,09 ± 0,11
T ₂ R ₃	3,18 ± 0,60	3,24 ± 0,40	3,17 ± 0,20	3,19 ± 0,16
T ₂ R ₄	3,14 ± 0,45	3,12 ± 0,60	3,13 ± 0,25	3,27 ± 0,19
\bar{X} (T ₂)	3,05 ± 0,57	3,13 ± 0,37	3,05 ± 0,26	3,12 ± 0,18

\bar{X} : média das determinações

As concentrações de vanádio determinadas nas amostras variaram de 2,93 a 3,44 $\mu\text{g g}^{-1}$ V e 2,92 a 3,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ V, na ausência de modificador e na presença de BaF₂, respectivamente. As concentrações de vanádio nas raízes das salsinhas testemunha (sem enriquecimento com V) na ausência de modificador (0,58-0,62 $\mu\text{g L}^{-1}$) e na presença de BaF₂ (0,65-0,71

$\mu\text{g L}^{-1}$) estiveram abaixo do LD de ambos os métodos. As médias das determinações na ausência de modificador e na presença de BaF_2 foram avaliadas pelo teste *t-Student*, pelo qual se pode constatar que não existe diferença significativa entre elas ao nível de 95%.

Os desvios padrões foram (0,13 - 1,00) e (0,15 - 0,42) na ausência de modificador e na presença de BaF_2 , respectivamente. Os desvios padrões dos resultados foram comparados por meio do teste F, e não houve uma diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95% de confiança. Os desvios padrão dos resultados comparados entre as amostras em suspensões e as amostras digeridas também não apresentaram diferença significativa entre as precisões ao nível de 95% de confiança.

A exatidão do método foi avaliada por meio de testes de adição e recuperação de padrão para as 4 amostras do primeiro tratamento (T_1) que foram enriquecidas com vanádio. As recuperações obtidas na ausência de modificador e na presença de BaF_2 encontram-se nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15. Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de raízes enriquecidas preparadas com $10\mu\text{g L}^{-1}$ e $20\mu\text{g L}^{-1}$ V e analisadas na ausência do modificador

Amostras	Recuperação %	
	$10\mu\text{g L}^{-1}$ V	$20\mu\text{g L}^{-1}$ V
T_1R_1	95 (2,1)	106 (1,5)
T_1R_2	88 (1,2)	102 (1,9)
T_1R_3	94 (1,8)	97 (2,0)
T_1R_4	105 (1,4)	109 (1,6)

Tabela 16. Recuperações ($n=3$) e desvios padrão relativos (entre parênteses) referentes a amostras de raízes enriquecidas preparadas com $10\mu\text{g L}^{-1}$ e $20\mu\text{g L}^{-1}$ V e analisadas na presença de BaF_2

Amostras	Recuperação %	
	$10\mu\text{g L}^{-1}$ V	$20\mu\text{g L}^{-1}$ V
T₁R₁	87 (1,7)	106 (1,9)
T₁R₂	92 (1,1)	107 (1,2)
T₁R₃	89 (1,3)	103 (1,7)
T₁R₄	93 (1,9)	106 (2,1)

Na ausência de modificador, as recuperações variaram de 88% a 109% e para o modificador BaF_2 variaram de 87% a 107%. Os limites de detecção calculados na ausência de modificador e na presença de BaF_2 foram $0,64$ e $0,70\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os respectivos limites de quantificação foram $2,13$ e $2,34\mu\text{g L}^{-1}$.

As principais características analíticas dos métodos propostos para a determinação de vanádio em material vegetal enriquecido na ausência e na presença de BaF_2 estão compiladas na Tabela 17.

Tabela 17. Características analíticas dos métodos propostos para a determinação de V em amostras de salsinha enriquecidas via hidroponia

Características	Ausência de modificador	BaF₂
Temperatura de pirólise (°C)	1700	1600
Temperatura de atomização (°C)	2600	2600
Massa característica (m ₀ ; pg)	17	15.8
R.S.D (%)	0,3 – 4,2(PA)*	0,3 – 2,6(PA)
	0,2 - 3,3(RZ)*	0,4 – 1,3(RZ)
Recuperação (%)	93 – 108(PA)	88 - 102(PA)
	88 – 109(RZ)	87 – 107(RZ)
[V], µg g ⁻¹	0,70 – 2,23(PA)	0,69 – 2,21 (PA)
	2,93 – 3,44(RZ)	2,92 - 3,43(RZ)
L.O.D., µg L ⁻¹	0,94(PA)	0,74(PA)
	0,64(RZ)	0,70(RZ)
L.O.Q., µg L ⁻¹	3,15(PA)	2,48(PA)
	2,13(RZ)	2,34(RZ)
Massa de modificador, µg	-----	6
Volume injetado da amostra, µL	20	20
Vida útil do tubo de grafite	250	250

*P.A = parte aérea; RZ = raiz

5.8. Avaliação do procedimento de enriquecimento de vegetais

Com o objetivo de validar o procedimento de enriquecimento de vegetais com adição de vanádio à solução nutritiva, quatro réplicas foram cultivadas nas mesmas condições. O cuidado com o número de réplicas foi tomado para que fosse possível avaliar se o enriquecimento ocorreu de forma positiva ou negativa à planta, sem causar toxicidade. A partir de cálculos estatísticos de análise de

variância com regressão polinomial foi possível constatar que a planta sofreu uma queda no seu crescimento com o aumento da concentração de vanádio na solução nutritiva (Figura 23).

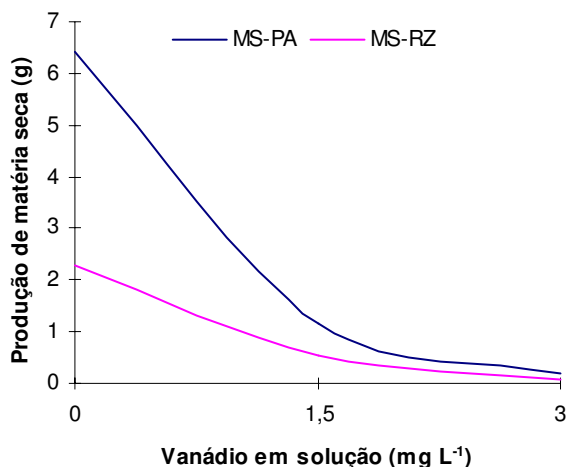


Figura 23. Produção de matéria seca de parte aérea (MS-PA) e de raiz (MS-RZ) de salsa.

Em relação às partes aéreas que receberam o tratamento de 0,0 mg L⁻¹ V, as que receberam o tratamento de 1,5 mg L⁻¹ tiveram um decréscimo de 76% em seu crescimento e partes aéreas que receberam o tratamento de 3,0 mg L⁻¹ um decréscimo de 96% em seu crescimento. Quanto às raízes, em relação às que receberam o tratamento de 0,0 mg L⁻¹ V, as raízes que receberam o tratamento de 1,5 mg L⁻¹ tiveram um decréscimo de 82% em seu crescimento e as que receberam o tratamento de 3,0 mg L⁻¹, um decréscimo de 97% em seu crescimento.

Com o aumento da concentração de vanádio na solução nutritiva a planta respondeu de forma positiva, absorvendo e acumulando vanádio nos seus tecidos radiculares e foliares.

Pela análise da Figura 24 pôde-se observar que as raízes absorveram muito mais vanádio que a parte aérea. O fato de a raiz não translocar maiores quantidades de vanádio para a parte aérea das plantas, pode ser devido à variedade da planta.

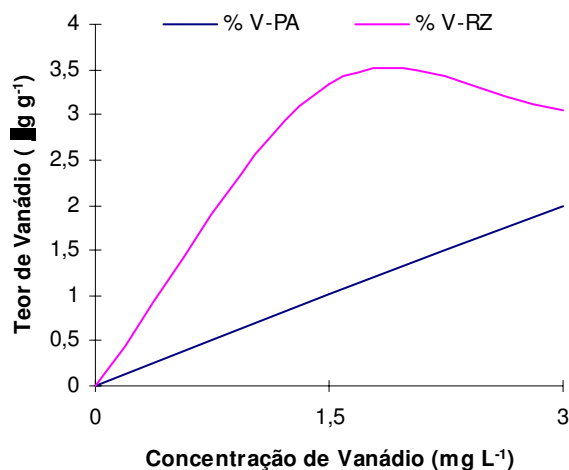


Figura 24. Teor de vanádio em parte aérea (PA) e em raiz (RZ) de salsinha enriquecida.

A concentração de 1,5 mg L⁻¹ V se mostrou limitante para o crescimento da planta, uma vez que começou a limitar o seu desenvolvimento (Figura 23). Uma hipótese, é que a translocação para a parte aérea possa ter continuado mesmo não havendo mais absorção radicular. A ação tóxica do vanádio dificultou muito o crescimento da planta, como foi observado no tamanho das salsinhas após 30 dias de cultivo (Figuras 25, 26 e 27).



Figura 25. Réplicas de amostras de salsinhas enriquecidas por hidroponia, nas concentrações 0,0; 1,5 e 3,0 mg L⁻¹, respectivamente, após trinta dias de cultivo hidropônico.



Figura 26. Partes aéreas das salsas cultivadas por hidroponia nas diferentes concentrações de vanádio.



Figura 27. Raízes das salsinhas cultivadas por hidroponia nas diferentes concentrações de vanádio.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho avaliou-se o desempenho de diferentes modificadores químicos com o intuito de se obter uma melhor compreensão da interação do vanádio com os modificadores para análise direta de amostras de vegetais em suspensões. Os modificadores permanentes W e Rh apresentaram uma forte interação com o analito, dificultando sua completa atomização. Ambos modificadores causaram intenso efeito de memória ao longo das medidas e baixa repetibilidade.

A ausência de modificador químico e a utilização de BaF₂ como modificador foram as duas situações que apresentaram os melhores resultados. Os métodos desenvolvidos possibilitaram excelentes repetibilidades e precisão, avaliada por meio de estudos de adição e recuperação; além de uma boa exatidão, avaliada por meio da análise de materiais de referência certificados.

Assim, o uso de modificadores não se faz necessário para a determinação de vanádio em material vegetal. Uma alta temperatura de atomização, no mínimo 2600 °C garante uma maior eficiência no desenvolvimento de métodos para a determinação de vanádio, já que este é um composto altamente refratário.

Apesar de a literatura sugerir que a salsinha seja uma planta que suporta maiores concentrações de vanádio, os testes realizados neste trabalho confirmam o potencial de acúmulo de vanádio, principalmente nas raízes, contudo, o crescimento da planta é fortemente inibido. Um estudo mais aprofundado, com diferentes espécies de vanádio e em intervalos de concentrações menores, talvez fosse possível avaliar uma maneira de enriquecimento de salsinhas com V, que não comprometesse o crescimento da plantas.

7. REFERÊNCIAS

1 AYDIN, H.; SOMER, G. Vanadium. In: **Encyclopedia of analytical science**. London: Academic Press, 1995. v. 9, p. 5363-5370.

2 MANDIWANA, K. L.; PANICHEV, N. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of vanadium (V) in soil after leaching with Na₂CO₃. **Analytica Chimica Acta**, v. 517, p. 201-206, 2004.

3 ANKE, M. Vanadium: an element both essential and toxic to plants, animals and humans? **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**, v. 70, p. 961-999, 2004.

4 MANHAN, S. E. **Toxicological chemistry and biochemistry**. Florida: CRC Press, 1993. p. 215-216.

5 ALOWAY, B. J. **Heavy metal in soil**. London: Blackie Academic & Professional, 1990. p. 346-352.

6 MYRON, D. R.; GIVAND, S. H.; NIELSEN, F. H. Vanadium content of selected foods as determined by flameless atomic absorption spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 25, p. 297-300, 1977.

7 LESNIEWICZ, A.; JAWORSKA, K.; ZYRNICKI, W. Macro and micro-nutrients and their bioavailability in polish herbal medicaments. **Food Chemistry**, v. 99, p. 670-679, 2005.

8 AHMAD, S.; ISAB, A. A.; ALI, S.; AL-ARFAJ, A. R. Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents. **Polyhedron**, v. 25, p. 1633-1645, 2006.

9 TEISSÈDRE, P. L.; KROSNIAK, M.; PORTET, K.; GASC, F.; WATERHOUSE, A. L.; SERRANO, J. J.; CABANIS, J. C.; CROS, G. Vanadium levels in French and Californian wines: influence on vanadium in dietary intake. **Foods Additives and Contaminantes**, v. 15, n. 5, p. 585-591, 1998.

10 FOOD and nutrition board. Disponível em:
<<http://www.nap.edu/books/0309072794/html>>. Acesso em: 23 maio 2007.

11 ROSA, C. R. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de selênio em amostras agroindustriais por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite**. 2003. 89 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

12 FOOD and drug administration. Department of Health and Human Services. Disponível em: <<http://www.fda.gov>>. Acesso em: 23 maio 2007.

13 SIGEL, H.; SIGEL, A. **Vanadium and its role in life**. New York: Marcel Dekker, 1995. v. 31, 779 p.

14 FACTS about dietary supplements: NIH Clinical Center National Institutes of Health. Disponível em: <<http://www.cc.nih.gov/ccc/supplements.html>>. Acesso em: 23 maio 2007.

15 WANG, J.; YUEN, V. G.; MCNEILLK, J. H. Effect of vanadium on insulin sensitivity and appetite. **Metabolism**, v. 50, n. 6, p. 667-673, 2001.

16 MERTZ, W. **Trace elements in human and animal nutrition**. 5th ed. New York: Academic Press, 1987. v. 1, p. 275-294.

17 MONGA, V.; THOMPSON, K. H.; YUEN, V. G.; SHARMA, V.; PATRICK, B. O.; MCNEILL, J. H.; ORVIG, C. Vanadium complexes with mixed O,S anionic ligands derived from maltol: synthesis, characterization, and biological studies. **Inorganic Chemistry**, v. 44, p. 2678-2688, 2005.

18 BARAN, E. J. Model studies related to vanadium biochemistry: recent advances and perspectives (review). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 6, p. 878-888, 2003.

19 D'ONOFRIO, F.; LE, M. Q.; CHIASSON, J. L.; SRIVASTAVA, A. K. Activation of mitogen activated protein (MAP) kinases by vanadate is independent of insulin receptor autophosphorylation. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 340, p. 269-275, 1994.

20 TSIANI, E.; FANTUS, I. G. Vanadium compounds: biological actions and potencial as pharmacological agents. **Trends in Endocrinology Metabolism**, v. 8, p. 51-58, 1997.

21 SHECTER, Y.; GOLDWASER, I.; MIRONCHILK, M.; FRIDKIN, M.; GEFEL, D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 37, p. 3-11, 2003.

22 WILLSKY, G. R.; GOLDFINE, A. B.; KOSTYNIK, P. J.; MCNEILL, J. H.; YANG, L. Q.; KHAN, H. R.; CRANS, D. C. Effect of vanadium (IV) compounds in the treatment of diabetes: in vivo and in vitro studies with vanadyl sulfate and bis(maltolato)oxovanadium (IV). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 85, p. 33-42, 2001.

23 KHAN, F. A.; GOFORTH, P. B.; AHANG, M.; SATIN, L. S. Insulin activates ATP-sensitive K (+) channels in pancreatic beta-cells through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. **Diabetes**, v. 50, p. 2192 – 2198, 2001.

24 COSTA, A. A.; ALMEIDA NETO, J. S. **Manual de diabetes: educação, alimentação, medicamentos e atividades físicas**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2004. 204 p.

25 GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes Mellito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 16–26, 2002.

26 BAILEY, C. J. Potential new treatments for type 2 diabetes. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 21, p. 259–265, 2000.

27 WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3rd ed. Weinheim: VCH, 1999. 941 p.

28 BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. **A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 250 p.

29 JACKSON, K. W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. Chichester: John Wiley, 1999. 470 p.

30 VINADÉ, M. E. C.; VINADÉ, E. R. C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**. Santa Maria: UFSM, 2005. 240 p.

- 31 HARNLY, J. M. The future of atomic absorption spectrometry: a continuum source with a charge coupled array detector. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, p. 137-146, 1999.
- 32 WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry – what can we expect? **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220-229, 2003.
- 33 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. 5th ed. New York: Saunders College Publishing, 1998. 848 p.
- 34 WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J. R. Palladium nitrate-magnesium nitrate modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. 5. Performance for the determination of 21 elements. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p. 1172-1179, 2001.
- 35 MEERAVALI, N. N.; KUMAR, S. J. The utility of a W-Ir permanent chemical modifier for the determination of Ni and V in emulsified fuel oils and naphta by transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometer. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p. 527-532, 2001.
- 36 FLORES, A. V.; PÉREZ, C. A.; ARRUDA, M. A. Z. Evaluation of a synergetic effect between Rh as permanent chemical modifier and acetylacetone as complexing agent in Sc determination in sediment slurry samples by ETAAS. **Analytica Chimica Acta**, v. 530, n. 2, p. 299-305, 2005.
- 37 YANG, P. Y.; NI, Z. M.; ZHUANG, Z. X.; XU, F. C.; JIANG, A. B. Study of palladium analyte binary system in the graphite furnace by surface analytical techniques. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 7, p. 515-519, 1992.
- 38 FRESCHI, G. P. G. **Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação direta e simultânea de elementos traço em leite por GF AAS: uma avaliação do desempenho de diferentes modificadores químicos**. 2005. 155 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
- 39 LIMA, E. C.; KRUG, F. J.; JACKSON, K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead, and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 53, p. 1791-1804, 1998.

40 MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Amostragem de suspensões: emprego da técnica na análise direta de amostras (revisão). **Química Nova**, v. 21, n. 4, p. 459-466, 1998.

41 FLORES, E. M. M.; SAIDELLES, A. P. F.; FLORES, E. L. M.; MESKO, M. F.; PEDROSO, M. P.; DRESSLER, V. L.; BITTENCOURT, C. F.; DA COSTA, A. B. Determination of copper in medicinal plants used as dietary supplements by atomic absorption spectrometry with direct flame solid analysis. **Microchemical Journal**, v. 72, n. 2, p. 113-118, 2004.

42 COSKUN, N.; AKMAN, S. Direct determination of manganese in vitamin-mineral tablets using solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 496-500, 2004.

43 LEE, W. B.; WU, J. Y.; LEE, J. Y.; SNEDDON, J. Recent applications of laser-induced breakdown spectrometry: a review of material approaches. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 39, n. 1, p. 27-97, 2004.

44 FAN, Z. F.; JIANG, Z. C.; YANG, F.; HU, B. Determination of platinum, palladium and rhodium in biological and environmental samples by low temperature electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with diethyldithiocarbamate as chemical modifier. **Analytica Chimica Acta**, v. 510, n. 1, p. 45-51, 2004.

45 DIAS, L. F.; MIRANDA, G. R.; SAINT'PIERRE, T. D.; MAIA, S. M.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Method development for the determination of cadmium, copper, lead, selenium and thallium in sediments by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry and isotopic dilution calibration. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 60, n. 1, p. 117-124, 2005.

46 SANTOS JUNIOR, D. **Avaliação da extração ultra-sônica para determinação de elementos em materiais de interesse agrônomo e ambiental por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite**. 2005. 121 f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

47 GOODALL, P.; FOULKES, M. E.; EBDON, L. Slurry nebulization inductively coupled plasma spectrometry – the fundamental parameters discussed. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 48, p. 1563-1577, 1993.

48 KARWOWSKA, R.; JACKSON, K. W. Atomization characteristics of lead determined in alumina matrices by slurry – electrothermal atomization atomic-absorption spectrometry. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 2, p. 125-129, 1987.

49 STEPHEN, S. C.; LITTLEJOHN, D.; OTTAWAY, J. M. Evaluation of a slurry technique for the determination of lead in spinach by electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Analyst**, v. 110, p. 1147-1151, 1985.

50 MILLER-IHLI, N. J. Slurry sample preparation for simultaneous multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 3, p. 73-81, 1998.

51 OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 41, n. 2, p. 174-182, 2003.

52 KORN, M. Uso do ultra-som para o preparo de amostras. In: WORKSHOP SOBRE O PREPARO DE AMOSTRAS, 3., 2002, São Carlos. Disponível em: <<http://www.ccdm.ufscar.br/infoprep/instrumenta.html>>. Acesso em: 23 maio 2007.

53 ARRUDA, M. A. Z.; NASCENTES, C. C.; SOUSA, C. S.; KORN, M. Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimisation conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 57-63, 2001.

54 FERNANDES, K. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A. Determination of vanadium in urine by electrothermal atomic absorption spectrometry using hot injection and preconcentration into the graphite tube. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 676-681, 2004.

55 BERMEJO-BARRERA, P.; PARDINÁS-ALVITE, T.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; MERMEJO-BARRERA, A.; COCHO DE JUAN, J. A.; FRAGA-BERMÚDEZ, J. M. Vanadium determination in milk by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization using hot injection and preconcentration on the graphite tube. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 425-439, 2000.

56 CHAKRABOTY, R.; DAS, A. K. Determination of vanadium by ETAAS using chromium nitrate as chemical modifier. **Frenesius' Journal Analytical Chemistry**, v. 349, p. 774-775, 1994.

57 SAAVEDRA, Y.; FERNÁNDEZ P.; GONZÁLEZ, A. Determination of vanadium in mussels by electrothermal atomic absorption spectrometry without chemical modifiers. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 379, p. 72-76, 2004.

58 HIRANO, Y.; YAMAMURA, K.; OGUMA, K.; HARADA, K. Direct determination of vanadium in hair by graphite furnace absorption spectrometry using air ashing in the graphite furnace. **Analytical Sciences**, v. 17, p. 1351-1354, 2001.

59 AUCÉLIO, R. Q.; DOYLE, A.; PIZZORNO, B. S.; TRISTÃO, B. S.; CAMPOS, R. C. Electrothermal atomic absorption spectrometric method for the determination of vanadium in diesel and asphaltene prepared as detergentless microemulsions. **Microchemical Journal**, v. 7, p. 21-26, 2004.

60 CAMPILLO, N.; LÓPEZ-GARCIA, I.; VIÑAS, P.; ARNAU-JEREZ, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of vanadium, molybdenum and chromium in soils, sediments and sludges by electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry simple introduction. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, p. 1429-1433, 2002.

61 FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; CAL-PIETRO, M. J.; FERNÁNDEZ, E.; PRADA, D. Slurry-based procedures to determine chromium, nickel and vanadium in complex matrices by ETAAS. **Microchemical Journal**, v. 81, p. 217-224, 2005.

62 BENCS, L.; SZAKÁCS, O.; KÁNTOR, T.; VARGA, I.; BOZSAI, G. Determination of chromium, molybdenum and vanadium dopants in bismuth tellurite optical crystals by multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 55, p. 883-891, 2000.

63 MANDIWANA, K. L.; PANICHEN, N. Speciation analysis of plants in the determination of V (V) by ETAAS. **Talanta**, v. 70, n. 5, p. 1153-1156, 2006.

64 CASSELLA, R. J.; OLIVEIRA, E. P.; MAGALHÃES, O. I. B. Direct determination of vanadium in high saline produced waters from offshore petroleum exploration by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 69, p. 48-54, 2006.

65 LUZ, R. C. S.; SILVA, L. M. S.; LOPES, G. S.; MARQUES, A. B.; MARQUES, E. P. Determinação de vanádio em óleo diesel por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS). **Revista Analytica**, n. 7, p. 48-56, 2003.

66 PASCHAL, D. C.; BAILEY, G. G. Determination of vanadium in urine with graphite furnace AAS using Zeeman correction. **Atomic Spectroscopy**, v. 11, n. 2, p. 65-69, 1990.

67 PERKIN ELMER. **Recommended conditions for THGA furnaces**. Uberlinguer, 1991.

68 CORREIA, P. R. M. **Estudo da utilização de padrão interno em determinações multielementares por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. 2004. 126 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

69 MARKERT, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace elements analysis in plant matrices. **The Scienc of the Total Environment**, v. 176, p. 45-61, 1995.

70 KRUG, F. J. Métodos de decomposição de amostras. In: WORKSHOP SOBRE PREPARO DE AMOSTRAS, 3., 2000. São Carlos: UFSCar, 2000. 149 f.

71 OLIVEIRA, C. C.; SARTINI, R. P.; ZAGATTO, E. A. G. Microwave-assisted preparation in sequential injection: spectrophotometric determination of magnesium, calcium and iron in food. **Analytical Chimica Acta**, v. 413, n. 8, p. 41-48, 2000.

72 SANTOS JUNIOR, D.; BARBOSA JUNIOR, F.; TOMAZELLI, A. C.; KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; ARRUDA, M. A. Z. Determination of Cd and Pb in food slurries by GFAAS using cryogenic grinding for sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, p. 183-189, 2002.

73 LOMBARDI, M. C. C. **Avaliação comparativa de procedimentos para o preparo de amostras na forma de solução e suspensões de materiais biológicos em espectrometria de absorção atômica**. 2001. 115 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2001.

74 BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química analítica quantitativa elementar**. 2. ed. Campinas: Unicamp, 1985. 259 p.

75 VOGEL, A. **Química analítica quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1992. p. 115-116.

76 HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. p. 68-73.

77 CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995).

Analytica Chimica Acta, v. 391, n. 2, p. 105-126, 1999.

78 LEITE, F. **Validação em análise química**. 4. ed. Campinas: Átomo, 2002. p. 67.

79 MATOUSEK, J. P.; POWELL, H. K. J. Mechanism for atomization of vanadium in the pyrolytic graphite-coated furnace. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 43, p. 167-181, 1988.

80 SILVA, J. B. B.; BORGES, D. L. G.; ANDREIA, M.; VEIGA, M. S.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier. **Talanta**, v. 60, n. 5, p. 977-982, 2003.

81 BARBOSA, F.; LIMA, E. C.; KRUG, F. J. Determination of arsenic in sediment and soil slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry using W-Rh permanent modifier. **Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2079-2083.

82 LEITE, F. Amostragem analítica em laboratório. **Revista Analytica**, n. 6, p. 52-59, 2003.