

Instituto de Química de Araraquara

Tese de Doutorado

**“Amostragem de sólidos em espectrometria de
absorção atômica de fonte contínua com alta
resolução: análise de plantas medicinais”**

Jardes Figuerêdo do Rêgo

Novembro
2013

JARDES FIGUERÊDO DO RÊGO

Amostragem de sólidos em espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução: análise de plantas medicinais

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

**Araraquara
2013**

FICHA CATALOGRÁFICA

R343a Rêgo, Jardes Figuerêdo do
Amostragem de sólidos em espectrometria de absorção
atômica de fonte contínua com alta resolução: análise de
plantas medicinais / Jardes Figuerêdo do Rêgo. –
Araraquara : [s.n], 2013
162 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: José Anchieta Gomes Neto

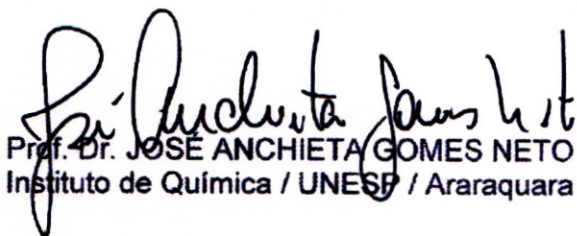
1. Química analítica. 2. Contaminantes inorgânicos.
3. Plantas Medicinais. 4. Espectrometria de absorção
atômica. I. Título.

JARDES FIGUERÊDO DO RÊGO

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

Araraquara, 19 de novembro de 2013.

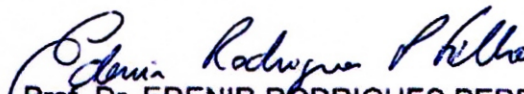
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. JOSÉ ANCHIETA GOMES NETO
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof.^a Dr.^a MERCEDES DE MORAES
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof. Dr. EDENIR RODRIGUES PEREIRA FILHO
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia / UFSCar / São Carlos



Prof.^a Dr.^a MÁRCIA ANDREIA MESQUITA SILVA DA VEIGA
Faculdade de Filosofia Ciências e Letras / USP / Ribeirão Preto



Prof.^a Dr.^a CASSIANA SEIMI NOMURA
Instituto de Química / USP / São Paulo

DADOS CURRICULARES

1 Dados pessoais

- 1.1 Nascimento: 12 de dezembro de 1981
- 1.2 Nacionalidade: Brasileira
- 1.3 Naturalidade: União - PI
- 1.4 Filiação: José Nascimento do Rêgo
Francisca Medeiros de Figuerêdo
- 1.5 Profissão: Professor

2 Formação Acadêmica

- 2.1 Graduação em Licenciatura Plena em Química
Universidade Federal do Piauí - UFPI - Teresina, PI
Período: 03/2003 - 12/2006

- 2.2 Mestrado em Química
Universidade Federal do Piauí - UFPI – Teresina, PI
Período: 03/2007 - 07/2009

Título da Dissertação: Desenvolvimento e validação de métodos espectrofotométricos para quantificação de olanzapina em formulações farmacêuticas.
Orientadora: Profa. Dra. Graziella Ciaramella Moita

- 2.3 Doutorado em Química
Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista - Unesp - Ararquara, SP
Período: 08/2009 – 11/2013

Título da Tese: Amostragem de sólidos em espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução: análise de plantas medicinais
Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto

- 2.4 Estágio Sanduíche do doutorado
Facultad de Ciencias - Universidad de Zaragoza - Aragón, España
Período: 08/2012 - 11/2012 (4 meses)
Título do Trabalho: Evaluate of Ca, Ba and Sr for chloride determination in medicinal plants via molecular absorption spectrometry (MAS) using solid sampling high-resolution continuum source absorption spectrometry.
Orientador: Martín Resano Ezcaray

3 Produção Bibliográfica durante o período de doutorado

- 3.1 Artigos completos publicados em periódicos

RÊGO, J. F.; VIRGILIO, A.; NÓBREGA, J. A.; GOMES NETO, J. A. Determination of lead in medicinal plants by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using direct solid sampling. Talanta, v. 100, p. 21-26, 2012.

VIRGILIO, A.; **RÊGO, J. F.**; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct determination of chromium in medicinal plants. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 78, p. 58-71, 2012.

NEVES, D. R.; OLIVEIRA, S. R.; **RÊGO, J. F.**; FLUMIGNAN, D. L.; OLIVEIRA, J. E.; GOMES NETO, J. A. Evaluation of Ir and Pd(NO₃)₂/Mg(NO₃)₂ as modifiers for the simultaneous determination of Mn, Ni, Pb, and Sb in fuel ethanol by graphite furnace AAS. *Atomic Spectroscopy*, v. 31, p. 144-146, 2010.

3.2 Artigos aceitos para publicação

VARÃO, T.; **RÊGO, J. F.**; MORAES, M.; CAVALHEIRO, A. J.; GOMES NETO, J. A. Determinação conjunta de cálcio, magnésio e potássio em plantas medicinais por espectrometria de absorção atômica com fonte contínua e alta resolução. *Eclética Química* (UNESP. Araraquara. Impresso), 2013

3.3 Artigos em fase de redação

RÊGO, J. F.; VIRGÍLIO, A.; AMAIS, R. S.; GOMES NETO, J. A. Direct solid sampling determination of cadmium, cobalt and tin in plant material by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Phytochemical Analysis*

RÊGO, J. F.; GOMES NETO, J. A. A critical effect of aluminium in arsenic determination by direct solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry in plant material: interactive background correction. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*.

4 Resumos em eventos científicos:

4.1 Nacionais: 10

4.2 Internacionais: 2

5 Participação em eventos científicos: 6

6 Supervisões científicas realizadas

6.1 Trabalho de conclusão de curso de graduação: 2

Dedico este trabalho...

*Aos meus pais José Rêgo e Francisca Medeiros por tudo que representam na
minha história de vida, além de todo o amor carinho dado durante todos esses
anos*

Mesmo distante, estamos sempre juntos...

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. José Anchieta Gomes Neto pela amizade, incentivo, orientação e sobretudo pelos ensinamentos diários que deram um novo significado de pesquisa científica na minha vida. Obrigado pelo apoio e confiança, mesmo nos momentos mais difíceis e por me ensinar que através de muito trabalho e dedicação podemos evoluir cada dia mais e que o conhecimento é o alicerce principal para o crescimento profissional.

À professora Dra. Mercedes de Moraes por sua amizade, companheirismo e incentivo sobretudo com relação a forma atenciosa e dedicada em que sempre se dispôs a compartilhar dos seus conhecimentos.

Ao professor Dr. Martín Resano pelo período de estágio no seu laboratório. Seus valiosos conselhos e ensinamentos estarão sempre presentes na minha vida.

Aos amigos do Grupo de Espectroanalítica e Automação (GEA): Tiago, Felipe, Marcos, Ariane, Rodrigo e Kelber, pela amizade construída e conhecimentos compartilhados além dos momentos de descontração que foram fundamentais durante os últimos anos.

Aos amigos que passaram pelo GEA: Silvana, Jorge, Denise, Camila, Ronan, Mariana, Felipe, Bruno, Rafael e Renata pela amizade construída e os conhecimentos compartilhados durante o período em que trabalhamos juntos.

Ao meu amigo Alex Virgílio, por sua amizade e sua prestatividade, além de suas valiosas contribuições em muitas discussões científicas que foram fundamentais no desenvolvimento deste trabalho.

Aos alunos que supervisionei (iniciação científica e monografia) especialmente o Flávio Cardoso “Manaus” e o Fábio Ishikawa, pela amizade construída além do conhecimento compartilhado.

À aluna de Doutorado da Universidade de Zaragoza Maria del Rosario Flórez (Charo) pela amizade construída e por sua dedicada atenção e disponibilidade durante o período em que estivemos trabalhando juntos.

Ao Professor Dr. Joaquim A. Nóbrega, pelas suas valiosas contribuições científicas.

À aluna de Doutorado da Universidade Federal de São Carlos, Renata Stábile, por sua amizade e as contribuições dadas a este trabalho.

Aos professores do Departamento de Química Analítica, pelos ensinamentos e pela prestatividade constante.

Aos funcionários do Instituto de Química, em especial a todos da seção de pós graduação: Wennia, Célia, Sandra, Patrícia (In Memoriam), e da biblioteca: Cris, Bel, Valéria, pela atenção e prestatividade dada em todos os momentos.

Ao professor Msc. Francisco Cardoso Figueiredo, meu primo e mestre. Sua amizade, conselhos e ensinamentos até hoje guiam meus passos profissionalmente.

Aos meus Pais, José e Francisca e meus irmãos Josilene, Jalison e Francilene além da minha sobrinha Josielly pelo apoio e carinho dado durante todos os momentos da minha vida. Obrigado por, mesmo distante, estarem sempre perto e por me mostrarem um novo significado para o termo “voltando para casa”, nos finais de ano. Obrigado à toda a FAMÍLIA SINDOCA!

Aos meus amigos do Piauí (União/Teresina) pela força e incentivo dado, em especial: Alan, Clenilton, Quaresma, Daniel, José Fernando (In Memoriam) Laurentino, que apesar da distância estiveram sempre presentes.

À todos os amigos que fiz em Araraquara em especial: José Renato, Lima Neto, Murilo, Marcão, Claudia Rocha, Rodrigo, Tiago, Íris, Sahra, João, Letícia, Rafael, Tanabí, Juliano, Wagner e meus companheiros da República Xurupita's Farm: Tiago, Ricardo, Roberth, Renan, Alan, Leonardo, Rodolfo, João, Bruno, Bryan... Muito obrigado, pela convivência e amizade construída.

Ao Instituto de Química por todo o suporte dado

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP - pelo suporte financeiro do Projeto “Explorando a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com amostragem direta de plantas medicinais” (processo: 09/52480-0)

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES - pelas bolsas concedidas: doutorado e doutorado no exterior (processo:8543/12-7).

À Deus, por me abençoar todos os dias!

À todos que de alguma forma estiveram presentes, o meu muito obrigado!

Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.

Ayrton Senna

Porque todo dia, é dia de aprender uma coisa nova!

RESUMO

O uso de fitoterápicos tem crescido consideravelmente nos últimos anos. Entretanto, o consumo de produtos derivados de plantas medicinais não está isento de riscos. Além do princípio ativo algumas espécies vegetais podem apresentar em sua composição química substâncias tóxicas (orgânicas ou inorgânicas) que podem causar sérios danos à saúde quando ingeridas. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de métodos analíticos visando a determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais empregando a espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução em forno de grafite com amostragem direta de sólidos (SS HR-CS GFAAS). O emprego de modificadores químicos permitiu calibração em meio aquoso para determinação dos analitos. A utilização de uma etapa de pirólise extra assistida por ar a 600 °C permitiu eliminar resíduos carbonáceos e eliminar os sinais de fundo. Para determinação de As, Co, Se e Sn foram observadas interferências espectrais causadas por moléculas diatômicas de PO e SiO. Nestes casos, o emprego do algoritmo dos mínimos quadrados (LSBC) corrigiu o fundo; entretanto, para a determinação de As observou-se interferências espectrais provocadas por linhas atômicas de Al que somente foram corrigidas utilizando algoritmo de correção de fundo interativa (IBC). Os limites de detecção foram 28,7 ng g⁻¹ (As), 0,15 ng g⁻¹ (Cd), 3,2 ng g⁻¹ (Co), 7,3 ng g⁻¹ (Pb), 40,1 ng g⁻¹ (Se) e 24,5 ng g⁻¹ (Sn). A exatidão dos métodos foi avaliada através da análise de materiais de referência certificados de plantas, cujos valores foram concordantes com os certificados ao nível de 95 % (*test t*). Os estudos de homogeneidade foram conduzidos visando determinar as massas mínimas e a homogeneidade após moagem com moinho criogênico e moinho de facas. A melhor precisão e exatidão foi obtida a partir da análise de massas maiores que 0,2 mg de amostra, empregando moinho criogênico ou moinho de facas com peneira de 30 mesh. Os métodos propostos foram aplicados na determinação dos analitos em dezoito amostras de plantas medicinais e as concentrações obtidas variaram de 3,2 a 287,2 ng g⁻¹ (Cd); 14,7 a 1195,7 ng g⁻¹ (Co); 124,2 a 1946,1 ng g⁻¹ (Pb) e 142,8 a 342,6 ng g⁻¹ (Sn). Os resultados foram concordantes ao nível de 95 % (*test t*) quando comparados com os obtidos por outras técnicas (ICP-MS e GFAAS). As concentrações de As e Se nas amostras foram menores que os limites de detecção.

Palavras-chave: amostragem direta de sólidos, contaminantes inorgânicos, plantas medicinais, SS HR-CS GFAAS.

ABSTRACT

Phytotherapy has increased considerably during the last years. However, besides active compounds, products derived from medicinal plants may contain hazardous organic compounds or toxic metals. Thus, the goal of this work was to develop methods to determine As, Cd, Co, Pb, Se and Sn in medicinal plants by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry using solid sampling. The use of chemical modifiers allowed the determination of the analytes of interest using calibration with aqueous standard solutions. An additional air-assisted pyrolysis step at 600 °C was useful to remove carbonaceous residues and eliminate background signal. Spectral interferences due to structured background caused by diatomic molecules (PO and SiO) were observed on the analytical lines of As, Cd, Co and Sn. In this case, interferences were removed using least squares background correction algorithm (LSBC). In addition, interactive correction background algorithm (IBC) was used to remove spectral interferences caused by Al lines on the analytical line of As. Limits of detection were 28.7 ng g⁻¹ (As), 0.15 ng g⁻¹ (Cd), 3.2 ng g⁻¹ (Co), 7.3 ng g⁻¹ (Pb), 40.1 ng g⁻¹ (Se) and 24.5 ng g⁻¹ (Sn). Micro-homogeneity studies were performed after using knife or cryogenic mills in order to establish minimal sample mass and homogeneity. Most accurate and precise results were obtained for sample masses above 0.2 mg for samples ground using knife mill with 30 mesh sieve or cryogenic mill. Accuracy and precision were evaluated by analyzing plant certified reference materials and results were in agreement with certified values at a 95% confidence level (*t test*). The proposed methods were applied for the determination of analytes in eighteen medicinal plant samples. The concentration ranged from 3.2 to 287.2 ng g⁻¹ (Cd), 14.7 to 1195.7 ng g⁻¹ (Co), 124.2 to 1946.1 ng g⁻¹ (Pb) and 142.8 to 342.6 ng g⁻¹ (Sn). Results were in agreement at a 95% confidence level (*t test*) with those obtained by comparative techniques (ICP-MS and GFAAS). Arsenic and Se concentrations in samples were lower than the limit of detection.

Keywords: direct solid sampling, inorganic contaminants, medicinal plants, SS HR-CS GFAAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Instrumento desenvolvido por Lockyer: (A) atomizador, (B) tubo de ferro inserido em um forno alimentado por carvão, (C) dispositivo Kipp utilizado para geração de hidrogênio, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) espectrógrafo com prisma ou dispositivo fotográfico.	33
Figura 2	- Representação esquemática do equipamento de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução (HR-CS AAS). (1) lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais, (3 ou 4) atomizador (chama ou forno de grafite), (5) fenda de entrada do monocromador, (6) espelhos parabólicos, (7) prisma <i>Littrow</i> , (8) espelhos de deflexão e fenda intermediária variável, (9) rede <i>Echelle</i> , (10) detector CCD.	37
Figura 3	- Lâmpada de arco curto de xenônio utilizada em HR-CS AAS	38
Figura 4	- Esquema do sistema para introdução de amostras no atomizador de chama desenvolvido por Flores e colaboradores	43
Figura 5	- Auto-amostrador SSA600 utilizado nos atuais espectrômetros para amostragem direta de sólidos desenvolvidos pela Analytik Jena	45
Figura 6	- Foto do espectrômetro de absorção atômica ContrAA 700	54
Figura 7	- Curvas de pirólise para Cd na ausência de modificadores químicos referentes a 13 pg Cd em meio aquoso (●) e 5,2 - 7,8 pg Cd no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> (■)	65
Figura 8	- Espectro de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e atomização fixadas em 500 e 1800 °C respectivamente	65
Figura 9	- Curvas de pirólise e atomização referentes a 13 pg Cd em meio aquoso (a) e 5,2 - 7,8 pg Cd no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> empregando 200 µg W (■), 400 µg Ru (▼), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (●) e 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂ (▲)	66
Figura 10	- Plataformas de amostragem direta de sólidos: a) antes da medida; b) após um ciclo de aquecimento; c) após 10 ciclos de aquecimento	67
Figura 11	- Espectros de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> em presença de: a) 200 µg W, b) 400 µg Ru, c) 5 µg Pd(NO ₃) ₂ , d) 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂	69
Figura 12	- Espectro de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> com 900°C de pirólise e 2300°C de atomização em presença de 5 µg de Pd(NO ₃) ₂	70
Figura 13	- Curvas de pirólise para Pb na ausência de modificadores químicos referentes a 470 pg Cd em meio aquoso (●) e 188 - 282 pg Pb no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> (■)	71

Figura 14 -	Espectro de absorção atômica do Pb no material referência 1515 <i>Apple Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 700 e 2000°C, respectivamente	72
Figura 15 -	Curvas de pirólise e atomização referentes a 470 pg Pb em meio aquoso (a) e 188 - 282 pg Pb no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (▼), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂ (●) e 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ (▲)	73
Figura 16 -	Espectros de absorção atômica do Pb no material de referência 1515 <i>Apple Leaves</i> em presença de: a) 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ , b) 200 µg W, c) 5 µg Pd(NO ₃) ₂ , d) 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂	75
Figura 17 -	Espectro de absorção atômica do Pb no material referência 1515 <i>Apple Leaves</i> empregando 1300°C de pirólise e 2500°C de atomização em presença de 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂	76
Figura 18 -	Curvas de pirólise para Co na ausência de modificadores químicos referentes a 390 pg Co em meio aquoso (■) e 156 - 239 pg Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (●)	77
Figura 19 -	Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 1200 e 2300°C, respectivamente	78
Figura 20 -	Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ (---), b) SiO ₂ (---)	79
Figura 21 -	Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> sem modificador químico: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)	80
Figura 22 -	Espectro de absorção atômica (pixels) do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> sem modificador químico a) sem correção, b) após correção com LSBC (SiO)	80
Figura 23 -	Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> na presença de 5 µg Pd: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)	82
Figura 24 -	Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> na presença de 5 µg Mg: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)	82
Figura 25 -	Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> na presença de 200 µg W: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)	83
Figura 26 -	Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> na presença de 400 µg Rh: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)	83

Figura 27 -	Curvas de pirólise e atomização referentes a 390 pg Co em meio aquoso (a) e 156 - 239 pg Co no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (●), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 5 µg Mg(NO ₃) ₂ (▲) e 200 µg Rh (▼)	85
Figura 28 -	Curvas de pirólise para Sn na ausência de modificadores químicos referentes a 240 pg Sn em meio aquoso (▲) e 96 - 144 pg Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (■)	87
Figura 29 -	Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 900 e 2400°C, respectivamente	87
Figura 30 -	Espectro de absorção atômica do Sn do material referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ (---), b) SiO ₂ (---)	88
Figura 31 -	Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em presença de 200 µg W: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)	90
Figura 32 -	Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em presença de 5 µg Pd: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)	91
Figura 33 -	Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em presença de 100 µg ácido ascórbico: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)	92
Figura 34 -	Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em presença de 400 µg Ir: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)	93
Figura 35 -	Curvas de pirólise e atomização referentes a 240 pg Sn em meio aquoso (a) e 96 - 144 pg Sn no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (●), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ir (▲) e 100 µg ácido ascórbico (▼)	94
Figura 36 -	Curvas de pirólise para Se na ausência de modificadores químicos referentes a 500 pg Se em meio aquoso (■) e 210,7 - 234 pg Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (●)	96
Figura 37 -	Espectro de absorção atômica do Se em 1570a <i>Spinach Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 900 e 2400°C, respectivamente	97
Figura 38 -	Espectro de absorção atômica do Se no material referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 5 ng Co (---), b) 5 ng Fe (---), c) 5 µL HNO ₃ 5% (---), d) 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ (---).	98
Figura 39 -	Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> em 5 µg Pd(NO ₃) ₂ : a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)	99

Figura 40 -	Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> em 5 µg Ni(NO ₃) ₂ : a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)	100
Figura 41 -	Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> em 400 µg Rh: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)	100
Figura 42 -	Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> em 400 µg Ru: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)	101
Figura 43 -	Efeito da correção de Fe por LSBC no pixel 100 no espectro referente a 1570a <i>Spinach Leaves</i> empregando 5 µg Ni(NO ₃) ₂ : sem correção (—), com correção (---)	101
Figura 44 -	Curvas de pirólise e atomização referentes a 500 ng Se em meio aquoso (a) e 210,7 - 234 pg Se no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (b) empregando 5 µg Ni(NO ₃) ₂ (●), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ru (▲) e 400 µg Rh (▼)	102
Figura 45 -	Curvas de pirólise para As na ausência de modificadores químicos referentes a 700 pg As em meio aquoso (●) e 930 – 1550 pg As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (■)	104
Figura 46 -	Espectro de absorção atômica do As em 1572 <i>Citrus Leaves</i> na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 600 e 2400°C, respectivamente	104
Figura 47 -	Espectro de absorção atômica do As no material referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 5 ng Fe, b) 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄	105
Figura 48 -	Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em 5 µg Pd(NO ₃) ₂ : a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)	106
Figura 49 -	Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em 100 µg ácido ascórbico: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)	107
Figura 50 -	Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em 200 µg W: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)	107
Figura 51 -	Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> em 400 µg Ir: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)	108
Figura 52 -	Espectros de absorção atômica do As no material de referência INCT-OBTL-5 <i>Tobacco Leaves</i> : a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)	108
Figura 53 -	Influência da concentração de Al sobre a absorbância medida a partir de 1 ng As (■)	109
Figura 54 -	Espectros de absorção atômica referentes a 1 ng As: a) sem Al, b) 50 ng Al, c) 500 ng Al, d) 1000 ng Al	110

Figura 55 -	Espectros de absorção atômica de referentes a 1 ng As em presença de 1000 ng Al: a) sem correção, b) correção com LSBC (Al)	111
Figura 56 -	Espectros de absorção atômica referentes a de 1 ng As em presença de 1000 ng Al: a) sem correção, b) correção com IBC	112
Figura 57 -	Influência da concentração de Al sobre a absorbância medida a partir de 1 ng As: a) sem correção (■), b) correção com LSBC (Al) (■), c) correção com IBC (▲)	112
Figura 58 -	Espectros de absorção atômica do As no material referência INCT-OBTL-5 <i>Tobacco Leaves</i> : a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com IBC, d) correção com IBC + LSBC (PO)	113
Figura 59 -	Curvas de pirólise e atomização referentes a 700 pg As em meio aquoso (a) e 930 - 1550 pg As no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (●), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ir (▲) e 100 µg ácido ascórbico (▼)	114
Figura 60 -	Curvas resposta para Cd em meio aquoso (a) no material de referência 1573a <i>Tomato Leaves</i> empregando 200 µg W (■), 400 µg Ru (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■) e 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂ (■)	117
Figura 61 -	Curvas resposta para Pb em meio aquoso (a) e no material de referência 3246 <i>Ginkgo Biloba</i> (b) empregando 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂ (■) e 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ (■)	119
Figura 62 -	Curvas resposta para Co em meio aquoso (a) e no material de referência 1573a <i>Tomato Leaves</i> (b) sem modificador químico (■) e na presença de 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 5 µg Mg(NO ₃) ₂ (■) e 200 µg Rh (■)	121
Figura 63 -	Curvas resposta para Sn em meio aquoso (a) e no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ir (■) e 100 µg ácido ascórbico (■)	122
Figura 64 -	Curvas resposta para Se em meio aquoso (a) e no material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i> (b) empregando 5 µg Ni(NO ₃) ₂ (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ru (■) e 400 µg Rh (■)	124
Figura 65 -	Plataforma de grafite com aproximadamente 2,0 mg do material de referência 1570a <i>Spinach Leaves</i>	124
Figura 66 -	Curvas resposta para As em meio aquoso (a) e no material de referência 1572 <i>Citrus Leaves</i> (b) empregando 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO ₃) ₂ (■), 400 µg Ir (■) e 100 µg ácido ascórbico (■)	126
Figura 67 -	Influência da massa mínima na determinação de Cd em Crajirú (<i>Arrebidaea chica Verlot</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	136
Figura 68 -	Influência da massa mínima na determinação de Cd em Guaco (<i>Mikania glomerata</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	135

Figura 69 -	Influência da massa mínima na determinação de Pb em Guaçatonga (<i>Casearia sylvestris</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	139
Figura 70 -	Influência da massa mínima na determinação de Pb em Erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	140
Figura 71 -	Influência da massa mínima na determinação de Co em Quebra pedra (<i>Phyllanthus niruri L.</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	142
Figura 72 -	Influência da massa mínima na determinação de Co em Chapéu de couro (<i>Echinodorus grandiflorus</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	143
Figura 73 -	Influência da massa mínima na determinação de Sn em Erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	145
Figura 74 -	Influência da massa mínima na determinação de Sn em Espinheira santa (<i>Maytenus ilicifolia</i>) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Programa geral de aquecimento para determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por LS GFAAS	55
Tabela 2	- Temperaturas de pirólise (Tp) e atomização T(a) utilizadas para determinar As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por LS GF AAS	55
Tabela 3	- Parâmetros e condições operacionais usadas para análise em ICP MS	56
Tabela 4	- Programa empregado na moagem criogênica das amostras	58
Tabela 5	- Programa otimizado do forno de micro-ondas para a digestão das amostras	59
Tabela 6	- Materiais de referência e soluções utilizadas para otimização dos programas de aquecimento	59
Tabela 7	- Modificadores químicos convencionais e permanentes utilizados na otimização dos programas de aquecimento	59
Tabela 8	- Programa de temperatura para recobrimento das plataforma de grafite com os modificadores permanentes W e Rh	60
Tabela 9	- Programa de temperatura para recobrimento das plataforma de grafite com os modificadores permanentes Ru e Ir	60
Tabela 10	- Programa geral de aquecimento para determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	61
Tabela 11	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Cd nos diferentes modificadores testados	70
Tabela 12	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Pb nos diferentes modificadores testados	76
Tabela 13	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Co nos diferentes modificadores testados	86
Tabela 14	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Sn nos diferentes modificadores testados	95
Tabela 15	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Se nos diferentes modificadores testados	103
Tabela 16	- Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para As nos diferentes modificadores testados	115

Tabela 17 -	Figuras de mérito para determinação de Cd em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	118
Tabela 18 -	Figuras de mérito para determinação de Pb em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	120
Tabela 19 -	Figuras de mérito para determinação de Co em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	121
Tabela 20 -	Figuras de mérito para determinação de Sn em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	123
Tabela 21 -	Figuras de mérito para determinação de Se em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	125
Tabela 22 -	Figuras de mérito para determinação de As em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS	126
Tabela 23 -	Resultados da determinação de Cd em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	127
Tabela 24 -	Resultados da determinação de Cd em ng g^{-1} (n=5) empregando Pd/Mg(NO ₃) ₂ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM	128
Tabela 25 -	Resultados da determinação de Pb em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	128
Tabela 26 -	Resultados da determinação de Pb em ng g^{-1} (n=5) empregando Pd(NO ₃) ₂ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM	129
Tabela 27 -	Resultados da determinação de Co em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	129
Tabela 28 -	Resultados da determinação de Co em ng g^{-1} (n=5) empregando Pd(NO ₃) ₂ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM	130
Tabela 29 -	Resultados da determinação de Sn em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	131
Tabela 30 -	Resultados da determinação de Sn em ng g^{-1} (n=5) obtido empregando W como modificador químico permanente: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM	131
Tabela 31 -	Resultados da determinação de Se em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	132
Tabela 32 -	Resultados da determinação de As em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa	133

Tabela 33 -	Resultados da determinação de As em ng g^{-1} (n=5) obtido empregando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM	134
Tabela 34 -	Estimativa do valor de H_e em Crajirú (<i>Arrebidaea chica</i> Verlot)	137
Tabela 35 -	Estimativa do valor de H_e em Guaco (<i>Mikania glomerata</i>)	138
Tabela 36 -	Estimativa do valor de H_e em Guaçatonga (<i>Casearia sylvestris</i>)	139
Tabela 37 -	Estimativa do valor de H_e em Erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i>)	140
Tabela 38 -	Estimativa do valor de H_e em Quebra pedra (<i>Phyllanthus niruri</i> L.)	142
Tabela 39 -	Estimativa do valor de H_e em Chapéu de couro (<i>Echinodorus grandiflorus</i>)	143
Tabela 40 -	Estimativa do valor de H_e em Erva cidreira (<i>Melissa officinalis</i>)	145
Tabela 41 -	Estimativa do valor de H_e para em Espinheira santa (<i>Maytenus ilicifolia</i>)	146
Tabela 42 -	Resultados em ng g^{-1} (n=5) para As e Cd em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)	149
Tabela 43 -	Resultados em ng g^{-1} (n=5) para Co e Pb em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)	150
Tabela 44 -	Resultados em ng g^{-1} (n=5) para Se e Sn em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)	151

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês Atomic Absorption Spectrometry
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APL	Processos de Arranjo Produtivo e Local
BPFC	Boas práticas de fabricação e controle
CCD	Dispositivo de carga acoplada, do inglês Charge coupled device
CRM	Material de Referência, do inglês Certified Reference Material
EDL	Lâmpada de Descarga Sem Eletrodo, do inglês Electrodeless Discharge Lamp
HCL	Lâmpada de cátodo oco, do inglês Hollow cathode lamp
H_e	Fator de Homogeneidade
HR-CS AAS	Espectrometria de Absorção Atômica de Fonte Contínua com Alta Resolução, do inglês High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry
HR-CS GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite de Fonte Contínua com Alta Resolução, do inglês High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Absorption Spectrometry
IBC	Correção de Fundo Interativa, do inglês Interactive Background Correction
ICP - MS	Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
LSBC	Correção de Fundo pelo Algoritmo dos Mínimos Quadrados, do inglês Least-Squares Background Correction
LS FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama com Fonte de Linhas, do inglês Line Source Flame Atomic Absorption Spectrometry
LS GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite com Fonte de Linhas, do inglês Line Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry
m_0	Massa característica
PFA	Perfluoroalcoxi, do inglês perfluoroalkoxy

PNPMF	Política Nacional de Plantas medicinais e Fitoterápicos
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
OMS	Organização Mundial de Saúde
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RE	Resolução Específica
REBLAS	Rede Brasileira de Laboratórios de Saúde
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês Relative Standard Deviation
S_H	Erro de amostragem
SNVS	Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária
SNFME	Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia
STPF	Stabilized Temperature Platform Furnace
SS	Amostragem de sólidos, do inglês Solid Sampling
SS HR-CS GFAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite de Fonte Contínua com Alta Resolução com amostragem direta, do inglês Solid Sampling High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Absorption Spectrometry
SUS	Sistema Único de Saúde
THGA	Tubo de grafite aquecido transversalmente, do inglês transverse heated graphite furnace
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	24
2.	REVISÃO DA LITERATURA	26
2.1	Plantas medicinais	26
2.1.1	Plantas medicinais e a fitoterapia	26
2.1.2	Regulamentação de fitoterápicos	28
2.1.3	Plantas medicinais e a necessidade de um controle de qualidade	30
2.2	Espectrometria de absorção atômica	32
2.2.1	Aspectos históricos	32
2.2.2	Espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução	36
2.3	Amostragem direta de sólidos em espectrometria de absorção atômica	42
2.3.1	Sistemas de introdução da amostra e atomizadores	42
2.3.2	Homogeneidade em amostragem direta de sólidos	45
2.3.3	Calibração em amostragem direta de sólidos	47
2.3.4	Aplicações em amostragem direta de sólidos em espectrometria atômica	48
3.	OBJETIVOS	53
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	54
4.1	Materiais	54
4.1.1	Instrumentos e acessórios	54
4.1.2	Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados	56
4.1.3	Preparo das amostras	58
4.1.4	Estudo do comportamento térmico	59
4.1.5	Calibração	61
4.1.6	Avaliação da homogeneidade e da massa mínima representativa	62
4.1.7	Formas de avaliação dos resultados	62
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1.	Otimização do programa de aquecimento	63
5.1.1	Comportamento térmico do cádmio	64
5.1.2	Comportamento térmico do chumbo	71
5.1.3	Comportamento térmico do cobalto	77
5.1.4	Comportamento térmico do estanho	86
5.1.5	Comportamento térmico do selênio	96
5.1.6	Comportamento térmico do arsênio	103

5.2	Parâmetros analíticos	116
5.2.1	Intervalo linear e limites de detecção	116
5.2.1.1	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o cádmio	116
5.2.1.2	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o chumbo	118
5.2.1.3	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o cobalto	120
5.2.1.4	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o estanho	122
5.2.1.5	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o selênio	123
5.2.1.1	Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o arsênio	125
5.2.2	Avaliação da exatidão e precisão	127
5.2.2.1	Avaliação da exatidão e precisão para o cádmio	127
5.2.2.2	Avaliação da exatidão e precisão para o chumbo	128
5.2.2.3	Avaliação da exatidão e precisão para o cobalto	129
5.2.2.4	Avaliação da exatidão e precisão para o estanho	130
5.2.2.5	Avaliação da exatidão e precisão para o selênio	132
5.2.2.6	Avaliação da exatidão e precisão para o arsênio	133
5.3	Massa mínima e fator de homogeneidade	134
5.3.1	Avaliação da homogeneidade para cádmio	135
5.3.2	Avaliação da homogeneidade para chumbo	138
5.3.3	Avaliação da homogeneidade para cobalto	141
5.3.4	Avaliação da homogeneidade para estanho	144
5.4	Análise nas amostras de plantas medicinais	147
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	152
	REFERÊNCIAS	153

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia representa o estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura de doenças. Em todo o planeta há um elevado número de plantas medicinais que são utilizadas há milhares de anos com fins terapêuticos. Contudo, o uso dessas plantas como alternativa terapêutica de baixo custo não é isento de riscos, devendo ser encarado com a mesma seriedade e cautela requerida a qualquer outro medicamento.

O acesso à plantas medicinais e fitoterápicos a uma parte da população brasileira é uma realidade e tende a aumentar. Muitas plantas, além do princípio ativo responsável pelas propriedades terapêuticas, podem conter outras substâncias tóxicas (orgânicas ou inorgânicas) que podem causar danos à saúde. Assim, é imprescindível o conhecimento da composição química das plantas medicinais, bem como o desenvolvimento de métodos analíticos que garantam sua qualidade de acordo com as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (GRÜN et al., 1993; ZUIN, VILEGAS, 2000).

Objetivando garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional das plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade e desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional, foi aprovado aos vinte dois de junho de 2006 o Decreto 5.813 que institui a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Desta forma, a qualidade da matéria prima utilizada para fabricação destes medicamentos deve ser atestada por meio de ensaios que comprovem a ausência de substâncias nocivas à saúde, tais como elementos potencialmente tóxicos.

A concentração de um elemento nutriente ou tóxico numa planta pode variar com espécie, seu estágio de crescimento e outras condições que influenciam a translocação do elemento do solo para o tecido vegetal. Entretanto, existe uma classe de plantas denominadas acumuladoras que podem apresentar elevadas concentrações de um ou mais elementos potencialmente tóxicos quando cultivadas em ambientes contaminados. Vale ressaltar que, mesmo em concentrações relativamente baixas, alguns destes elementos apresentam alto grau de toxicidade, além disso muitos que são considerados essenciais podem apresentar toxicidade em concentrações mais elevadas. Como a biodiversidade vegetal brasileira é vastíssima, a falta de conhecimento e informação sobre os riscos da ingestão de plantas desta categoria pelos seres vivos fragiliza a sociedade em geral (SOLTANPOUR et al., 1980; BAKER et al., 1994).

Na última década, houve um aumento significativo no uso de medicamentos produzidos a partir de plantas medicinais. Contudo, o estudo detalhado sobre a toxicologia das principais plantas consumidas não cresceu na mesma proporção (AJASA et al., 2004). Em função disto,

torna-se relevante estudos visando a caracterização química e toxicológica de plantas medicinais, principalmente aquelas que tem sido empregadas como matérias primas para produção de fitoterápicos.

Dentre as técnicas analíticas, a espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução ocupa um espaço crescente no campo das análises químicas voltadas a determinação de elementos metálicos, semi-metálicos e não metálicos em níveis de $\mu\text{g g}^{-1}$ a ng g^{-1} em uma ampla variedade de amostras (WELZ et al., 2005).

Embora a espectrometria de absorção atômica seja considerada uma técnica bem estabelecida na rotina dos laboratórios de análise elementar para amostras de vegetais, o seu emprego muitas vezes requer que as amostras sejam convertidas em soluções. Os procedimentos de mineralização envolvem longas etapas de preparo, além de serem passíveis de contaminação e/ou perda de um ou mais analitos durante o procedimento. Neste contexto, a análise por amostragem direta de amostras sólidas surge como opção atrativa, devido ao mínimo preparo da amostra, reduzindo os riscos de contaminação, minimizando a geração de resíduos e diminuindo substancialmente o tempo total da análise além da alta detectabilidade quando comparada as técnicas convencionais (KURFÜRST, 1998).

Nos últimos anos, com o surgimento da espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução, houve um aumento significativo nas aplicações em amostragem direta de sólidos, particularmente devido as características peculiares e aos novos recursos oferecidos por este novo conceito instrumental, que possibilitaram o emprego de novas estratégias para contornar problemas comuns a este tipo de análise, como por exemplo o aumento de interferências espectrais devido a presença da matriz.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

2.1.2 Plantas medicinais e a fitoterapia

O hábito de recorrer aos recursos naturais é comum ao homem desde os primórdios da humanidade. Durante séculos, seja por instinto ou necessidade, ele aprendeu a explorar o que a natureza lhe oferecia em busca de melhor qualidade de vida e consequentemente maiores chances de sobrevivência (ALMEIDA, 2011).

A sabedoria popular envolvendo o uso de plantas com propósitos terapêuticos constitui uma valiosa herança dos antepassados que se estendeu por gerações. Ao longo dos séculos, os antigos povos (chineses, egípcios, hindus e gregos) catalogaram um grande número plantas. Nestes “compêndios” a discriminação das espécies vegetais era feita de acordo com a forma, cor, sabor, aroma, além de supostas propriedades atribuídas ao misticismo e astrologia (FREIRE, 2004; PINTO et al. 2002). No Brasil, os registros iniciais ocorreram durante o período colonial através das primeiras correspondências do Padre José de Anchieta no qual haviam descrições de algumas ervas, cuja manipulação para fins místicos ou terapêuticos já era uma prática comum entre as tribos indígenas locais (ALMEIDA, 2011).

O Brasil possui uma rica biodiversidade cuja flora representa elevado potencial no campo da fitoterapia. Durante muitos anos, a agricultura familiar preservou o uso das terapias naturais visando cuidados com a saúde através da fabricação artesanal de “preparações caseiras” (ALMEIDA, 2011). Contudo, com passar dos anos o avanço da indústria farmacêutica tornou esta prática restrita a uma pequena parcela da população. Ainda assim, o consumo de plantas na forma de chás (infusão ou decocção) representa um percentual significativo, sendo consumida por cerca de 38 % das pessoas em todo o mundo, o que torna esta bebida a segunda mais consumida no mundo depois da água (MATSUBARA, RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

O progresso científico-tecnológico alcançado nas últimas décadas permitiu que a indústria farmacêutica desenvolvesse e introduzisse no mercado uma variedade de medicamentos sintéticos voltados para o tratamento, cura ou prevenção de uma diversidade de patologias. Entretanto, o custo relativamente alto de muitos destes medicamentos dificulta o acesso à população de baixa renda, que na maioria das vezes, recorre a políticas públicas precárias e que não suprem a demanda nacional. Além disso, o uso de alguns medicamentos

sintéticos está acompanhado de uma série de reações adversas ou efeitos colaterais indesejados proporcionando tratamentos muitas vezes agressivos e que em alguns casos não levam aos resultados esperados. (NICOLETTI et al., 2007; TOMAZZONI et al., 2006). Assim, buscando bem estar e melhor qualidade de vida, sobretudo por meio de tratamentos menos invasivos, o percentual de pessoas adeptas às terapias naturais tem crescido exponencialmente nos últimos anos (BRASIL, 2006b).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) as espécies vegetais que apresentam em sua composição substâncias ativas com algum benefício terapêutico são classificadas como plantas medicinais (BRASIL, 2009). A manufatura destas plantas visando a obtenção de um medicamento resulta no fitoterápico. Assim, a fitoterapia (do grego *therapeia* = tratamento e *phyton* = vegetal) consiste no emprego de plantas com propósitos profiláticos ou terapêuticos sob determinadas patologias. Neste contexto, diferentes partes de uma planta que apresentem o princípio ativo podem ser empregadas como matéria prima para fabricação do fitoterápico (SIMÕES et al., 2007; ALONSO, 2004).

No Brasil, o mercado da fitoterapia afigura-se como promissor, atualmente há cerca de 50 mil espécies de plantas catalogadas em todo o planeta com elevado potencial para produção de novos fitoterápicos (AGUIAR, CAMARGO, 2004). Entretanto, a carência dos investimentos neste setor tem restringido a produção a um reduzido número de empresas (YOUNES et al., 2001). Além disso, como plantas não podem ser patenteadas há carência de investimentos em pesquisas que comprovem a qualidade de um medicamento de origem vegetal (DAVID et al., 2004; NETTO et al., 2006). Segundo Klein e colaboradores, a maior dificuldade do mercado de fitoterápicos está relacionada aos elevados custos operacionais, de forma que os primeiros dez anos de investimento representam apenas a pesquisa e desenvolvimento do fitoterápico, sendo que os lucros passam a surgir a partir do 11º ano, de forma que a partir do 20º ano os custos refletem apenas a produção e venda (KLEIN et al., 2009).

A sustentabilidade dos setores de produção do mercado da fitoterapia muitas vezes esbarram nas normas e critérios para produção e comercialização. Nos dias atuais, para se obter um registro junto a ANVISA e ao Ministério da Saúde os fitoterápicos devem comprovar além da ação terapêutica, qualidade da matéria-prima utilizada e do produto final além das características referentes a toxicidade (BRASIL, 2007). Além disso, como qualquer medicamento, o fitoterápico deve ser elaborado em doses uniformes, atendendo aos critérios de qualidade da indústria farmacêutica garantindo assim a segurança do consumidor (DAVID et al., 2004; GIL, 2010). De acordo com dados da Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (ABIFISA) e do Ministério da

Saúde (MS) os medicamentos produzidos a partir de plantas medicinais correspondem cerca de 3% do mercado farmacêutico nacional, com receita em torno de US\$ 1 bilhão, o que representa cerca de 5 % do faturamento anual em todo o mundo (BRASIL, 2007).

2.1.2 Regulamentação de fitoterápicos

A Organização Mundial de Saúde, através do seu programa de Medicina tradicional, sugere aos seus Estados-membros a implementação de políticas nacionais no sentido de valorizar a medicina tradicional e inseri-la aos sistemas de saúde público. Assim, por décadas algumas portarias e políticas foram instituídas com objetivo de regulamentar a fitoterapia no Brasil.

Aos trinta de setembro de 1967 foi criada pelo Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia (SNFMF) a portaria 22, que instituía normas para o uso de preparações de plantas medicinais. Esta portaria recomendava ensaios que pudessem comprovar a eficácia terapêutica além de aspectos referentes a toxicidade. Outro ponto relevante, era a atenção dada com relação a associação de espécies vegetais (BRASIL, 1967). Cerca de uma década depois, em cinco de janeiro de 1977, foi aprovada a legislação que regulamentava Lei número 6.360 de 23 de setembro de 1976, que tornava competência do sistema de vigilância sanitária a fiscalização dos fitoterápicos (BRASIL, 1977).

Em trinta e um de janeiro de 1995 foi criada através da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), a portaria nº 6 que apresentava uma revisão sobre alguns pontos relevantes para fitoterapia estabelecendo normas mais rígidas para concessão do registro dos medicamentos à base de plantas medicinais, exigindo comprovação da eficácia terapêutica e o estabelecimento de ensaios de segurança e estabilidade além de apresentar informações detalhadas para associações de fitoterápicos, sobretudo com relação a reações adversas ou efeitos colaterais, ensaios pré-clínicos e toxicológicos visando um melhor controle na qualidade dos fitoterápicos (BRASIL, 1995).

Aos vinte quatro de fevereiro de 2000, a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17 estabeleceu novos critérios para regulamentação de fitoterápicos (nacionais e importados), visando normatizar a aquisição do registro junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Esta RDC categorizava os medicamentos fitoterápicos como: novos, tradicionais e similares, definindo os requisitos necessários para aquisição do registro para cada categoria, bem como as informações específicas que as embalagens e bulas dos medicamentos fitoterápicos deveriam apresentar para serem introduzidos no mercado. Segundo esta norma, seriam isentas de registro as plantas que

apresentassem formulação descrita na Farmacopeia Brasileira ou códigos oficiais similares (AGÊNCIA..., 2000). Em dezesseis de março de 2004 a RDC 17/00 foi revogada pela RDC 48, por consequência das atualizações das normas para regulamentação de medicamentos adotadas pela ANVISA a partir de 2003. A nova resolução abrange todas as exigências técnicas e legais para a concessão do registro dos fitoterápicos, estabelecendo quatro Resoluções Específicas (RE): RE 88 - Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia; RE 89 - Lista de 14 registro simplificado (AGÊNCIA..., 2004a); RE 90 - Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica; e RE 91 - Guia para realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamentos pós-registro (AGÊNCIA..., 2004b). Dentre os principais pontos desta RDC destacam-se a restrição da terceirização dos testes de controle de qualidade a laboratórios credenciados a Rede Brasileira de Laboratórios de Saúde (REBLAS), a inclusão de novas plantas para lista de produtos de Registro Simplificado e a exigência do certificado de boas práticas de fabricação e controle (BPFC) para as linhas de produção.

Com o objetivo de garantir a população brasileira o acesso seguro e o uso racional das plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade e desenvolver a cadeia produtiva e a indústria nacional, foi aprovado aos vinte dois de junho de 2006 o Decreto 5.813 que institui a Política Nacional de Plantas medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2006a). Aos três de maio do mesmo ano o Ministério da Saúde aprovou a Portaria 971 instituindo a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do Sistema Único de Saúde (SUS) recomendando que as Secretarias de Saúde dos estados e municípios implementem ações e serviços relativos as práticas integrativas e complementares, como a fitoterapia, homeopatia, acupuntura e medicina antroposófica (BRASIL, 2006b).

Em nove de dezembro de 2008 a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos foi aprovada por meio da Portaria Interministerial n.º 2.960 autorizando o emprego de 71 espécies como possíveis matérias primas para produção de fitoterápicos. Através da RDC nº 14 de trinta e um de março de 2010 foram estabelecidas novas normas para concessão do registro para medicamentos fitoterápicos. De acordo com o texto aprovado, o levantamento etnofarmacológico passa a ser considerado fator relevante para a certificação de fármacos tradicionais. Além disso, os medicamentos originados de algas e fungos multicelulares passam a ter regulamentação provisória devido a carência de uma norma específica (BRASIL, 2009).

Em maio de 2013, o Ministério da Saúde divulgou um edital para seleção pública para apoiar a estruturação, consolidação e o fortalecimento de processos de arranjo produtivo e local (APL) de plantas medicinais e fitoterápicos no âmbito do SUS. Este programa tem como finalidade fortalecer a assistência farmacêutica e o complexo produtivo de plantas medicinais e

fitoterápicos nos municípios e estados de acordo com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, contribuindo para ações transformadoras na saúde, ambiente e condições de vida da população. Dentro deste contexto, estão previstas associações entre empresas e instituições públicas ou privadas no âmbito da formação de recursos humanos, pesquisa e desenvolvimento. Para este programa foram destinados recursos da ordem de R\$ 12.000.000,00. O programa prevê também a valorização da agricultura familiar e conhecimento tradicional e científico visando fortalecer o setor produtivo de plantas medicinais e fitoterápicos bem como as políticas públicas transversais ao PNPMF (BRASIL, 2013).

2.1.3 Plantas medicinais e a necessidade de um controle de qualidade

As matérias primas empregadas para a fabricação dos fitoterápicos (plantas medicinais), podem apresentar em sua composição substâncias que podem acarretar efeitos alérgicos indesejados ou mesmo intoxicação devendo ser evitadas ou consumidas com moderação (CHAVES, 2008). Assim, dentro do complexo de produção devem constar informações referentes aos aspectos botânicos, agrônômicos, físico-químicos, farmacológicos e toxicológicos (GIL, 2010).

Segundo a ANVISA a qualidade da matéria prima deve ser atestada quanto a ensaios farmacológicos, pré-clínicos e clínicos bem como dos efeitos biológicos preconizados (BRASIL, 2009). A segurança deve ser determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos nocivos à saúde, pois além do princípio ativo as plantas podem apresentar em sua composição outras substâncias que induzam reações adversas devido a contaminação por agrotóxicos, metais potencialmente tóxicos e até interações com outras medicações (ZUIN, VILEGAS, 2000; GRÜN et al, 1993).

Diferentemente da produção sintética de medicamentos, as plantas são reatores biológicos, cujo funcionamento está sujeito a inúmeras variáveis. Sua composição com relação a elementos potencialmente tóxicos ou nutrientes, varia de acordo com a espécie, estágio de crescimento, local de cultivo, manejo e outras condições que possam influenciar a translocação do elemento do solo para as plantas (SOLTANPOUR, WORKMAN, 1980; FRANKENBERGER, BENSON, 1994).

Elementos potencialmente tóxicos estão presentes no solo seja por ocorrência natural ou associados a atividades antropogênicas. Muitas plantas apresentam a capacidade de acumular estes elementos no tecido vegetal, podendo apresentar altas concentrações, mesmo sem as vezes manifestar sintomas de toxidez (BAKER et al, 1994; PRASAD, 2004), como por

exemplo a erva de São João (*Hypericum perforatum*) é conhecida como bioacumuladora de arsênio (ROSE et al. 2007).

Muitos elementos que são considerados essenciais podem apresentar toxicidade em concentrações mais elevadas podendo levar a proliferação de enfermidades crônicas, carcinogênicas e até óbito (SISINNO, OLIVEIRA FILHO, 2013). Neste contexto, é imprescindível o conhecimento da composição inorgânica de plantas medicinais, sobretudo das espécies que estão regulamentadas pelo SUS e que são consumidas em larga escala.

O estabelecimento de métodos de análise dessas plantas voltados a um controle de qualidade eficiente, visando minimizar a probabilidade de ocorrência de problemas toxicológicos, afigura-se como promissor. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que os níveis de Cd e Pb em plantas medicinais não sejam maiores que 0,3 e 10 mg kg⁻¹ respectivamente. E sugere testes para determinação de elementos como As, Cd, Pb e Hg. Algumas farmacopeias estabelecem controle com relação a presença destes elementos através de ensaios colorimétricos. Esses métodos possuem limites de detecção na ordem de 10 a 20 mg Kg⁻¹ impossibilitando a determinação elementar de baixas concentrações (WORLD..., 2011).

Em recente revisão Yuan e colaboradores apresentam algumas técnicas analíticas instrumentais que tem sido empregadas para determinação de elementos potencialmente tóxicos em plantas medicinais (YUAN et al., 2011). Entre as técnicas citadas está a espectrometria de absorção atômica (AAS) que permite determinações quantitativas em níveis de µg g⁻¹ a ng g⁻¹ (WELZ; SPERLING, 1999).

A determinação elementar em plantas por espectrometria de absorção atômica em chama com fonte de linhas (LS FAAS), está bem estabelecida (ALMEIDA et al, 2002; SUBRAMANIAN et al., 2012). A limitação da LS FAAS para determinar baixas concentrações é bem conhecida, porém contornável quando utiliza-se espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) (KALNY et al., 2007). Embora as metodologias empregando AAS relativas a análise de material vegetal estejam bem estabelecidas dentro dos laboratórios de análises de rotina, convencionalmente é necessário que as amostras sejam convertidas em soluções aquosas por processos via úmida ou seca (SILVA, 2009). Além disso, algumas destas técnicas requerem amostras muito diluídas o que pode prejudicar a capacidade de detecção do método, principalmente quando se pretende determinar elementos que estão presentes em baixas concentrações (KRUG, 2008). Assim, os métodos que envolvem a análise direta de amostras surgem como alternativas atrativas (KURFÜRST et al., 1998).

2.2 Espectrometria de absorção atômica

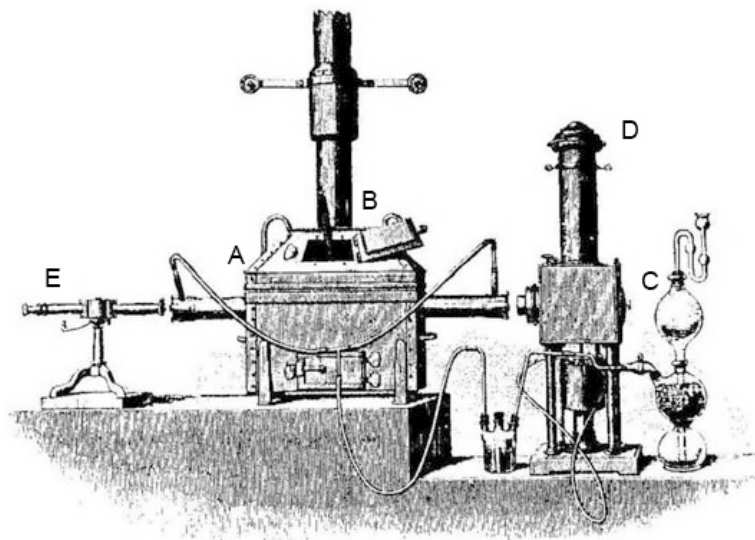
2.2.1 Aspectos históricos

O marco inicial da espectroscopia óptica ocorreu na segunda metade do século XXVII quando Isaac Newton (1672) descreveu em artigo enviado à *The Philosophical Transactions of the Royal Society* sua teoria relatando a dispersão cromática da luz solar ao atravessar um prisma. Anos depois, Willian Wollaston (1802) percebeu a existência linhas escuras no espectro solar que posteriormente foram investigadas por Joseph Fraunhofer (1814), o qual relacionou às de maior intensidade letras de A a G no intervalo espectral compreendido entre o vermelho e o violeta, respectivamente. Em 1820, David Brewster sugeriu que as linhas negras observadas por Fraunhofer eram originadas de processos de absorção na atmosfera solar (WELZ; SPERLING, 1999).

Os fenômenos envolvendo a absorção da radiação relatados por Brewster só foram constatados em 1860 quando Robert Bunsen e Gustav Kirchhoff investigaram os processos de absorção de luz por meio de experimentos sobre o princípio de reversão de linhas. Utilizando uma fonte contínua de radiação eles realizaram um estudo sistemático com metais alcalinos e alcalinos terrosos no qual os espectros de emissão obtidos pelos elementos eram comparados com as linhas negras do espectro solar. Neste estudo, eles observaram que havia uma importante relação entre a emissão e absorção da radiação de forma que espectro de luz poderia ser empregado para caracterizar elementos químicos (WELZ et al., 2003; WELZ; SPERLING, 1999).

Inicialmente foram poucos os pesquisadores que utilizaram os princípios descritos por Kirchhoff e Bunsen para fins analíticos. Em 1878, Norman Lockyer desenvolveu um equipamento capaz de estudar espectros de absorção e de emissão (Figura 1) (BECKER-ROSS et al., 2006).

Figura 1 - Instrumento desenvolvido por Lockyer: (A) atomizador, (B) tubo de ferro inserido em um forno alimentado por carvão, (C) dispositivo Kipp utilizado para geração de hidrogênio, (D) lâmpada elétrica de fonte contínua e (E) espectrógrafo com prisma ou dispositivo fotográfico.



Fonte: WELZ et al., 2005.

Os primeiros equipamentos utilizavam fontes contínuas como fonte de radiação, pois eram as únicas disponíveis na época. Dessa forma era necessário identificar as “interrupções” no espectro contínuo provocadas pelas espécies absorventes, chamadas de “linhas negras”. Entretanto, o arranjo instrumental limitado dificultava a identificação dos espectros atômicos para determinações de caráter quantitativo, tornando a técnica restrita a medidas de emissão, uma vez que se considerava mais fácil detectar uma estreita faixa de radiação emitida em um anteparo negro do que uma pequena atenuação da intensidade de emissão em uma estreita faixa do espectro (WELZ et al., 2003; BECKER-ROSS et al., 2006).

No início dos anos 50 o físico australiano Alan Walsh, que já havia trabalhado com espectroscopia molecular e análise espectroquímica de caráter elementar, começou a questionar o fato da espectrometria atômica ser empregada apenas por medidas de emissão de radiação. Segundo Walsh, uma vez que os espectros moleculares eram utilizados para medida de absorção era preciso investigar os fenômenos decorrentes da absorção da radiação por átomos para análise quantitativa. Então, partindo de informações obtidas por meio da observação do comportamento de alguns elementos em chama, Walsh utilizou uma chama para promover átomos presentes em uma amostra para o seu estado fundamental gasoso. Considerando as leis de Kirchhoff e Planck o vapor atômico produzido na chama poderia interagir com um feixe de

radiação eletromagnética absorvendo uma quantidade específica da energia radiante (WALSH, 1955; WELZ; SPERLING, 1999).

Em seu primeiro experimento, Walsh utilizou um arranjo instrumental constituído por uma fonte contínua, um sistema de nebulização e um atomizador de chama para realizar experimentos envolvendo os fenômenos de absorção do cobre, visando análises quantitativas. Mesmo não obtendo resultados satisfatórios, as conclusões obtidas por Walsh foram muito importantes para o desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica. Em seus estudos ele concluiu que a resolução dos monocromadores existentes na época (*Littrow*) não era apropriada para separar as linhas do espectro contínuo transmitido, resultando em baixa sensibilidade. De acordo com suas investigações, para observação dos fenômenos de absorção da radiação por átomos a partir de uma fonte contínua, os espectrômetros de absorção atômica deveriam dispor de monocromadores com resolução em torno de 2 pm (picômetros), algo que a tecnologia da época ainda não permitia. Desta forma, ele propôs o uso fontes de radiação discretas, com faixas de emissão bem estreitas (fontes de linhas), de modo que a função do monocromador seria apenas separar a linha analítica das demais linhas emitidas pela fonte de radiação (WALSH, 1955; WELZ; SPERLING, 1999).

As primeiras fontes de radiação discretas introduzidas em espectrometria de absorção atômica foram as lâmpadas de cátodo oco (HCL), em 1955. Estas lâmpadas são constituídas por um ânodo de tungstênio e um cátodo cilíndrico construído ou revestido por um metal específico e são projetadas para emitir radiação monocromática em forma de estreitas linhas (alguns picômetros) características do elemento a qual são constituídas. Desta forma, as limitações do uso monocromadores de média resolução poderiam ser contornadas, permitindo melhor seletividade e sensibilidade, o que foi fundamental para aceitação da AAS como técnica analítica (WELZ; SPERLING, 1999).

Em 1959, o físico russo Boris L'vov, baseado nos experimentos publicados por Walsh, propôs o uso de um tubo de grafite como atomizador. O arranjo instrumental desenvolvido por ele consistia em uma câmara com atmosfera de argônio e janelas de quartzo por onde passava um feixe de radiação emitida por uma lâmpada de cátodo oco. No interior da câmara, um tubo de grafite de 10 cm de comprimento era posicionado no caminho óptico do feixe. As amostras eram introduzidas no interior do tubo de grafite que era aquecido por um eletrodo móvel para formação do vapor atômico. Em seus primeiros experimentos na década de 60, L'vov estudou o comportamento de vários elementos, obtendo limites de detecção inferiores ao modelo de atomização em chama proposto por Walsh (BUTCHER, SNEDDON, 1998; WELZ; SPERLING, 1999).

No decorrer dos anos o arranjo instrumental proposto por L'vov passou por diversas transformações. Em meados da década de 60, Hans Massmann propôs um modelo de forno de grafite menor (50 mm). O arranjo proposto por Massmann apresentava aquecimento por etapas, o que permitia que as melhores condições de análise fossem estabelecidas para cada elemento. Este modelo serviu como base para os atuais fornos de grafite. Contudo, era necessário a inserção de um fluxo de gás constante para manter o ambiente inerte dentro do tubo de grafite o que provocava diminuição do tempo de residência dos átomos durante a etapa de atomização. Além disso, o ambiente pouco isotérmico dentro do tubo de grafite contribuía para diminuição da sensibilidade e como resultado os limites de detecção obtidos pelo equipamento de Massmann foram piores do que o modelo proposto por L'vov (BUTCHER, SNEDDON, 1998; WELZ; SPERLING, 1999).

Por cerca de três décadas os equipamentos projetados para atomização eletrotérmica com forno de grafite passaram por várias modificações. As principais contribuições para consolidação desta técnica para fins analíticos foram: i) o uso de tubos de grafite pirólítico constituídos ou não de plataformas de L'vov; ii) o emprego de corretores de fundo baseados no efeito Zeeman; iii) o uso de modificadores químicos; iv) o desenvolvimento dos atomizadores aquecidos transversalmente; v) a introdução do conceito STPF (*Stabilized temperature platform furnace*) proposto por Slavin (BUTCHER, SNEDDON, 1998; SLAVIN et al., 1981).

Com o passar dos anos os equipamentos de absorção atômica com fonte de linhas (LS AAS) equipados com atomizadores de chama e forno de grafite passaram a fazer parte da rotina dos laboratórios de análises químicas. Dentre as principais vantagens pode-se citar: i) a alta seletividade proporcionada pelo emprego de fontes de linhas específicas para cada elemento e sistemas de modulação que melhoraram a sensibilidade e diminuiram os níveis de ruído permitindo que níveis de detecção mais baixos fossem alcançados; ii) diminuição das interferências espectrais provocadas por sobreposição de linhas de outros elementos; iii) elevada tolerância relativa dos sistemas de atomização aos constituintes da matriz; iv) ausência de componentes de alta resolução. Entretanto, o emprego de fonte discretas possuía algumas limitações tais como: i) a estreita faixa de emissão das HCL limita a faixa espectral de observação em pequenos intervalos de comprimento de onda, omitindo assim informações importantes acerca das vizinhanças; ii) mesmo com a alta seletividade, o uso de LS AAS necessita de sistemas adicionais de correção de fundo, o que pode aumentar o custo dos equipamentos. Além disso, os sistemas de correção de fundo presentes em LS AAS estão baseados na subtração da medida da absorção total pela medida do fundo, de maneira sequencial, tornando a correção susceptível a erros nos casos em que o fundo muda rapidamente

com o tempo, proporcionando correções ineficientes em alguns casos; iii) O uso de HCL não permite que mais de um elemento seja determinado por vez, sendo necessário o uso de várias lâmpadas para elementos distintos (WELZ et al., 2005; WELZ; SPERLING, 1999).

2.2.2 Espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução

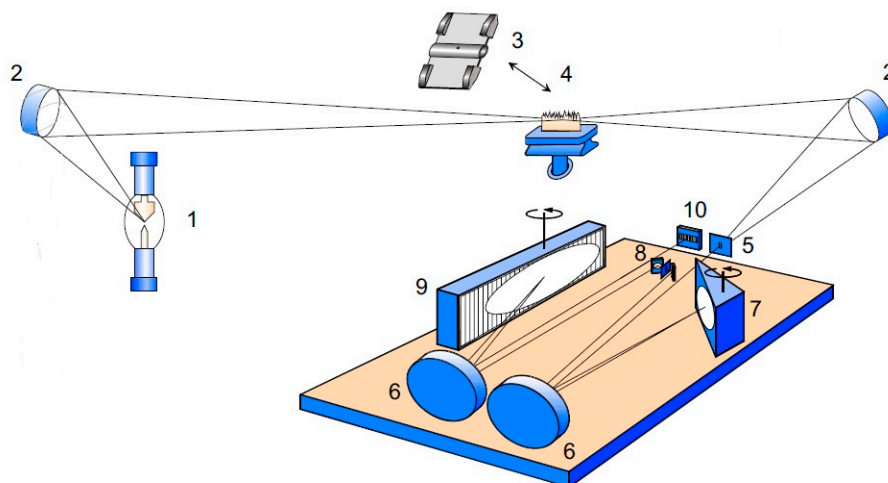
Apesar da espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas ter alcançado o reconhecimento como técnica conceituada para análise elementar, a ideia do uso de uma fonte contínua de radiação nunca foi esquecida. Assim, vários esforços foram feitos por parte de muitos grupos de pesquisa para o desenvolvimento de equipamentos com fontes contínuas (FASSEL et al., 1966; FERNANDO; CALLOWAY; JONES, 1992; BECKER-ROSS et al., 1996; SCHUETZ et al., 2000). Os principais objetivos a serem alcançados eram suprir as limitações inerentes a baixa intensidade das fontes contínuas abaixo de 280 nm e sobretudo quando associadas aos monocromadores de média resolução (WELZ et al., 2003).

Em virtude das limitações dos equipamentos constituídos de fonte de linhas, muitos grupos de pesquisa direcionaram seus trabalhos visando o desenvolvimento da parte instrumental (WELZ et al., 2003). Em 1974, Keliher e Wohlers utilizaram pela primeira vez uma grade Echelle de alta resolução em um espectrômetro constituído de uma lâmpada de xenônio de 150 W como fonte contínua de radiação. Entretanto, a fonte contínua empregada apresentava baixa energia em comprimentos de onda abaixo de 320 nm, dificultando a determinação de muitos elementos que apresentam suas linhas mais sensíveis nesta região (KELIHER; WOHLER, 1974).

Durante cerca de duas décadas os estudos estiveram focados no desenvolvimento instrumental ou na adaptação de equipamentos já disponíveis para suprir as limitações instrumentais existentes e permitir o uso de fontes contínuas. Partindo deste princípio, Becker-Ross desenvolveu em 1996, um protótipo de um espectrômetro de fonte contínua e alta resolução (BECKER-ROSS et al., 1996). O equipamento era adaptado de um espectrômetro Perkin-Elmer modelo 4100 ZL (com atomização em chama ou forno de grafite), onde toda a parte ótica foi substituída por um monocromador duplo *Echelle*, com resolução de $\lambda/\Delta\lambda = 110.000$ e uma lâmpada de arco curto de xenônio com potência nominal de 300 W como fonte de radiação. O arranjo permitia ainda que fossem acoplados geradores de campo magnético, para correção de fundo por efeito Zeeman quando utilizada a atomização eletrotérmica. Este primeiro protótipo foi o marco inicial para o desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução (HR-CS AAS).

A configuração dos atuais espectrômetros de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução está ilustrado na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática do equipamento de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução (HR-CS AAS). (1) lâmpada de arco curto de xenônio, (2) espelhos elipsoidais, (3 ou 4) atomizador (chama ou forno de grafite), (5) fenda de entrada do monocromador, (6) espelhos parabólicos, (7) prisma *Littrow*, (8) espelhos de deflexão e fenda intermediária variável, (9) rede *Echelle*, (10) detector CCD.



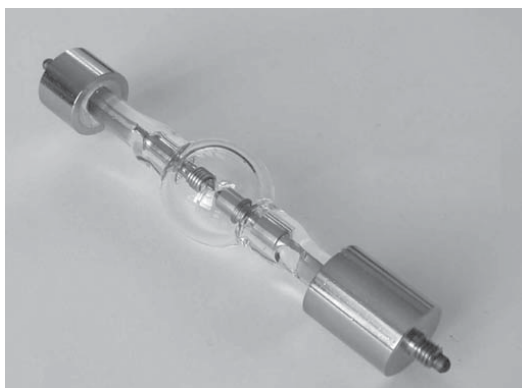
Fonte: Adaptado de Welz et al., 2005

O princípio da técnica envolve a absorção da radiação eletromagnética (fótons) provenientes de uma fonte contínua de radiação (lâmpada de arco curto de xenônio) por átomos no estado fundamental gasoso produzidos por um sistema de atomização específico (forno de grafite ou chama). A radiação transmitida segue para um monocromador de alta resolução composto por um prisma e uma grade de difração *Echelle*, chegando em seguida ao detector de carga acoplada (CCD). A grandeza física medida é a absorbância que de acordo com a Lei de Lambert-Beer está relacionada diretamente com a população das espécies absorventes (WELZ; SPERLING, 1999).

A lâmpada de arco curto de xenônio (Figura 3) opera em modo *hot-spot* onde dois eletrodos de tungstênio distanciados em aproximadamente 1 mm estão dentro de um invólucro em uma atmosfera de xenônio de aproximadamente 17 bar de pressão quando fria. Durante seu funcionamento, com uma potência nominal de cerca de 300 W, a pressão interna lâmpada é aumentada em cerca de três a quatro vezes, gerando um microplasma pontual com diâmetro menor que 0,2 mm e temperaturas próximas de 10.000 K, emitindo radiação em uma faixa de

190 a 900 nm com intensidade superior em até três vezes uma lâmpada de cátodo oco (WELZ et al., 2005; BORGES et al, 2005).

Figura 3 - Lâmpada de arco curto de xenônio utilizada em HR-CS AAS



Fonte: BORGES et al., 2005

O monocromador duplo (DEMOM – *Double Echelle Monocromator*) é constituído por dois elementos dispersores, um prisma e uma rede de difração *Echelle*, em arranjo *Littrow*, com dispersão da ordem de $\lambda/\Delta\lambda = 110.000$. O prisma é responsável pela pré-dispersão da radiação contínua na região espectral de interesse. Posteriormente, a fenda intermediária seleciona uma pequena parte deste espectro onde está a linha analítica, chegando a rede *Echelle* que é responsável pela alta resolução do espectro (2,0 pm). Os comprimentos de onda são precisamente ajustados pela rotação do prisma e da rede *Echelle* pelo motor de passos e são estabilizados por uma lâmpada de neônio posicionada em frente a fenda intermediária, que emite várias linhas relativamente estreias e que são usadas como referência para alinhamento. No início de cada medida, a posição do comprimento de onda é verificada e ajustada, de forma que haja sempre uma relação definida entre os pixels e o comprimento de onda evitando assim problemas inerentes a instabilidade do sinal (WELZ et al., 2005).

O detector é composto por um dispositivo de carga acoplada (CCD), que apresenta unidades fotossensíveis (pixels) distribuídas em 512 linhas e 58 colunas, com dimensões individuais de 24 x 24 μm . O conjunto de pixels apresenta resolução variável conforme a faixa espectral selecionada e amplificam individualmente o sinal medido, caracterizando 512 detectores independentes. Contudo, somente 200 pixels são empregados durante a análise, dos quais apenas 1 ou 3 são usados para medida do sinal analítico (BORGES et al., 2005).

Ao chegar ao detector, os fótons incidentes são convertidos em elétrons gerando um espectro em duas dimensões: comprimento de onda por ordem de difração. Durante esse

processo, o movimento de um dos elementos dispersores ou do espelho à velocidade constante permite que cada ordem de difração atinja o detector em tempos distintos gerando informações temporais. O conjunto das informações referentes as dimensões de tempo e região espectral resultam em espectros tridimensionais altamente resolvidos (WELZ et al., 2005).

O espectro obtido em três dimensões possibilita explorar uma maior área espectral o que permite a aplicação de novas estratégias analíticas para determinações elementares (BORGES et al., 2005). Uma vez que a lâmpada de arco curto de xenônio apresenta alta intensidade sobre toda a faixa espectral é possível realizar medidas em comprimentos de onda secundários sem comprometer a relação sinal ruído e a precisão. O conjunto monocromador de alta resolução e o detector CCD permite que a leitura seja realizada em pixels adjacentes à linha principal ou ainda que estes sejam somados, possibilitando diferentes níveis de sensibilidade. De acordo com a necessidade, é possível obter diferentes intervalos lineares para o mesmo elemento, realizando-se apenas uma leitura, já que o reprocessamento do sinal pode ser feito posteriormente a análise (HEITMANN et al., 2007).

O arranjo instrumental permite ainda mudanças de comprimento de onda em um curto espaço de tempo (~ 1 s), o que é vantajoso quando se deseja determinar mais de um elemento utilizando sistemas de atomização com chama no modo sequencial. Esta característica aliada às particularidades dos sistemas de introdução de amostras (nebulizadores) e a capacidade de ajustes das condições ótimas de análise (chama e altura de observação) durante a varredura, possibilitam determinações multielementares sequenciais rápidas bem como o emprego de padronização interna para contornar efeitos de transporte (OLIVEIRA et al, 2010; RAPOSO JÚNIOR et al, 2008). Recentemente, alguns autores tem explorado a possibilidade da determinação sequencial e simultânea com atomização em forno de grafite. No entanto, tais determinações limitam-se aos comprimentos de onda existentes em uma pequena faixa espectral onde a medida do sinal é feita e da concentração dos analitos que se deseja determinar, uma vez que para este propósito são empregadas linhas de diferentes sensibilidades (RESANO et al., 2011; RESANO, FLÓREZ, GARCIA RUIZ, 2013).

As características do arranjo instrumental utilizado HR-CS AAS possibilitaram a determinação de elementos não metálicos, tais como P, S, Cl, Br, I, F e N (BUTCHER, 2013). O problema associado à determinação destes elementos por LS AAS reside no fato da diferença de energia entre os estados fundamentais e o primeiro estado excitado em suas estruturas eletrônicas, de modo que suas linhas de ressonância encontram-se na região do ultra violeta de vácuo, impossibilitando o emprego de espectrômetros convencionais de AAS, exceto o fósforo que pode ser determinado em linhas não ressonantes provenientes de estados meta estáveis

(WELZ; SPERLING, 1999). A determinação de elementos não metálicos por HR-CS AAS envolve a medida de sinais originados por moléculas diatômicas. Embora os espectros moleculares sejam complexos devido a quantidade de transições rotacionais, vibracionais e eletrônicas, algumas moléculas diatômicas produzem espectros com banda vibracional com um grande número de linhas com larguras comparáveis a linhas de absorção atômica. Muitas moléculas diatômicas apresentam altas energias de dissociação ($\sim 500 \text{ kJ mol}^{-1}$), podendo “resistir” a elevadas temperaturas (2000-3000 °C) e serem empregadas para determinações quantitativas de elementos não metálicos (WELZ et al., 2009).

A HR-CS AAS possui um sistema específico para correção de absorção não específica ou fundo. Diferentemente dos arranjos instrumentais com fontes de linhas, que corrigem tais eventos de maneira sequencial, a medida do fundo em HR-CS AAS ocorre simultaneamente, permitindo a correção eficiente do fundo mesmo quando este varia rapidamente com o tempo. (WELZ et al., 2005).

O sistema de correção de fundo é programado para corrigir automaticamente todos os eventos espectrais contínuos. Antes da medida do sinal analítico, são realizadas sucessivas varreduras de intensidade, no qual um espectro de referência é armazenado. Durante a medida do sinal analítico, a intensidade do sinal obtida é dividida pelo espectro de referência em cada um dos pixels. Este mecanismo possibilita a correção de variações de intensidade nos pixels provocados por eventos contínuos, tais como fenômenos de absorção de banda larga, espalhamento da radiação provocado por partículas vaporizadas durante a etapa de atomização, radiação de corpo negro emitidas pelos sistemas de atomização e ruídos provenientes da lâmpada de arco curto de xenônio melhorando a razão sinal ruído e consequentemente os limites de detecção e a precisão (WELZ et al., 2005).

Os eventos espectrais descontínuos, tais como absorção de linhas de outros elementos concomitantes e absorção molecular provocados por estruturas finas de moléculas diatômicas (fundo estruturado) não são corrigidos automaticamente em HR-CS AAS. Quando eventos espectrais descontínuos não se sobrepõem com a linha do analito, ou seja, não surgem nos pixels utilizados para medida do sinal, não há necessidade de correção. No caso de sinais transientes obtidos por atomização eletrotérmica em forno de grafite o fundo pode ser separado temporalmente do sinal do analito ou eliminado através da otimização do programa de aquecimento. Na circunstância em que há sobreposição espectral, a correção é feita utilizando o algoritmo de correção de fundo por mínimos quadrados (*Least Square Background Correction* -LSBC). O princípio desta correção envolve a subtração do espectro da amostra por um espectro referência obtido a partir da leitura de um composto que contenha o interferente.

Uma vez identificada a espécie responsável pela interferência espectral, um espectro do interferente é então gerado a partir de um padrão que contenha a substância interferente e subtraído do espectro da amostra. O procedimento matemático emprega um ajuste linear do espectro referência para cada um dos espectros da amostra, sendo que no mínimo 20 espectros são gerados por segundo, e o espectro referência é aumentado e diminuído pela multiplicação de um fator de magnificação. As diferenças entre o espectro da amostra e o espectro de referência, bem como seus mínimos quadrados são calculadas pixel a pixel. A soma dos quadrados dos valores será adicionada após o fator de magnificação ter sido variado, para minimizar a soma dos quadrados, ou seja calcular os mínimos quadrados. Caso seja desejado, é possível selecionar pixels específicos onde a correção deve ser efetuada. A aplicação deste procedimento possibilita eliminar ou minimizar sobreposições espectrais originadas por eventos descontínuos, ficando a critério do analista adotar a melhor estratégia de correção (WELZ et al., 2005).

A correção pode ser feita simultaneamente com até três espectros de referência. É possível também utilizar um espectro “misto”, obtido pela leitura de soluções padrão que contenham mais de uma espécie interferente (átomo ou molécula). O espectro de referência pode também ser produzido a partir de uma matriz de composição similar a da amostra, cujo analito esteja ausente ou em níveis não detectáveis (ARAÚJO et al., 2009). Embora grande parte das espécies que causam fundo sejam conhecidas na literatura, o *software* do equipamento (*Aspect CS*) oferece um banco de dados que traz informações detalhadas acerca dos possíveis interferentes. No caso de interferências causadas por estruturas rotacionais finas de moléculas diatômicas, o banco de dados possui modelos virtuais com perfil similar aos espectros de moléculas diatômicas presentes na região espectral estudada, sendo possível simular também o perfil de algumas sobreposições o que facilita a identificação do interferente. A HR-CS AAS também possui um sistema opcional de correção de fundo denominado correção de fundo interativa (*Interactive Background Correction - IBC*). Esta correção está baseada na “filtragem” da intensidade dos espectros. Fundos estruturados mais largos que o perfil do espectro do analito são eliminados o que é muito útil na correção de sobreposições espectrais complexas, principalmente na região do UV. A aplicação deste algoritmo diminui a magnitude do sinal analítico registrado, porém minimiza os efeitos do ruído na região do UV melhorando o perfil da linha base, possibilitando menores limites de detecção.

2.3 Amostragem direta de sólidos em espectrometria de absorção atômica

Os experimentos iniciais envolvendo amostragem direta de sólidos em espectrometria de absorção atômica datam de 1957 quando Boris L'vov testou seu primeiro modelo de forno de grafite, sem sucesso, para análise elementar de cobre em cloreto de sódio (BUTCHER, SNEDDON, 1998). Após esse período, foram cerca de três décadas de pesquisa até que os avanços tecnológicos permitissem que a técnica se consolidasse, o que ocorreria na década de 90 com a chegada dos primeiros espectrômetros de absorção atômica projetados para análise direta de sólidos. Nos dias atuais, embora algumas dificuldades ainda persistam, o número de aplicações tem aumentado significativamente, particularmente devido ao desenvolvimento de novos acessórios específicos para este fim e com advento da HR-CS AAS, que tem permitido que novas estratégias sejam desenvolvidas no âmbito de contornar os problemas e limitações associados a amostragem direta de sólidos (KURFÜRST, 1998; WELZ et al., 2007b).

2.3.1 Sistemas de introdução da amostra e atomizadores

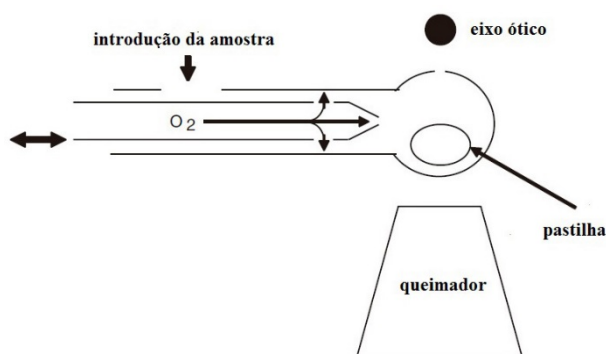
O processo de introdução de amostras sólidas no atomizador representa uma etapa crucial para amostragem direta de sólidos. Em geral, as pequenas quantidades amostradas dificultam os processos que vão desde a pesagem até sua introdução nos sistemas de atomização (KURFÜRST, 1998). Os primeiros trabalhos envolvendo amostragem direta de sólidos relatam algumas dificuldades relacionadas ao manuseio de pequenas porções. Assim, durante muito tempo, vários acessórios e modificações nos equipamentos e atomizadores foram propostos no sentido de minimizar os problemas decorrentes do processo de amostragem (LANGMYHR, 1977; BENDICHO, C.; DE LOOS-VOLLEBREGT, 1991; WELZ, SPERLING, 1999).

Alguns trabalhos da literatura descrevem o desenvolvimento de acessórios visando à introdução direta de amostras sólidas em equipamentos com atomizadores de chama. Embora a configuração destes equipamentos seja mais adequada para introdução de amostras líquidas através de sistemas de nebulização, alguns estudos mostram a viabilidade desta aplicação para determinações quantitativas por amostragem direta de sólidos (VENGHIATTIS, 1967; COUDERT, VERGNAUD, 1970; DELVES, 1970; GOVINDARAJU, 1971; KANIPAYOR et al., 1985; CAMPOS et al., 1990; FLORES et al., 2001). Entretanto, dependendo do tipo de matriz, a temperatura da chama pode não ser suficiente para eliminá-la ou mesmo quebrar as ligações químicas com o analito, dificultando os processos de atomização. Além disso, a maior quantidade de amostra contribui substancialmente para o aparecimento de sinais de absorção

não específica, dificultando a ação dos sistemas de correção de fundo, que não são adequados para corrigir estes eventos em grandes proporções (KURFÜRST, 1998).

Em um destes trabalhos Flores e colaboradores desenvolveram um sistema para determinação de Cd e Pb em plantas medicinais por amostragem direta de sólidos utilizando um sistema de introdução de amostras adaptado a um atomizador de chama em um espectrômetro de absorção atômica Analytik Jena modelo AAS vario 6. O sistema era constituído de um tubo de quartzo instalado entre o queimador e a posição da passagem do feixe óptico (Figura 4). Massas acima de 100 mg de amostra eram introduzidas em forma de pastilhas em uma pequena abertura na parte superior do tubo no qual o transporte era feito por um embolo de quartzo por onde se introduzia um fluxo de oxigênio para auxiliar o transporte e o isolamento térmico (FLORES et al, 2009.)

Figura 4 - Esquema do sistema para introdução de amostras no atomizador de chama desenvolvido por Flores e colaboradores



Fonte: Adaptado de FLORES et al. 2009

Os limites de detecção obtidos por este arranjo foram 0,012 e 0,1 mg g⁻¹ para Cd e Pb, respectivamente, com RSD inferior a 10%. Apesar desta aplicação ser limitada a analitos voláteis como Cd e Pb, os autores destacam a boa frequência analítica que permitia analisar até 40 amostras de plantas por hora (FLORES et al, 2009).

Os espectrômetros de absorção atômica equipados com atomizadores eletrotérmicos de forno de grafite possuem características mais apropriadas para amostragem direta de sólidos. Dentre as principais características se destacam: i) a possibilidade da eliminação da matriz da amostra durante a etapa de pirólise; ii) a configuração dos fornos de grafite projetados com aquecimento transversal que proporcionaram um ambiente isotérmico dentro do tubo de grafite durante a atomização; iii) o emprego dos corretores de fundo baseados no efeito Zeeman que reduziram as dificuldades relativas a interferências em GF AAS (BUTCHER, SNEDDON,

1998; KURFÜRST, 1998). Esta última por sua vez é muito importante, pois a presença da matriz sólida aumenta consideravelmente os sinais de fundo, o que torna necessário o emprego de corretores de fundo de alta eficiência, muito embora este corretor tenha demonstrado limitações para corrigir o fundo estruturado provocado por moléculas diatômicas de PO quando esta sofre algum desdobramento energético durante a aplicação do campo magnético (BECKER-ROSS et al., 2000). Com o advento da espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução, que possui um sistema de correção de fundo que corrige eventos contínuos em tempo real ou posteriormente a análise por meio da aplicação de algoritmos específicos, as limitações existentes nos corretores por efeito Zeeman foram contornadas, tornando a amostragem direta de sólidos uma ferramenta cada vez mais poderosa.

As dificuldades encontradas durante introdução de amostras sólidas dentro do atomizador de grafite levaram ao desenvolvimento de vários modelos de tubos grafite no sentido de melhorar a eficiência da amostragem e diminuir os erros atribuídos a ela (CHAKRABARTI, WAN, LI, 1980a; CHAKRABARTI, WAN, LI, 1980b; ATSUYA, ITOH, 1983; VÖLLKOPF et al, 1985; RETTBERG, HOLCOMBE, 1986; BENDICHO, LOOS-VOLLEBREGT, 1991, WELZ, SPERLING, 1999). No início da década de 80, Grobnski e colaboradores desenvolveram um dispositivo capaz de introduzir amostras em pó em um atomizador de grafite. O dispositivo era muito similar a uma micro-seringa e permitia a introdução de massas de amostras entre 0,5 a 5,0 mg. O sistema ainda continha dispositivos que permitiam a coleta por acumulação eletrostática ou filtração direta, para o caso de amostras suspensas no ar. Ainda que para muitas amostras este sistema fosse passível de contaminação, essa inovação possibilitava o processo de automação, que reduzia os erros pertinentes ao manuseio da amostra (GROBENSKI et al., 1982)

Os atuais equipamentos projetados para amostragem direta de sólidos dispõem de acessórios modernos e automatizados operados por microcomputador. Muitos destes acessórios são equipados com balanças de alta precisão e de um robô programado para efetuar operações que vão desde a pesagem até a introdução da amostra no atomizador. No modelo SSA 600 desenvolvido pela Analytik Jena (Figura 5), as amostras (líquidas ou sólidas) são introduzidas no tubo de grafite por meio de uma plataforma móvel modelo “boat” ou “barco” fabricada de grafite pirolítico cujo processo de amostragem (pesagem e introdução de amostra no atomizador) é conduzido pelo braço mecânico robotizado que possui um par de pinças projetadas especificamente para encaixar a plataforma e realizar todas as operações de amostragem (WELZ, et al., 2007a).

Figura 5 - Auto-amostrador SSA600 utilizado nos atuais espectrômetros para amostragem direta de sólidos desenvolvidos pela Analytik Jena



Fonte: WELZ et al., 2007a

2.3.2 Homogeneidade em amostragem direta de sólidos

Em amostragem direta de sólidos desvios da ordem de 5 a 10% são aceitáveis para elementos presentes em $\mu\text{g g}^{-1}$ enquanto que desvios entre 10 a 30% são aceitáveis para níveis de ng g^{-1} (LANGMYHR, 1985). Geralmente altos desvios são atribuídos à baixa homogeneidade da amostra. Para amostras sólidas, que naturalmente são heterogêneas, pequenas quantidades tendem a comprometer a representatividade, principalmente em determinações de baixas concentrações (NOMURA, OLIVEIRA, 2008). A homogeneidade é uma característica particular do tipo de amostra e depende da quantidade de analito presente, bem como de sua distribuição no material sólido. Neste contexto, torna-se então necessário estabelecer as menores massas representativas que podem ser analisadas sem comprometer a precisão e exatidão dos resultados (PAUWELS, et al, 1994).

Segundo o Guia ISO 35, um determinado material é definido como homogêneo a uma dada característica, ao se comparar partes distintas desse material e não se observar nenhuma diferença significativa nos valores desta característica, o que na prática deve ser comprovado experimentalmente através de medidas de uma determinada propriedade específica (ISO 35 apud NOMURA, OLIVEIRA, 2008).

As informações relativas aos erros de amostragem por consequência da baixa homogeneidade de uma amostra podem ser estabelecidas por meio da constante de homogeneidade (H_e) proposta por Kurfürst.

$$H_e = S_H \times \sqrt{m}$$

A homogeneidade de um material pode ser determinada através dos erros de amostragem (S_H) de uma massa m (mg). Considerando que a massa normalmente empregada é em torno de 1 mg, H_e corresponde ao erro de amostragem para 1 mg de massa, sendo que valores de H_e menores que 10 indicam um material homogêneo (KURFÜRST, 1998). Segundo Kurfürst, sob determinadas condições, em que o procedimento analítico é relativamente livre de outras fontes de erros, esta equação pode ser aplicada com certa confiança para estimar a homogeneidade em uma larga escala de amostras (KURFÜRST, 1998).

Em amostragem direta de sólidos, além dos erros referentes a homogeneidade, outras fontes podem contribuir para o aumento das incertezas (RSD), tais como instabilidade da fonte de radiação, variações na temperatura do atomizador e erros referentes a pesagem e devem ser considerados (KURFÜRST, 1998). Entretanto, os atuais espectrômetros de absorção atômica para amostragem direta de sólidos que utilizam o conceito de HR-CS AAS possuem dispositivos eletrônicos que permitem minimizar estes problemas (WELZ et al., 2005).

Os erros inerentes a precisão podem ser reduzidos com o aumento do número de replicatas por análise, contudo a representatividade de uma pequena massa de amostra depende da concentração e distribuição do analito na mesma (BELARRA et al, 1999). Geralmente amostras mais homogêneas são obtidas quando se reduz o tamanho das partículas empregando sistemas de cominuição adequados (NOMURA et al., 2005). Entretanto, caso o sistema de moagem empregado não seja adequado para o tipo de amostra, há risco da obtenção de partículas com tamanhos aleatórios, muitas das quais devido ao perfil de distribuição dos componentes da amostra, com elevadas concentrações de um determinado analito formando os chamados *nuggets* (KURFÜRST, 1993). De acordo com Krug e colaboradores alguns fatores são decisivos para a escolha do sistema de moagem, tais como tamanho final desejado das partículas, tipo e quantidade de amostra, capacidade do moinho, velocidade da moagem, constituição final do produto e analito a ser determinado. Os sistemas de moagem são classificados de acordo com o grau de eficiência da moagem esperada, ou seja, com relação ao tamanho final da partícula. Dessa forma a moagem grosseira ou pré-moagem, pode ser feita por liquidificadores, processadores e moinhos de faca obtendo partículas com tamanhos em torno

de de 5 mm. A moagem feita em moinhos de disco e almofariz é denominada moagem fina onde se obtém partículas com tamanhos de aproximadamente 63 μm . Por fim, há a moagem extrafina que é feita em moinhos de bolas, moinho vibracional, moinho de jato e moinho criogênico e permite obter partículas <63 μm (KRUG, 2008).

O preparo da amostra é um fator determinante para amostragem direta de sólidos em espectrometria de absorção atômica, isto porque além dos fatores relacionados a homogeneidade, o tamanho da partícula influencia na cinética de vaporização do analito da matriz sólida (TAKADA, HIROKAWA, 1982). Sinais analíticos provenientes de matrizes sólidas geralmente apresentam perfis diferentes dos obtidos para matrizes aquosas. Isto porque o analito presente em solução apresenta maior contato com a plataforma de grafite favorecendo os processos que precedem a atomização. Além disso, as interações com os constituintes da matriz alteram as propriedades físicas e químicas e influenciam diretamente os mecanismos de atomização dos analitos presentes na matriz sólida. Assim, os efeitos de matriz observados durante a atomização de um analito a partir de uma matriz sólida são provenientes de fatores cinéticos, de difusão e oclusão além das interações com constituintes da matriz (JACKSON, 1999; NOMURA, OLIVEIRA, 2008). No entanto, podem ser minimizados pelo preparo adequado da amostra ou pelo uso de modificadores químicos (KURFÜRST, 1998)

2.3.3 Calibração em amostragem direta de sólidos

A calibração representa uma etapa muito importante na análise direta de sólidos, principalmente devido aos efeitos provocados pela matriz. O desafio a ser contornado envolve a influência dos concomitantes bem como as diferentes formas em que o analito pode se encontrar ligado a matriz, o que pode influenciar diretamente nos mecanismos que envolvem a sua eficiência de vaporização para formação da nuvem atômica. As calibrações mais usuais em amostragem direta de sólidos empregam: i) materiais de referência certificados sólidos; ii) amostras sintéticas sólidas; iii) método de adição de analito; iv) padrões aquosos (KURFÜRST, 1998).

A calibração ideal para amostragem direta de sólidos envolve padrões sólidos com composição similar à da matriz da amostra. Todavia, o elevado custo e a indisponibilidade de materiais referência adequados restringem esta aplicação a um reduzido conjunto de amostras. Além disso, fatores como concentração e homogeneidade do analito nos materiais de referência certificados dificultam o emprego deste tipo de calibração em análises de rotina. Esta condição também é crítica quando padrões sólidos sintéticos são utilizados, pois os mesmos devem ser

produzidos com características similares a da matriz da amostra. A calibração por adição de analito está baseada na adição de quantidades crescentes de uma solução padrão do analito em uma matriz de composição igual ou similar a amostra. A principal limitação deste método é que ele não representa os mesmos efeitos que a matriz exerce sobre o analito, uma vez que as interações entre analito e o material sintético podem ser diferentes daquelas em que o analito está naturalmente presente na amostra (KURFÜRST, 1998; BERGLUND, BAXTER, 1992).

A calibração com soluções aquosas é usual para maioria das técnicas analíticas. A disponibilidade de padrões aquosos para um grande número de elementos químicos, nas mais diferentes concentrações com elevada pureza, além da facilidade e simplicidade do manuseio são características que tornam o seu emprego muito atrativo (KRUG, 2008). Usualmente este tipo de calibração pode ser feito de duas maneiras: por diluição de uma solução que apresente maior concentração da curva resposta ou ponto a ponto, preparando-se uma solução padrão para cada ponto (LEITE, 2008). O emprego de padrões aquosos para calibração em amostragem direta de sólidos representa um grande desafio a ser contornado, principalmente devido à influência da matriz e de seus componentes sobre a atomização do analito. Entretanto, muitos estudos tem mostrado que esta dificuldade tem sido contornada pela otimização dos programas de forno de grafite e pelo emprego de modificadores químicos adequados. Além disso, as medidas por área de pico dos sinais transientes minimizam os problemas decorrentes da diferença da cinética de atomização do analito em ambos os meios (KURFÜRST, 1998).

2.3.4 Aplicações em amostragem direta de sólidos em espectrometria atômica

As principais aplicações da amostragem direta de sólidos são: i) análise de materiais refratários de difícil solubilização, o que dispensa longos procedimentos de decomposição de amostras bem como uso de reagentes relativamente perigosos que geram resíduos, muito dos quais, dependendo do analito, levam a perdas por volatilização, além disso diminuem o tempo de preparo de amostra aumentando a frequência analítica; ii) análise de materiais de alta pureza, pois a dispensa no preparo de amostra minimiza a contaminação; iii) análise de quantidade limitadas de amostra, uma vez que 100% da amostra é aproveitada, sem qualquer diluição, o que aumenta o poder de detecção; iv) permite estudos de homogeneidade, pois o alto poder de detecção da técnica permite que pequenas massas possam ser empregadas sendo possível estimar as menores quantidades em que um material apresenta-se homogêneo, o que é importante para garantir a representatividade de uma dada amostra (BELARRA et al., 2002)

Muitos trabalhos da literatura descrevem com sucesso a aplicação da amostragem direta de sólidos dentro do contexto abordado anteriormente. Porém, nos últimos anos, com o advento da HR-CS AAS, tais aplicações ganharam novos horizontes devido às vantagens oferecidas pelo novo arranjo instrumental, de forma que novas estratégias puderam ser exploradas permitindo aumentar as aplicações (WELZ, 2007a).

Silva e colaboradores desenvolveram um método por SS HR-CS GFAAS para determinar Cd em carvão empregando Ir como modificador permanente e calibração em meio aquoso. Neste trabalho os autores destacam as dificuldades da determinação de um elemento volátil como o Cd em baixas concentrações. Outro ponto a destacar é a possibilidade da visualização do ambiente espectral em torno da linha analítica do Cd, que permite avaliar sinais de fundos obtidos por resíduos da matriz destacando a capacidade do equipamento de separar a linha analítica do fundo, bem como minimizar tais efeitos. O método desenvolvido apresentou limite de detecção de 2 ng g^{-1} e precisão menor que 10% para massas entre 0,6 e 1,2 mg. A validação foi feita pela análise de 8 materiais de referência certificados cujos valores certificados para Cd foram concordantes ao nível de 95% (teste-t). O procedimento foi aplicado na determinação de Cd em duas amostras e os valores ficaram entre 60 e 290 ng g^{-1} (SILVA et al., 2005).

Araújo e colaboradores propuseram um método envolvendo amostragem direta de sólidos e HR-CS GFAAS para determinar Sb em sedimento utilizando Ir como modificador permanente. Os autores enfatizaram a importância da amostragem direta em função da difícil solubilização da amostra, que muitas vezes provocam perdas do analito por volatilização. Em virtude da concentração de analito presente na massa de amostra analisada, foi utilizado uma linha secundária 231,147 nm na determinação. Foi verificado que este comprimento de onda possui interferências espectrais significativas provocadas por estruturas diatômicas de PO e SiO, que foram corrigidas utilizando o algoritmo de mínimos quadrados. O método foi desenvolvido utilizando calibração com padrões aquosos e obteve-se uma precisão que variou de 7 a 17%. Os resultados das análises de seis materiais de referência certificados foram concordante ao nível de 95% de confiança (ARAUJO et al, 2009).

Dittert e colaboradores determinaram Ag em materiais de referência certificados de minério, sedimentos, rochas e solos por SS HR-CS GFAAS. Eles destacaram a importância da determinação deste elemento uma vez que pouco se conhece a respeito de sua ação sobre sistemas biológicos. Além disso, foram enfatizadas as dificuldades inerentes ao preparo da amostra e ao desenvolvimento do método. Foram observados alguns fundos estruturados provocados por estruturas diatômicas de S (SO, CS, SH) mas que não sobrepujam diretamente

o sinal analítico. O método apresentou limite de detecção de 2 ng g^{-1} . O método foi aplicado para análise de 10 materiais de referência certificados e os valores foram concordantes ao nível de 95% (DITTERT et al., 2009)

Resano e colaboradores utilizaram SS HR CS GF AAS para determinar Hg em polímeros e compararam com SS LS GF AAS. Para o estudo eles utilizaram 8 materiais de referência certificados com concentrações que variavam de $20\text{-}1100 \text{ mg g}^{-1}$. Foram observados vários problemas com a SS LS GFAAS: elevados sinais de fundo e diferentes condições de atomização para as amostras, sendo possível apenas o desenvolvimento de metodologia para análise de polietileno e PVC. Devido ao eficiente sistema de correção de fundo quando aplicada SS HR-CS GFAAS, foi observada melhora significativa no sinal analítico, de modo que foi possível desenvolver métodos para todas amostras, com a mesma temperatura de atomização. Utilizando padrões aquosos para calibração, o uso de SS HR CS GF AAS permitiu limites de detecção até quatro vezes menores, maior faixa de trabalho e precisão variando de 4 a 9 % (RESANO et al., 2009).

Araújo e colaboradores exploraram a capacidade da técnica SS HR-CS GFAAS para determinar de Hg em material particulado do ar. O método era baseado na análise de fibras de vidro utilizadas como coletor. A calibração foi feita com padrões aquosos utilizando como modificador uma solução de 1% (m/v) KMnO_4 . A metodologia foi validada pela análise de material de referência certificado, com uma precisão média de 17%. O limite de detecção foi de 40 ng g^{-1} correspondente a cerca de $0,12 \text{ ng m}^{-3}$ no ar para um volume de 1440 m^3 coletados dentro de um período de 24 h. Por fim, o método foi aplicado na análise de amostras reais cujas concentrações ficaram entre 40 a 381 ng g^{-1} , correspondentes a $0,12$ a $1,47 \text{ ng m}^{-3}$. Os autores destacam a simplicidade e rapidez do método como adequadas para determinações deste tipo (ARAÚJO et al, 2011).

Resano e Flórez estudaram o emprego de nanopartículas de Pd associadas a Ru termicamente modificado na plataforma de grafite para determinação de S via molécula de CS. Através de análise de microscopia eletrônica de varredura eles observaram que o Pd fica uniformemente distribuído na plataforma revestida com Ru o que favorece sua interação com o S na etapa de pirólise. Nestas condições eles desenvolveram um método que foi aplicado a uma gama de matérias de referência certificados (biológicos, coque de petróleo, aço e polietileno). Devido ao maior ambiente espectral observado pelo emprego de HR-CS, foi possível avaliação de até seis comprimentos de onda simultaneamente, o que permitiu obter diferentes intervalos lineares com diferentes sensibilidades (RESANO, FLÓREZ, 2012).

Mior e colaboradores propuseram um método para determinar S em carvão por SS HR-CS GFMAAS monitorando sinais da molécula de CS. Dos modificadores avaliados, Ru ofereceu o melhor desempenho. Eles também avaliaram dois tipos de padrões para formação da molécula de CS, L-cisteína e $\text{Mg}(\text{SO}_4)_2$ objetivando calibração aquosa, onde este último foi o mais adequado. Mesmo assim, eles comprovaram experimentalmente que o uso de L-cisteína como padrão aquoso produz resultados comparáveis ao uso de um CRM de carvão, de forma que pode ser possível tanto o uso de padrões orgânicos como inorgânicos para formação de CS. No entanto, os autores concluem que há a necessidade de estudos mais específicos para elucidar melhor a competitividade dos dois sistemas para formação da molécula diatômica (MIOR et al., 2013).

Rello e colaboradores exploraram SS HR-CS GFAAS para a determinação simultânea de Mo e Ti em urina. O procedimento envolveu deposição da urina em papéis de filtro (coletores), que após secagem foi submetida a amostragem direta de sólidos. Segundo os autores, o emprego de papel filtro dificultava o processo de amostragem, uma vez que o papel de filtro atua como suporte cromatográfico causando uma distribuição desuniforme dos analitos, além disso a elevada difusão da urina sobre o papel de filtro resulta numa pequena quantidade de urina na superfície, podendo causar problemas em relação a precisão e sensibilidade. Esta dificuldade foi contornada utilizando papéis de filtro pré-cortados nas dimensões de 17 x 19 mm o que possibilitaram amostragem mais uniformes pra um volume de amostra de 500 μL , melhorando os resultados em até 12 vezes em termos de sensibilidade. O método foi aplicado em amostras reais e em um material referência de urina, apresentando boa precisão com limites de detecção da ordem de 1,5 e 6,5 mg L^{-1} para Mo e Ti, respectivamente (RELLO, et al., 2013).

Resano e colaboradores utilizaram SS HR-CS GFAAS para determinação direta de Ag em espécies individuais de *Daphnia magna* (pequeno invertebrado aquático -aproximadamente 2 mm, utilizado em ecotoxicologia) expostas a diferentes espécies químicas de Ag, em particular as nanopartículas (NPS). As vantagens dessa técnica para este tipo de aplicação, foram a alta sensibilidade e a rapidez das análises (2 a 3 min.). Além disso, neste trabalho foram explorados alguns recursos particulares da técnica, como o uso de pixels adjacentes para obter diferentes intervalos lineares (60 – 200 ng g^{-1}) para diferentes massas de amostra (0,015 – 0,050 mg). A metodologia, apesar de simples, permitiu avaliar a quantidade de Ag em *Daphnia magna* desde níveis de traço até exposições da ordem de 3,5 mg L^{-1} (RESANO, LAPEÑA, BELARRA, 2013).

Duarte e colaboradores desenvolveram um método por SS HR-CS GFAAS para determinar sequencialmente Cd e Cr em amostras de biomassa. As diferentes características dos analitos, particularmente sua volatilidade, permitiram que o Cd fosse atomizado em 1500 °C sem perdas de Cr por volatilização, sendo possível posteriormente, na mesma amostragem, atomiza-lo em 2600 °C, permitindo assim uma leitura sequencial dos dois analitos. Dessa forma, tanto Cd como Cr puderam ser determinados sem perdas significativas de sensibilidade (DUARTE et al., 2013)

Resano e colaboradores exploraram o potencial de SS HR-CS GFAAS para determinação simultânea de impurezas (Co, Fe, Ni e Pb) em amostras de nanotubos de carbono. Em condições de atomização favoráveis e presença do modificador químico Pd, a alta resolução do equipamento permitiu a leitura simultânea dos quatro elementos no intervalo espectral de 283,168 nm a 283,841 nm monitorando a linha principal do Pb e linhas secundárias dos demais. Os autores destacaram que o alto poder de detecção da técnica aliada às características particulares da HR-CS AAS, possibilitaram tal análise com uma precisão de cerca de 7 a 15% (RESANO et al., 2013)

Recentemente Flórez e Resano investigaram o uso da molécula diatômica de CaBr para determinação de brometo em materiais plásticos. Os autores ressaltam a importância do estudo em função das legislações que restringem o uso de compostos organobromados. Neste estudo eles discutiram aspectos importantes a respeito da alta resolução obtida com o uso de HR-CS, que permite a visualização de um amplo intervalo espectral, de forma que vários comprimentos de onda podem ser avaliados simultaneamente obtendo diferentes intervalos lineares. O método apresentou limite de detecção de cerca de $1,8 \mu\text{g g}^{-1}$ e precisão variando de 3 a 7 % (FLÓREZ, RESANO, 2013).

3 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principal objetivo desenvolver métodos analíticos empregando amostragem direta de sólidos para determinar As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução em forno de grafite (SS HR-CS GFAAS). Os principais pontos de estudo deste trabalho foram:

- a) avaliar diferentes modificadores químicos visando o melhor desempenho para calibração em meio aquoso;
- b) identificar possíveis interferentes espectrais, e aplicar estratégias para correção de fundo segundo o conceito de HR-CS AAS;
- c) avaliar o desempenho da calibração aquosa comparado a calibração com padrões sólidos (materiais de referência certificados);
- d) estabelecer a precisão e exatidão dos métodos desenvolvidos bem como os respectivos limites de detecção;
- e) estudar a homogeneidade de amostras por SS HR-CS GF AAS, identificando as massas mínimas de amostra para os analitos;
- f) investigar a aplicabilidade da amostragem direta de sólidos para determinação de constituintes inorgânicos em plantas medicinais e comparar com métodos convencionais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Instrumentos e acessórios

O espectrômetro de absorção atômica de forno de grafite de fonte contínua com alta resolução AnalytikJena® ContrAA 700 (Figura 9) equipado com auto-amostrador de sólidos SSA 600 (AnalytikJena®, Alemanha) e tubos de grafite com recobrimento político para amostragem de sólidos. As amostras são inseridas em plataformas de grafite com recobrimento pirólítico do tipo “boat”. O equipamento utiliza como fonte de radiação uma lâmpada de arco curto de xenônio de 300 W (XBO 301, GLE®, Alemanha) operando em modo “hot spot” com emissão de radiação de 190 a 900 nm. As medidas de absorbância integrada foram feitas em 3 pixels nos comprimentos de onda: 228,818 nm (Cd), 283,306 nm (Pb), 240,725 nm (Co), 224,605 nm (Sn), 196,027 nm (Se) e 193,696 nm (As).

Figura 6 - Foto do espectrômetro de absorção atômica ContrAA 700



Fonte: Autor

As amostras sólidas foram introduzidas manualmente nas plataformas de grafite utilizando uma microespátula de aço inoxidável. As medidas de massas foram feitas em micro balança Sartorius WZ2PW com precisão de 0,001 mg acoplada ao auto-amostrador de sólidos. Os padrões aquosos de calibração e soluções de modificador foram pipetadas manualmente na plataforma de grafite com o auxílio de micropipetas Eppendorf (0,5 -10 µL).

O espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite com fonte de linhas Perkin Elmer® modelo SIMAA 6000 equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal e amostrador automático Perkin Elmer AS-72 e tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal (THGA) contendo plataforma L'vov integrada foi utilizado como técnica comparativa. Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL) para As (193,7 nm), Cd (228,2 nm), Se (197,0 nm), Sn (286,3 nm) e lâmpadas de catodo oco (HCL) para Co (240,7 nm) e Pb (283,3 nm). O programa geral de aquecimento do forno de grafite utilizado encontra-se na Tabela 1. As temperaturas de atomização e pirólise, bem como os modificadores químicos empregados encontram-se na Tabela 2.

Para ambos os espectrômetros de absorção atômica utilizou-se como gás de purga e proteção argônio com pureza de 99,996 % (White Martins, São Paulo).

Tabela 1 - Programa geral de aquecimento para determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por LS GFAAS

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / °C s ⁻¹	Patamar / s	Vazão / mL min ⁻¹
Secagem 1	110	3	20	250 (Ar)
Secagem 2	130	5	10	250 (Ar)
Pirólise 1	Tp	100	20	250 (Ar)
Atomização	Ta	3000	5	0
Limpeza	2500	500	5	250 (Ar)

Fonte: Autor

Tabela 2 - Temperaturas de pirólise (Tp) e atomização T(a) utilizadas para determinar As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por LS GF AAS

Elemento	Tp	Ta	Modificador químico
As	1200	2400	5 µg Pd + 3 µg Mg
Cd	800	1500	5 µg Pd + 3 µg Mg
Co	1200	2400	5 µg Pd + 3 µg Mg
Pb	1200	2200	5 µg Pd + 3 µg Mg
Se	1100	2400	5 µg Pd + 3 µg Mg
Sn	1000	2400	5 µg Pd + 3 µg Mg

Fonte: Autor

O espectrômetro de massa com fonte de plasma acoplado indutivamente Varian 820-MS (Mulgrave, Austrália) com sistema de interface de reação e colisão foi utilizado para medidas comparativas. Este instrumento é equipado com amostrador automático SPS3. Argônio (99,999 %) foi usado como gás formador do plasma, hélio e hidrogênio (99,999 %) foram avaliados como gases colisionais e/ou reacionais. Todos os gases eram procedentes da

White Martins (Sertãozinho, SP). Os parâmetros e condições experimentais usadas para análise em ICP MS estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros e condições operacionais usadas para análise em ICP MS

Parâmetro	Condição
Gerador de Rádio Frequência (MHz)	27
Diametro Interno da Tocha (mm)	2,0
Potência de Rádio Frequencia (kW)	1,4
Pontos por Pico	2
Scans/Replicata	20
Replicatas/amostras	5
Dwell time (ms)	10
Vazão dos Gases	
Externo (L min ⁻¹)	1,8
Intermediário (L min ⁻¹)	18
Sheath Gás (L min ⁻¹)	0,15
Gás de Nebulização (L min ⁻¹)	0,90
Temperatura da câmara de nebulização (° C)	-2
Cones de amostragem e skimmer	Ni

Fonte: Autor

As amostras foram secas em estufa com circulação forçada de ar TE-394/2 (Tecnal) e moídas em moinho criogênico (Freezer/Mill 6800[®]) ou em moinho de facas tipo Willey Tecnal modelo 648 com peneiras de 10, 20 e 30 *mesh*. A decomposição das amostras por via úmida foi feita em micro-ondas Anton Paar Multiwave 3000 com 48 posições e equipado com frascos de 25 mL de PFA.

As medidas de massas para mineralização das amostras (0,25 mg) foram feitas em balança analítica Sartorius BL 210S (Alemanha). As seleção de volumes para diluições das soluções padrão foram feitas com micropipetas Eppendorf (10 - 1000 µL).

4.1.2 Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados

A limpeza de todas as vidrarias e frascos para armazenamento de soluções ou amostras foi feita inicialmente por lavagem com solução 10% (v/v) de detergente neutro (Extran[®] MA 02) seguida de lavagem com água desionizada. Por fim, a descontaminação foi feita por imersão em solução 10% (v/v) HNO₃ durante um período de 24 horas sendo posteriormente retirados e enxaguados abundantemente com água desionizada e secos antes do uso.

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ.cm) obtida a partir de um sistema de osmose reversa Millipore Rios 5[®] combinado com desionizador Millipore Milli-Q academic[®] e foram armazenadas em frascos de polipropileno de alta densidade Nalgene[®] e mantidas sob refrigeração.

Ácido Nítrico 65 % (m/m) Suprapur[®] (Merck) foi utilizado para o preparo de todas as soluções e mineralização das amostras.

Triton X-100 (Mallinckrodt Baker) foi utilizado para o preparo das soluções de modificadores convencionais.

Padrões espectroscópicos monoelementares 1000 mg L⁻¹ de Al, As, Cd, Co, Fe, Pb e Se, Sn (*QHEMIS*) foram utilizados.

Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Pd foi preparada a partir da diluição apropriada da solução estoque 10 g L⁻¹ Pd(NO₃)₂ (Merck) em meio de Triton X-100 0,05 % (m/v).

Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Mg foi preparada por dissolução de 100 mg Mg(NO₃)₂.6H₂O (Suprapur[®], Merck) e diluição a 10 mL com água desionizada em meio de Triton X-100 0,05 % (m/v).

Solução do modificador químico contendo 1000 mg L⁻¹ Pd + 500 mg L⁻¹ Mg foi preparada por dissolução de 100 mg Mg(NO₃)₂.6H₂O + 1,0 mL de solução estoque 10 g L⁻¹ Pd(NO₃)₂ com posterior diluição para 10 mL com água desionizada em meio de Triton X-100 0,05 % (m/v).

Solução do modificador químico contendo 10 g L⁻¹ NH₄H₂PO₄ foi preparada por dissolução de 1000 mg NH₄H₂PO₄ (Suprapur[®], Merck) e diluição a 10 mL com água desionizada em meio de Triton X-100 0,05 % (m/v).

Solução do modificador químico contendo 10 g L⁻¹ ácido ascórbico foi preparada por dissolução de 1000 mg ácido ascórbico (JTBaker) e diluição a 10 mL com água desionizada em meio de Triton X-100 0,05 % (m/v).

Solução dos modificadores químicos contendo 1000 mg L⁻¹ Ir, Rh e Ru (Fluka) e W (Specsol) foram utilizadas sem prévia diluição para o tratamento térmico das plataformas de grafite.

Solução de (NH₄)₂SO₄ 10 g L⁻¹ foi preparada por dissolução de 1000 mg (NH₄)₂SO₄ (JTBaker) e diluição a 10 mL com água desionizada.

Solução de Ácido Nítrico 5% (v/v) foi preparada a partir da diluição apropriada de Ácido Nítrico 65 % (m/m) Suprapur[®] (Merck).

As amostras de plantas medicinais: boldo (*Peumus boldus*), camomila (*Chamomilla recutita*), carqueja (*Bacharis crispa*), cavalinha (*Equisetum ssp*), chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*), crajirú (*Arrebidaea chica Verlot*), dente de leão (*Taraxacum officinale*), erva cidreira (*Melissa officinalis*), erva doce (*Foeniculum vulgare*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*), graviola (*Annona muricata*), guaçatonga (*Casearia sylvestris*), guaco (*Mikania glomerata*), hortelã (*Mentha piperita L.*), pata de vaca (*Bauhinia foticata*), sabugueiro (*Sambucus nigra L.*), quebra pedra (*Phyllanthus niruri L.*), unha de gato (*Uncaria tomentosa*) foram adquiridas no mercado local de Araraquara - SP.

Os materiais de referência de vegetais 1573a *Tomato Leaves*, 1572 *Citrus Leaves*, 1515 *Apple Leaves*, 1547 *Peach Leaves*, 1570 *Spinach Leaves*, 3246 *Ginkgo Biloba*, 1575a *Pine Needles* (National Institute of Standards and Technology, EUA) e *INCT-OBTL-5 Oriental Basma Tobacco Leaves* (Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Poland) foram utilizados para avaliar a exatidão dos métodos propostos.

4.1.3 Preparo das amostras

As amostras foram lavadas com água desionizada e secas em estufa de circulação forçada de ar aquecido a 60°C por 48 horas. Para moagem criogênica, uma porção da amostra foi transferida ao frasco de polycarbonato juntamente com a barra magnética, o qual foi devidamente fechado, adaptado ao suporte do moinho e imerso em nitrogênio líquido. Os impactos (20 impactos s⁻¹) entre a amostra e a barra magnética gerados por um campo magnético oscilante pulverizam a amostra produzindo partículas com granulometria < 63 µm (KRUG et al., 2008). O programa compreendeu etapas de pré-congelamento e de moagem e está apresentado na Tabela 4. Em seguida, as amostras foram removidas e acondicionadas em frascos de polietileno e armazenadas ao abrigo da luz e da umidade.

Tabela 4 - Programa empregado na moagem criogênica das amostras

Etapa	Tempo (min.)
Pré-congelamento	4
Moagem*	2
Congelamento entre as moagens	4

*2 ciclos por moagem

Fonte: Autor

Para fins comparativos, as amostras moídas foram digeridas em forno de micro-ondas pela adição de 0,25 g de amostra + 6,0 mL de HNO₃ concentrado em frascos de PFA submetidos ao programa da Tabela 5. Os digeridos foram transferidos para balões volumétricos de 25 mL, e o volume foi completado com água desionizada.

Tabela 5 - Programa otimizado do forno de micro-ondas para a digestão das amostras

Etapa	Potência / W	Rampa / °C min. ⁻¹	Temperatura / °C	Patamar / min.
1	500	8	110	10
2	1000	7	190	15
3	0	0	-	30

*Tempo total do programa: 55 min.

Fonte: Autor

4.1.4 Estudo do comportamento térmico

O estudo do comportamento térmico dos analitos foi conduzido utilizando matérias de referência e soluções padrões de cada elemento preparadas em meio 0,1% HNO₃ (v/v) conforme a Tabela 6.

Tabela 6 - Materiais de referência e soluções utilizadas para otimização dos programas de aquecimento

Elemento	CRM / concentração do analito	Solução aquosa / concentração
As	1572 <i>Citrus Leaves</i> / 3100 ng g ⁻¹	As / 100 µg L ⁻¹
Cd	1515 <i>Apple Leaves</i> / 13 ng g ⁻¹	Cd / 2,5 µg L ⁻¹
Co	1570a <i>Spinach Leaves</i> / 390 ng g ⁻¹	Co / 50 µg L ⁻¹
Pb	1515 <i>Apple Leaves</i> / 470 ng g ⁻¹	Pb / 100 µg L ⁻¹
Se	1570a <i>Spinach Leaves</i> / 117 ng g ⁻¹	Se / 100 µg L ⁻¹
Sn	1572 <i>Citrus Leaves</i> / 240 ng g ⁻¹	Sn / 50 µg L ⁻¹

Fonte: Autor

O comportamento térmico também foi avaliado na presença de diferentes modificadores químicos convencionais e permanentes (Tabela 7).

Tabela 7 - Modificadores químicos convencionais e permanentes utilizados na otimização dos programas de aquecimento

Elemento	Modificador convencional	Modificador permanente
As	5 µg Pd; 100 µg ácido ascórbico	200 µg W; 400 Ir
Cd	5 µg Pd; 5 µg Pd + 2,5 µg Mg	200 µg W; 400 Ru
Co	5 µg Pd; 5 µg Mg	200 µg W; 400 Rh
Pb	5 µg Pd; 5 µg Pd + 2,5 µg Mg; 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄	200 µg W
Se	5 µg Pd, 10 µg Ni	400 µg Ru; 400 Rh
Sn	5 µg Pd, 100 µg ácido ascórbico	200 µg W; 400 Ir

Fonte: Autor

Os recobrimento térmico das plataformas de grafite com os modificadores permanentes foi feito da seguinte forma: para a deposição de W (200 μg) e Rh (400 μg), foi injetado sobre a plataforma 10 vezes volumes de 20 μL e 40 μL , respectivamente de solução de cada modificador (1000 mg L^{-1}), executando o programa de temperatura da Tabela 8 após cada injeção até a etapa 4. Após a última injeção, o programa completo foi executado. Para a deposição de Ru e Ir (400 μg), foi injetado sobre a plataforma 10 vezes o volume de 40 μL de solução de cada modificador (1000 mg L^{-1}), executando o programa de temperatura da Tabela 9 após cada injeção até a etapa 4. Após a última injeção, o programa completo foi executado (BIANCHIN et al., 2006).

Tabela 8 - Programa de temperatura para recobrimento térmico das plataformas de grafite com os modificadores permanentes W e Rh

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / °C s ⁻¹	Patamar / s	Vazão / L min ⁻¹
1	90	30	15	2,0 (Ar)
2	250	20	35	2,0 (Ar)
3	250	20	10	2,0 (Ar)
4	1000	1000	10	2,0 (Ar)
5	2000	1000	5	2,0 (Ar)

Fonte: Autor

Tabela 9 - Programa de temperatura para recobrimento térmico das plataformas de grafite com os modificadores permanentes Ru e Ir

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / °C s ⁻¹	Patamar / s	Vazão / L min ⁻¹
1	100	10	10	2,0 (Ar)
2	150	30	20	2,0 (Ar)
3	250	30	20	2,0 (Ar)
4	1000	50	10	2,0 (Ar)
5	2000	1000	5	2,0 (Ar)

Fonte: Autor

O programa geral de temperatura do forno de grafite utilizado para otimização das temperaturas de pirólise e de atomização para as soluções e materiais de referência visando à amostragem direta de sólidos é mostrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Programa geral de aquecimento para determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Etapa	Temperatura / °C	Rampa / °C s ⁻¹	Patmar / s	Vazão / L min ⁻¹
Secagem 1	110	10	10	2.0 (Ar)
Secagem 2	130	5	10	2.0 (Ar)
Pirólise 1	600	50	30,60	2.0 (aux.)**
Resfriamento	100	NP*	20	2.0 (Ar)
Pirólise 2	Tp	100	10	2.0 (Ar)
Auto-Zero	Tp	0	5	0
Atomização	Ta	3000	5	0
Limpeza	2500	500	5	2.0 (Ar)

*NP (No Power); ** gás auxiliar: O₂; Tp: temperatura de pirólise, Ta: temperatura de atomização

Fonte: Autor

4.1.5 Calibração

A construção de curvas de resposta para As, Cd, Co, Pb, Se e Sn obtidas a partir de padrões aquosos e o sólido, utilizando diferentes modificadores, foram feitas em triplicata da seguinte maneira:

Para Cd as curvas foram construídas em meio aquoso utilizando soluções de 0,04 a 2,0 µg L⁻¹ Cd no qual volumes de 10 µL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 0,4 a 20 pg Cd e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência 1547 *Peach Leaves* no intervalo de 0,05 a 1,0 mg que representam um intervalo de 1,3 a 26 pg Cd.

Para Pb as curvas foram construídas em meio aquoso utilizando soluções de 10 a 100 µg L⁻¹ Pb no qual volumes de 10 µL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 100 a 1000 pg Pb e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência 3246 *Ginkgo Biloba* no intervalo de 0,05 a 1,0 mg que representam um intervalo de 49,8 a 995 pg Pb.

Para Co as curvas foram construídas em meio aquoso utilizando soluções de 2,5 a 50 µg L⁻¹ Co no qual volumes de 10 µL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 25 a 500 pg Co e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência 1573a *Tomato Leaves*, pesando-se massas crescentes no intervalo de 0,05 a 1,0 mg que representam um intervalo de 27 a 540 pg Co.

Para Sn as curvas foram construídas em meio aquoso utilizando soluções de 5 a 40 µg L⁻¹ Sn no qual volumes de 10 µL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 50 a 400 pg Sn e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência

1572 *Citrus Leaves* no intervalo de 0,2 a 1,5 mg que resulta um intervalo em cerca de 48 a 360 pg Sn.

Para Se as curvas foram construídas em meio aquoso utilizando soluções de 10 a 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ Se no qual volumes de 10 μL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 100 a 600 pg Se e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência 1570a *Spinach Leaves* no intervalo de 1,5 a 3,0 mg que resulta um intervalo em cerca de 175,5 a 351 pg Se.

Para As as curvas resposta foram construídas em meio utilizando soluções de 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ As no qual volumes de 10 μL foram adicionados na plataforma resultando em um intervalo de 100 a 1000 pg As e em meio sólido pesando-se massas crescentes do material de referência 1572 *Citrus Leaves* no intervalo de 0,05 a 0,5 mg que resulta um intervalo em cerca de 155 a 1550 pg As.

4.1.6 Avaliação da homogeneidade e da massa mínima representativa

Os estudos sobre as massas mínimas representativas foram feitas com amostras reais de plantas medicinais submetidas a moagem criogênica e moagem com moinho de facas utilizando peneiras de 10, 20 e 30 *mesh*. A massa mínima representativa foi avaliada no intervalo de 0,05 a 1,0 mg, sendo que as massas foram pesadas em sub-intervalos de 0,1 mg e medidas em cinco repetições. A homogeneidade foi estudada em cada um desses intervalos e estabelecida pelo cálculo do fator de homogeneidade proposto por Kurfürst (KURFÜRST, 1998).

4.1.7 Formas de avaliação dos resultados

A exatidão dos procedimentos desenvolvidos foi feita por meio de materias de referência certificados e através da comparação com procedimentos empregando digestão da amostra em sistemas fechados assistidos por radiação micro-ondas e determinados por espectrometria de absorção atômica com fontes de linhas e espectrometria de massas acoplada ao plasma induzido.

A qualidade dos resultados será feita mediante a aplicação de testes estatísticos bem definidos como *teste t* de *Student*. Os principais parâmetros analíticos para cada método desenvolvido, tais como intervalo de trabalho, precisão, exatidão, massa característica e limites de detecção foram estabelecidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização do programa de aquecimento

A otimização do programa de aquecimento constitui uma importante etapa na amostragem direta de sólidos porque a presença da matriz da amostra influencia na formação e intensidade do sinal analítico obtido. Quando se pretende realizar calibração com padrões aquosos, a otimização das temperaturas de pirólise e de atomização é uma etapa crucial no desenvolvimento do método, pois a condição adotada deve possibilitar uma vaporização/atomização eficiente do analito a partir dos meios aquoso e sólido.

A temperatura de pirólise deve ser otimizada de modo que os efeitos causados pela presença da matriz sejam minimizados sem perdas significativas de sinal analítico. A presença da matriz pode proporcionar efeitos de memória e contribuir para o aumento do sinal de fundo. É importante também levar em consideração ainda as interações entre o analito e as espécies químicas (orgânicas e inorgânicas) presentes na matriz, que podem modificar o seu mecanismo de atomização.

Segundo Chakrabarti e colaboradores um analito pode atomizar por quatro tipos de mecanismos em forno de grafite: i) redução de óxidos sólidos sobre a superfície de grafite; ii) decomposição térmica de óxidos sólidos; iii) dissociação de moléculas de óxidos em fase vapor; iv) dissociação de moléculas de haletos em fase vapor (CHAKRABARTI, et al. 1980). Embora bem conhecidos, estes mecanismos são complexos e podem ser influenciados pela presença de outras espécies, principalmente no caso da amostragem direta de sólidos onde há presença de concomitantes em elevadas concentrações.

Em amostragem de sólidos por espectrometria de absorção atômica o uso de modificadores químicos pode auxiliar na diminuição dos efeitos de matriz de três formas: i) aumentando estabilidade térmica do analito através da formação de compostos intermetálicos durante as etapas de pré-tratamento permitindo assim o emprego de temperaturas de pirólise mais elevadas para decomposição da matriz. ii) promovendo a extração do analito para superfície da matriz facilitando assim sua vaporização; iii) favorecendo as reações de redução para espécies formadoras de óxidos, causando diminuição da temperatura de atomização e por consequência do fundo gerado pela volatilização dos constituintes da matriz. (VOLYNSKY, WENNRICH, 2002, VOLYNSKII, 2003).

Neste trabalho as temperaturas de pirólise foram definidas pela maior estabilidade térmica do analito em ambas as matrizes e natureza e nível dos sinais de fundo. As

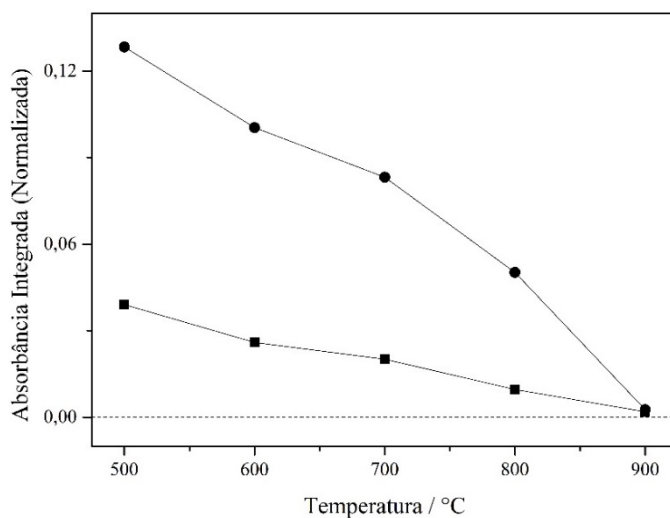
temperaturas de atomização foram estabelecidas conforme o perfil do sinal transiente obtido, repetibilidade e valor da massa característica. A utilização da massa característica como parâmetro de avaliação da influência da matriz é interessante do ponto de vista prático, porque nem sempre é possível trabalhar com massas de analito nos materiais de referência idênticas as das soluções aquosas. Como o valor da massa característica está relacionado diretamente à população do analito livre na nuvem atômica formada durante a atomização, valores numéricos próximos sugerem eficiência de atomização semelhantes para os meios aquoso e sólido.

5.1.1 Comportamento térmico do cádmio

A otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Cd foram feitas utilizando massas entre 0,4 a 0,6 mg do material de referência 1515 *Apple Leaves* (5,2 - 7,8 pg Cd) e 5,2 µL de uma solução 2,5 µg L⁻¹ Cd em 0,1% HNO₃ (v/v) (13 pg Cd). As curvas de pirólise foram construídas de 500 a 1200 °C na ausência de modificador químico, fixando-se preliminarmente a temperatura de atomização em 1800 °C. Os estudos iniciais demonstraram que o Cd é termicamente instável no padrão aquoso e material de referência, pois sinal analítico diminui com o aumento da temperatura (Figura 7).

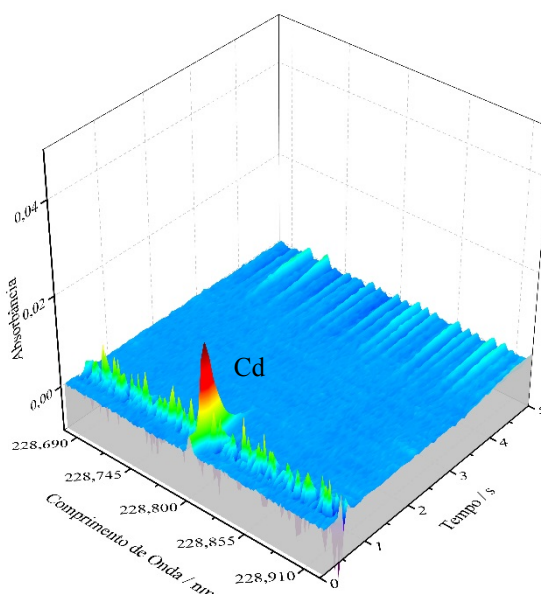
A absorbância integrada normalizada (absorbância integrada/massa da amostra) obtida a partir da análise do material de referência apresentou metade da intensidade do valor obtido por análise da solução de concentração equivalente, o que sugere um acentuado efeito de matriz. A partir do espectro apresentado na Figura 8, observa-se um ruído na linha base que sobrepõe temporalmente o sinal transiente do Cd. Este ruído pode estar relacionado à presença de resíduos carbonáceos resultantes da decomposição incompleta da matriz sólida durante a etapa de pirólise. Embora HR-CS AAS apresente sistemas de correção que permitem corrigir eventos contínuos como espalhamento da radiação, estudos tem mostrado que quando há uma quantidade acentuada de partículas sólidas no atomizador há o aparecimento de ruídos na linha base nos primeiros segundos de leitura (SILVA et al., 2005)

Figura 7 - Curvas de pirólise para Cd na ausência de modificadores químicos referentes a 13 pg Cd em meio aquoso (●) e 5,2 - 7,8 pg Cd no material de referência 1515 *Apple Leaves* (■)



Fonte: Autor

Figura 8 - Espectro de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 *Apple Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e atomização fixadas em 500 e 1800 °C, respectivamente

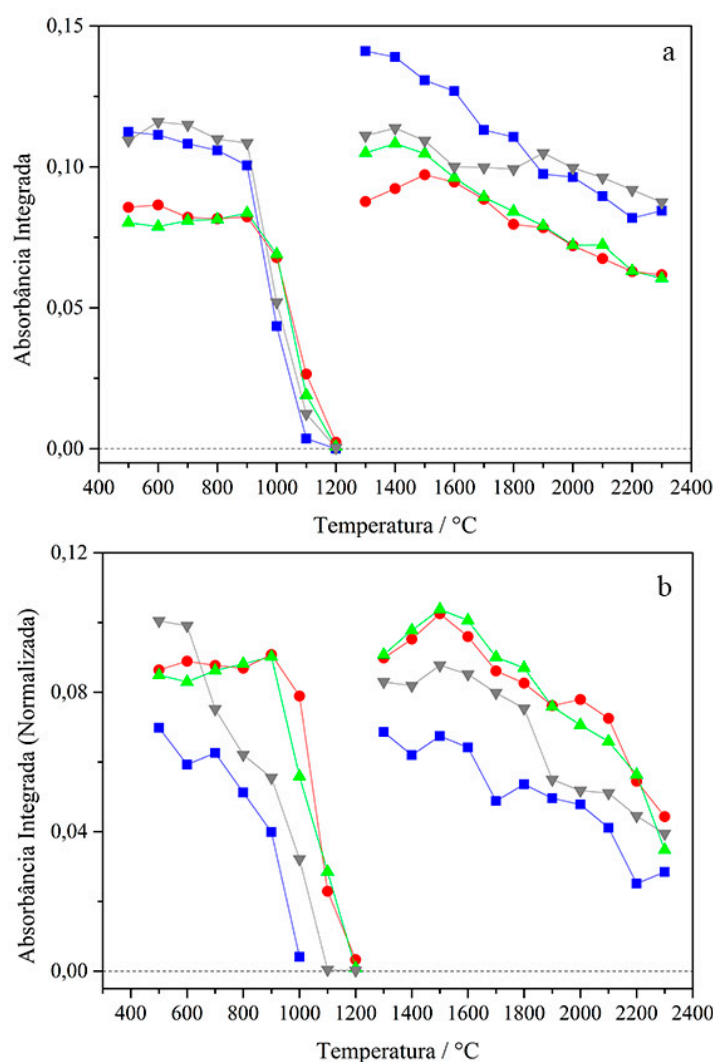


Fonte: Autor

Os sinais de fundo observados em decorrência da decomposição incompleta da matriz sólida, demonstram a necessidade de temperaturas de pirólise mais elevadas. Neste sentido, o comportamento térmico do Cd foi avaliado em presença de diferentes modificadores

químicos: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificadores convencionais e Ru e W termicamente depositados nas plataformas de grafite (Figura 9).

Figura 9 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 13 pg Cd em meio aquoso (a) e 5,2 - 7,8 pg Cd no material de referência 1515 *Apple Leaves* (b) empregando 200 μg W (■), 400 μg Ru (▼), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (●) e 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 2,5 \mu\text{g}$ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (▲)



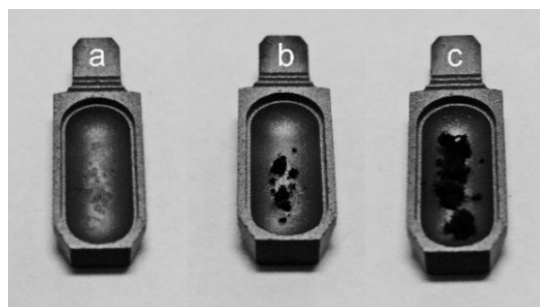
Fonte: Autor

Empregando-se a plataforma termicamente modificada com 400 μg Ru o Cd foi termicamente estável até 900 °C em meio aquoso. No entanto, o comportamento não se repetiu com o Cd presente na matriz sólida, cuja estabilidade térmica foi observada até 700 °C. Utilizando a plataforma termicamente modificada com 200 μg W, o Cd foi termicamente estável até 700 °C na matriz sólida e até 900 °C em meio aquoso. A diferença de comportamento térmico do analito observada nas diferentes matrizes (aquosa e sólida) quando

modificadores permanentes são empregados pode ser explicada pela interação mais efetiva entre o analito em solução aquosa e o modificador termicamente depositado na superfície da plataforma. O cádmio é um elemento muito volátil e pode estar sendo perdido durante as etapas de pré-tratamento antes de migrar para plataforma durante a fase condensada, diminuindo a formação de compostos intermetálicos mais estáveis. O emprego de 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, ou 5 µg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 µg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ como modificadores convencionais resultaram em um aumento da estabilidade térmica do Cd até 900°C (Figura 9) em ambos os meios aquoso e sólido, o que sugere que os efeitos provocados pela presença da matriz ou dos seus componentes foram minimizadas com o uso destes modificadores químicos.

O aumento da estabilidade térmica do Cd, proporcionado pela ação dos modificadores químicos, permitiu que temperaturas de pirólise de até 900°C fossem estabelecidas. No entanto, esta temperatura não foi suficiente para decompor totalmente a matriz sólida, de modo que após cada medida observou-se o acúmulo de resíduos sólidos sobre a plataforma (Figura 10) e consequentemente o aparecimento de sinais fundo. Aumentando-se o tempo de pirólise em até 30 s não houve diminuição do resíduo remanescente após a medida, contudo ocorreu acentuada perda de intensidade do sinal analítico (40%).

Figura 10 - Plataformas de amostragem direta de sólidos: a) antes da medida; b) após um ciclo de aquecimento; c) após 10 ciclos de aquecimento



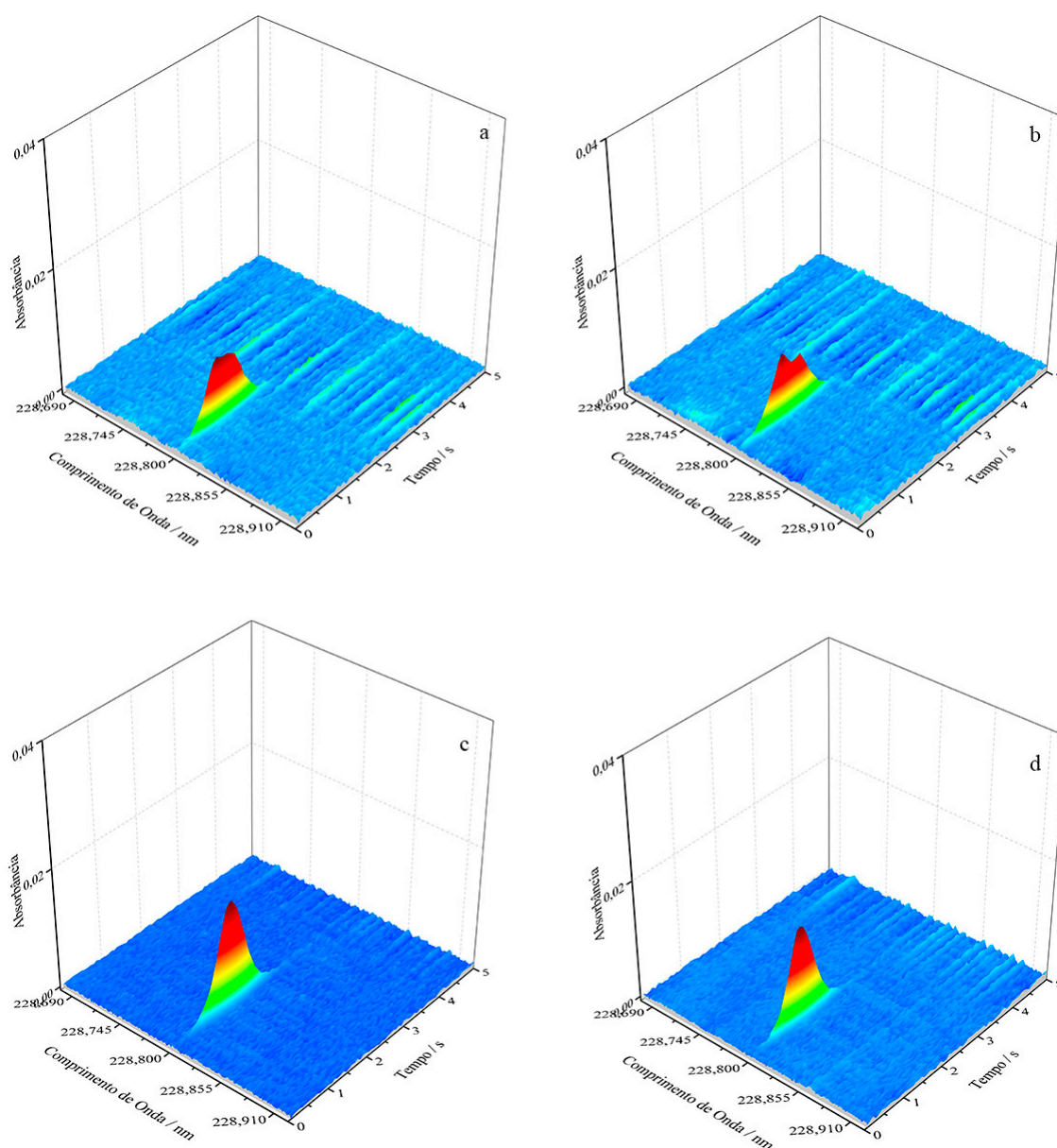
Fonte: Autor

Apesar dos resíduos sólidos poderem ser removidos manualmente com cotonetes ou pincéis, esta prática não é recomendada em análise de rotina. Alguns autores propõem como alternativa para auxiliar a decomposição da matriz o uso de peróxido de hidrogênio (CAMPILLO et al, 2000). Neste trabalho, objetivando simplicidade operacional, optou-se por avaliar uma etapa adicional de pirólise assistida por ar a 600°C para decompor a matriz. Tempos de permanência de até 120 s foram estudados, sendo 30 s suficientes para decompor completamente a matriz e eliminar o sinal de fundo decorrente da presença dos resíduos

carbonáceos, sem perdas de sensibilidade. Mesmo esta etapa sendo suficiente para remoção completa da matriz, observou-se a necessidade da permanência de uma segunda etapa de pirólise em atmosfera de argônio. Esta segunda etapa foi fundamental para o aparecimento de sinais analíticos mais estáveis e repetitivos, o que provavelmente estava relacionado com a formação dos precursores atômicos.

Estabelecidas as temperaturas de pirólise, avaliou-se as temperaturas de atomização entre 1300 e 2300 °C. Os sinais transientes de Cd obtidos a partir das matrizes sólidas e aquosas em presença de 200 µg W ou 400 µg Ru apresentaram perfis estreitos (duração de 3 s) já a partir de 1500°C de atomização. Observou-se também o aparecimento de alguns sinais de fundo no espectro de 1515 *Apple Leaves*, todavia temporalmente defasados do sinal transiente do Cd (Figuras 11a e 11b). Os valores das massas características calculadas para o Cd em meio as diferentes matrizes, com diferentes temperaturas de atomização, mostram que em presença W a massa característica sempre é menor em meio aquoso. Situação semelhante foi observada na presença do modificador Ru. Isto sugere pelo menos duas hipóteses, a primeira está relacionada ao efeito supressor provocado por algum constituinte da matriz, e a segunda na dificuldade de interação do Cd ocluído na matriz da amostra com modificador termicamente depositado na plataforma, o que leva a perdas durante a etapa de pirólise. O sinal analítico do Cd apresentou-se repetitivo e com perfil estreito na presença de 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 2,5 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$ a partir de 1400 °C e com massas características similares em ambos os meios em 1600°C de atomização (Figuras 11c e 11d), o que sugere que esta seja a temperatura mais favorável para atomização do Cd na presença destes modificadores químicos no padrão aquoso e na matriz sólida. Observou-se também que a adição do modificador $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ misturado ao $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ não influenciou de maneira significativa o comportamento térmico do Cd, o que pode estar relacionado com a presença natural deste elemento no material de referência.

Figura 11 - Espectros de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 *Apple Leaves* em presença de: a) 200 μg W, b) 400 μg Ru, c) 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, d) 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

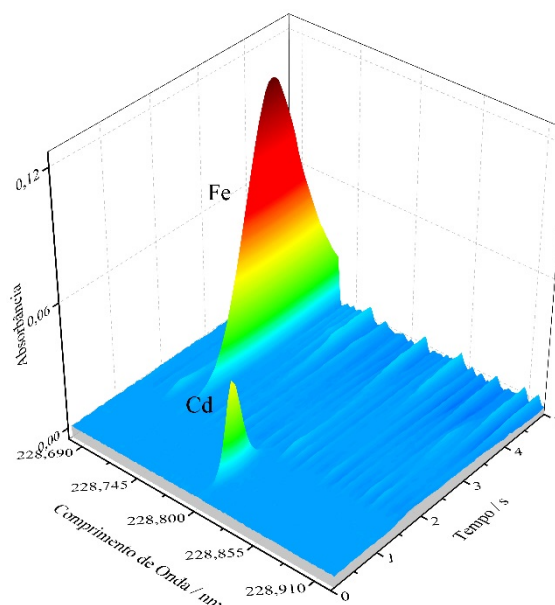


Fonte: Autor

Em temperaturas de atomização acima de 2100 °C observou-se o aparecimento de um sinal de Fe devido à presença uma linha secundária em 228,730 nm (Figura12). Embora não houvesse sobreposição espectral no sinal transiente do Cd, o aparecimento do sinal de Fe provocou uma supressão na atomização do Cd. Contudo, as temperaturas otimizadas em cada condição foram < 2000 °C e não favorecem o aparecimento do sinal do Fe. As temperaturas de pirólise, de atomização e massa característica e desvio padrão para cada condição são mostrados na Tabela 11. Vale destacar aqui que tais condições foram estabelecidas visando à

calibração em meio aquoso e, portanto foi preciso considerar o comportamento do analito nos dois meios.

Figura 12 - Espectro de absorção atômica do Cd no material de referência 1515 *Apple Leaves* com 900°C de pirólise e 2300°C de atomização em presença de 5 µg de Pd(NO₃)₂



Fonte: Autor

Tabela 11 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_o) e desvio padrão relativo (RSD) para Cd nos diferentes modificadores testados

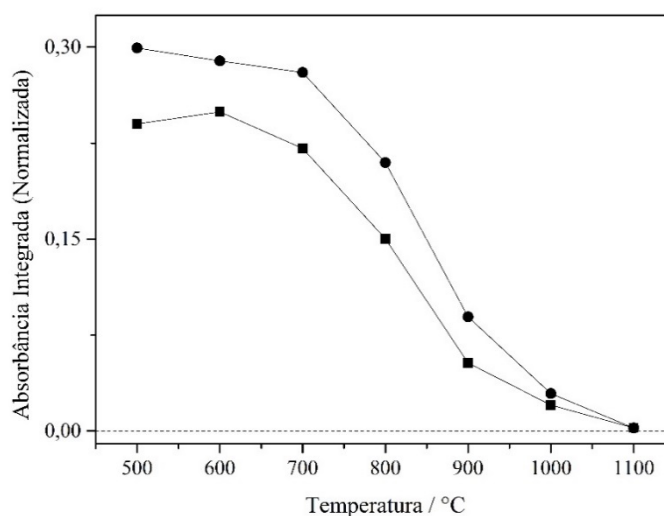
Matriz	T _p (°C)	T _a (°C)	m_o (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Cd 13 pg	500	1800	1,0	7,0	Não
1515 <i>Apple Leaves</i>	500	1800	1,4	21,3	Sim
200 µg W					
Solução Cd 13 pg	800	1600	0,45	3,7	Não
1515 <i>Apple Leaves</i>	800	1600	0,89	8,3	Não
400 µg Ru					
Solução Cd 13 pg	600	1600	0,57	4,1	Não
1515 <i>Apple Leaves</i>	600	1600	0,67	10,8	Não
5 µg Pd(NO ₃) ₂					
Solução Cd 13 pg	900	1600	0,56	1,3	Não
1515 <i>Apple Leaves</i>	900	1600	0,60	6,9	Não
5 µg Pd(NO ₃) ₂ + 2,5 µg Mg(NO ₃) ₂					
Solução Cd 13 pg	900	1600	0,52	1,1	Não
1515 <i>Apple Leaves</i>	900	1600	0,55	4,7	Não

Fonte: Autor

5.1.2 Comportamento térmico do chumbo

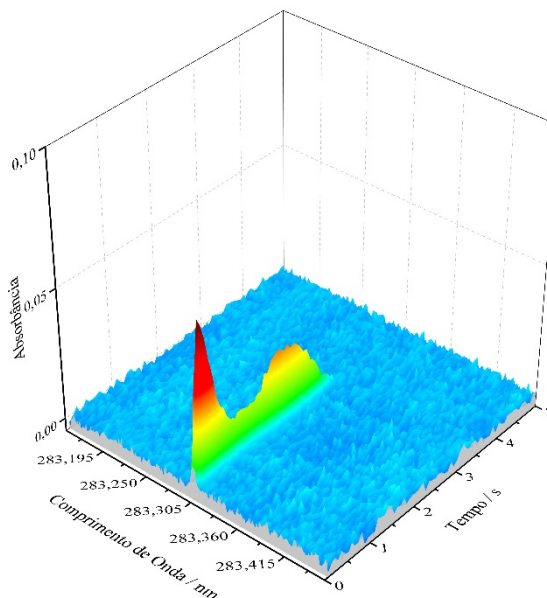
A otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Pb foram feitas utilizando massas entre 0,4 e 0,6 mg do material de referência certificado 1515 *Apple Leaves* (188 - 282 pg Pb) e 4,7 μL de uma solução padrão 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb em 0,1% HNO_3 (v/v) (470 pg Pb). As curvas de pirólise foram construídas de 500 a 1600°C sem modificador químico e com temperatura de atomização fixadas em 2000°C. Os experimentos iniciais mostraram que o Pb é termicamente estável até cerca de 700 °C (Figura 13) em ambos os meios aquoso e sólido. Nesta condição, foram observados sinais transientes bem definidos e de curta duração em meio aquoso. Entretanto, em meio sólido foram observados sinais transientes duplos de menor intensidade (30%) evidenciando forte efeito de matriz (Figura 14). Além disso, resíduos carbonáceos provenientes da decomposição incompleta da matriz foram observados.

Figura 13 - Curvas de pirólise para Pb na ausência de modificadores químicos referentes a 470 pg Pb em meio aquoso (●) e 188 - 282 pg Pb no material de referência 1515 *Apple Leaves* (■)



Fonte: Autor

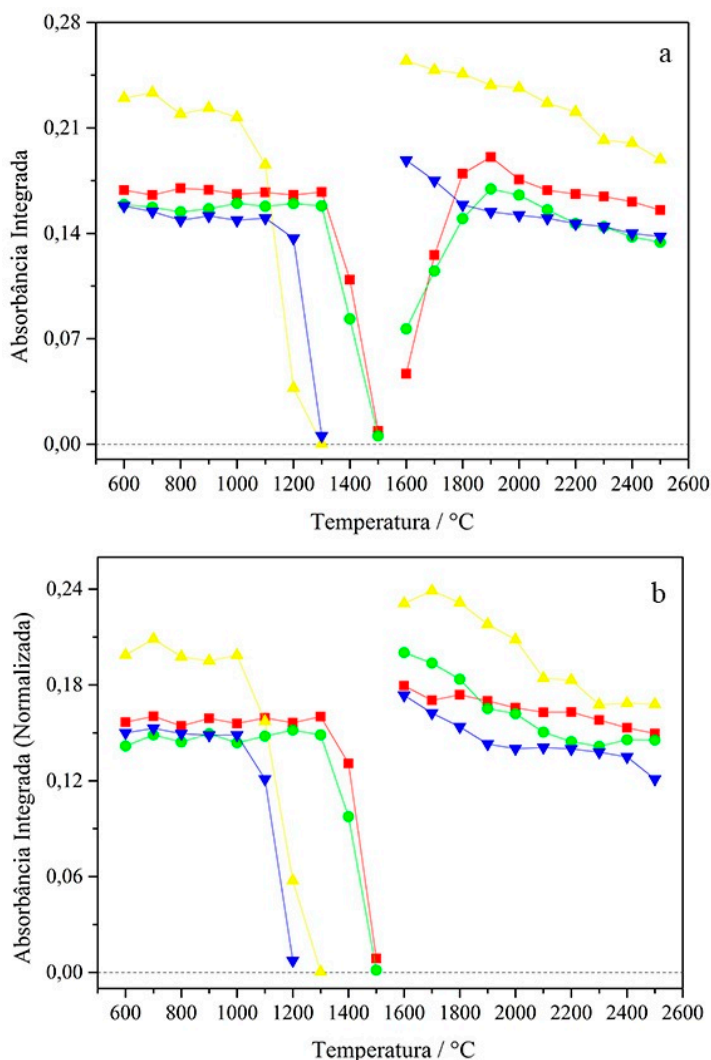
Figura 14 - Espectro de absorção atômica do Pb no material referência 1515 *Apple Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 700 e 2000°C, respectivamente



Fonte: Autor

Visando minimizar os efeitos de matriz observados na atomização do analito durante a análise do material de referência, bem como diminuir a formação de resíduos carbonáceos, o comportamento térmico do Pb foi avaliado na presença dos seguintes modificadores químicos: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (convencionais) e W (permanente) (Figura 15). Na presença de 200 μg W termicamente depositado na plataforma, o Pb permaneceu termicamente estável até 900°C (meio sólido) e 1100 °C (solução), sugerindo que o Pb interage melhor com modificador permanente na fase aquosa (solução) ou que a matriz pode estar contribuindo para formação de compostos de Pb mais voláteis. O Emprego de 50 μg de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ promoveu estabilidade até 1000 °C em ambos os meios. É interessante destacar aqui que na presença deste modificador os sinais de Pb são mais intensos, sugerindo que ambos os meios são favoráveis a formação da espécie intermediária $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$ responsável pelo aumento da estabilidade e posterior atomização. O emprego de 5 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou de 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 2,5 \mu\text{g}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ permitiu estender a pirólise até 1300°C em ambos os meios.

Figura 15 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 470 pg Pb em meio aquoso (a) e 188 - 282 pg Pb no material de referência 1515 *Apple Leaves* (b) empregando 200 μg W ($\blacktriangledown$), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ($\blacksquare$), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ($\bullet$) e 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ($\blacktriangle$)



Fonte: Autor

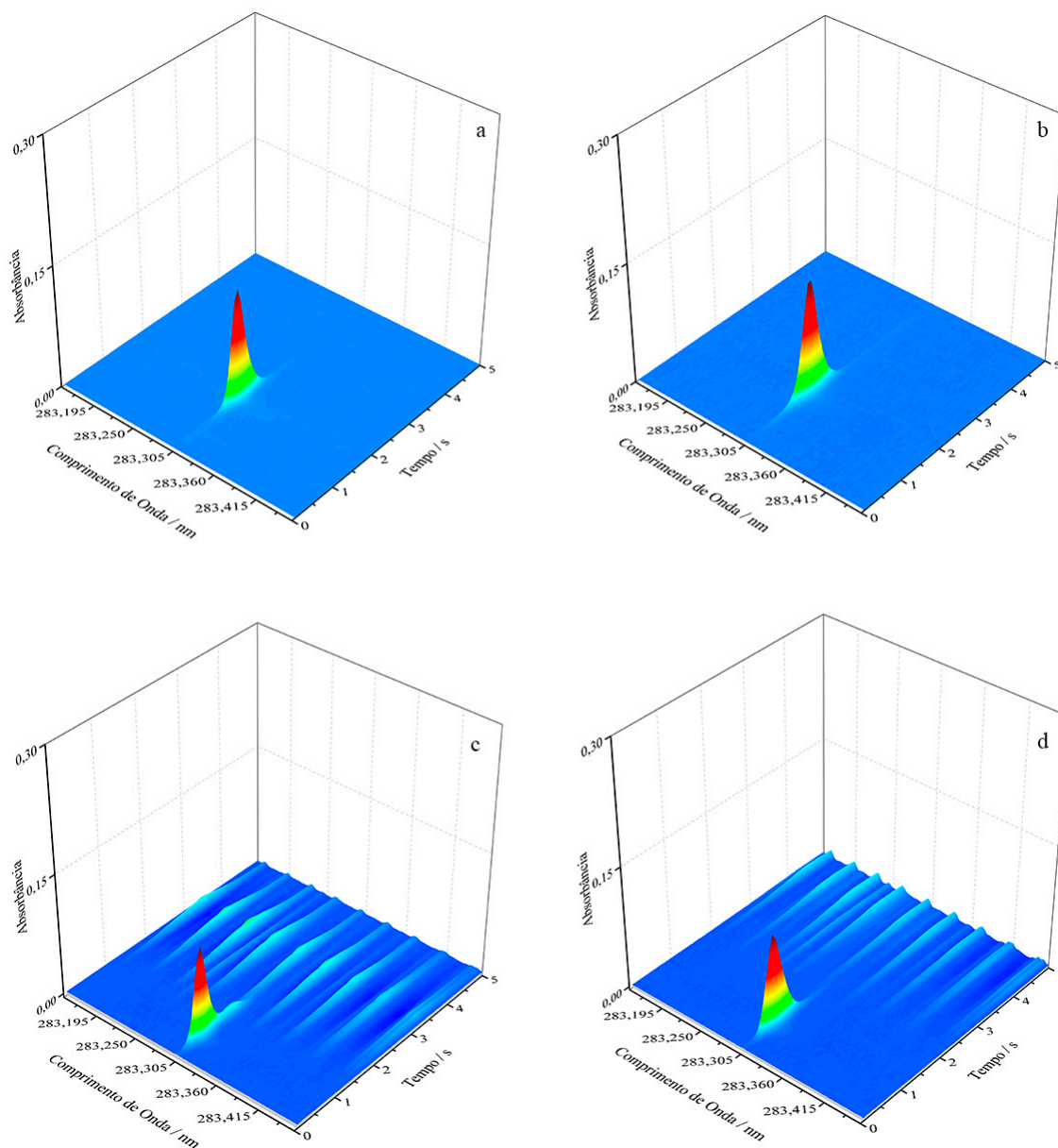
Mesmo com temperaturas de pirólise por volta de 1300 °C, obtidas empregando os modificadores químicos $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Pd}/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, observou-se o acúmulo de resíduos carbonáceos na plataforma após alguns ciclos de leitura. O aumento do tempo de permanência de pirólise até 50 s proporcionou remoção parcial do resíduo sólido, porém acompanhado de acentuada diminuição no sinal do analito, que na presença do modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ chegou a ser 60% com 40 s de pirólise. Ainda assim, após cerca de cinco ciclos de medida era necessário a limpeza manual (cotonete) da plataforma devido ao aparecimento do fundo. Deste modo, optou-se por adicionar uma etapa de pirólise assistida com ar a uma temperatura

de 600 °C durante 30 segundos. Devido à eficiência e praticidade, esta etapa foi adotada definitivamente no programa geral do forno de grafite.

Com as temperaturas de pirólise otimizadas para cada modificador, a temperatura de atomização foi estudada de 1600 a 2500 ° C (Figura 15). Utilizando a plataforma termicamente modificada com 200 µg W ou empregando 50 µg de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ em plataforma não modificada observou-se sinais transientes estreitos (duração de 3 s) a partir de 1500°C de atomização, sem sinais de fundo (Figuras 16a e 16b) e dentro das condições de compromisso pré-estabelecidas anteriormente, as melhores temperaturas de atomização foram 1700 e 1800 °C, respectivamente. Empregando 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 2,5 \mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$ os sinais transientes de Pb obtidos em temperaturas de atomização < 2000°C foram pouco repetitivos e apresentaram perfil alargado em meio aquoso, requerendo tempos de atomização de até 10 s. Contudo, os sinais obtidos a partir dos materiais de referência apresentaram perfis estreitos e repetitivos já a partir de 1800°C. Assim, na presença destes dois modificadores as melhores condições para atomização foram em 2200 °C (Figuras 16c e 16d).

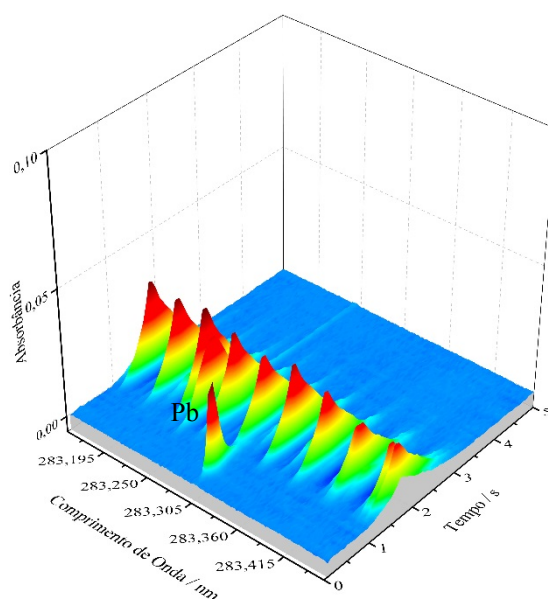
Durante a otimização das temperaturas de atomização observou-se o aparecimento de sinais de fundo característicos de estruturas rotacionais finas de moléculas diatômicas de SiO a partir de 2100 °C, tornando-se mais pronunciado com o aumento da temperatura de atomização chegando a sobrepor o sinal transiente do Pb em 2400 °C (Figura 17). Entretanto, nas condições otimizadas o sinal aparece temporalmente defasado, podendo ser separado diminuindo o tempo de atomização. As temperaturas de pirólise, de atomização e massa característica e desvio padrão otimizados em cada condição encontram-se resumidos na Tabela 12.

Figura 16 - Espectros de absorção atômica do Pb no material de referência 1515 *Apple Leaves* em presença de: a) 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, b) 200 μg W, c) 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, d) 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$



Fonte: Autor

Figura 17 - Espectro de absorção atômica do Pb no material referência 1515 *Apple Leaves* empregando 1300°C de pirólise e 2500°C de atomização em presença de 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$



Fonte: Autor

Tabela 12 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Pb nos diferentes modificadores testados

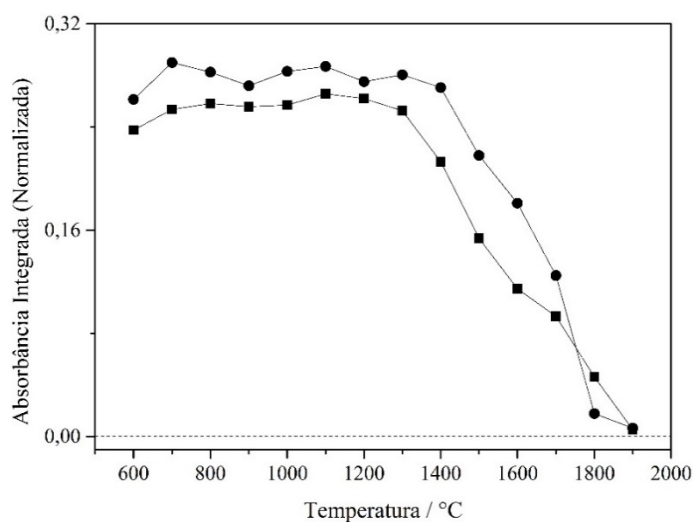
Matriz	T_p (°C)	T_a (°C)	m_0 (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Pb 470 pg	700	2000	16,2	5,8	Não
1515 Apple Leaves	700	2000	19,3	15,5	Sim
50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$					
Solução Pb 470 pg	1000	1800	8,9	3,3	Não
1515 Apple Leaves	1000	1800	10,1	8,2	Não
200 μg W					
Solução Pb 470 pg	900	1700	13,4	3,9	Não
1515 Apple Leaves	900	1700	15,3	14,9	Não
5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$					
Solução Pb 470 pg	1300	2200	12,7	2,1	Não
1515 Apple Leaves	1300	2200	12,2	5,3	Sim
5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$					
Solução Pb 470 pg	1300	2200	14,8	3,6	Não
1515 Apple Leaves	1300	2200	14,2	7,5	Sim

Fonte: Autor

5.1.3 Comportamento térmico do cobalto

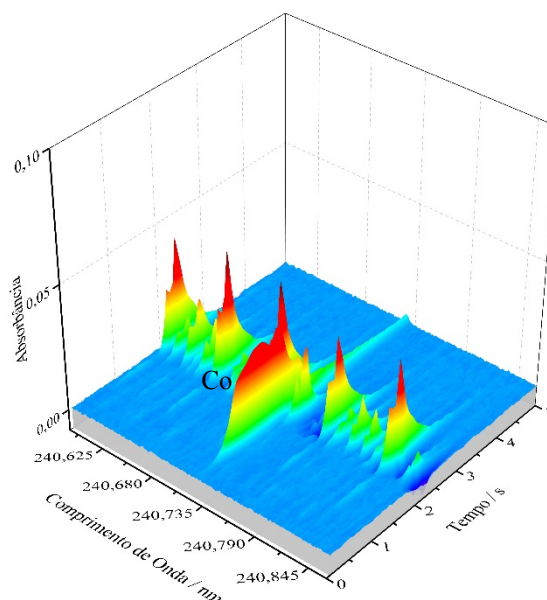
A otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Co foram feitas utilizando massas no intervalo de 0,4 a 0,6 mg do material de referência 1570a *Spinach Leaves* (156 - 239 pg Co) e 7,8 μL de uma solução padrão de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Co em 0,1% HNO_3 (v/v) (390 pg Co). As curvas de pirólise foram construídas no intervalo entre 600 e 1900°C na ausência de modificador químico e com atomização em 2400°C. Os estudos preliminares mostraram que o Co é estável até cerca de 1200 °C (solução) e 1400 °C (sólido), sugerindo que algum componente da matriz confere estabilidade adicional ao Co presente no material de referência (Figura 18). O emprego da pirólise assistida com ar a 600 °C durante 30 s eliminou a matriz por completo durante a etapa de pirólise e assim não foram observados sinais de fundo em consequência de resíduos carbonáceos. Ainda assim, foi observado aparecimento de fundo estruturado possivelmente atribuído a moléculas diatômicas (Figura 19).

Figura 18 - Curvas de pirólise para Co na ausência de modificadores químicos referentes a 390 pg Co em meio aquoso (■) e 156 - 239 pg Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (●)



Fonte: Autor

Figura 19 - Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 1200 e 2300°C, respectivamente

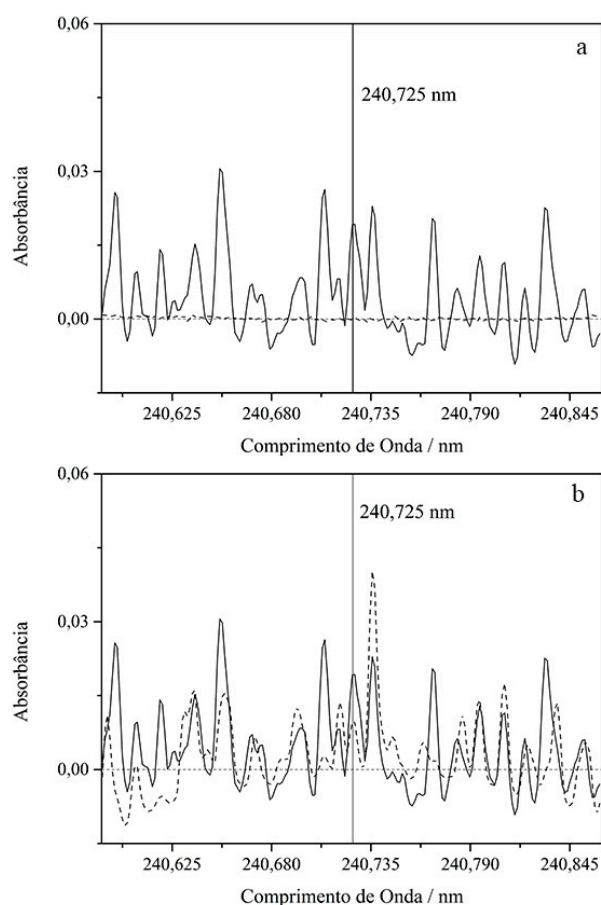


Fonte: Autor

A maior parte das interferências espectrais provocadas por estruturas diatômicas já são bem descritas na literatura (PEARSE, GAYDON, 1976; RIBEIRO et al., 2005). A região espectral do Co que compreende o intervalo de 240,586 a 240,863 nm pode apresentar sinais característicos dos sistemas diatômicos SiO ($A^1\pi - X^1\Sigma^+$) e PO ($A^2\Sigma^+ - X^2\pi$). Além disso, alguns analitos podem apresentar linhas atômicas nessa região e dependendo da concentração podem interferir.

A presença dos sinais de fundo estruturado pode provocar aumento aparente da absorção, sub e sobrecorreções na linha base do espectro e, portanto deve ser corrigido. Assim, os estudos iniciais foram conduzidos visando a identificação das espécies moleculares que causam fundo utilizando 5 μL de uma solução 10 g L^{-1} de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e dióxido de silício (SiO_2) para gerar espectros de moléculas diatômicas de PO e SiO, respectivamente, no qual foi observado fundo estruturado apenas na presença de dióxido de silício (Figura 20). Observa-se na figura 20b que o espectro da molécula diatômica SiO sobrepõe praticamente todo o espectro obtido pela análise do material de referência, sobretudo nos pixels onde está o sinal transiente do Co.

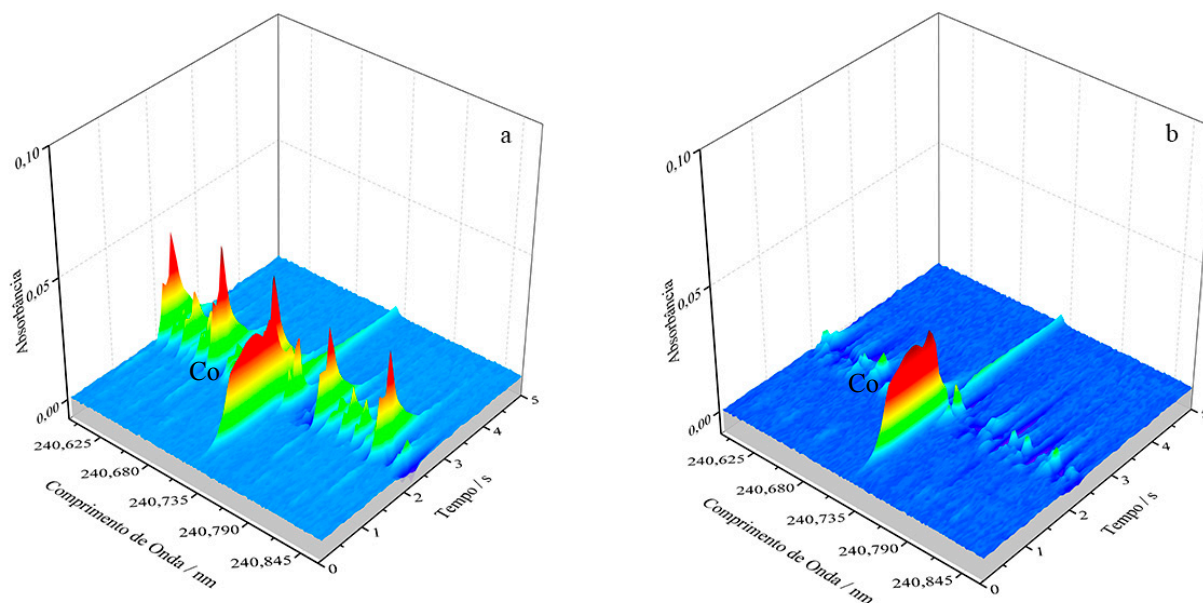
Figura 20 - Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (---), b) SiO_2 (---)



Fonte: Autor

A espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução possui um algoritmo matemático para correção de fundo por mínimos quadrados - *Least Square Background Correction* (LSBC) específico para correção de eventos não contínuos. O princípio da correção envolve o uso de um espectro de referência gerado a partir de um sal ou uma substância que contenha o interferente. O espectro é então armazenado em um banco de dados e subtraído utilizando o algoritmo dos mínimos quadrados (Figura 21). Deste modo, a correção por LSBC foi aplicada para corrigir sinais de SiO utilizando um espectro produzido a partir de dióxido de silício (SiO_2). Vale ressaltar que os espectros de referência utilizados para correção devem ser gerados nas mesmas condições da medida do espectro que se deseja corrigir, ou seja, com as mesmas temperaturas de pirólise e atomização e modificador químico quando necessário.

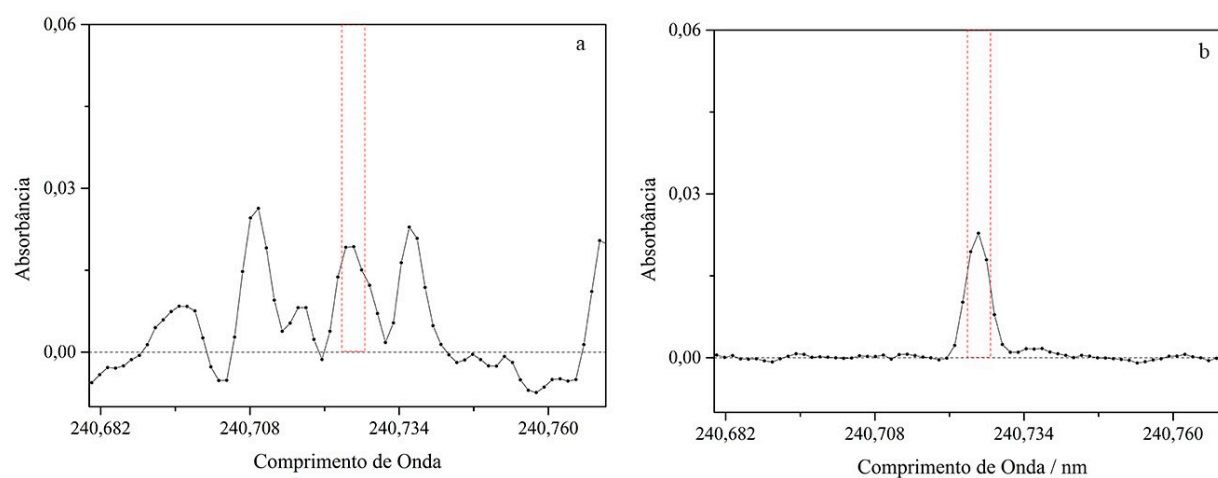
Figura 21 - Espectro de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* sem modificador químico: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)



Fonte: Autor

Após a aplicação do LSBC (Figura 21b) observa-se a presença de alguns sinais de fundo de baixa intensidade adjacentes ao sinal transiente de Co. No entanto, apesar de estarem no mesmo espaço temporal, não há sobreposição nos pixels utilizados na medida do sinal do Co e portanto não interferem (Figura 22).

Figura 22 - Espectro de absorção atômica (pixels) do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* sem modificador químico a) sem correção, b) após correção com LSBC (SiO)

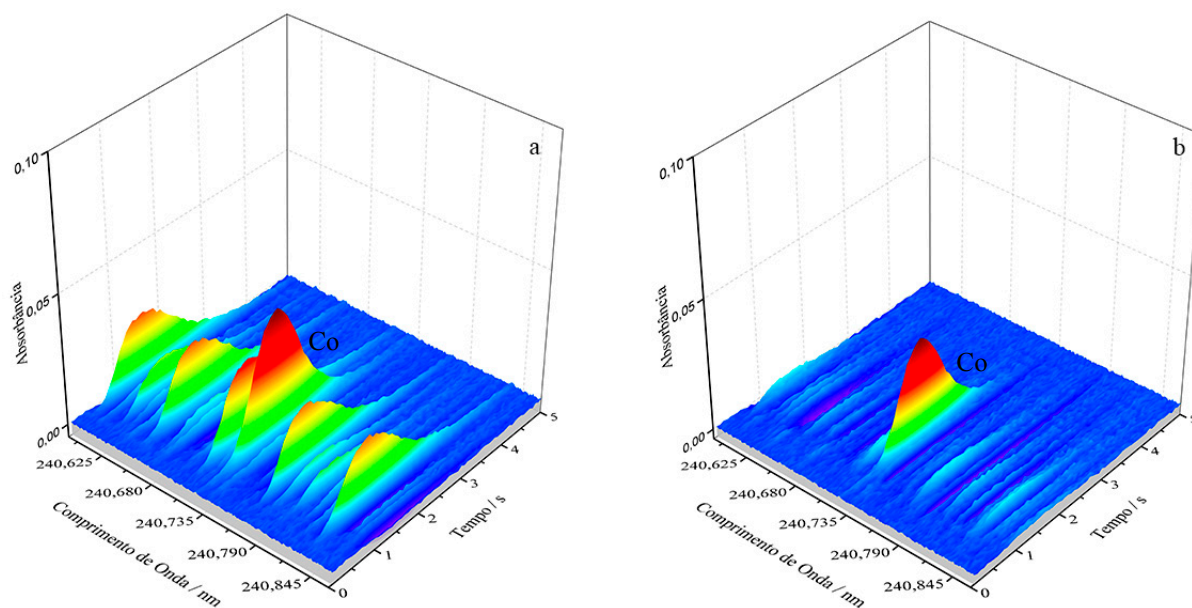


Fonte: Autor

Os sinais de fundo remanescentes podem ser provocados por outras moléculas diatômicas como NO, SO e CS. Para avaliar possíveis interferências espectrais provocadas por estas espécies, fez-se um estudo utilizando soluções de HNO_3 5% (v/v) e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 10 g L^{-1} para gerar sinais de fundo característicos destas moléculas. Contudo, não foi observado nenhum sinal de fundo decorrente da presença destas espécies sugerindo que os sinais de fundo remanescentes podem ser atribuídos a possíveis falhas do modelo matemático empregado na correção por LSBC. Uma provável hipótese para esta falha se baseia no fato dos espectros referência utilizados para correção serem gerados a partir de soluções aquosas sem a presença de qualquer outro constituinte, portanto são sinais “puros” do fundo. Apesar do espectro referência ser gerado nas mesmas condições que o espectro da amostra, os concomitantes presentes na matriz podem influenciar no perfil dos sinais de fundo e assim o espectro de uma molécula diatômica pode apresentar diferentes perfis dependendo do meio. Como a correção por LSBC é feita pixel a pixel, qualquer diferença entre o espectro da amostra e o espectro referência pode resultar em uma correção ineficiente. Entretanto, deve-se enfatizar que a eficiência da correção por LSBC deve ser suficiente para eliminar ou minimizar as interferências espectrais nos pixels referentes ao sinal do analito.

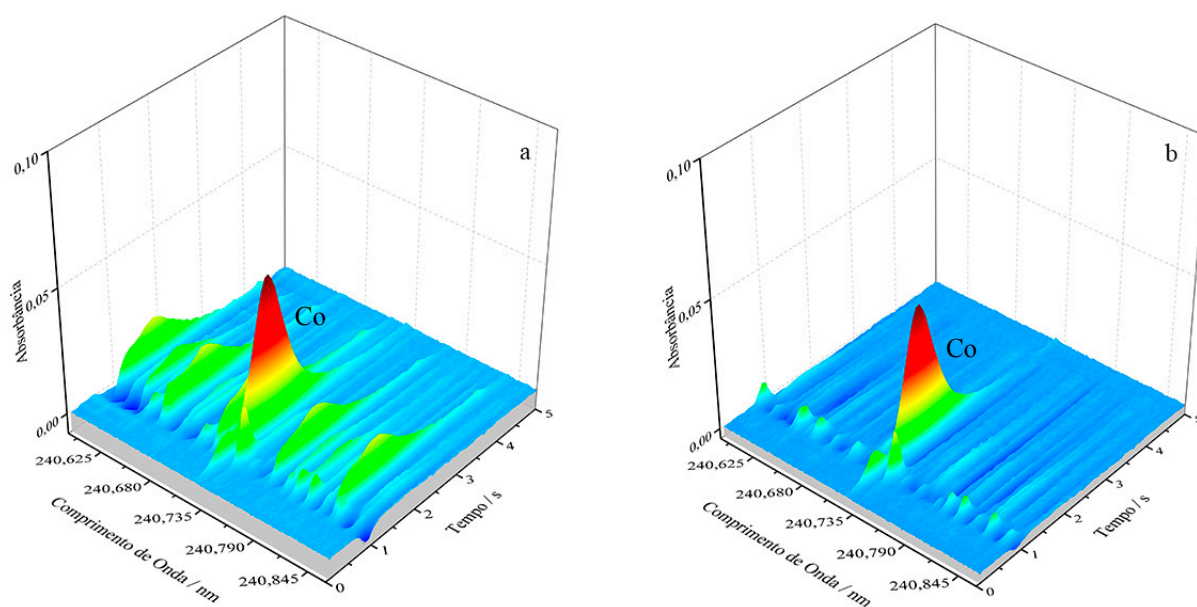
Com o propósito de minimizar os efeitos de matriz, o comportamento térmico do Co foi avaliado empregando diferentes modificadores químicos: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (convencionais) Rh e W (permanentes). Na presença dos modificadores químicos foi observado o sinal de fundo provocado por moléculas diatômicas de SiO, mas que foram corrigidos empregando o algoritmo de correção por LSBC (Figuras 23, 24, 25 e 26). Vale destacar que é recomendável que a correção seja feita durante a avaliação das temperaturas de pirólise e atomização, uma vez que a presença do fundo pode dificultar a avaliação do comportamento térmico do analito e consequentemente a otimização do programa de temperatura.

Figura 23 - Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* na presença de 5 μg Pd: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)



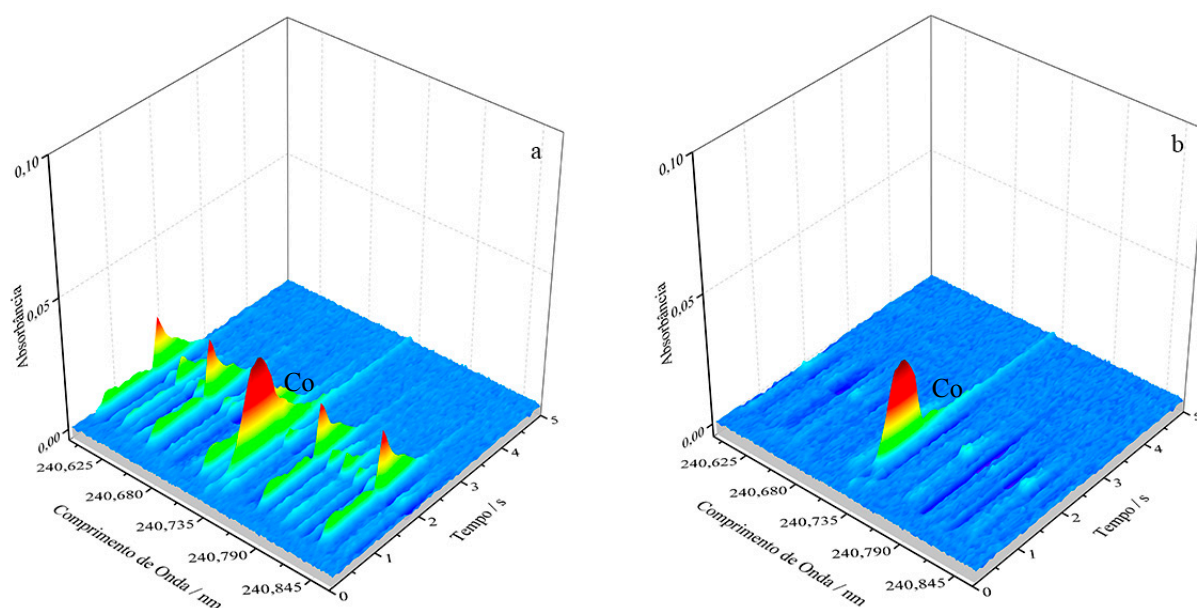
Fonte: Autor

Figura 24 - Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* na presença de 5 μg Mg: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)



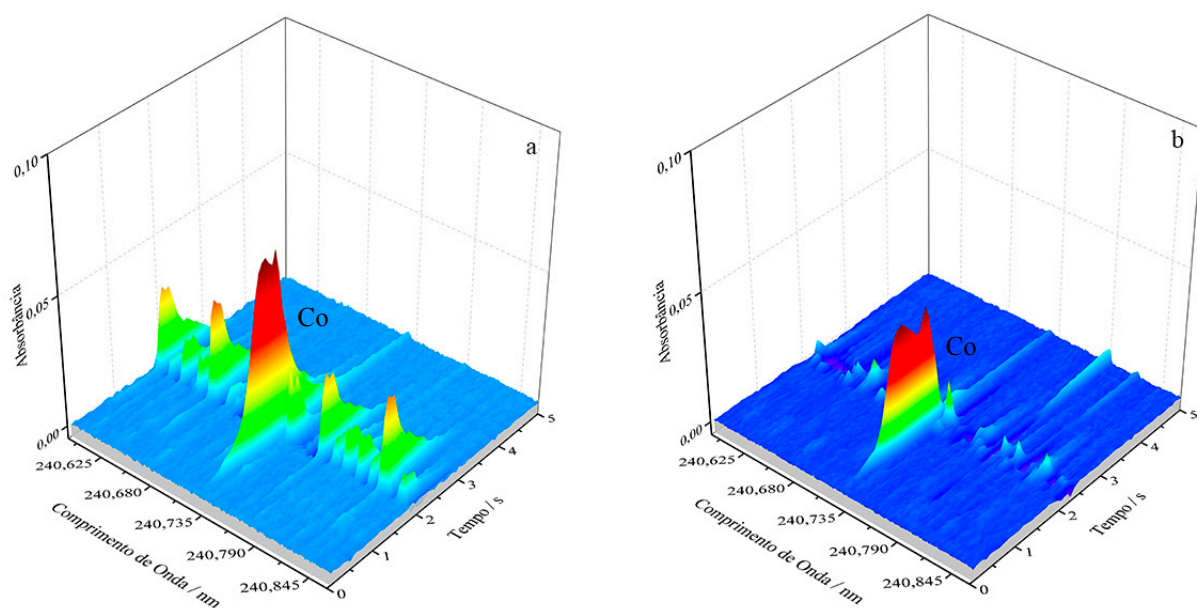
Fonte: Autor

Figura 25 - Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* na presença de 200 $\mu\text{g W}$: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)



Fonte: Autor

Figura 26 - Espectros de absorção atômica do Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* na presença de 400 $\mu\text{g Rh}$: a) sem correção, b) correção com LSBC (SiO)



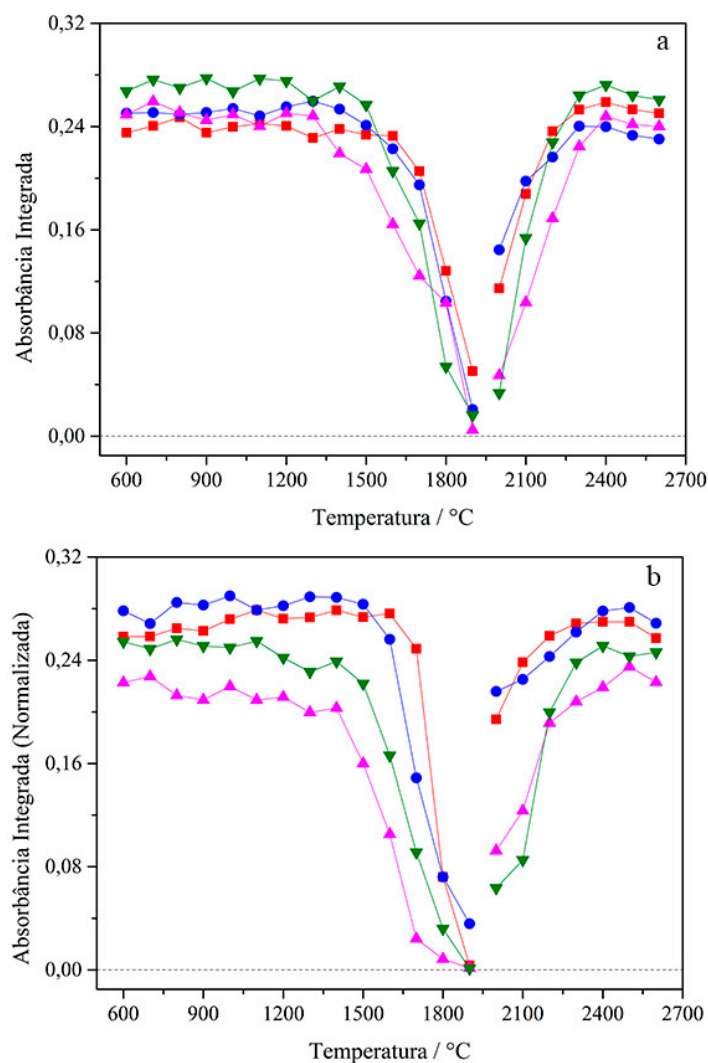
Fonte: Autor

Empregando o modificador químico Rh, além dos sinais de fundo provenientes da correção ineficiente do fundo por LSBC, observa-se o aparecimento de sinais de Rh a partir de 4 s de leitura em 240,788 e 240,819 nm, evidenciando uma possível evaporação do metal da plataforma. Além disso, picos duplos são observados sugerindo que o analito possa estar atomizando em mais de uma etapa (Figura 26b).

A Figura 27 ilustra o comportamento térmico do Co na presença dos diferentes modificadores químicos. Em presença das plataformas termicamente modificadas com 200 µg W e 400 µg Rh o Co foi termicamente estável até 1500°C e 1400°C, respectivamente em ambas as matrizes. Empregando 5 µg de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ houve aumento da estabilidade do Co até 1400°C apenas em meio aquoso, que pode estar relacionado a presença natural do Mg nas amostras. Utilizando 5 µg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ o Co é termicamente estável até 1600°C e 1500 °C no meios aquoso e sólido, respectivamente, indicando que o maior contato do modificador com o analito em meio aquoso favorece a interação analito-modificador proporcionando uma estabilidade térmica adicional ao Co ou mesmo que algum componente da matriz esteja contribuindo para o aumento da volatilidade do Co.

As temperaturas de atomização foram avaliadas entre 2000 a 2600 °C. Os sinais transientes apresentaram perfis estreitos, mais repetitivos e com duração de cerca de 4 s já a partir de 2200 °C na presença de todos os modificadores químicos. A partir da avaliação das massas características observou-se que as condições mais favoráveis para atomização do analito em ambas as matrizes foi 2300 °C na ausência de modificadores químicos e na presença de 200 µg W. Com a plataforma termicamente modificada com 400 µg Rh e também na presença de 5 µg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ a temperatura de atomização foi 2400 °C. Utilizando 5 µg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ a melhor temperatura de atomização observada foi 2500 °C.

Figura 27 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 390 pg Co em meio aquoso (a) e 156 - 239 pg Co no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (b) empregando 200 μg W (●), 5 μg Pd(NO₃)₂ (■), 5 μg Mg(NO₃)₂ (▲) e 200 μg Rh (▼)



Fonte: Autor

A Tabela 13 mostra um resumo das temperaturas de pirólise, de atomização e massa característica e desvio padrão para o Co obtidas em cada condição.

Tabela 13 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_o) e desvio padrão relativo (RSD) para Co nos diferentes modificadores testados

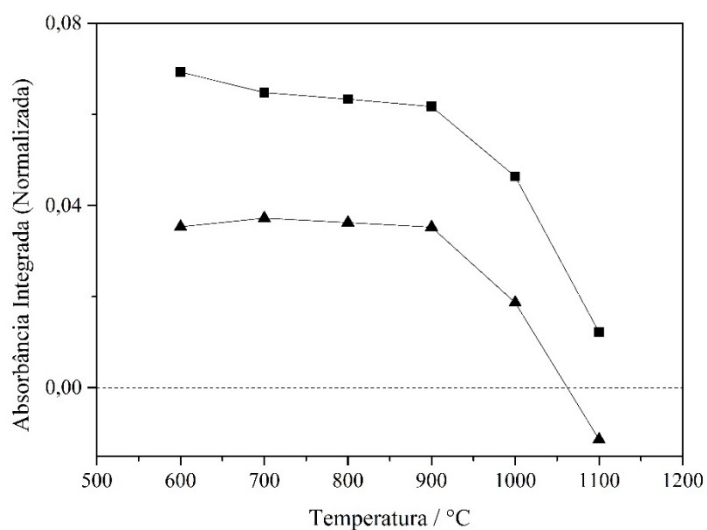
Matriz	T _p (°C)	T _a (°C)	m_o (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Co 390 pg	1200	2300	6,1	4,7	Não
1570a <i>Spinach Leaves</i>	1400	2300	6,4	18,3	SiO
200 µg W					
Solução Co 390 pg	1500	2300	6,6	4,2	Não
1570a <i>Spinach Leaves</i>	1500	2300	7,1	11,4	SiO
400 µg Rh					
Solução Co 390 pg	1400	2400	6,8	5,9	Não
1570a <i>Spinach Leaves</i>	1400	2400	6,3	17,4	SiO
5 µg Pd(NO ₃) ₂					
Solução Co 390 pg	1500	2400	6,5	3,6	Não
1570a <i>Spinach Leaves</i>	1500	2400	6,7	9,8	SiO
5 µg Mg(NO ₃) ₂					
Solução Co 390 pg	1300	2500	7,3	5,5	Não
1570a <i>Spinach Leaves</i>	1400	2500	7,0	15,9	SiO

Fonte: Autor

5.1.4 Comportamento térmico do estanho

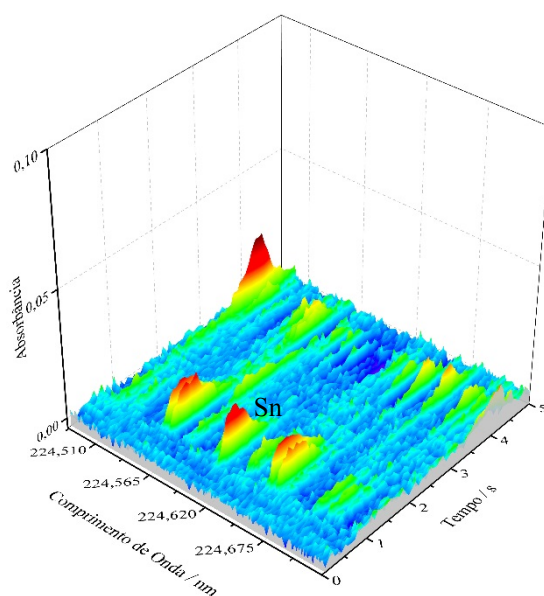
As temperaturas de pirólise e atomização para Sn foram otimizadas a partir de massas entre 0,4 a 0,6 mg do material de referência 1572 *Citrus Leaves* (96 - 144 pg Sn) e 4,8 µL de solução padrão 50 µg L⁻¹ em 0,1% HNO₃ (v/v) (240 pg Sn). As curvas de pirólise foram construídas de 600 a 1900°C na ausência de modificador químico, fixando-se preliminarmente a atomização em 2400°C. Os estudos preliminares mostraram que o Sn é termicamente estável até cerca de 900 °C em ambos os meios aquoso e sólido (Figura 28). Observou-se também a presença de fundo estruturado no espectro do material referência 1572 *Citrus Leaves* que pode ser provocado por moléculas diatômicas como SiO ($A^1\pi - X^1\Sigma^+$) e PO ($A^2\Sigma^+ - X^2\pi$) que podem apresentar espectros rotacionais finos nesta região espectral (224,480 a 224,729 nm) (Figura 29).

Figura 28 - Curvas de pirólise para Sn na ausência de modificadores químicos referentes a 240 pg Sn em meio aquoso (▲) e 96 - 144 pg Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (■)



Fonte: Autor

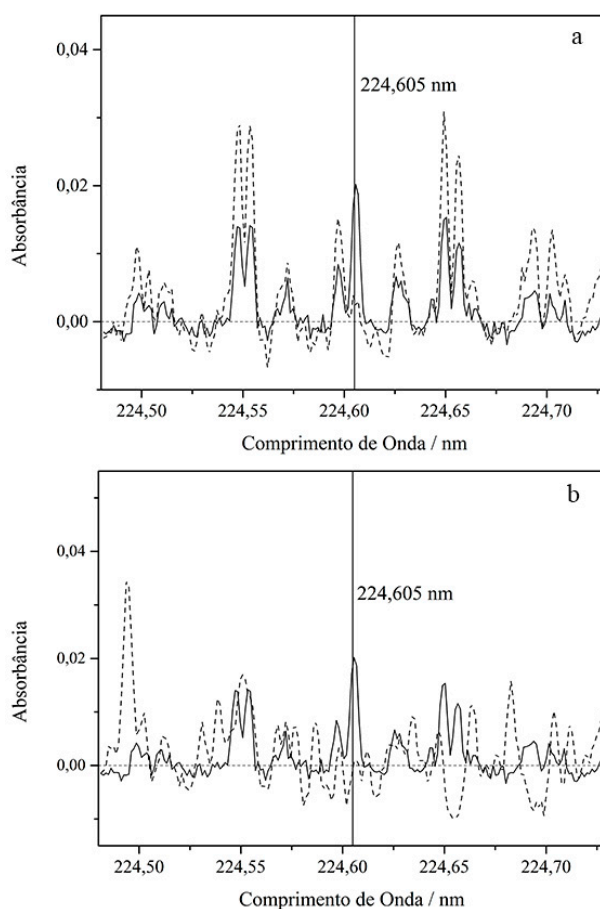
Figura 29 - Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 900 e 2400°C, respectivamente



Fonte: Autor

Os estudos iniciais para identificação do fundo estruturado foram feitos utilizando 5 μL de uma solução de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 10 g L^{-1} e dióxido de silício (SiO_2) para gerar os fundos de SiO e PO , respectivamente. Através da Figura 30 percebe-se que o fundo estruturado na região espectral do Sn pode ser provocado por ambas as moléculas diatômicas.

Figura 30 - Espectro de absorção atômica do Sn do material referência 1572 *Citrus Leaves* (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (---), b) SiO_2 (---)



Fonte: Autor

Os espectros gerados a partir das respectivas estruturas diatômicas sobrepõe o sinal do Sn e portanto devem ser corrigidos. Deste modo, a correção por LSBC foi feita utilizando espectros de referência de PO e SiO individualmente e simultaneamente.

Para minimizar os efeitos provocados pela matriz o comportamento térmico do Sn foi avaliado na presença dos modificadores químicos: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e ácido ascórbico como modificadores convencionais, W e Ir termicamente depositados nas plataformas. As Figuras

de 31 a 34 ilustram o espectro de absorção atômica do Sn na presença dos diferentes modificadores químicos antes e depois da correção por LSBC.

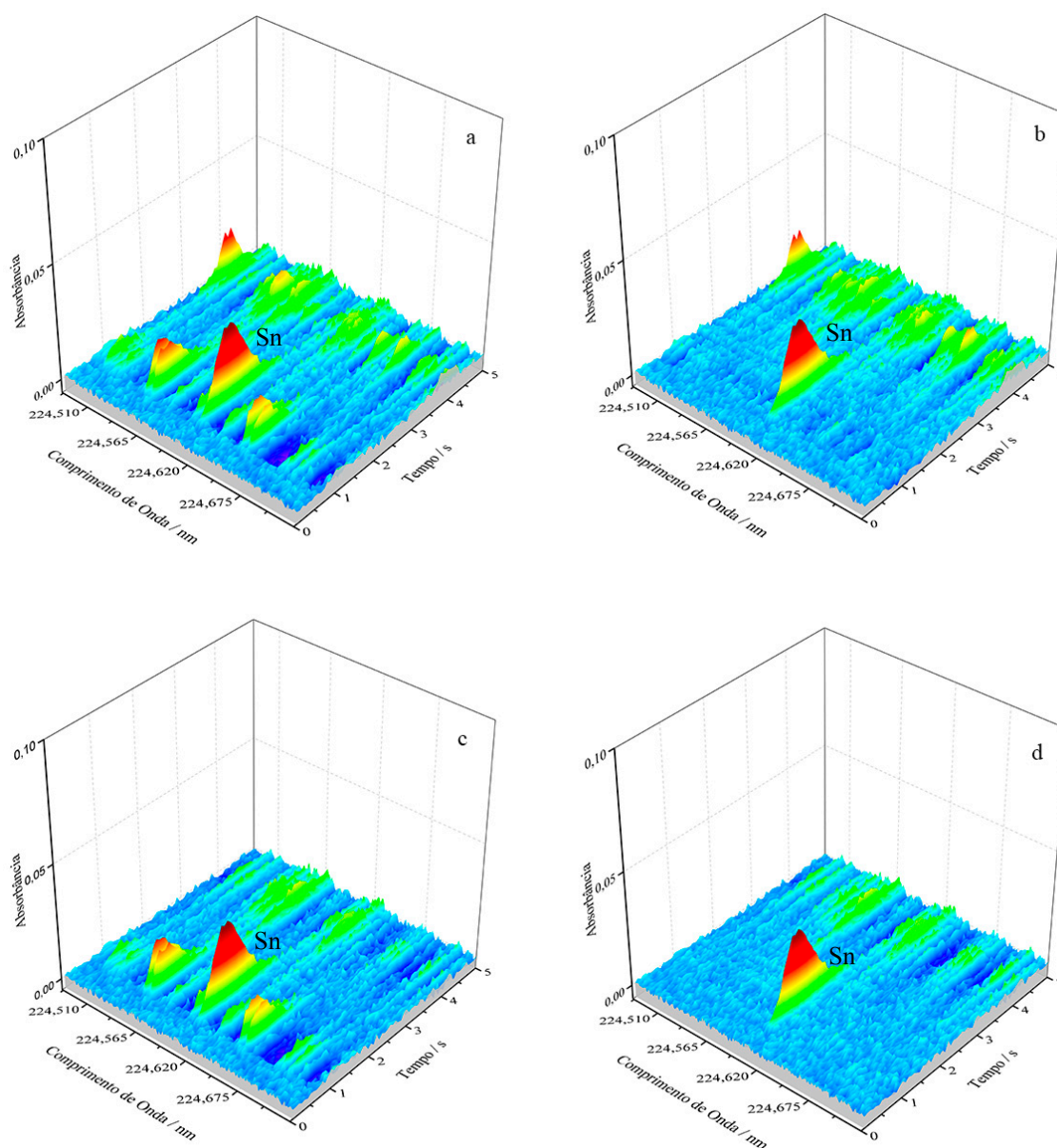
Através da Figura 31 observa-se que em presença de 200 µg W, a correção feita utilizando o espectro de referência de PO corrige os sinais que aparecem entre 1 e 2 s de leitura e que estão no mesmo espaço temporal do sinal transiente do Sn. Quando a correção é feita com o espectro referência de SiO, o fundo observado após 4 s de leitura é eliminado. Assim, na presença deste modificador, o fundo estruturado provocado pelas duas moléculas surge em tempos distintos, sendo que o sinal da molécula diatômica de PO é mais volátil. Após a correção do fundo por LSBC (PO + SiO) observa-se ainda alguns sinais de fundo que podem ser resultantes da correção pouco eficiente por LSBS, ou mesmo causados por outras moléculas diatômicas. Contudo, estes sinais estão temporalmente defasados do sinal transiente do Sn e podem ser eliminados reduzindo-se o tempo de leitura.

A Figura 32 ilustra o espectro de 1572a *Citrus Leaves* na presença de 5 µg Pd(NO₃)₂. Observa-se um pronunciado fundo estruturado que sobrepõe totalmente o sinal do Sn. Aplicando a correção por LSBC com o espectro de referência de PO alguns sinais observados nos primeiros segundos de leitura são corrigidos. Empregando espectro de SiO para correção há diminuição da intensidade em alguns sinais localizados nos intervalos que compreendem 224,480 a 224,506 nm e 224,705 a 224,728 nm. Corrigindo os dois fundos simultaneamente, observa-se uma correção pouco eficiente, pois grande parte do fundo permanece. Conforme mencionado anteriormente, além das moléculas diatômicas de PO e SiO, outras espécies diatômicas podem causar interferência como NO, e CS, além de linhas atômicas de Fe (224,565 nm), Ba (224,569 nm), V (224,576 nm), Co (224,660 nm) e Pb (224,686 nm). Contudo uma avaliação preliminar utilizando soluções de HNO₃ 5% (v/v) e (NH₄)₂SO₄ 10 g L⁻¹ mostrou que as moléculas de NO e CS não geram fundo nessa região espectral. No caso das linhas atômicas adjacentes ao sinal do Sn ambas apresentam sensibilidade relativa < 0,3% e portanto só apresentariam sinais em elevadas concentrações dos respectivos elementos. Ainda assim, devido à alta resolução não haveria sobreposição espectral. Isto indica que a correção ineficiente por LSBC pode estar relacionada à influência de algum componente da matriz no perfil dos sinais de fundo gerados a partir da matriz sólida.

Na presença de 100 µg ácido ascórbico (Figura 33), embora menos pronunciado o fundo estruturado apresenta comportamento similar ao obtido na presença de 5 µg Pd (Figura 32). Entretanto, percebe-se após correção individual de cada espécie molecular que os espectros gerados por PO e SiO surgem quase no mesmo espaço temporal e semelhantemente ao que fora observado na presença de Pd, a correção simultânea é pouco eficiente,

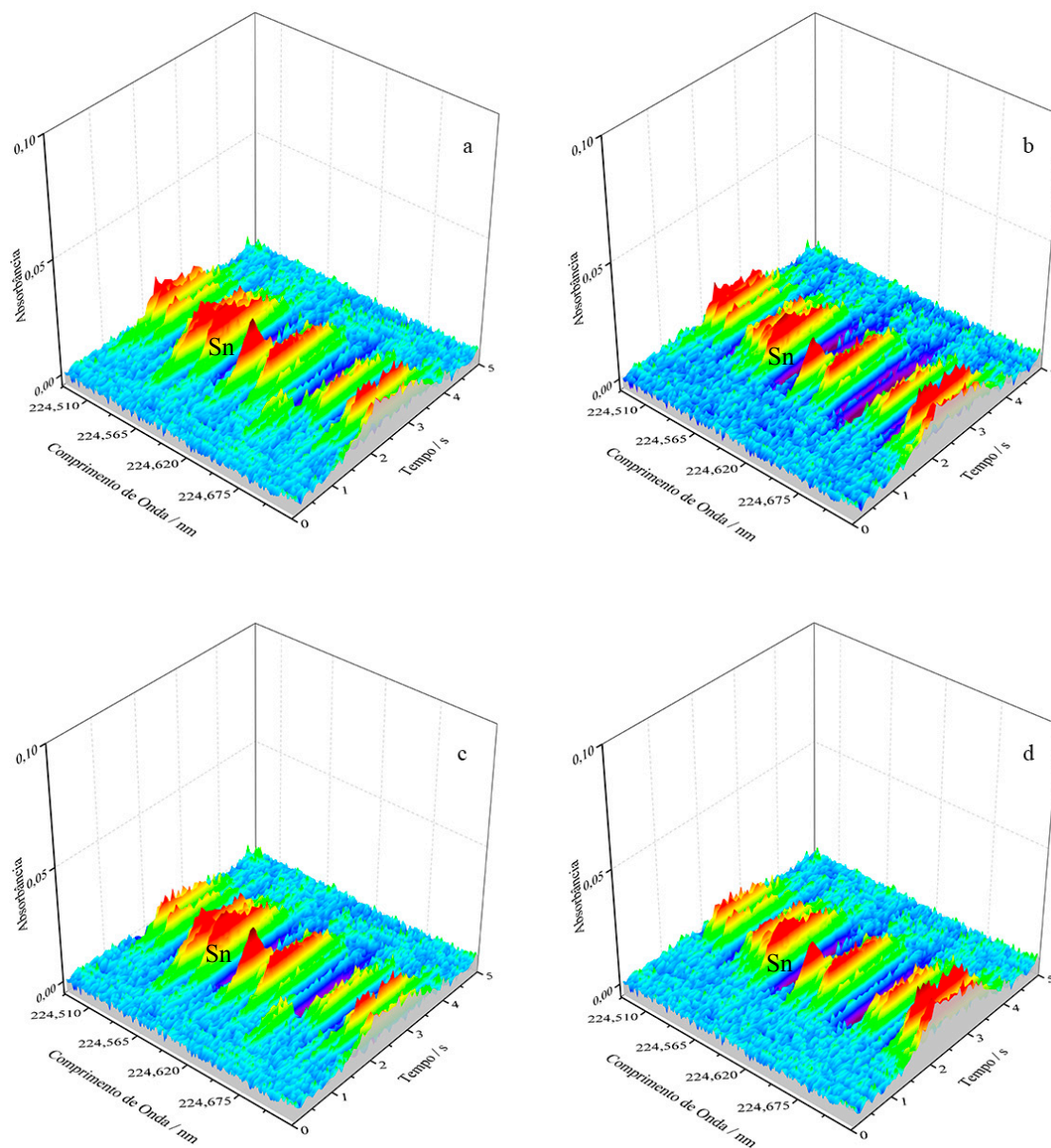
possivelmente devido aos efeitos da matriz. Na presença da plataforma termicamente modificada com Ir os sinais transientes de Sn são mais largos e a manifestação do fundo estruturado é menos acentuada (Figura 34). Observa-se que os sinais de PO e SiO aparecem sobrepondo o espectro do Sn temporalmente, mas que são parcialmente corrigidos com o emprego do LSBC.

Figura 31 - Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em presença de 200 μg W: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)



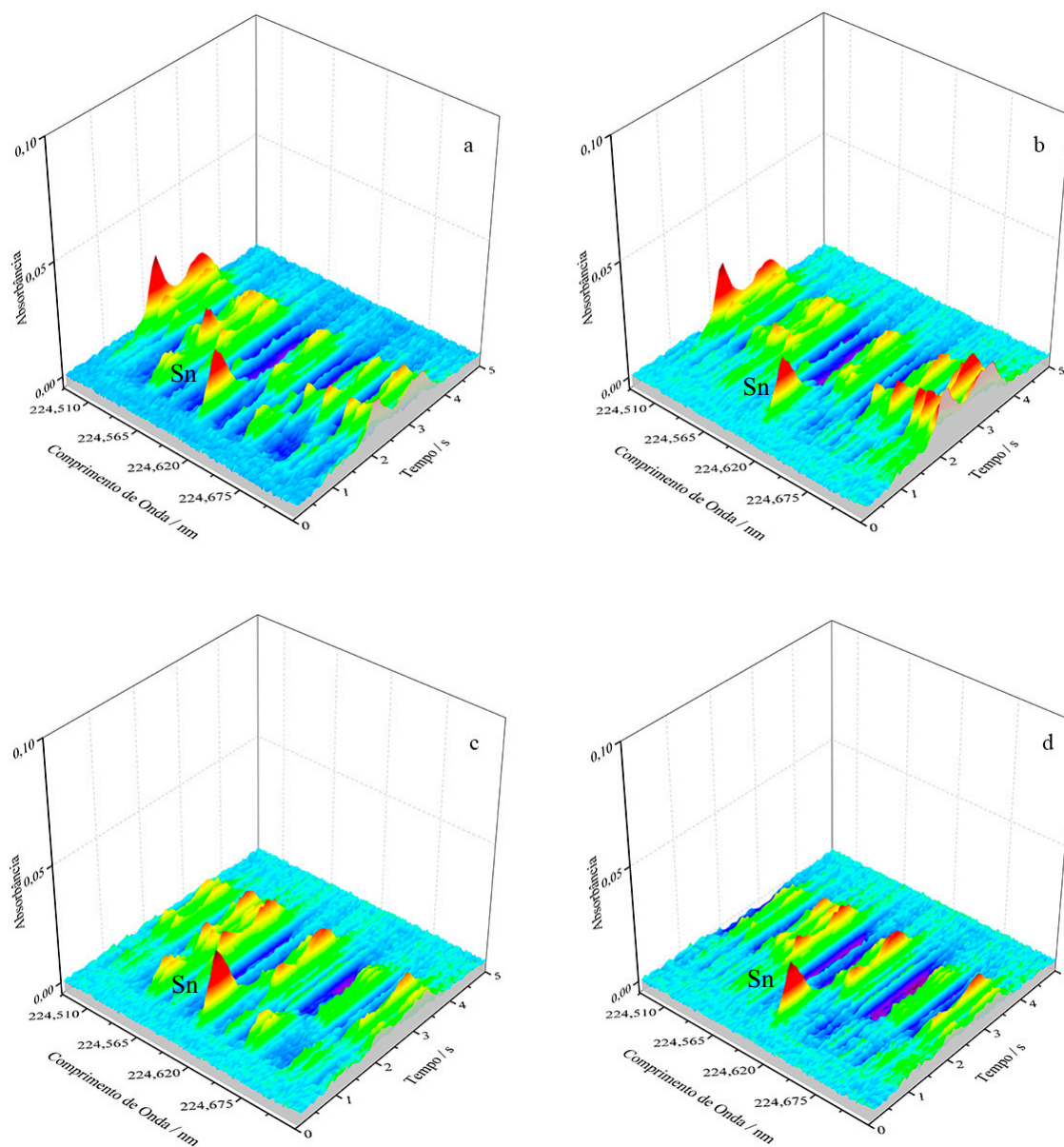
Fonte: Autor

Figura 32 - Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em presença de 5 μg Pd: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)



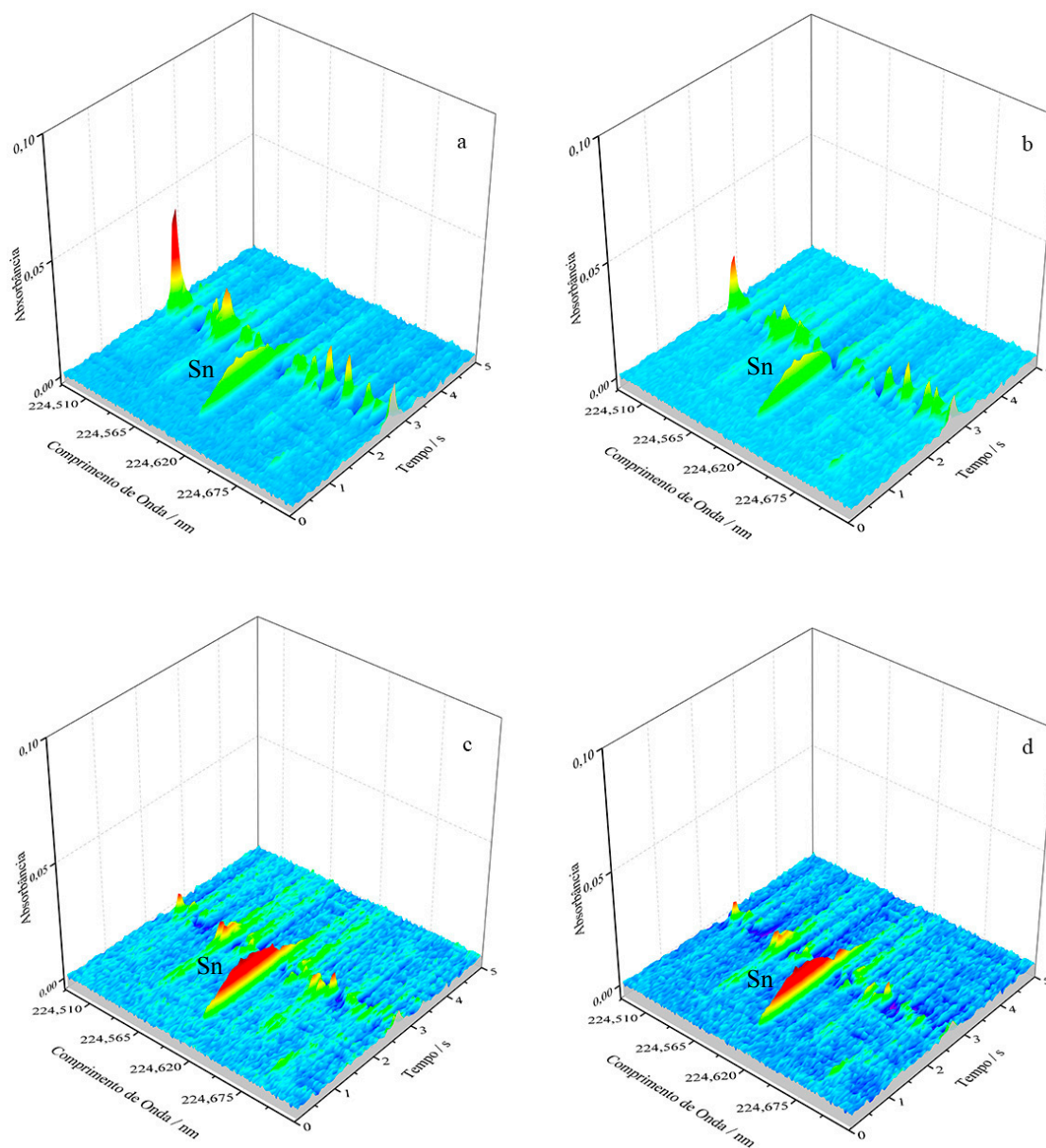
Fonte: Autor

Figura 33 - Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em presença de 100 μg ácido ascórbico: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)



Fonte: Autor

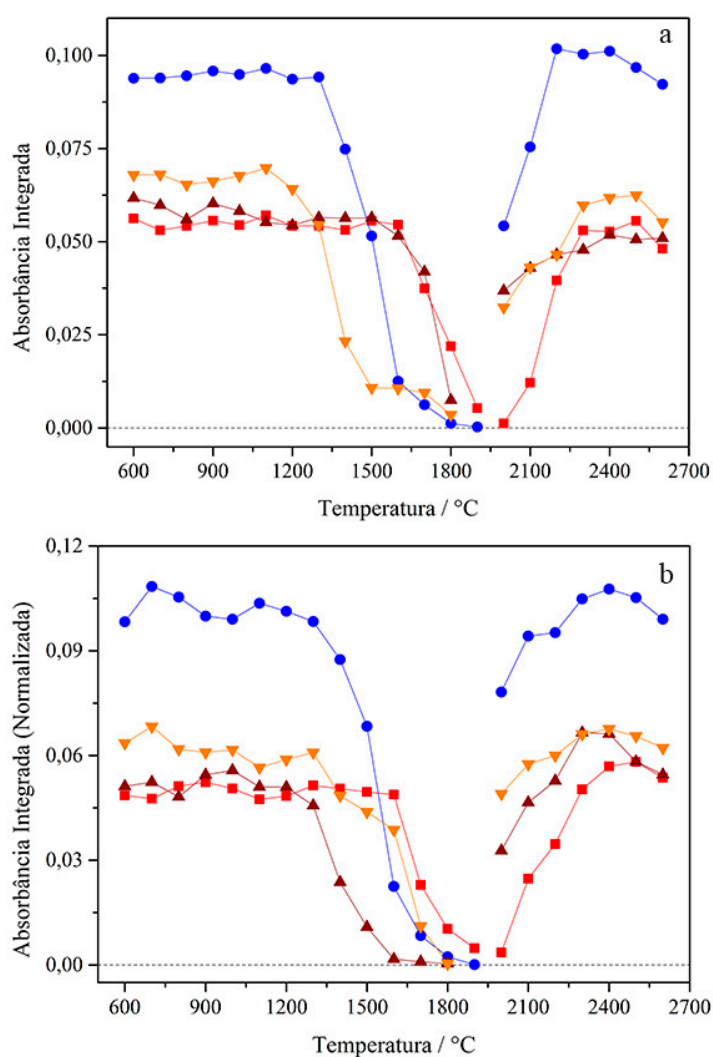
Figura 34 - Espectro de absorção atômica do Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em presença de 400 μg Ir: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com LSBC (SiO), d) correção com LSBC (PO + SiO)



Fonte: Autor

A Figura 35 ilustra o estudo do comportamento térmico do Sn na presença dos diferentes modificadores químicos. Em presença de 5 μg de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou 200 μg W o Sn permaneceu estável até 1600 $^{\circ}\text{C}$ e 1300 $^{\circ}\text{C}$ em ambos os meios. Empregando a plataforma termicamente modificada com 400 μg Ir o Sn foi estável até 1300 $^{\circ}\text{C}$ na matriz sólida e 1500 $^{\circ}\text{C}$ na matriz aquosa. Isto sugere que em fase aquosa o Sn interage melhor com o Ir termicamente depositado na plataforma ou que a matriz esteja contribuindo para o aumento da volatilidade do analito. Na presença de 100 μg ácido ascórbico o Sn presente na matriz sólida foi termicamente mais estável (1300 $^{\circ}\text{C}$) do que em meio aquoso (1100 $^{\circ}\text{C}$), sugerindo que algum componente da matriz confere estabilidade adicional ao analito.

Figura 35 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 240 pg Sn em meio aquoso (a) e 96 - 144 pg Sn no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (b) empregando 200 μg W (●), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (■), 400 μg Ir (▲) e 100 μg ácido ascórbico (▼)



Fonte: Autor

Após otimização das temperaturas de pirólise, as temperaturas de atomização foram estudadas entre 2000 a 2600 °C. A partir da avaliação das diferentes condições de estudo, nas diferentes temperaturas de atomização, os sinais transientes obtidos para Sn apresentaram-se estáveis, e de curta duração (2 s) a partir de 2200 °C em ambos os meios. As massas características calculadas em cada condição e meio (aquoso e sólido) indicam que as melhores condições de atomização é em 2300 °C quando são empregados os modificadores 5 µg Pd(NO₃)₂ ou 400 µg Ir termicamente modificado. Utilizando o modificador W (200 µg) termicamente modificado ou 100 µg ácido ascórbico em plataforma não modificada, as melhores condições de atomização são observadas em 2400 °C. Os sinais de Sn foram mais intensos na presença da plataforma termicamente modificada com W, sugerindo que este modificador proporciona melhores condições para atomização do analito em ambos os meios. A Tabela 14 resume as temperaturas de atomização e pirólise otimizadas. Observa-se que mesmo nos casos em que a aplicação do LSBC não eliminou totalmente os sinais de fundo, as massas características apresentam relativa proximidade em ambos os meios o que pode indicar que a correção foi efetiva ao menos nos pixels referentes ao sinal do analito.

Tabela 14 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_o) e desvio padrão relativo (RSD) para Sn nos diferentes modificadores testados

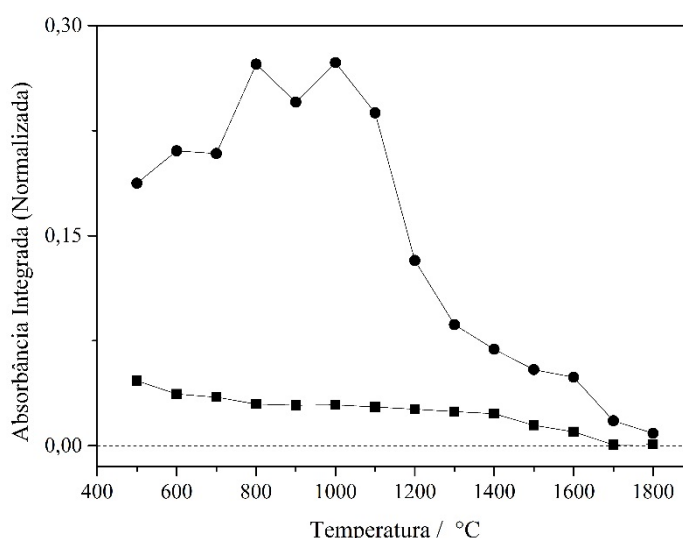
Matriz	T _p (°C)	T _a (°C)	m _o (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Sn 240 pg	900	2300	21,9	6,2	Não
1572 Citrus Leaves	900	2300	26,9	13,9	PO + SiO
200 µg W					
Solução Sn 240 pg	1300	2400	10,4	4,9	Não
1572 Citrus Leaves	1300	2400	10,6	10,4	PO + SiO
400 µg Ir					
Solução Sn 240 pg	1500	2300	22,0	5,8	Não
1572 Citrus Leaves	1300	2300	20,8	16,9	PO + SiO
5 µg Pd(NO ₃) ₂					
Solução Sn 240 pg	1600	2300	19,9	4,1	Não
1572 Citrus Leaves	1600	2300	21,4	9,3	PO + SiO
100 µg ácido ascórbico					
Solução Sn 240 pg	1100	2400	17,1	3,5	Não
1572 Citrus Leaves	1300	2400	16,9	14,7	PO + SiO

Fonte: Autor

5.1.5 Comportamento térmico do selênio

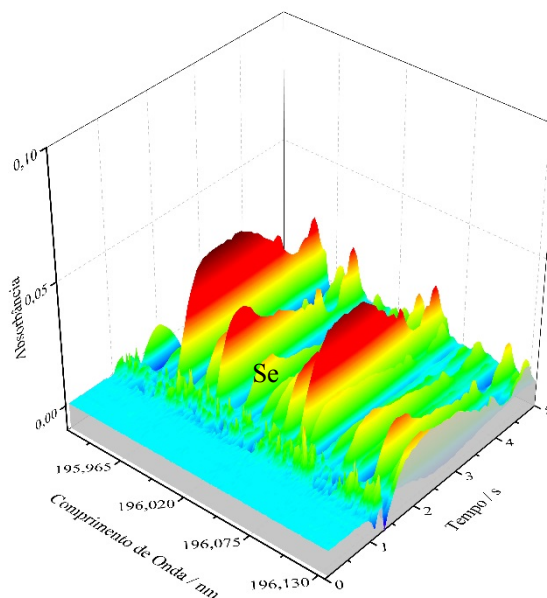
A otimização das temperaturas de pirólise e atomização para Se foram feitas a partir de massas entre 1,8 e 2,0 mg do material de referência 1570a *Spinach Leaves* (210,7 - 234 pg Se) e 5,0 μL de uma solução padrão de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Se em 0,1% HNO_3 (v/v) (500 pg Se). As curvas de pirólise foram construídas de 600 a 1800°C na ausência de modificador químico, com a temperatura de atomização fixadas preliminarmente em 2400°C. Os estudos iniciais mostraram que na ausência de modificadores químicos o sinal analítico de Se é instável no meio aquoso e termicamente estável até cerca de 1000°C e no material de referência certificado, o que sugere que algum componente da matriz contribui para estabilidade do Se (Figura 36). A partir da Figura 37 observa-se ruídos na linha base nos primeiros segundos de leitura, indicando a presença de resíduos sólidos no atomizador, sugerindo que o tempo de pirólise assistida com ar (30 s) não foi suficiente para decompor massas de amostra em torno de 2,0 mg. Desta forma, os experimentos iniciais foram direcionados para otimização da pirólise assistida com ar utilizando massas em torno de 2,5 mg, no qual 60 s a 600 °C foram suficientes para decompor toda a matriz.

Figura 36 - Curvas de pirólise para Se na ausência de modificadores químicos referentes a 500 pg Se em meio aquoso (■) e 210,7 - 234 pg Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (●)



Fonte: Autor

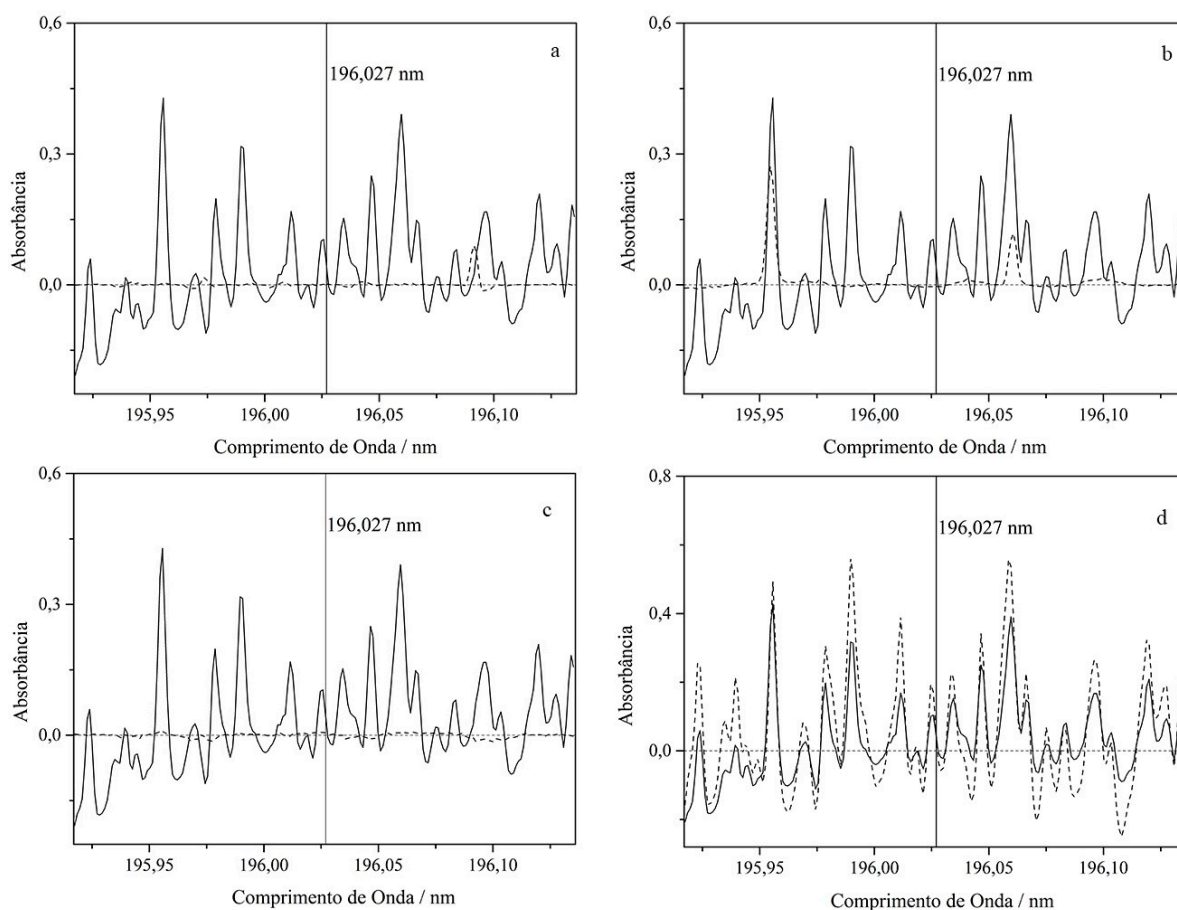
Figura 37 - Espectro de absorção atômica do Se em 1570a *Spinach Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 900 e 2400°C, respectivamente



Fonte: Autor

A região espectral onde está situado o sinal do Se (195,917 a 196,136 nm) pode apresentar interferências causadas pelas moléculas diatômicas PO ($A^2\Sigma^+ - X^2\pi$, $B^2\Sigma^+ - X^2\pi$) e NO ($A^2\Sigma^+ - X^2\pi$, $C^2\pi - X^2\pi$). Nesta região também há linhas atômicas de Fe, Co e Pd, portanto é necessário uma investigação sistemática com relação a possíveis interferências espectrais causadas por estes elementos (FERNANDEZ, BEATY, 1984). Assim, inicialmente fez-se estudos sistemáticos visando identificar interferências espectrais provocadas por estas espécies utilizando 5 μL de uma solução de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 10 g L^{-1} para produção dos espectros de PO, 5 μL de uma solução de HNO_3 5% para produção dos espectros de NO e 5 μL de soluções padrão 10 mg L^{-1} de Fe e Co. Na Figura 38d observa-se que a molécula de PO gera um pronunciado sinal de fundo que sobrepõe completamente a linha analítica do Se. Embora alguns dados da literatura relatem o aparecimento de bandas fracas de NO nesta região, o estudo feito não mostrou a presença de sinais referentes a esta espécie (Figura 38c) (BECKER-ROSS et al., 2000). Os elementos Fe e Co apresentaram sinais em 195,955 e 196,062 nm (Fe) e 195,974 e 196,091 nm (Co) mas sem sobrepor os pixels onde a medida do sinal é realizada (Figuras 38a e 38b). Além disso, investigou-se possíveis interferências provocadas por SiO , CS e SO utilizando dióxido de silício e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 10 g L^{-1} para gerar espectros referentes a estas moléculas. Porém, nenhum sinal de fundo foi observado.

Figura 38 - Espectro de absorção atômica do Se no material referência 1570a *Spinach Leaves* (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 5 ng Co (---), b) 5 ng Fe (---), c) HNO₃ 5% (---), d) 50 µg NH₄H₂PO₄ (---)



Fonte: Autor

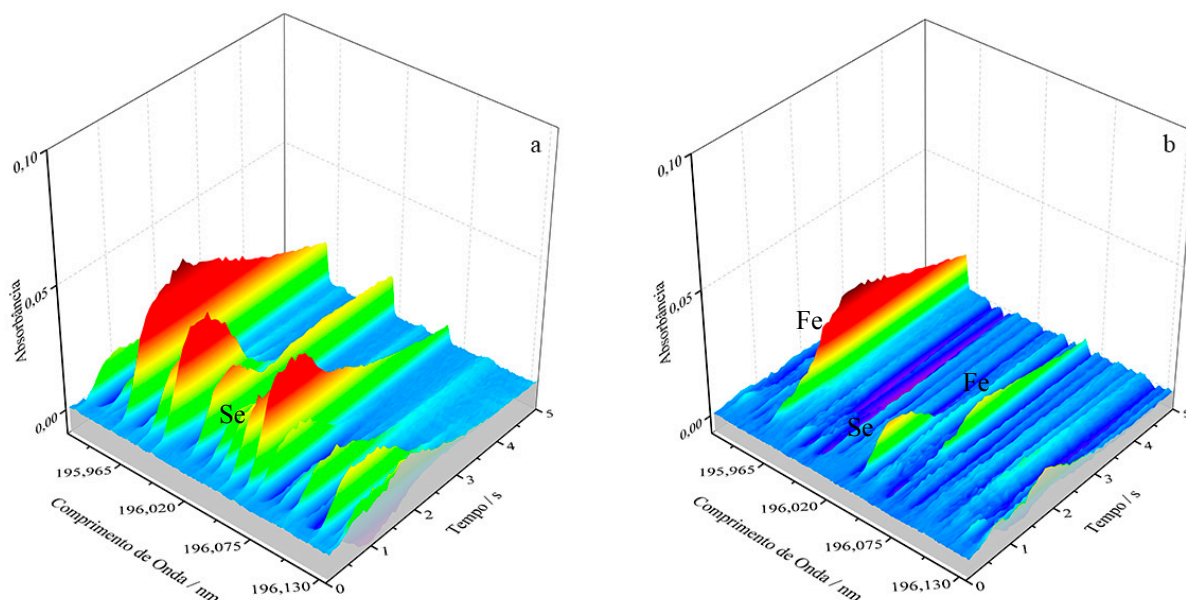
A correção por LSBC foi empregada para corrigir sinais de fundo provocado pela molécula diatômica de PO. Entretanto, uma vez que a solução referência foi preparada e meio a HNO₃, ela também pode ser empregada para corrigir eventuais sinais de NO que possam surgir decorrentes de amostras que apresentem concentrações mais elevadas de N. Além disso, para minimizar os efeitos da matriz na atomização do Se, o comportamento térmico foi avaliado na presença dos modificadores Pd(NO₃)₂ e Ni(NO₃)₂ e das plataformas termicamente modificadas com Rh e Ru (Figuras 39 a 42).

Na presença do modificador Pd(NO₃)₂ observa-se um sinal atômico de Pd em 196,013 nm. No entanto este sinal está localizado entre os pixels 84 a 94 e não sobrepõe os pixels referentes ao sinal do analito (100, 101, 102). Ainda assim, o sinal atômico do Pd está

defasado temporalmente e portanto não provoca nenhum efeito negativo sobre o sinal transiente do Se (Figura 39). Após a correção por LSBC (PO), observa-se a presença de sinais referentes a presença de Co e Fe.

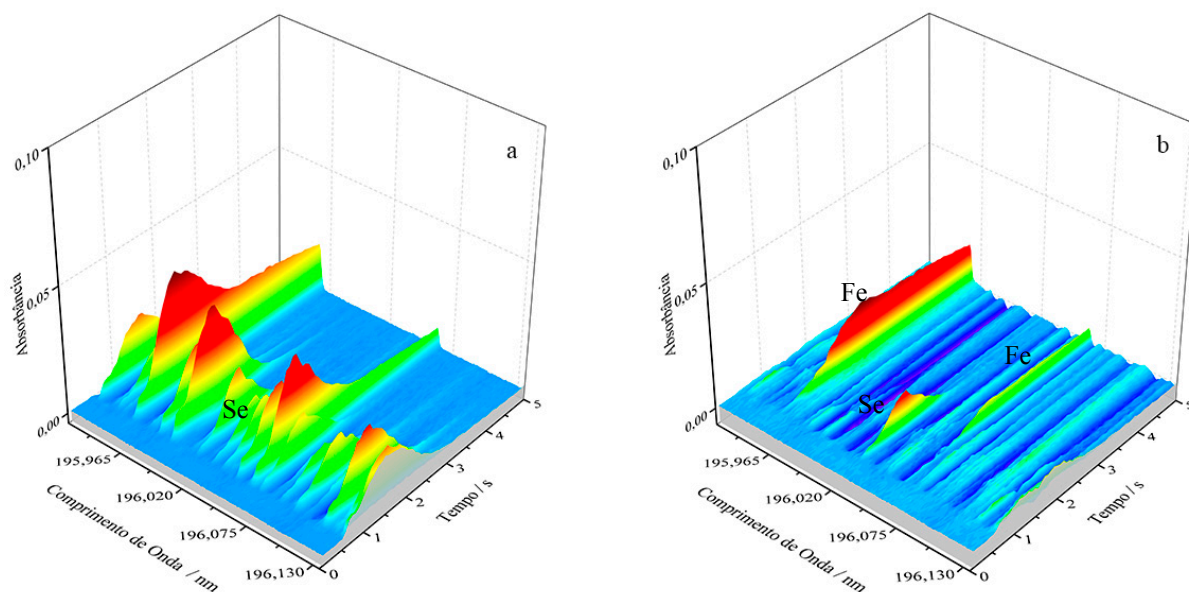
É interessante notar que quando optou-se por corrigir os sinais atômicos de Fe, ocorreu sobrecorreção na linha base no pixel 100, referente ao sinal do Se (Figura 42), sugerindo alguma falha do algoritmo empregado para correção por LSBC. Embora o *software* empregado em HR-CS AAS permita ajustar os pixels para minimizar efeitos de sobrecorreção na linha base, não foram observadas situações favoráveis ao sinal transiente do Se quando foi realizada a correção de Fe por LSBC.

Figura 39 - Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* em 5 $\mu\text{g Pd}(\text{NO}_3)_2$: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)



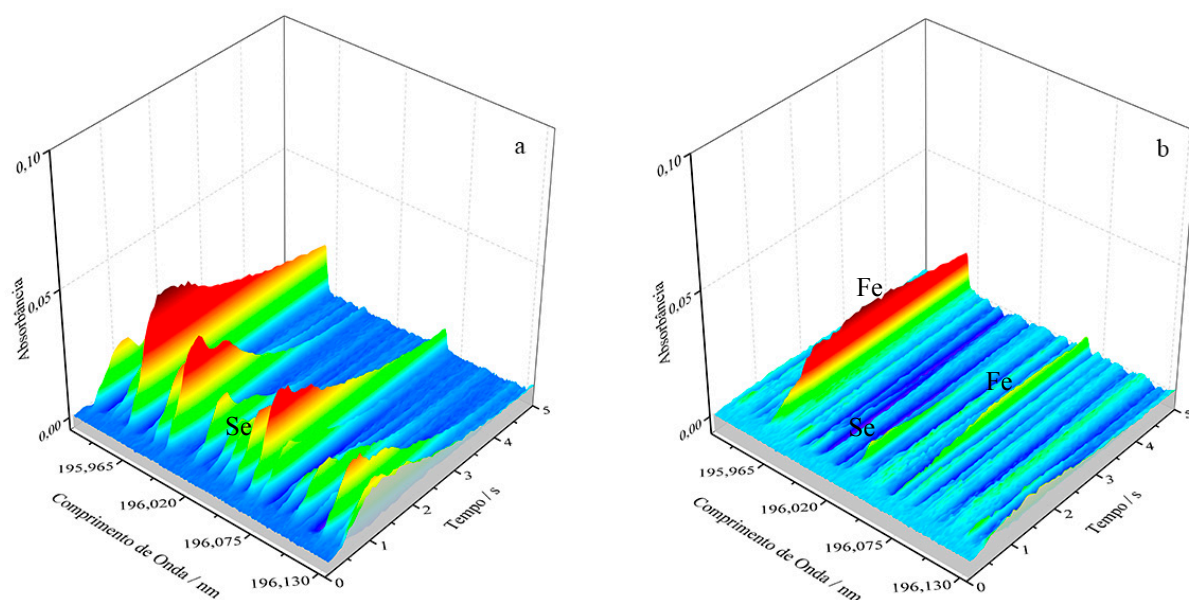
Fonte: Autor

Figura 40 - Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* em 5 $\mu\text{g Ni(NO}_3)_2$: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)



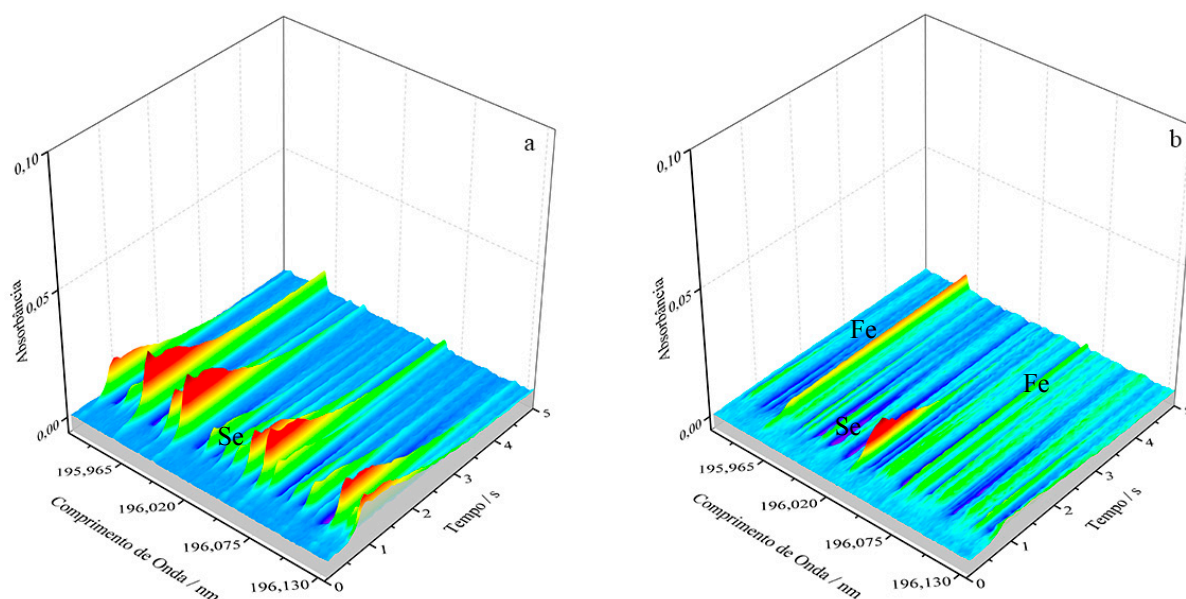
Fonte: Autor

Figura 41 - Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* em 400 $\mu\text{g Rh}$: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)



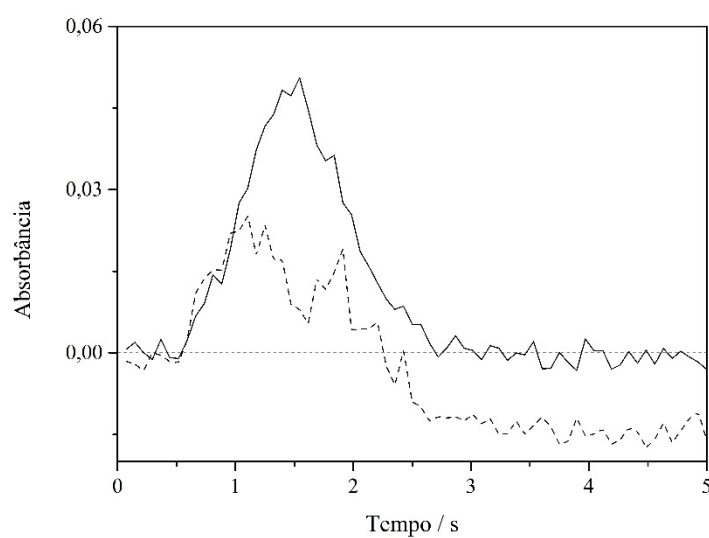
Fonte: Autor

Figura 42 - Espectros de absorção atômica do Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* em 400 μg Ru: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO)



Fonte: Autor

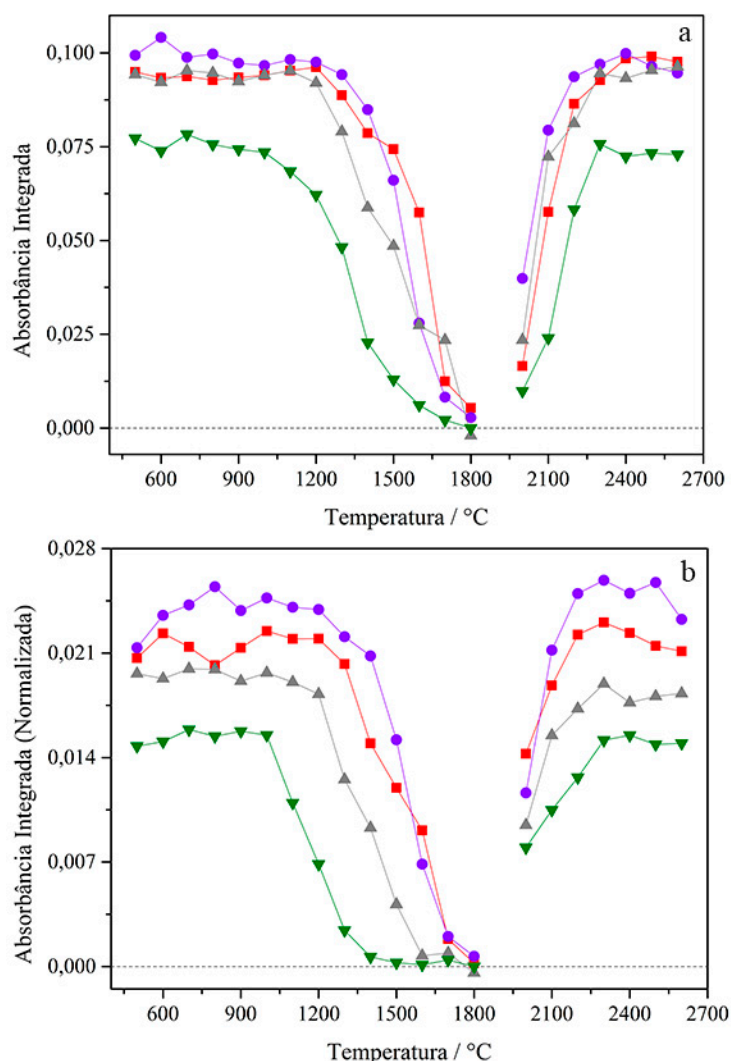
Figura 43 - Efeito da correção de Fe por LSBC no pixel 100 no espectro referente a 1570a *Spinach Leaves* empregando 5 μg $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$: sem correção (—), com correção (---)



Fonte: Autor

O comportamento térmico do Se na presença dos modificadores químicos é apresentado na Figura 44. Empregando a plataforma termicamente modificada com 400 μg Rh o Se apresentou estabilidade térmica até 1000 $^{\circ}\text{C}$. Em presença dos modificadores químicos 400 μg Ru, 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou 5 μg $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ o Se apresentou comportamento semelhante, sendo termicamente estável até 1200 $^{\circ}\text{C}$. Em todos os casos em que os modificadores químicos foram empregados, as temperaturas de pirólise foram iguais em ambos os meios sólido e aquoso, o que a princípio sugere que a ação dos modificadores químicos elimina ou minimiza possíveis efeitos dos concomitantes da matriz sobre a estabilidade térmica do analito.

Figura 44 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 500 ng Se em meio aquoso (a) e 210,7 - 234 μg Se no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (b) empregando 5 μg $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ (●), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (■), 400 μg Ru (▲) e 400 μg Rh (▼)



Fonte: Autor

As temperaturas de atomização foram estudadas de 2000 a 2600 °C. Os sinais transientes obtidos em temperaturas de atomização abaixo de 2000 °C apresentaram perfis largos, requerendo cerca de 8 segundos para retornar a linha de base. Em temperaturas de atomização acima de 2200 °C observou-se sinais mais repetitivos e com perfil estreito. Em presença de 5 µg Ni(NO₃)₂ os sinais foram relativamente mais intensos sugerindo que este modificador proporciona melhores condições para atomização do Se. As massas características calculadas em cada temperatura e nas diferentes condições sugerem que as condições mais favoráveis para atomização em ambos os meios ocorre em 2400 °C empregando modificadores Pd(NO₃)₂, Ni(NO₃)₂ ou Rh e 2300 °C utilizando o modificador Ru. A Tabela 15 apresenta as temperaturas de pirólise e atomização otimizadas para cada modificador químico.

Tabela 15 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_0) e desvio padrão relativo (RSD) para Se nos diferentes modificadores testados

Matriz	T _p (°C)	T _a (°C)	m_0 (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Se 500 pg	900	2400	65,8	6,1	Não
1570a Spinach Leaves	900	2400	45,0	11,0	PO
5 µg Pd(NO ₃) ₂					
Solução Se 500 pg	1200	2400	22,3	4,9	Não
1570a Spinach Leaves	1200	2400	23,0	7,4	PO
5 µg Ni(NO ₃) ₂					
Solução Se 500 pg	1200	2400	22,1	5,3	Não
1570a Spinach Leaves	1200	2400	21,1	7,2	PO
400 µg Ru					
Solução Se 500 pg	1200	2300	23,7	5,9	Não
1570a Spinach Leaves	1200	2300	27,8	9,5	PO
400 µg Rh					
Solução Se 500 pg	1000	2400	30,9	6,2	Não
1570a Spinach Leaves	1000	2400	33,2	8,7	PO

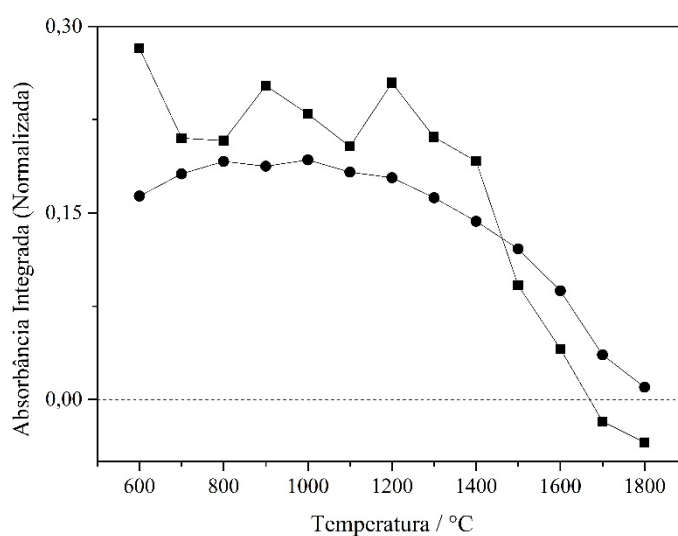
Fonte: Autor

5.1.6 Comportamento térmico do arsênio

As temperaturas de pirólise e de atomização do As foram otimizadas empregando massas entre 0,3 e 0,5 mg do material referência 1572 *Citrus Leaves* (930 - 1550 pg As) e 7,0 µL de uma solução de padrão 100 µg L⁻¹As em 0,1% HNO₃ (v/v) (700 pg As). As curvas de

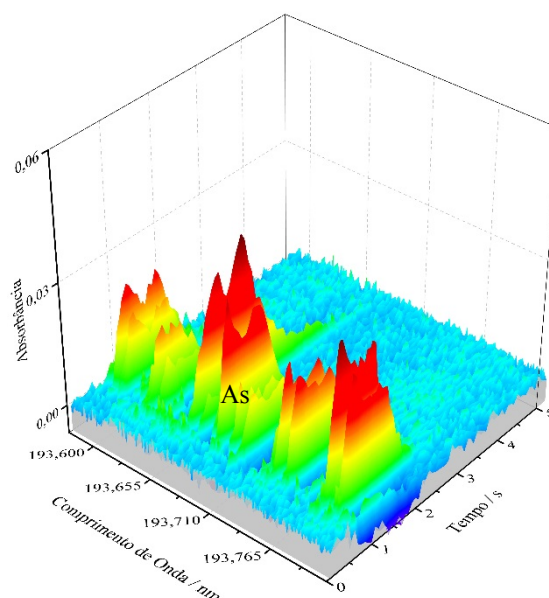
pirólise foram construídas de 600 a 1800°C com a temperatura de atomização fixada em 2400°C. Os estudos preliminares mostraram que o As é termicamente estável até 1100 °C em meio aquoso e 1200 °C na matriz sólida (Figura 45). Na Figura 46 observa-se um pronunciado fundo estruturado que sobrepõe totalmente o sinal transiente do As.

Figura 45 - Curvas de pirólise para As na ausência de modificadores químicos referentes a 700 pg As em meio aquoso (●) e 930 – 1550 pg As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (■)



Fonte: Autor

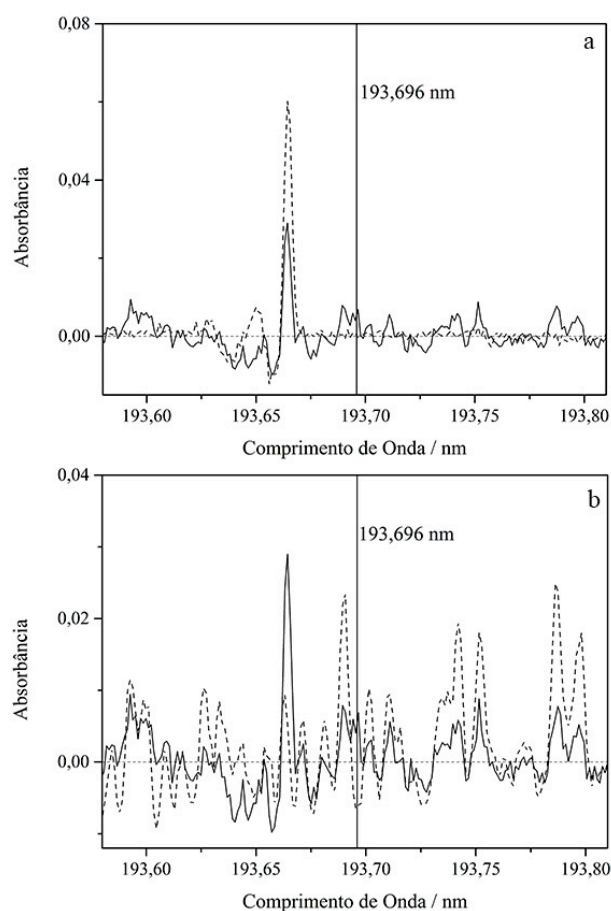
Figura 46 - Espectro de absorção atômica do As em 1572 *Citrus Leaves* na ausência de modificador químico. Temperaturas de pirólise e de atomização fixadas em 600 e 2400°C, respectivamente



Fonte: Autor

A região espectral onde os sinais de As foram medidos (193,576 a 196,814 nm) pode apresentar interferências causadas por moléculas diatômicas de PO ($A^2\Sigma^+ - X^2\pi$, $B^2\Sigma^+ - X^2\pi$) e por uma linha atômica de Fe. Assim, as investigações preliminares foram conduzidas visando avaliar o perfil das interferências provocadas por estas espécies, sobretudo nos pixels onde a absorbância no analito é medida. Para geração dos espectros de PO e Fe utilizou-se 5 μL de uma solução de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 10 g L^{-1} e 5 μL de uma solução 10 mg L^{-1} Fe respectivamente. Avaliou-se também possíveis interferências provocadas por moléculas diatômicas de SiO, CS, SO e NO utilizando dióxido de silício e soluções padrão de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 10 g L^{-1} e HNO_3 5% (v/v) para gerar os espectros destas moléculas. Contudo, observou-se que somente PO e Fe provocam fundo na região espectral estudada (Figura 47).

Figura 47 - Espectro de absorção atômica do As no material referência 1572 *Citrus Leaves* (—) na ausência de modificador químico em presença de: a) 5 ng Fe, b) 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$

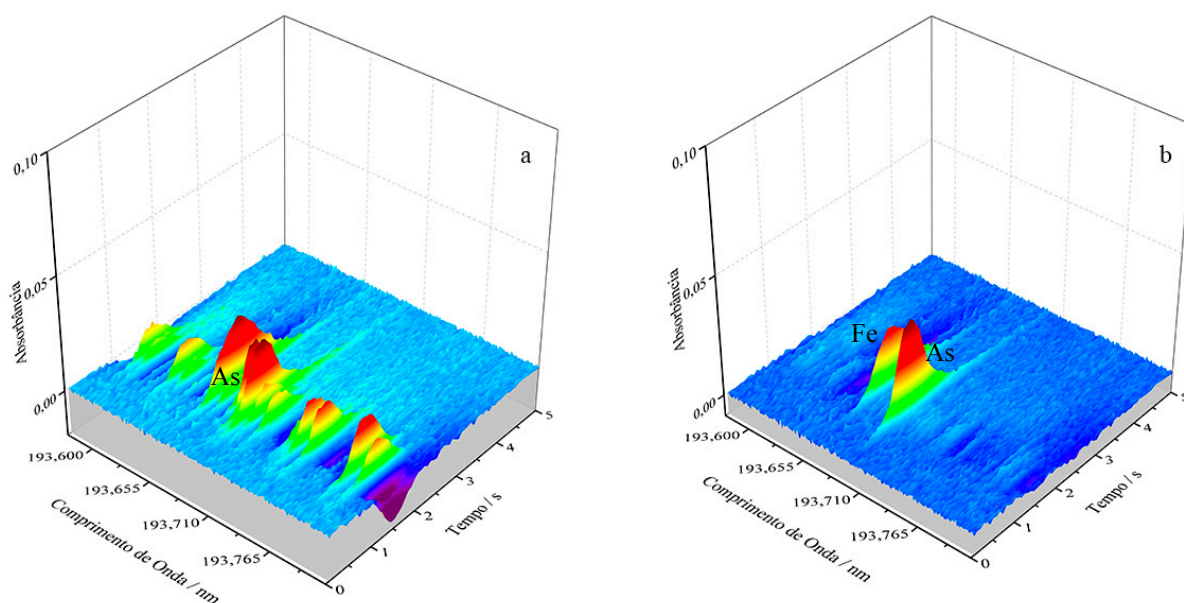


Fonte: Autor

O sinal de Fe identificado em 193,664 nm (Figura 47a) não sobrepõe os sinal transiente do As portanto sua correção não é necessária. No entanto, os sinais provocados pela molécula de PO sobrepõe totalmente o sinal do As e portanto devem ser corrigidos pelo algoritmo dos mínimos quadrados (Figura 47b).

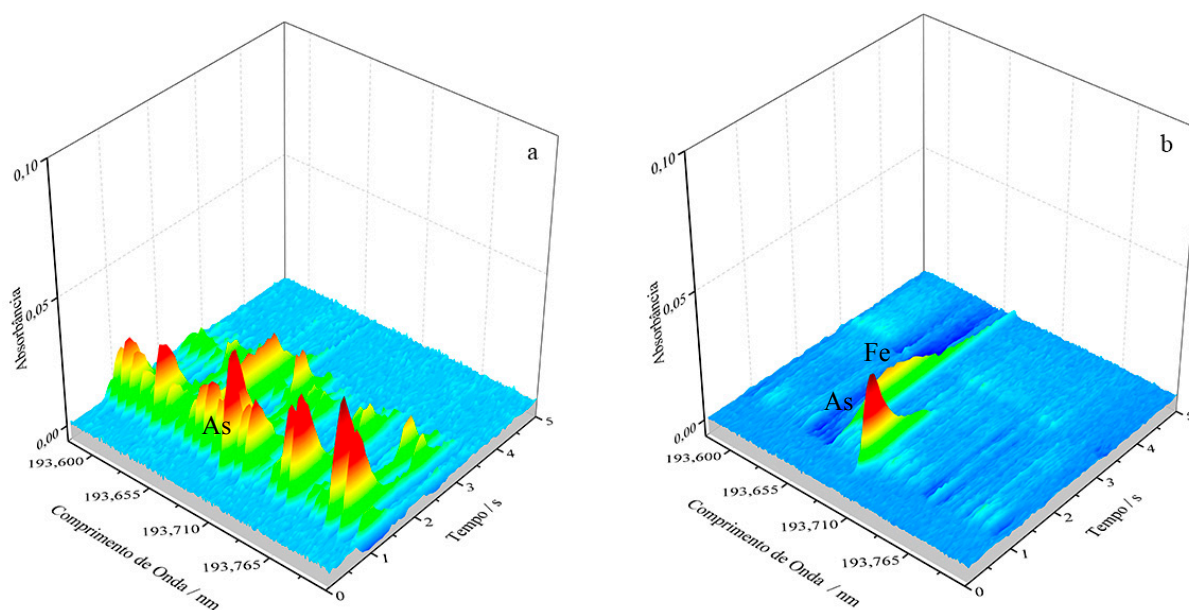
Para melhorar a estabilidade térmica do As e reduzir os efeitos de matriz, avaliou-se diferentes modificadores químicos: $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e ácido ascórbico como modificadores convencionais e Ir e W como modificadores permanentes (Figuras 48 a 51). Na presença dos modificadores químicos observou-se o fundo estruturado provocado pelas moléculas diatômicas de PO e pela linha de Fe, sendo que de maneira mais pronunciada na presença de 100 μg de ácido ascórbico (Figura 49a). Após correção por LSBC observa-se apenas os sinais atômicos de Fe (Figuras 48b, 49b, 50b e 51b), porém sem efeito negativo sobre o sinal transiente do As. Após a correção por LSBC observou-se alguns sinais de fundo, possivelmente associados aos efeitos da matriz sobre o comportamento do fundo.

Figura 48 - Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)



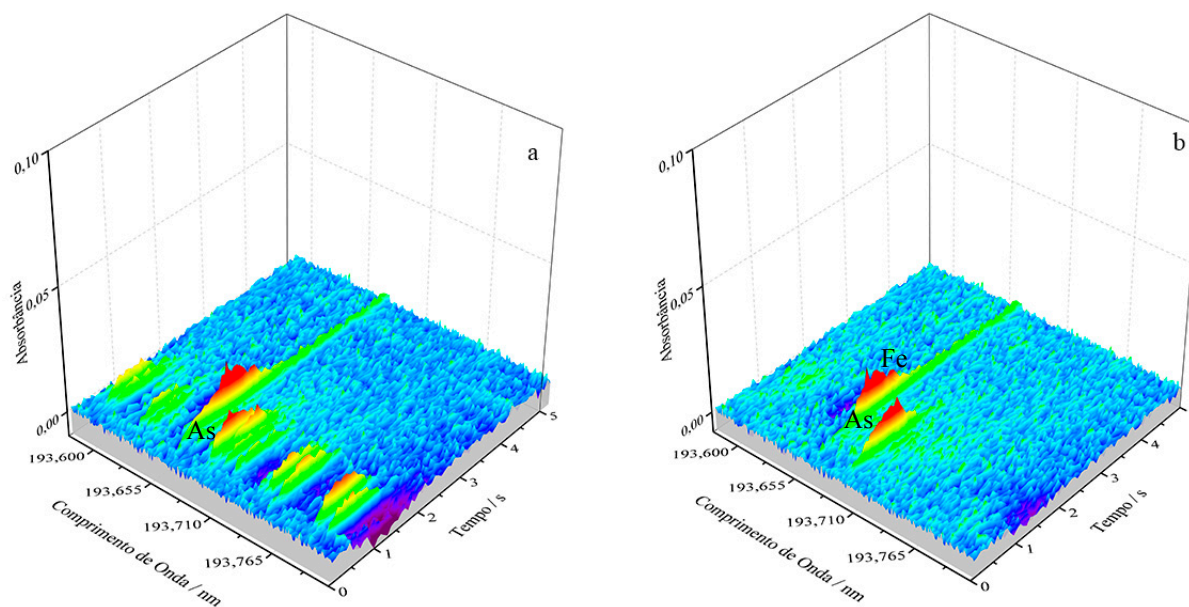
Fonte: Autor

Figura 49 - Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em 100 μg ácido ascórbico: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)



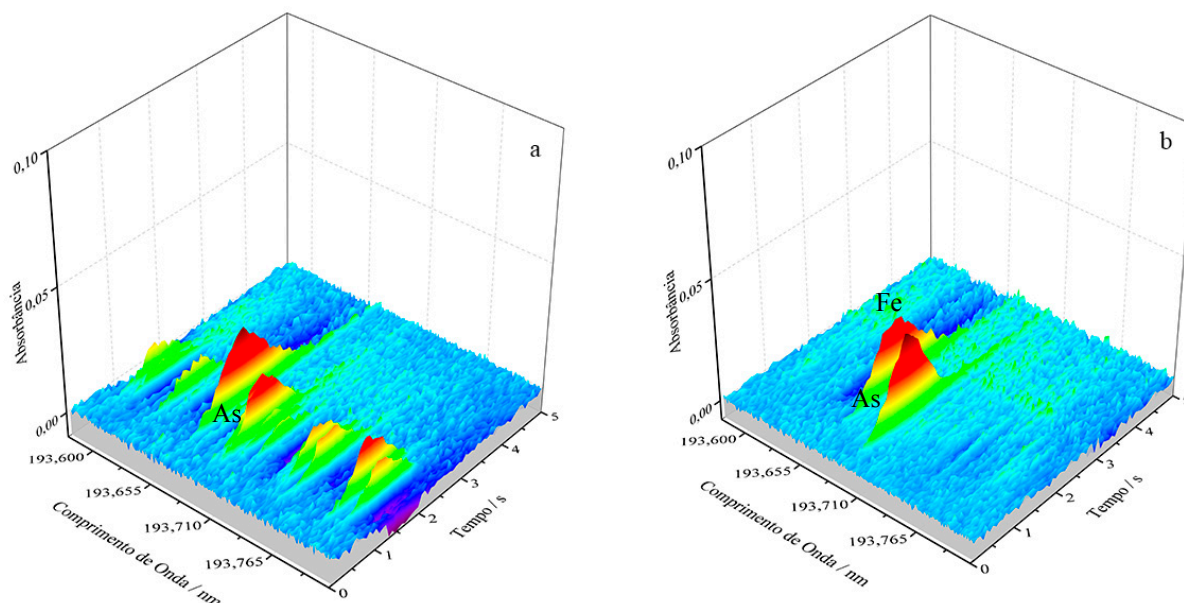
Fonte: Autor

Figura 50 - Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em 200 μg W: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)



Fonte: Autor

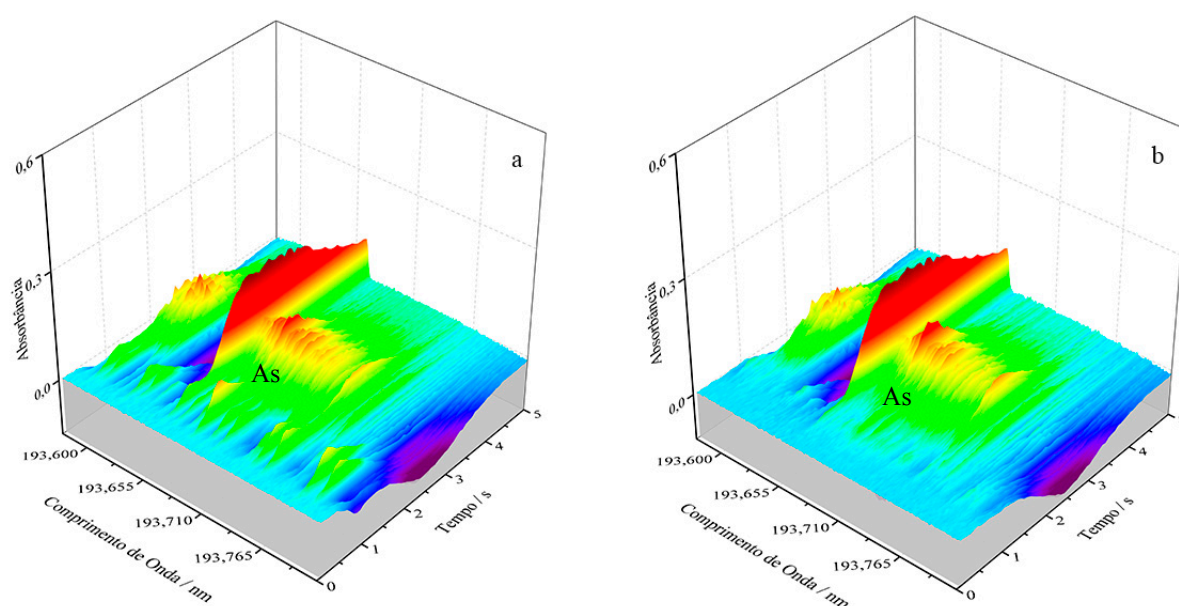
Figura 51 - Espectros de absorção atômica do As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* em 400 µg Ir: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)



Fonte: Autor

Embora os estudos preliminares tenham indicado que o fundo observado na região espectral do As é causado por moléculas diatômicas de PO e uma linha atômica de Fe, a correção do fundo por LSBC (PO) não foi capaz de corrigir a interferência espectral observada no espectro do material de referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves* (Figura 52).

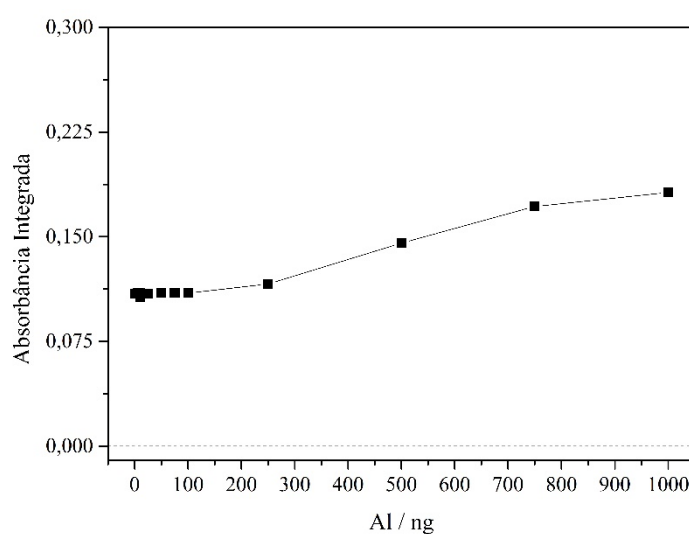
Figura 52 - Espectros de absorção atômica do As no material de referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves*: a) sem correção, b) correção por LSBC (PO)



Fonte: Autor

A partir da Figura 52 observa-se no espectro do material referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves* um pronunciado sinal de fundo em cerca de 2 s de leitura que sobrepõe o sinal transiente do As. Aplicando a correção por LSBC (PO), percebe-se que apenas os sinais de fundo que aparecem entre 1 e 2 s leitura são eliminados (Figura 52b). Dados da literatura relatam interferências espectrais provocadas por linhas de Al entre 193,58 e 193,45 nm (RILEY, 1984). Considerando estas informações, conduziu-se um estudo sistemático visando avaliar o perfil dos sinais de Al nesta região espectral, sobretudo com relação a possíveis interferências espectrais no sinal transiente do As. O estudo foi feito utilizando 10 µL de uma solução 100 µg L⁻¹ As (1,0 ng As), no qual fez-se medidas sequenciais na presença de quantidades crescentes de Al (1,0 - 1000 ng). O resultado desta investigação é mostrado na Figura 53, no qual é possível perceber que partir da adição de 250 ng há um aumento no sinal analítico integrado do As.

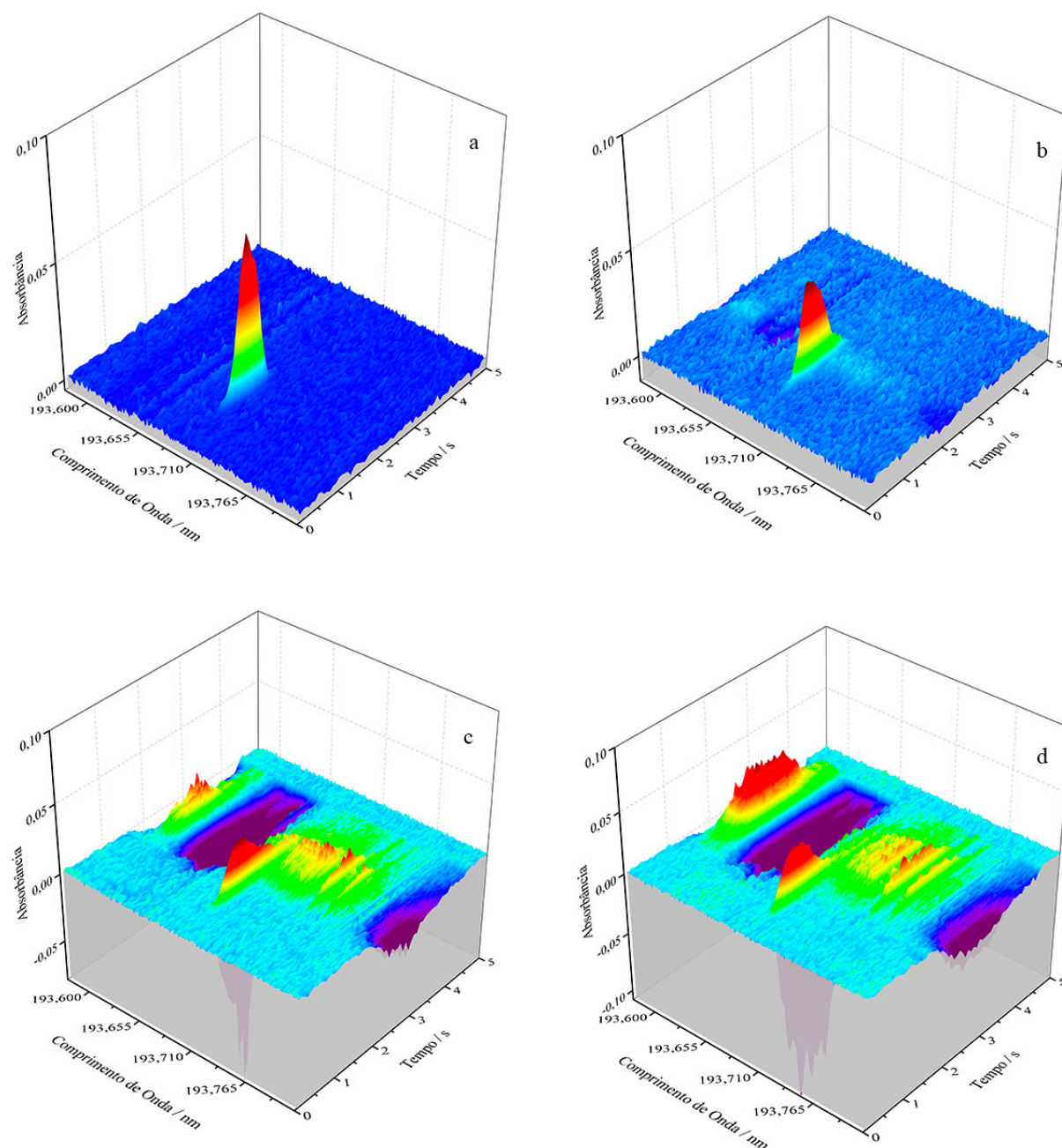
Figura 53 - Influência da concentração de Al sobre a absorbância medida a partir de 1 ng As (■)



Fonte: Autor

De acordo com a Figura 54, a partir da adição de 50 ng Al, há o aparecimento de sinais de fundo entre 193,590 e 193,616 nm, que se intensificam com o aumento da quantidade de Al. Na presença de 500 ng Al, o sinal de fundo sobrepõe o sinal transiente do As. Assim, visando eliminar esta interferência, avaliou-se duas estratégias para correção do fundo: i) empregando o algoritmo dos mínimos quadrados (LSBC) utilizando como referência um espectro de Al; ii) empregando o algoritmo de correção de fundo interativa (IBC).

Figura 54 - Espectros de absorção atômica referentes a 1 ng As: a) sem Al, b) 50 ng Al, c) 500 ng Al, d) 1000 ng Al

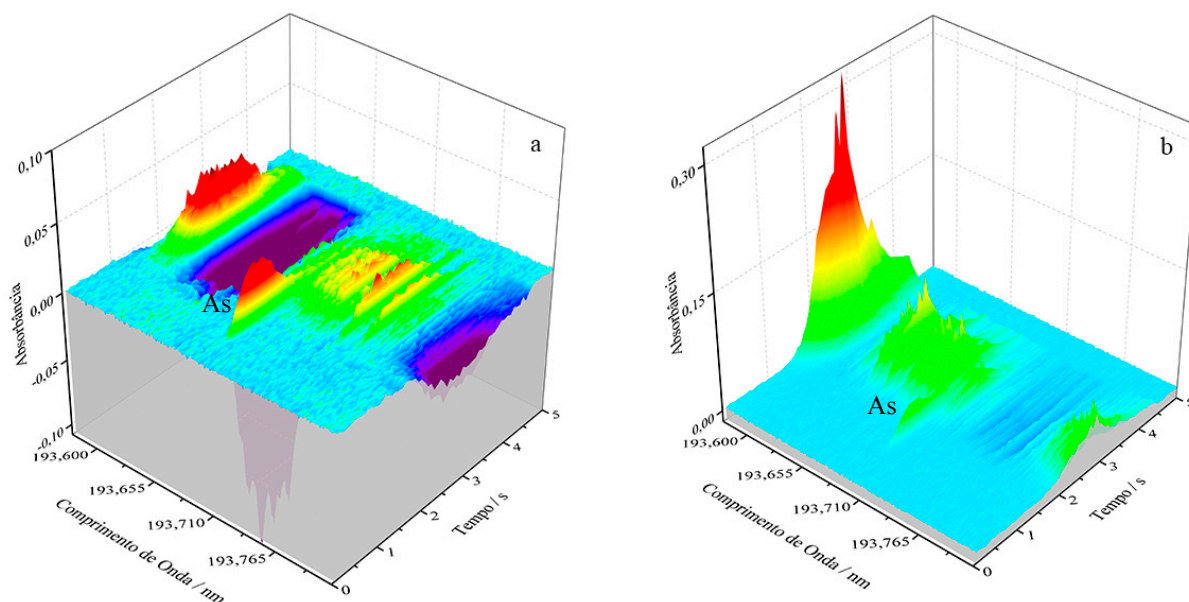


Fonte: Autor

A correção por LSBC foi aplicada utilizando um espectro de referência gerado a partir de 10 μL de uma solução padrão 10 mg L^{-1} Al (100 ng Al). Com aplicação deste método, observou-se que os efeitos de sobrecorreção na linha base foram minimizados, contudo os sinais de fundo permaneceram sobrepondo o sinal do As, o que sugere que este algoritmo apresenta algum tipo de falha para corrigir este tipo de interferência (Figura 55b). Vale ressaltar que esta correção foi repetida com espectros de referência obtidos a partir de 10 μL

de soluções padrão 50, 100 e 1000 mg L⁻¹ Al (500, 1000 e 10000 ng Al), no qual resultados semelhantes foram obtidos.

Figura 55 - Espectros de absorção atômica de referentes a 1 ng As em presença de 1000 ng Al: a) sem correção, b) correção com LSBC (Al)

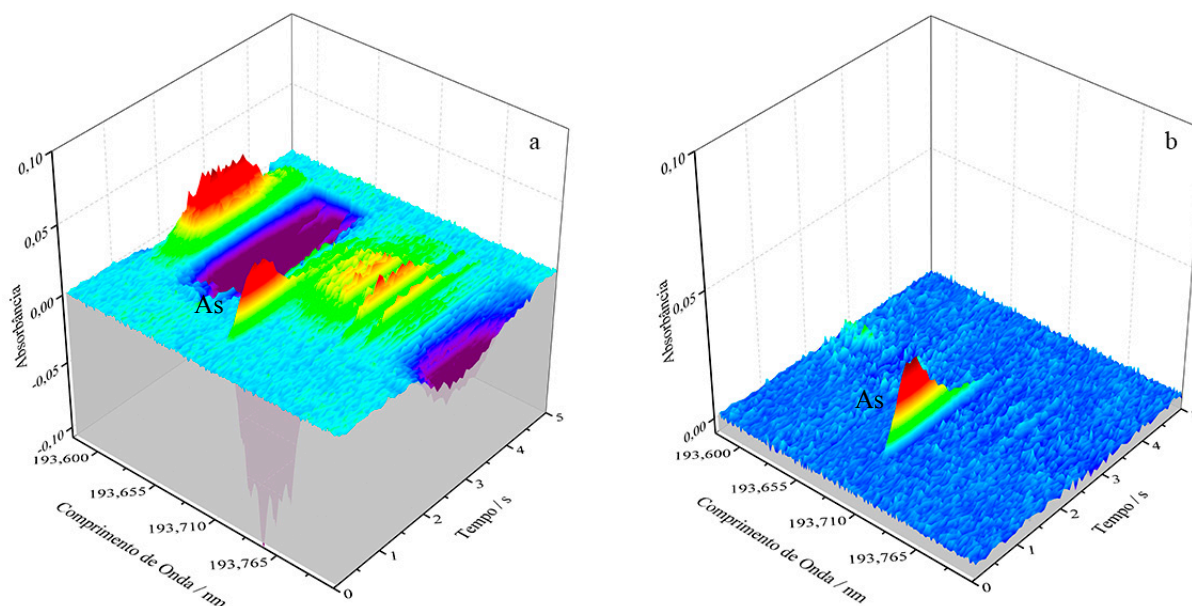


Fonte: Autor

A HR-CS AAS possui um algoritmo para correção de eventos descontínuos denominado correção de fundo interativa (*Interactive background correction* - IBC). Este algoritmo atua na correção de fundos estruturados complexos, particularmente fenômenos relacionados ao aparecimento de bandas mais largas que o perfil espectral do sinal do analito. Entretanto, sua aplicação provoca diminuição do sinal analítico, podendo haver perdas de até 30 % na sensibilidade. Apesar disso, o algoritmo atua sobre a linha base suavizando ruídos e imperfeições o que pode proporcionar melhoria nos limites de detecção do método.

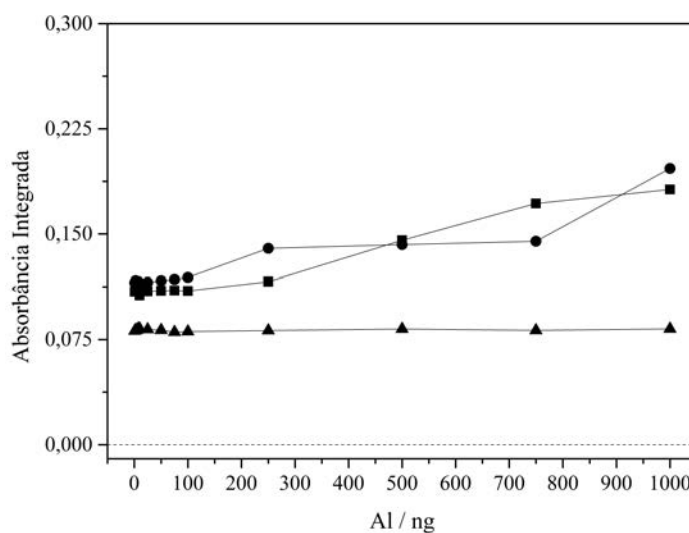
Após o emprego do IBC, percebe-se que o fundo causado pelo Al é totalmente corrigido, assim como as regiões de sobrecorreção na linha base, embora ainda sejam observados alguns sinais na região na qual o fundo estruturado se manifestava, porém sem qualquer efeito negativo no sinal analítico do As (Figura 56). Houve também diminuição na intensidade do sinal integrado, em torno de 25 %, mas que pode ser compensada pela melhoria da razão sinal/ruído devido a suavização da linha base. A Figura 57 ilustra o comportamento do sinal do As empregando as diferentes estratégias de correção.

Figura 56 - Espectros de absorção atômica referentes a de 1 ng As em presença de 1000 ng Al: a) sem correção, b) correção com IBC



Fonte: Autor

Figura 57 - Influência da concentração de Al sobre a absorbância medida a partir de 1 ng As: a) sem correção (■), b) correção com LSBC (Al) (●), c) correção com IBC (▲)

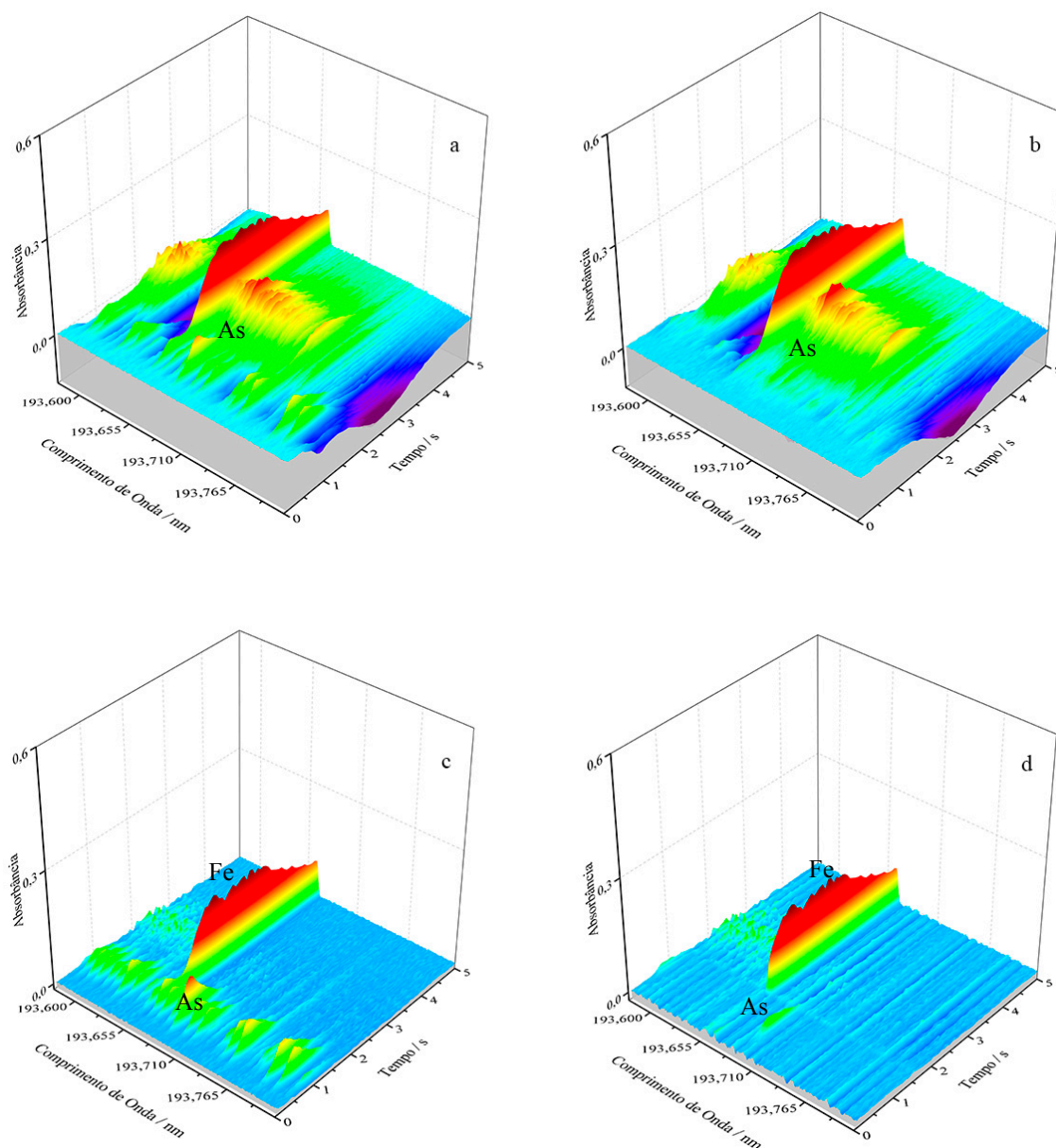


Fonte: Autor

Utilizando o algoritmo IBC no espectro do material de referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves* observa-se que o sinal devido à presença de Al é corrigido. No entanto, após a correção por IBC observa-se sinais de fundo remanescentes entre 1 e 2 s de leitura resultantes da presença de moléculas diatômicas de PO, mas que podem ser corrigidos por

LSBC utilizando um espectro referência desta espécie. Aplicando-se os dois algoritmos sequencialmente, observou-se apenas o sinal referente a linha de Fe (Figura 58).

Figura 58 - Espectros de absorção atômica do As no material referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves*: a) sem correção, b) correção com LSBC (PO), c) correção com IBC, d) correção com IBC + LSBC (PO)

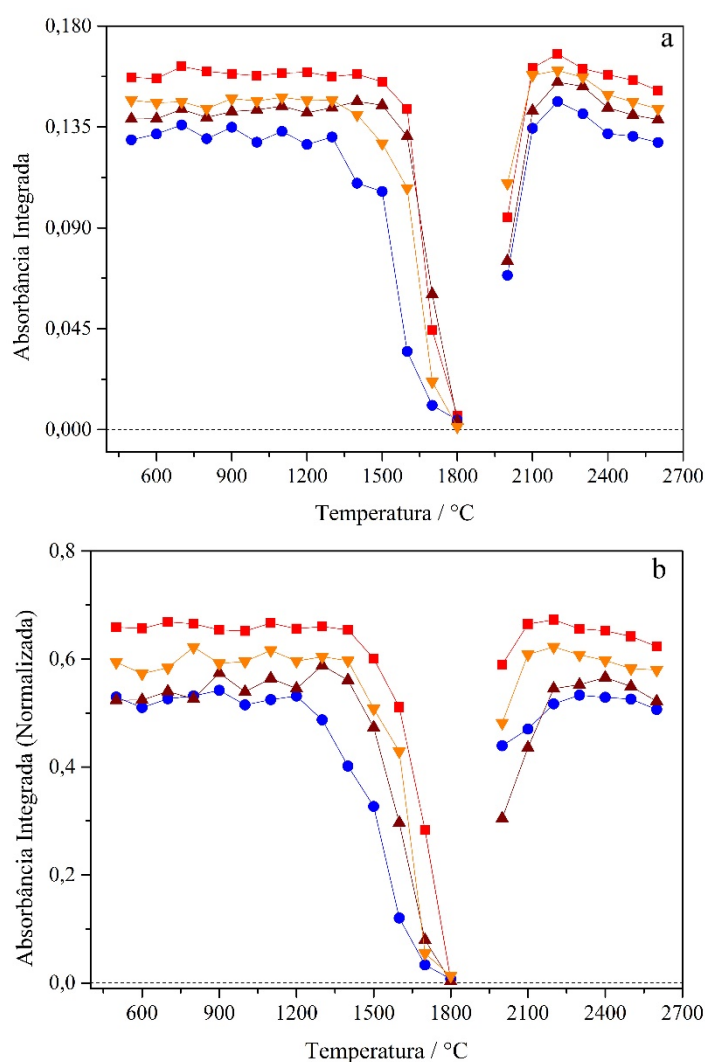


Fonte: Autor

Para melhorar a estabilidade térmica do As bem como diminuir os efeitos de matriz, avaliou-se o comportamento térmico na presença de modificadores químicos convencionais e permanentes (Figura 59). Empregando 100 µg ácido ascórbico observou-se que o As apresentou comportamento semelhante em ambos os meios, sendo termicamente estável até

1400 °C. Entretanto, na presença de 5 µg Pd(NO₃)₂ o As apresentou estabilidade térmica até 1500 °C em meio aquoso e 1400 °C na matriz sólida. Utilizando plataformas termicamente modificadas com 400 µg Ir o As foi estável até 1400 °C (aquoso) e 1300 °C (sólido). Empregando a plataforma termicamente modificada com 200 µg W observa-se que o As apresenta estabilidade térmica até 1300 e 1200 °C nos meios aquoso e sólido, respectivamente. A estabilidade adicional do As observada em meio aquoso na presença dos modificadores químicos Pd, Ir e W sugere que a matriz esteja influenciando no comportamento térmico do analito de duas formas: aumentando a sua volatilidade ou dificultando a interação com os modificadores impedindo assim a formação das espécies intermetálicas responsáveis pela estabilidade do As.

Figura 59 - Curvas de pirólise e atomização referentes a 700 pg As em meio aquoso (a) e 930 - 1550 pg As no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (b) empregando 200 µg W (●), 5 µg Pd(NO₃)₂ (■), 400 µg Ir (▲) e 100 µg ácido ascórbico (▼)



Fonte: Autor

Após a otimização das temperaturas de pirólise, as temperaturas de atomização foram estudadas entre 2000 a 2600 °C. Os sinais transientes de As obtidos abaixo de 2000 °C apresentaram perfis largos requerendo cerca de 10 segundos para retornar a linha de base, sendo necessárias temperaturas por volta de 2200 °C para o aparecimento de sinais transientes estreitos e repetitivos, principalmente na matriz sólida. Os sinais mais intensos foram obtidos na presença de 5 µg Pd(NO₃)₂. As massas características obtidas em ambos os meios a partir do estudo da temperatura de atomização sugerem que a melhor temperatura para atomização do As a partir das matrizes sólidas e aquosas é em 2300 °C quando são empregados 5 µg Pd(NO₃)₂ como modificador químico e 2400 °C na presença dos demais modificadores (ácido ascórbico, Ir e W). A Tabela 16 resume as temperaturas de pirólise e atomização para cada modificador químico otimizadas através deste estudo.

Tabela 16 - Temperaturas (T): atomização (a) e de pirólise (p), massa característica (m_o) e desvio padrão relativo (RSD) para As nos diferentes modificadores testados

Matriz	T_p (°C)	T_a (°C)	m_o (pg)	RSD (%)	Fundo Estruturado
Sem Modificador					
Solução Se 500 pg	1100	2400	28,9	8,9	Não
1570a Spinach Leaves	1200	2400	53,7	12,5	PO + Al
200 µg W					
Solução Se 500 pg	1200	2400	23,3	7,8	Não
1570a Spinach Leaves	1200	2400	25,8	11,4	PO + Al
100 µg ácido ascórbico					
Solução Se 500 pg	1400	2400	20,6	6,7	Não
1570a Spinach Leaves	1400	2400	22,8	11,3	PO + Al
5 µg Pd(NO ₃) ₂					
Solução Se 500 pg	1400	2300	19,1	5,8	Não
1570a Spinach Leaves	1400	2300	20,8	8,8	PO + Al
400 µg Ir					
Solução Se 500 pg	1300	2400	21,5	8,0	Não
1570a Spinach Leaves	1300	2400	24,1	10,2	PO + Al

Fonte: Autor

5.2 Parâmetros analíticos

5.2.1 Intervalo linear e limites de detecção

As figuras de mérito foram obtidas a partir dos programas de aquecimento otimizados pra cada elemento utilizando os modificadores químicos. As curvas resposta foram obtidas a partir de padrões aquosos e materiais de referência. Como branco analítico utilizou-se o conceito “massa zero” utilizando a plataforma de grafite apenas com o modificador químico quando necessário (VERREPT, 1993). O valor do limite de detecção em concentração foi obtido pela equação $C_L = a_L/m_{\max}$ (KURFÜRST, 1998).

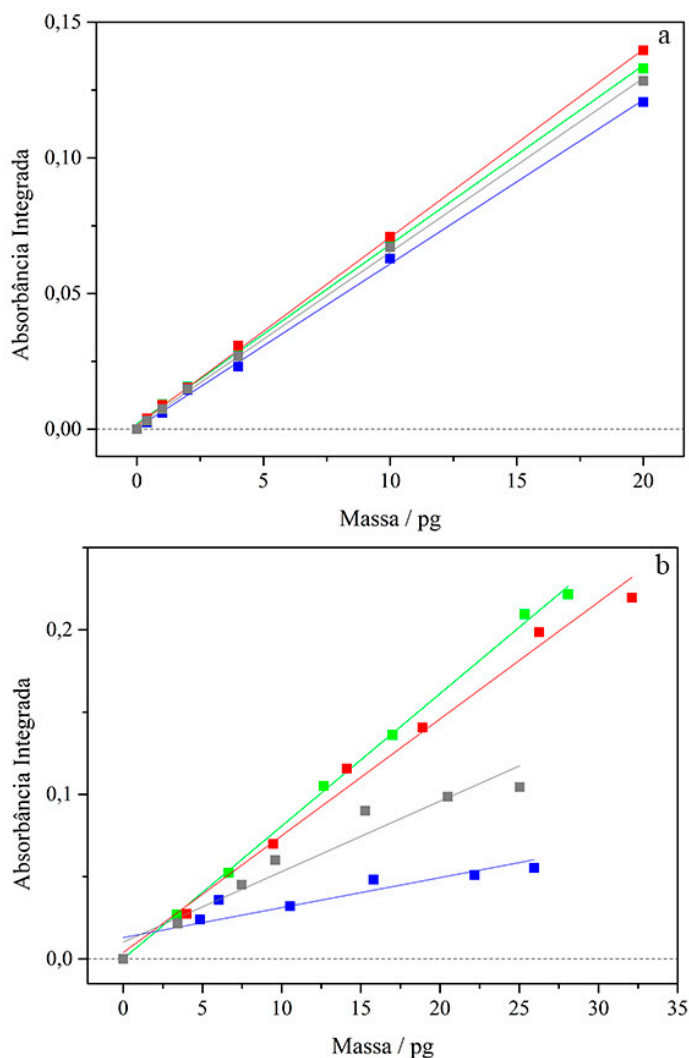
Embora os valores das massas características apontem indícios da viabilidade da calibração com soluções aquosas, estudos comparativos utilizando calibração entre os meios aquosos e sólidos foram feitos visando avaliar o comportamento do analito sob influência da natureza e do estado físico da matriz. Além disso, a variação da quantidade de amostra permite avaliar eficiência da otimização dos programas de aquecimento e do tipo de modificação química empregada (convencional ou permanente) para minimizar os efeitos provocados pelo aumento da massa da amostra a da concentração dos concomitantes.

5.2.1.1 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o cádmio

As curvas de resposta para Cd obtidas a partir de padrões aquosos e do material referência 1573a *Tomato Leaves* empregando diferentes modificadores químicos estão ilustradas na Figura 60, no qual observa-se que há uma correlação linear da absorbância integrada com a concentração até 20 pg empregando calibração aquosa na presença de todos os modificadores químicos (Figura 60).

Empregando-se o material de referência para calibração observou-se regiões lineares de 3,4 a 28,1 pg Cd utilizando a mistura Pd/Mg(NO₃)₂ e 4,0 a 26,2 pg Cd na presença de Pd(NO₃)₂. Nestes casos, obteve-se valores de sensibilidades próximos indicando que os efeitos de matriz foram mínimos dentro deste intervalo linear. Contudo, na presença da mistura Pd/Mg(NO₃)₂ a sensibilidade é ligeiramente maior, sugerindo que a presença de Mg influencie a atomização do Cd. Utilizando a plataforma termicamente modificada com W a correlação da absorbância com a massa de Cd não foi linear ($R < 0,98$). Em presença de Ru observou-se linearidade entre 3,3 e 15,2 pg Cd.

Figura 60 - Curvas de resposta para Cd em meio aquoso (a) no material de referência 1573a *Tomato Leaves* empregando 200 μg W (■), 400 μg Ru (■), 5 μg Pd(NO₃)₂ (■) e 5 μg Pd(NO₃)₂ + 2,5 μg Mg(NO₃)₂ (■)



Fonte: Autor

A Tabela 17 resume as figuras de mérito obtidas com os diferentes tipos de calibração, no qual observa-se que a sensibilidade obtida por calibração sólida na presença de W ou Ru foi significativamente menor do que empregando calibração aquosa, indicando um significativo efeito de matriz devido ao aumento de massa de amostra. Os menores limites de detecção bem como a maior sensibilidade foram obtidos na presença da mistura Pd/Mg(NO₃)₂.

Tabela 17 - Figuras de mérito para determinação de Cd em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	Pd(NO ₃) ₂	Pd/Mg(NO ₃) ₂	W	Ru
<i>Calibração com padrões aquosos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	6,57 10 ⁻³	6,93 10 ⁻³	6,01 10 ⁻³	6,41 10 ⁻³
R	0,9985	0,9993	0,9919	0,9904
LOD / ng g ⁻¹	0,19	0,15	0,37	0,43
<i>Calibração com padrões sólidos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	6,82 10 ⁻³	7,04 10 ⁻³	5,09 10 ⁻³	5,15 10 ⁻³
R	0,9916	0,9963	0,9783	0,9931
LOD / ng g ⁻¹	0,18	0,15	0,43	0,53

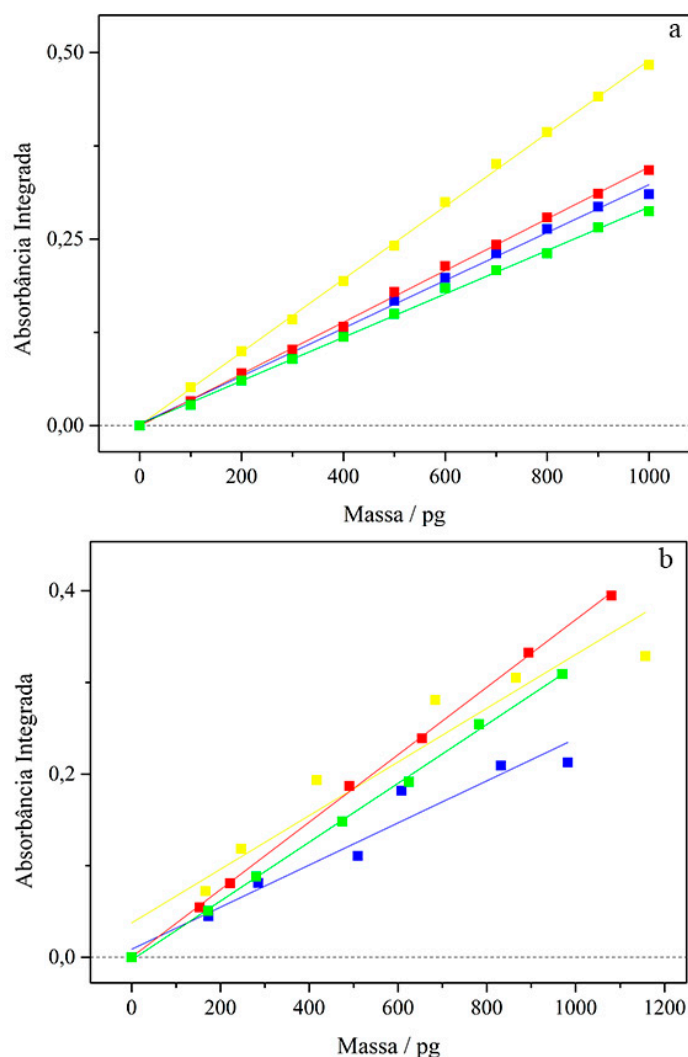
LOD = limite de detecção (3 x SD_{branco} / sensibilidade)**Fonte:** Autor

5.2.1.2 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o chumbo

Os intervalos lineares obtidos a partir das curvas de resposta para Pb utilizando padrões aquosos e o material referência 3246 *Ginkgo Biloba* na presença dos modificadores químicos estão ilustradas na Figura 61, no qual se observa uma correlação linear da absorbância com a concentração de Pb até 1000 pg na presença de todos os modificadores avaliados utilizando padrões aquosos.

A calibração feita com material certificado apresentou faixa linear de 153,8 a 1080,5 pg Pb na presença de Pd(NO₃)₂, 172,1 a 970,2 pg Pb na presença de Pd/Mg(NO₃)₂ e 166,8 a 684,2 pg Pb com o modificador NH₄H₂PO₄. No entanto não observou-se uma relação linear da absorbância com a massa de Pb empregando o modificador W, sugerindo um acentuado efeito de matriz com o aumento da massa na presença deste modificador. Na presença do modificador NH₄H₂PO₄ o intervalo linear e a sensibilidade obtidos com calibração sólida foram menores do que os correspondentes com calibração aquosa, indicando efeito de matriz a partir de 0,7 mg de massa de amostra (~680 pg Pb).

Figura 61 - Curvas de resposta para Pb em meio aquoso (a) e no material de referência 3246 *Ginkgo Biloba* (b) empregando 200 μg W (■), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (■), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ + 2,5 μg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (■) e 50 μg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (■)



Fonte: Autor

A Tabela 18 resume as figuras de mérito estabelecidas em cada condição. Comparando valores de sensibilidades obtidas nos meios aquoso e sólido com cada modificador percebe-se que os efeitos de matriz são menores na presença do modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Pd}/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Contudo, os melhores limites de detecção foram obtidos na presença do modificador $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

Tabela 18 - Figuras de mérito para determinação de Pb em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	Pd(NO ₃) ₂	Pd/Mg(NO ₃) ₂	NH ₄ H ₂ PO ₄	W
<i>Calibração com padrões aquosos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	3,47 10 ⁻⁴	2,91 10 ⁻⁴	4,88 10 ⁻⁴	3,20 10 ⁻⁴
R	0,9991	0,9968	0,9925	0,9974
LOD / ng g ⁻¹	7,3	11,7	4,2	8,5
<i>Calibração com padrões sólidos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	3,50 10 ⁻⁴	2,86 10 ⁻⁴	4,11 10 ⁻⁴	2,79 10 ⁻⁴
R	0,9989	0,9979	0,9772	0,9831
LOD / ng g ⁻¹	7,2	11,9	5,0	9,7

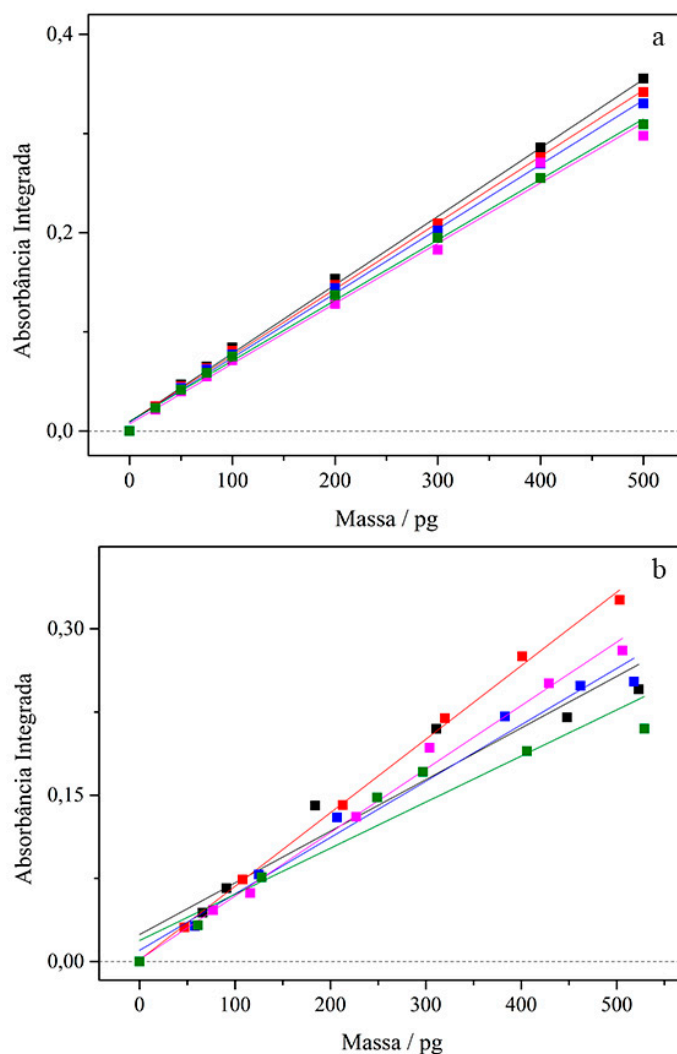
LOD = limite de detecção (3 x SD_{branco} / sensibilidade)**Fonte:** Autor

5.2.1.3 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o cobalto

As curvas de resposta para Co foram obtidas empregando padrões aquosos e o material de referência 1573a *Tomato Leaves* na ausência e presença de modificadores químicos estão ilustradas na Figura 62, no qual percebe-se uma correlação linear da absorbância com a concentração de Co até 500 pg para calibração aquosa em todas as condições avaliadas.

Entretanto, utilizando 1573a *Tomato Leaves* para calibração, a faixa linear ficou compreendida de 66 a 311 pg Co na ausência de modificador químico, 58 a 383 pg Co empregando W e 61 a 297 pg Co com o modificador Rh. Sem modificador químico e empregando as plataformas termicamente modificadas com W e Rh observou-se que utilizando massas próximas a 0,6 mg (330 ng g⁻¹ Co) há perda de linearidade devido aos efeitos de matriz. Utilizando os modificadores Pd(NO₃)₂ ou Mg(NO₃)₂, a faixa linear compreende o intervalo de 47 a 503 pg Co (Pd) e 78 a 506 pg Co (Mg) com sensibilidade semelhante a obtida com padrões aquosos, sugerindo poucos efeitos de matriz nestas condições (Tabela 19). Os menores limite de detecção foram obtidos na presença do modificador químico Pd(NO₃)₂.

Figura 62 - Curvas de resposta para Co em meio aquoso (a) e no material de referência 1573a *Tomato Leaves* (b) sem modificador químico (■) e na presença de 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO₃)₂ (■), 5 µg Mg(NO₃)₂ (■) e 200 µg Rh (■)



Fonte: Autor

Tabela 19 - Figuras de mérito para determinação de Co em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	SM*	W	Rh	Pd(NO ₃) ₂	Mg(NO ₃) ₂
<i>Calibração com padrões aquosos</i>					
Sensibilidade / s pg ⁻¹	6,98 10 ⁻⁴	6,41 10 ⁻⁴	6,21 10 ⁻⁴	6,69 10 ⁻⁴	5,83 10 ⁻⁴
R	0,9990	0,9986	0,9932	0,9991	0,9971
LOD / ng g ⁻¹	8,9	5,0	5,2	3,2	4,9
<i>Calibração com padrões sólidos</i>					
Sensibilidade / s pg ⁻¹	7,37 10 ⁻⁴	6,03 10 ⁻⁴	5,86 10 ⁻⁴	6,76 10 ⁻⁴	6,01 10 ⁻⁴
R	0,9931	0,9924	0,9902	0,9984	0,9971
LOD / ng g ⁻¹	8,4	5,3	5,5	3,1	4,7

LOD = limite de detecção (3 x SD_{branco} / sensibilidade)

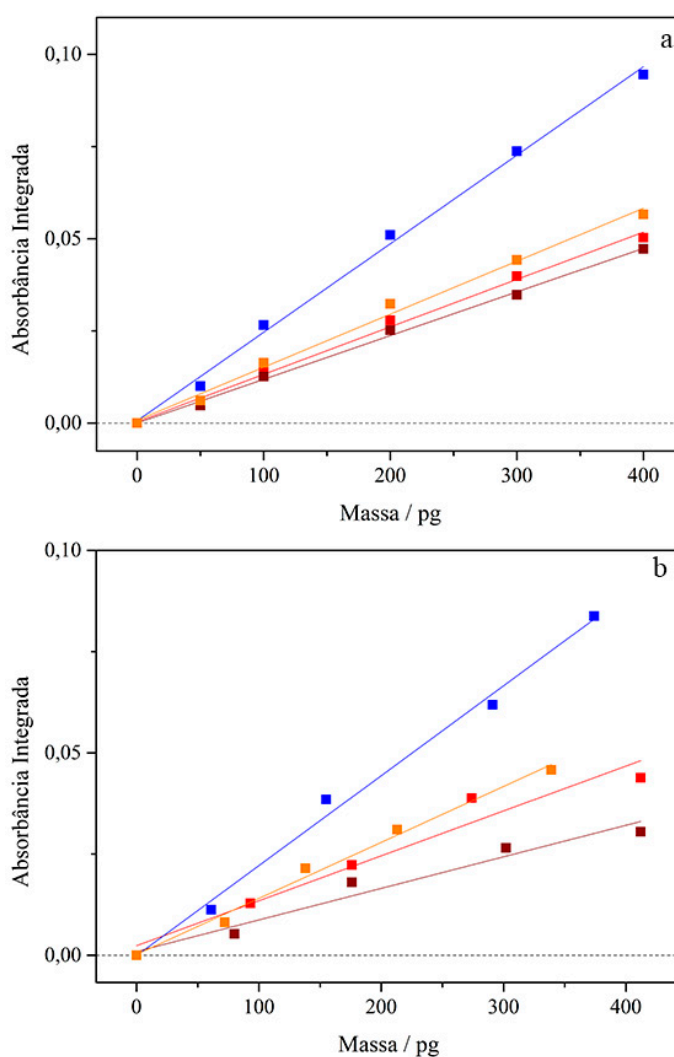
*sem modificador químico

Fonte: Autor

5.2.1.4 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o estanho

As curvas de resposta de Sn obtidas a partir de padrões aquosos e do material referência 1572 *Citrus Leaves* empregando diferentes modificadores químicos estão ilustradas na Figura 63, no qual se verifica que há uma correlação linear da absorbância com a concentração de Sn até 400 pg em meio aquoso em meio a todos os modificadores químicos avaliados.

Figura 63 - Curvas de resposta para Sn em meio aquoso (a) e no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (b) empregando 200 µg W (■), 5 µg Pd(NO₃)₂ (■), 400 µg Ir (■) e 100 µg ácido ascórbico (■)



Fonte: Autor

Utilizando o material de referência 1572 *Citrus Leaves* para calibração, a faixa linear ficou compreendida de 61 a 374 pg Sn para o modificador e W e 80 a 302 pg Sn para o modificador Ir. Na presença dos modificadores químicos $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e ácido ascórbico observa-se um intervalo linear de 93 a 274 pg Sn e 72 a 339 pg, respectivamente. Em todos os casos as sensibilidades obtidas pela calibração em ambos os meios são semelhantes, o que a princípio sugere poucos efeitos da matriz com o aumento da massa. A maior sensibilidade e os menores limites de detecção foram obtidos em presença da plataforma termicamente modificada com W (Tabela 20).

Tabela 20 - Figuras de mérito para determinação de Sn em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	W	Ir	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	ácido ascórbico
<i>Calibração com padrões aquosos</i>				
Sensibilidade / s pg^{-1}	$2,21 \cdot 10^{-4}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$	$1,25 \cdot 10^{-4}$	$1,36 \cdot 10^{-4}$
R	0,9928	0,9943	0,9912	0,9972
LOD / ng g^{-1}	24,5	66,2	61,7	43,6
<i>Calibração com padrões sólidos</i>				
Sensibilidade / s pg^{-1}	$2,16 \cdot 10^{-4}$	$0,91 \cdot 10^{-4}$	$1,38 \cdot 10^{-4}$	$1,41 \cdot 10^{-4}$
R	0,9949	0,9922	0,9910	0,9903
LOD / ng g^{-1}	25,0	76,4	55,8	42,1

LOD = limite de detecção ($3 \times \text{SD}_{\text{branco}}$ / sensibilidade)

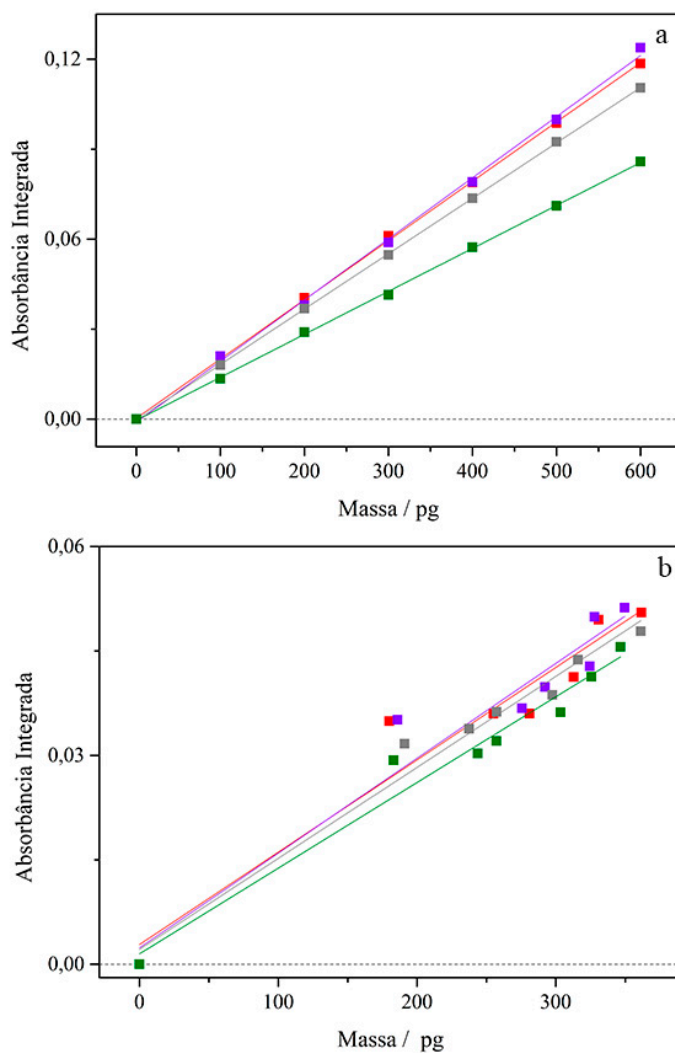
Fonte: Autor

5.2.1.5 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o selênio

As curvas de resposta para Se foram obtidas a partir de padrões aquosos e do material referência 1570a *Spinach Leaves* na presença de modificadores químicos e estão ilustradas na Figura 64. Observa-se uma correlação linear da absorbância com a concentração de Se até 600 pg em meio aquoso na presença de todos os modificadores químicos.

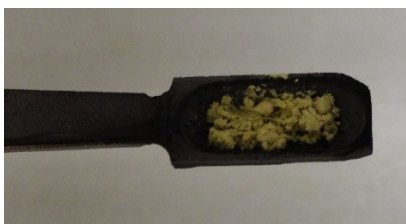
Empregando o material de referência 1570 a *Spinach Leaves* para calibração, observou-se um pronunciado efeito de matriz que não permitiu a obtenção de uma região linear. Para este estudo, não foram utilizadas massas maiores que 3,0 mg de amostra pois a densidade relativamente baixa da matriz vegetal não permitiu que quantidades maiores fossem adicionadas na plataforma (Figura 65).

Figura 64 - Curvas de resposta para Se em meio aquoso (a) e no material de referência 1570a *Spinach Leaves* (b) empregando 5 μg $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ (■), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (■), 400 μg Ru (■) e 400 μg Rh (■)



Fonte: Autor

Figura 65 - Plataforma de grafite com aproximadamente 2,0 mg do CRM 1570a *Spinach Leaves*



Fonte: Autor

Embora a etapa pirólise assistida com ar em 60 s a 600 °C tenha sido eficiente para decompor a matriz utilizando 3,0 mg de amostra, o efeito de matriz observado pode ser atribuído ao aumento dos concomitantes, que podem atuar como supressores da atomização do Se. Além disso a maior quantidade de massa pode dificultar a interação do Se com o modificador químico resultando na instabilidade observada (Tabela 21).

Tabela 21 - Figuras de mérito para determinação de Se em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	Ru	Ni(NO ₃) ₂	Pd(NO ₃) ₂	Rh
<i>Calibração com padrões aquosos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	1,85 10 ⁻⁴	2,07 10 ⁻⁴	1,96 10 ⁻⁴	1,44 10 ⁻⁴
R	0,9991	0,9976	0,9993	0,9981
LOD / ng g ⁻¹	53,4	40,1	31,3	71,0
<i>Calibração com padrões sólidos</i>				
Sensibilidade / s pg ⁻¹	1,31 10 ⁻⁴	1,36 10 ⁻⁴	1,32 10 ⁻⁴	1,23 10 ⁻⁴
R	0,9220	0,9325	0,9229	0,9101
LOD / ng g ⁻¹	75,4	60,9	46,5	83,2

LOD = limite de detecção (3 x SD_{branco} / sensibilidade)

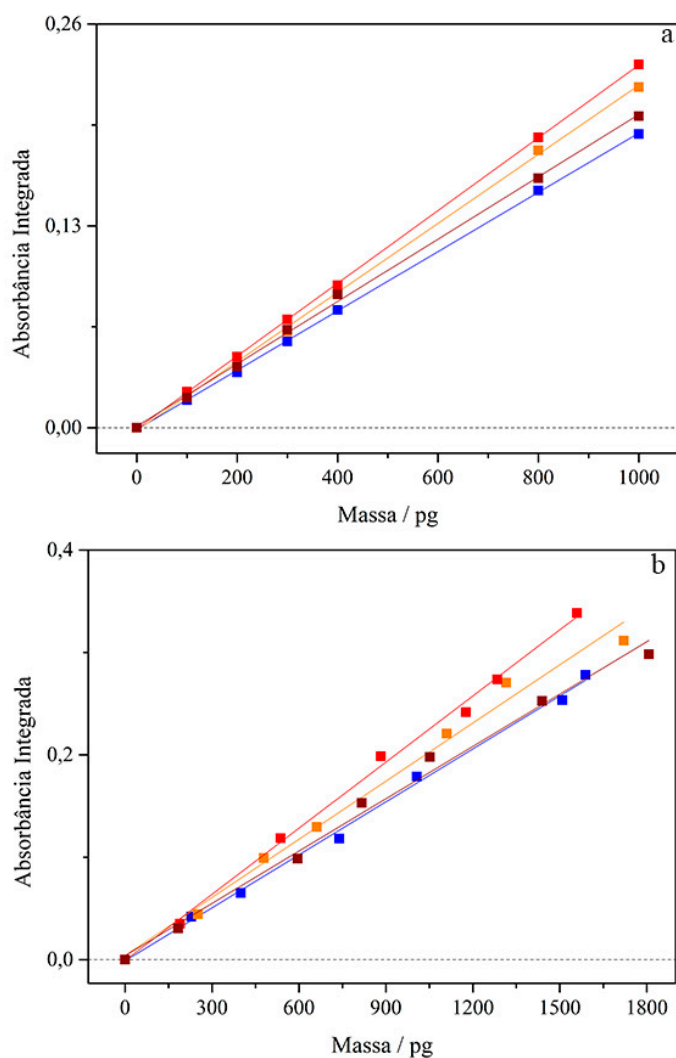
Fonte: Autor

5.2.1.6 Avaliação dos intervalos lineares e limites de detecção para o arsênio

Os intervalos lineares obtidos a partir das curvas de resposta de As foram feitos utilizando padrões aquosos e o material de referência 1572 *Citrus Leaves* na presença de modificadores químicos (Figura 66). É possível perceber que há uma correlação linear da absorbância com a massa de As até 1000 pg em meio aquoso na presença de todos os modificadores químicos avaliados.

Utilizando o material de referência 1572 *Citrus Leaves* a faixa linear ficou compreendida de 228,2 a 1588,4 pg As e 182,9 a 1807,3 pg As utilizando as plataformas termicamente modificadas com W e Ir, respectivamente. Empregando os modificadores convencionais Pd(NO₃)₂ e ácido ascórbico, observou-se intervalos lineares de 189,1 a 1559,3 pg As e 251,1 a 1720,5 pg As, respectivamente. Em todos os casos, obteve-se maior sensibilidade empregando calibração aquosa, sugerindo algum efeito supressor por parte da matriz. Os menores limites de detecção foram obtidos na presença do modificador Pd(NO₃)₂ (Tabela 22).

Figura 66 - Curvas de resposta para As em meio aquoso (a) e no material de referência 1572 *Citrus Leaves* (b) empregando 200 μg W (■), 5 μg $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (■), 400 μg Ir (■) e 100 μg ácido ascórbico (■)



Fonte: Autor

Tabela 22 - Figuras de mérito para determinação de As em plantas medicinais por SS HR-CS GFAAS

Parâmetros	W	ácido ascórbico	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	Ir
<i>Calibração com padrões aquosos</i>				
Sensibilidade / s pg^{-1}	$1,91 \cdot 10^{-4}$	$2,23 \cdot 10^{-4}$	$2,34 \cdot 10^{-4}$	$2,01 \cdot 10^{-4}$
R	0,9992	0,9978	0,9990	0,9941
LOD / ng g^{-1}	52,8	37,3	28,7	62,5
<i>Calibração com padrões sólidos</i>				
Sensibilidade / s pg^{-1}	$1,72 \cdot 10^{-4}$	$1,89 \cdot 10^{-4}$	$2,15 \cdot 10^{-4}$	$1,70 \cdot 10^{-4}$
R	0,9916	0,9953	0,9978	0,9901
LOD / ng g^{-1}	59,3	42,8	31,2	73,9

LOD = limite de detecção ($3 \times \text{SD}_{\text{branco}} / \text{sensibilidade}$)

Fonte: Autor

5.2.2 Avaliação da exatidão e precisão

A exatidão e precisão dos métodos desenvolvidos foi avaliada por meio da análise de materiais de referência empregando calibração com padrões aquosos.

5.2.2.1 Avaliação da exatidão e precisão para o cádmio

A exatidão e precisão dos métodos propostos para determinação de Cd em plantas medicinais foi feita pela análise de quatro materiais certificados (Tabela 23). Observa-se que empregando os modificadores químicos $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Pd/Mg}(\text{NO}_3)_2$, obtêm-se resultados concordantes com os valores certificados ao nível de 95% de confiança (*test t*). Entretanto, utilizando as plataformas termicamente modificadas com W ou Ru os resultados obtidos não apresentaram concordância com os valores certificados, o que provavelmente pode estar relacionado com os efeitos de matriz e dos concomitantes que dificultam a interação do analito com o modificador termicamente depositado na plataforma.

Tabela 23 - Resultados da determinação de Cd em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Pd/Mg}(\text{NO}_3)_2$	W	Ru
1515	$14,1 \pm 1,2$	$12,7 \pm 0,8$	$7,6 \pm 1,3$	$8,9 \pm 2,1$
3246	$19,2 \pm 1,4$	$21,4 \pm 1,6$	$15,1 \pm 1,0$	$18,2 \pm 1,5$
1572	$27,9 \pm 0,9$	$29,3 \pm 0,5$	$20,2 \pm 1,5$	$22,3 \pm 1,8$
1547	$23,4 \pm 1,9$	$24,8 \pm 1,2$	$17,9 \pm 0,9$	$19,2 \pm 1,1$

*Valores Certificados: 1515 *Apple Leaves*: $13,0 \pm 2,0 \text{ ng g}^{-1}$, 3246 *Ginkgo Biloba*: $20,8 \pm 1,0 \text{ ng g}^{-1}$; 1572 *Citrus Leaves*: $30,0 \pm 10,0 \text{ ng g}^{-1}$, 1547 *Peach Leaves*: $26 \pm 3,0 \text{ ng g}^{-1}$

Fonte: Autor

Após avaliação das figuras de mérito, da exatidão e precisão obtidas por meio da análise dos materiais de referência, considerou-se o modificador $\text{Pd/Mg}(\text{NO}_3)_2$ mais adequado para determinação de Cd em plantas medicinais utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução por amostragem direta de sólidos e portanto os demais estudos foram feitos somente com este modificador. Para fins comparativos os materiais de referência foram analisados empregando calibração sólida na presença do modificador $\text{Pd/Mg}(\text{NO}_3)_2$ e os resultados foram concordantes com os obtidos com calibração aquosa ao nível de 95% (*test t*) (Tabela 24).

Tabela 24 - Resultados da determinação de Cd em ng g^{-1} ($n=5$) empregando $\text{Pd/Mg(NO}_3)_2$ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM

*CRMs	A	S
1515	$12,7 \pm 0,8$	$13,5 \pm 1,0$
3246	$21,4 \pm 1,6$	$22,9 \pm 2,1$
1572	$29,3 \pm 0,5$	$31,2 \pm 1,2$
1547	$24,8 \pm 1,2$	$27,1 \pm 1,4$

*Valores Certificados: 1515 *Apple Leaves*: $13,0 \pm 2,0 \text{ ng g}^{-1}$, 3246 *Ginkgo Biloba*: $20,8 \pm 1,0 \text{ ng g}^{-1}$, 1572 *Citrus Leaves*: $30,0 \pm 10,0 \text{ ng g}^{-1}$, 1547 *Peach Leaves*: $26 \pm 3,0 \text{ ng g}^{-1}$

Fonte: Autor

5.2.2.1 Avaliação da exatidão e precisão para o chumbo

A avaliação da exatidão dos métodos desenvolvidos para determinação de Pb em plantas medicinais foi feita por meio da análise de cinco materiais de referência (Tabela 25). Os melhores resultados foram obtidos na presença de $\text{Pd(NO}_3)_2$ ou $\text{Pd/Mg(NO}_3)_2$, sendo concordantes com os valores certificados ao nível de 95% de confiança (*test t*). Utilizando os modificadores químicos $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ co-injetado e W termicamente depositado os valores não foram concordantes para alguns materiais de referência, possivelmente devido a problemas relacionados com efeitos de matriz.

Tabela 25 - Resultados da determinação de Pb em ng g^{-1} ($n=5$) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	$\text{Pd(NO}_3)_2$	$\text{Pd/Mg(NO}_3)_2$	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	W
1515	475 ± 22	452 ± 31	426 ± 40	411 ± 38
1570a	204 ± 15	183 ± 19	151 ± 28	134 ± 36
3246	1004 ± 49	965 ± 73	797 ± 118	827 ± 81
1547	885 ± 41	857 ± 26	793 ± 35	771 ± 23
1575a	166 ± 18	157 ± 22	136 ± 11	122 ± 27

*Valores Certificados: 1515 *Apple Leaves*: $470 \pm 24 \text{ ng g}^{-1}$, 1570a *Spinach Leaves*: 200 ng g^{-1} (valor referência), 3246 *Ginkgo Biloba*: $995 \pm 30 \text{ ng g}^{-1}$, 1547 *Peach Leaves*: $870 \pm 30 \text{ ng g}^{-1}$, 1575a *Pine Needles*: $167 \pm 15,0 \text{ ng g}^{-1}$ (valor referência).

Fonte: Autor

Uma análise criteriosa das figuras de mérito (sensibilidade e limite de detecção) e dos resultados de exatidão e precisão obtidos por meio análise dos materiais de referência indicam que o modificador $\text{Pd(NO}_3)_2$ é o mais adequado para determinação de Pb em plantas medicinais utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução por amostragem direta de sólidos, assim os demais estudos foram conduzidos utilizando somente este modificador. O desempenho deste modificador foi avaliado por meio da comparação com resultados obtidos utilizando calibração com padrões sólidos (materiais

de referência) na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$. Os resultados obtidos com os dois tipos de calibração foram concordantes ao nível de 95 % (*test t*) (Tabela 26).

Tabela 26 - Resultados da determinação de Pb em ng g^{-1} (n=5) empregando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM

*CRMs	A	S
1515	475 ± 22	482 ± 31
1570a	204 ± 15	220 ± 29
3246	1004 ± 49	1139 ± 93
1547	885 ± 41	861 ± 67
1575a	166 ± 18	179 ± 20

*Valores Certificados: 1515 *Apple Leaves*: 470 ± 24 ng g^{-1} 1570a *Spinach Leaves* 200 ng g^{-1} (valor referência), 3246 *Ginkgo Biloba*: 995 ± 30 ng g^{-1} ; 1547 *Peach Leaves*: 870 ± 30 ng g^{-1} , 1575a *Pine Needles*: 167 ± 15,0 ng g^{-1} (valor referência).

Fonte: Autor

5.2.2.3 Avaliação da exatidão e precisão para o cobalto

A exatidão dos métodos propostos para determinação de Co foi feita por meio da análise de três materiais de referência (Tabela 27). Na presença dos modificadores $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, os resultados obtidos para Co foram concordantes com os valores certificados ao nível de 95% de confiança (*test t*). Contudo, não observou-se uma boa concordância entre os valores obtidos e os certificados na ausência de modificadores ou na presença das plataformas termicamente modificadas com W ou Rh, que pode estar relacionado a problemas de correção do fundo estruturado por influência da matriz. Sem a correção por LSBC (SiO) os resultados obtidos foram superestimados e não concordam com o valor certificado.

Tabela 27 - Resultados da determinação de Co em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	Sem modificador	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	W	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Rh
Sem correção					
1573a	723 ± 88	690 ± 78	650 ± 60	683 ± 53	701 ± 82
1570a	481 ± 38	502 ± 42	542 ± 62	488 ± 39	513 ± 68
1575a	85 ± 6	77 ± 10	81 ± 7	101 ± 8	94 ± 8
Correção com SiO					
1573a	514 ± 28	559 ± 41	500 ± 31	519 ± 56	509 ± 43
1570a	326 ± 29	399 ± 15	347 ± 30	362 ± 25	313 ± 29
1575a	50 ± 4	62 ± 5	50 ± 5	54 ± 5	41 ± 5

*Valores Certificados: 1570a *Spinach Leaves*: 390 ± 50 ng g^{-1} , 1573a *Tomato Leaves*: 570 ± 20 ng g^{-1} ; 1575a *Pine Needles*: 61 ± 2 ng g^{-1} (valor referência).

Fonte: Autor

O melhor desempenho com relação à exatidão, precisão e figuras de mérito (limite de detecção e sensibilidade) foi observado na presença do modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ que foi considerado mais adequado para determinação de Co em plantas medicinais utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução por amostragem direta de sólidos e assim os demais estudos foram realizados somente com este modificador. Para fins comparativos, o Co foi determinado nos materiais de referência empregando calibração sólida na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, cujo os resultados foram concordantes ao nível de 95% (*test t*) com os obtidos por calibração aquosa.

Tabela 28 - Resultados da determinação de Co em ng g^{-1} ($n=5$) empregando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM

*CRMs	A	S
1573a	559 ± 41	535 ± 49
1570a	399 ± 15	357 ± 31
1575a	62 ± 5	56 ± 5

*Valores Certificados: 1570a *Spinach Leaves*: $390 \pm 50 \text{ ng g}^{-1}$, 1573a *Tomato Leaves*: $570 \pm 20 \text{ ng g}^{-1}$; 1575a *Pine Needles*: $61 \pm 2 \text{ ng g}^{-1}$ (valor referência).

Fonte: Autor

5.2.2.4 Avaliação da exatidão e precisão para o estanho

A avaliação da exatidão dos métodos desenvolvidos para determinação de Sn em plantas medicinais foi feita por meio da análise de dois materiais de referência (Tabela 29). Na presença dos modificadores W ou ácido ascórbico, os resultados obtidos para Sn foram semelhantes ao valor referência estabelecido. Entretanto, na presença modificadores Ir ou $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ os resultados foram menos exatos, o que pode estar relacionado com a eficiência da correção dos sinais de fundo ou devido aos efeitos de matriz.

É possível perceber que os valores são mais próximos quando o espectro de PO é corrigido. Isto porque este espectro sobrepõe temporalmente o sinal do Sn, diferentemente do espectro de SiO que em alguns casos aparece defasado temporalmente. Observa-se que a correção do fundo ineficiente observada na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ resulta em valores superestimados com relação aos valores referência.

Tabela 29 - Resultados da determinação de Sn em ng g^{-1} ($n=5$) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	W	Ir	ácido ascórbico
Sem correção				
1572	412 ± 26	324 ± 15	302 ± 37	336 ± 52
1515	350 ± 54	288 ± 38	284 ± 47	281 ± 31
Correção com PO				
1572	408 ± 31	247 ± 12	280 ± 25	261 ± 11
1515	293 ± 29	181 ± 15	205 ± 13	210 ± 17
Correção com SiO				
1572	410 ± 29	318 ± 16	290 ± 12	302 ± 25
1515	333 ± 49	270 ± 23	256 ± 33	265 ± 19
Correção PO + SiO				
1572	405 ± 27	244 ± 13	278 ± 19	257 ± 14
1515	299 ± 25	191 ± 13	207 ± 18	202 ± 18

*Valor referência: 1572 *Citrus Leaves*: 240 ng g^{-1} , 1515 *Apple Leaves*: $<200 \text{ ng g}^{-1}$

Fonte: Autor

Assim, devido melhor desempenho com relação à exatidão, precisão e as figuras de mérito (sensibilidade e limite de detecção) o modificador W termicamente depositado foi considerado mais adequada para determinação de Sn em plantas medicinais utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução por amostragem direta de sólidos e portanto os demais estudos foram feitos com este modificador. Para fins comparativos realizou-se a determinação de Sn nos materiais de referência utilizando calibração em meio sólido, cujo os valores obtidos foram concordantes ao nível de 95% (*test t*) com os determinados por calibração aquosa (Tabela 30).

Tabela 30 - Resultados da determinação de Sn em ng g^{-1} ($n=5$) obtido empregando W como modificador químico permanente: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM

*CRMs	A	S
1572	244 ± 13	232 ± 27
1515	191 ± 13	174 ± 16

*Valor referência: 1572 *Citrus Leaves*: 240 ng g^{-1} , 1515 *Apple Leaves*: $<200 \text{ ng g}^{-1}$

Fonte: Autor

5.2.2.5 Avaliação da exatidão e precisão para o selênio

Para avaliar a exatidão métodos propostos para determinação de Se utilizou-se dois materiais de referência (Tabela 31). Os resultados obtidos foram concordantes com os valores certificados ao nível de 95% de confiança (*test t*) quando $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ou $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ foram utilizados como modificadores químicos. No entanto, os resultados obtidos com o uso das plataformas termicamente modificadas com Ru ou Rh não foram concordantes com o valor certificado, que pode ser consequência de problemas na correção do fundo ou por decorrência dos efeitos de matriz.

Os valores obtidos sem correção por LSBC foram superestimados, indicando que os sinais gerados pela presença da molécula diatômica de PO contribuem para o aumento aparente do sinal e portanto sua correção é necessária. Em virtude dos problemas relacionados a efeitos de matriz não foi possível a comparação com calibração com padrões sólidos. Contudo, o melhor desempenho com relação à exatidão, precisão e as figuras de mérito (sensibilidade e limite de detecção) foi obtido utilizando $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ como modificador sendo este considerado o mais adequado para determinação de Se em plantas medicinais empregando a técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução por amostragem direta de sólidos e portanto os demais estudos foram feitos com este modificador.

Tabela 31 - Resultados da determinação de Se em ng g^{-1} ($n=5$) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	Ru	Rh
Sem correção				
1570a	225 ± 38	209 ± 25	228 ± 23	245 ± 31
1547	301 ± 31	208 ± 32	217 ± 27	232 ± 18
Correção com PO				
1570a	125 ± 12	122 ± 15	139 ± 15	145 ± 18
1547	131 ± 15	138 ± 17	147 ± 12	151 ± 11

*Valor certificado: 1570a *Spinach Leaves*: $117 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$, 1547 *Peach Leaves*: $120 \pm 9 \text{ ng g}^{-1}$

Fonte: Autor

5.2.2.6 Avaliação da exatidão e precisão para o arsênio

A exatidão dos métodos propostos para determinação de As em plantas foi feita mediante análise de três materiais de referência (Tabela 32). Na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ou ácido ascórbico os valores obtidos foram concordantes com valores certificados ao nível de 95% (*test t*). Porém, resultados não concordantes foram obtidos utilizando as plataformas termicamente modificadas com Ir ou W.

Tabela 32 - Resultados da determinação de As em ng g^{-1} (n=5) nos CRMs com calibração aquosa

*CRMs	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	ácido ascórbico	Ir	W
Sem correção				
1573a	445 ± 81	501 ± 77	414 ± 44	399 ± 59
1572	2295 ± 215	2365 ± 183	1841 ± 190	1986 ± 174
OBTL-5	1794 ± 239	2006 ± 150	1321 ± 263	1587 ± 169
Correção com PO				
1573a	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
1572	2973 ± 177	2839 ± 183	2544 ± 223	2582 ± 115
OBTL-5	1320 ± 143	1434 ± 105	1109 ± 173	1274 ± 187
Correção com IBC				
1573a	276 ± 39	253 ± 27	287 ± 35	301 ± 26
1572	2314 ± 168	2179 ± 152	1873 ± 176	1986 ± 128
OBTL-5	1577 ± 191	1371 ± 139	1003 ± 163	1253 ± 111
Correção com PO + IBC				
1573a	165 ± 22	186 ± 13	201 ± 16	176 ± 21
1572	2995 ± 152	2901 ± 213	2683 ± 207	2721 ± 132
OBTL-5	725 ± 94	790 ± 81	823 ± 91	801 ± 60

*Valores certificados : 1573a *Tomato Leaves*: 112±4 ng g^{-1} , 1572 *Citrus Leaves* 3100±100 ng g^{-1} ; INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves*: 668±86 ng g^{-1}

Os resultados obtidos sem correção de fundo estruturado (PO) ou empregando apenas a correção de fundo interativa (IBC) não foram concordantes com os valores certificados. Contudo, empregando apenas a correção por mínimos quadrados observa-se que apenas os valores obtidos para o material de referência 1572 *Citrus Leaves* são concordantes com os certificados. Isto porque este material possui em sua composição cerca de 90 ng mg^{-1} Al, e como a massa utilizada para análise desse material é de aproximadamente 0,5 mg (45 ng mg^{-1} Al) a quantidade de Al presente no atomizador não é suficiente para gerar sinais de fundo. No entanto os materiais de referência 1573a *Tomato Leaves* e INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves* apresentam em sua composição cerca de 2000 e 600 ng mg^{-1} Al, respectivamente, ou seja, concentrações em que há manifestação do sinal de fundo provocado pelo Al. Assim, os valores obtidos de As a partir do material de referência INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves* foram

concordantes com o certificado apenas quando a correção por LSBC (PO) foi feita em conjunto com a correção por IBC (Al). O material de referência 1573a *Tomato Leaves* não apresentou valor concordante com o certificado, mesmo sendo observada uma correção eficiente dos sinais de fundo. Isto pode estar relacionado à concentração relativamente baixa de As neste material de referência, que é próxima do limite de quantificação ($94,7 \text{ ng g}^{-1} \text{ As}$) mesmo quando massas em torno de 1,0 mg são analisadas. Para fins comparativos a determinação de As foi feita nos materiais de referência utilizando calibração em meio sólido na presença de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$. Os resultados obtidos foram concordantes ao nível de 95% (*test t*) (Tabela 33).

Tabela 33 - Resultados da determinação de As em ng g^{-1} ($n=5$) obtido empregando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ como modificador químico: (A) calibração com meio aquoso, (S) calibração com CRM

*CRMs	A	S
1573a	165 ± 22	181 ± 19
1572	2995 ± 152	2879 ± 192
OBTL-5	725 ± 94	779 ± 101

*Valores certificados : 1573a *Tomato Leaves*: $112 \pm 4 \text{ ng g}^{-1}$, 1572 *Citrus Leaves* $3100 \pm 100 \text{ ng g}^{-1}$; INCT-OBTL-5 *Tobacco Leaves*: $668 \pm 86 \text{ ng g}^{-1}$.

Fonte: Autor

Em virtude da variação da concentração de Al em tecidos vegetais, é recomendável a aplicação simultânea dos algoritmos de correção LSBC (PO) e IBC (Al) para determinação de As em plantas medicinais.

5.3 Massa mínima e fator de homogeneidade

Um dos pontos mais críticos na amostragem de sólidos refere-se a homogeneidade dos materiais sólidos. Isto porque o emprego de massas relativamente pequenas requer testes que comprovem a representatividade da amostra. Apesar dos materiais de referência inferirem sobre exatidão dos métodos mesmo empregando massas relativamente pequenas, deve-se considerar que estes materiais são produzidos para garantir uma boa homogeneidade para massas de no mínimo 100 mg, embora alguns trabalhos da literatura tem demonstrado que esses valores podem ser inferiores.

Os erros observados durante um ensaio de micro homogeneidade estão associados a homogeneidade da amostra, bem como ao método empregado na avaliação. Assim, além da distribuição do analito na amostra, os resultados obtidos a partir de pequenas massas de

amostra podem ser comprometidos com relação a exatidão e precisão por consequência dos limites de detecção da técnica utilizada no ensaio.

O estudo de massa mínima e da homogeneidade foi feito para os elementos Cd, Co, Pb e Sn utilizando duas amostras de plantas medicinais com concentrações distintas de cada analito. Vale aqui destacar que, embora similares, as amostras apresentam composição variável com relação a outros constituintes. Assim, além da homogeneidade e da concentração do analito na amostra deve-se considerar os efeitos provocados pelos concomitantes sobre o sinal do analito, que pode ser diferente dependendo da matriz avaliada.

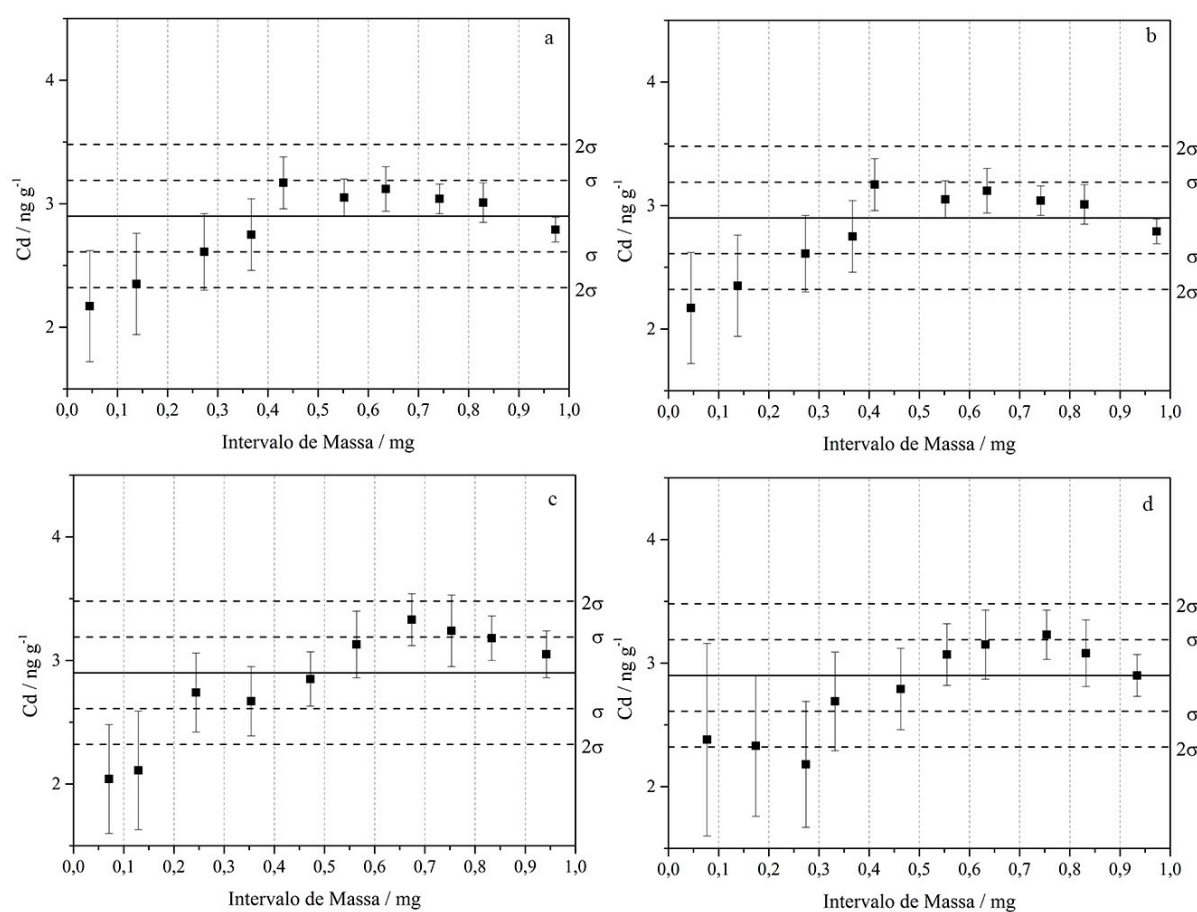
Para o estudo, diferentes frações de uma mesma amostra foram submetidas a dois tipos de moagem. Em cada fração avaliou-se a massa mínima através da pesagem de massas crescentes em 10 sub-intervalos. As concentrações médias obtidas e os seus respectivos erros (barras verticais) fornecem uma ideia da exatidão e precisão das medidas dentro de cada intervalo ($n=5$). A linha cheia horizontal representa a concentração de referência, que foi determinada por ICP-MS a partir de amostras digeridas e as linhas tracejadas horizontais o desvio padrão (σ) que no caso considerou-se como 10%, que é o valor normalmente aceito em amostragem direta de sólidos. A homogeneidade foi determinada pelo cálculo do fator de homogeneidade (H_e) em cada intervalo de massa que o estudo foi realizado.

5.3.1 Avaliação da homogeneidade para cádmio

Os estudos de massa mínima e homogeneidade para Cd foram feitos com as amostras Crajirú (*Arrebidaea chica Verlot*) e Guaco (*Mikania glomerata*) que apresentaram $2,9 \pm 0,1$ e $291,2 \pm 2,1$ ng g⁻¹ Cd, respectivamente. A partir da Figura 67 observa-se que para amostra Crajirú massas menores que 0,1 mg moídas pelo moinho criogênico geram resultados subestimados, ou seja fora da margem de erro estabelecida (10%), com desvios padrão relativo da ordem de 15 %. No caso das amostras moídas por moinho de facas (10 e 20 mesh), os resultados foram menos precisos quando cerca 0,2 mg de amostra foram analisadas, apresentando desvios padrão relativo próximos a 30%. Contudo deve-se considerar que os resultados imprecisos observados quando 0,2 mg de amostra são analisados estão associados a quantidade relativamente baixa de Cd contida nesta massa de amostra (0,58 ng Cd), que é próxima do LOQ (0,45 ng g⁻¹). Em todas as condições analisadas os valores de H_e foram <10 , o que sugerem que o Cd encontra-se homogêneo nesta amostra no intervalo de massa estudado. Observa-se ainda que os valores de H_e se tornam maiores com o aumento do tamanho da partícula (Tabela 34).

Os estudos de massa mínima para a amostra Guaco (*Mikania glomerata*) são apresentados na Figura 68. Observa-se que durante todo o intervalo de massa os valores médios obtidos em cada sub-intervalo apresentam-se próximos ao valor referência (Figura 68). Entretanto, é possível perceber que o aumento do tamanho da partícula diminui a precisão dos resultados, principalmente quando massas inferiores a 0,1 mg são empregadas. Isto pode ser confirmado através dos valores de H_e obtidos em cada condição de moagem, no qual verifica-se que os valores aproximam-se de 10 quando as amostras são moídas no moinho de facas com peneira de 10 mesh (Tabela 35). É interessante notar que embora esta amostra apresente em sua composição um teor cerca dez vezes maior de Cd, quando comparada a amostra Crajirú, o analito está distribuído de forma menos homogênea sobre o tecido vegetal, o que claro está relacionado a características peculiares de cada amostra.

Figura 67 - Influência da massa mínima na determinação de Cd em Crajirú (*Arrebidaea chica* Verlot) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

Tabela 34 - Estimativa do valor de H_e em Crajirú (*Arrebidaea chica* Verlot)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	4,5	4,0	5,4	7,9
0,1 - 0,2	4,5	5,1	7,0	9,8
0,2 - 0,3	3,2	5,2	5,5	9,6
0,3 - 0,4	4,4	5,9	5,7	7,7
0,4 - 0,5	3,8	4,2	4,6	7,3
0,5 - 0,6	4,8	3,5	6,5	5,9
0,6 - 0,7	3,7	4,4	5,2	7,3
0,7 - 0,8	4,0	3,2	7,8	5,4
0,8 - 0,9	5,8	4,8	5,1	7,9
0,9 - 1,0	4,6	3,3	6,0	5,7

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

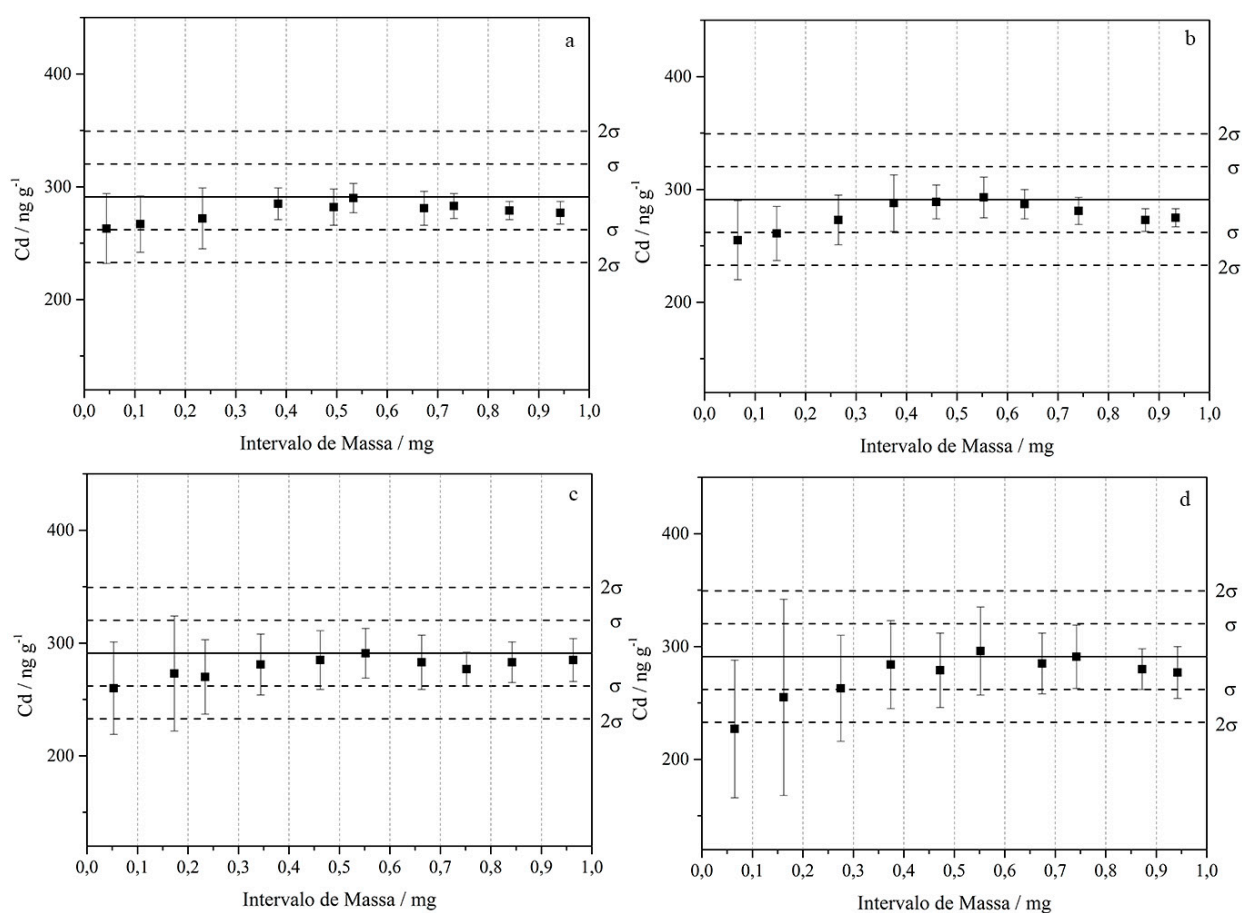
Fonte: Autor**Figura 68** - Influência da massa mínima na determinação de Cd em Guaco (*Mikania glomerata*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)**Fonte:** Autor

Tabela 35 - Estimativa do valor de H_e em Guaco (*Mikania glomerata*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	2,5	3,5	3,6	6,3
0,1 - 0,2	3,1	3,2	8,0	10,3
0,2 - 0,3	4,8	4,3	5,9	9,4
0,3 - 0,4	3,0	5,4	5,5	8,4
0,4 - 0,5	4,0	3,5	6,2	8,1
0,5 - 0,6	3,3	4,6	5,6	9,9
0,6 - 0,7	4,4	3,6	7,0	7,8
0,7 - 0,8	3,3	3,6	4,6	8,3
0,8 - 0,9	2,6	3,4	5,8	6,0
0,9 - 1,0	3,5	2,9	6,4	8,0

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

Fonte: Autor

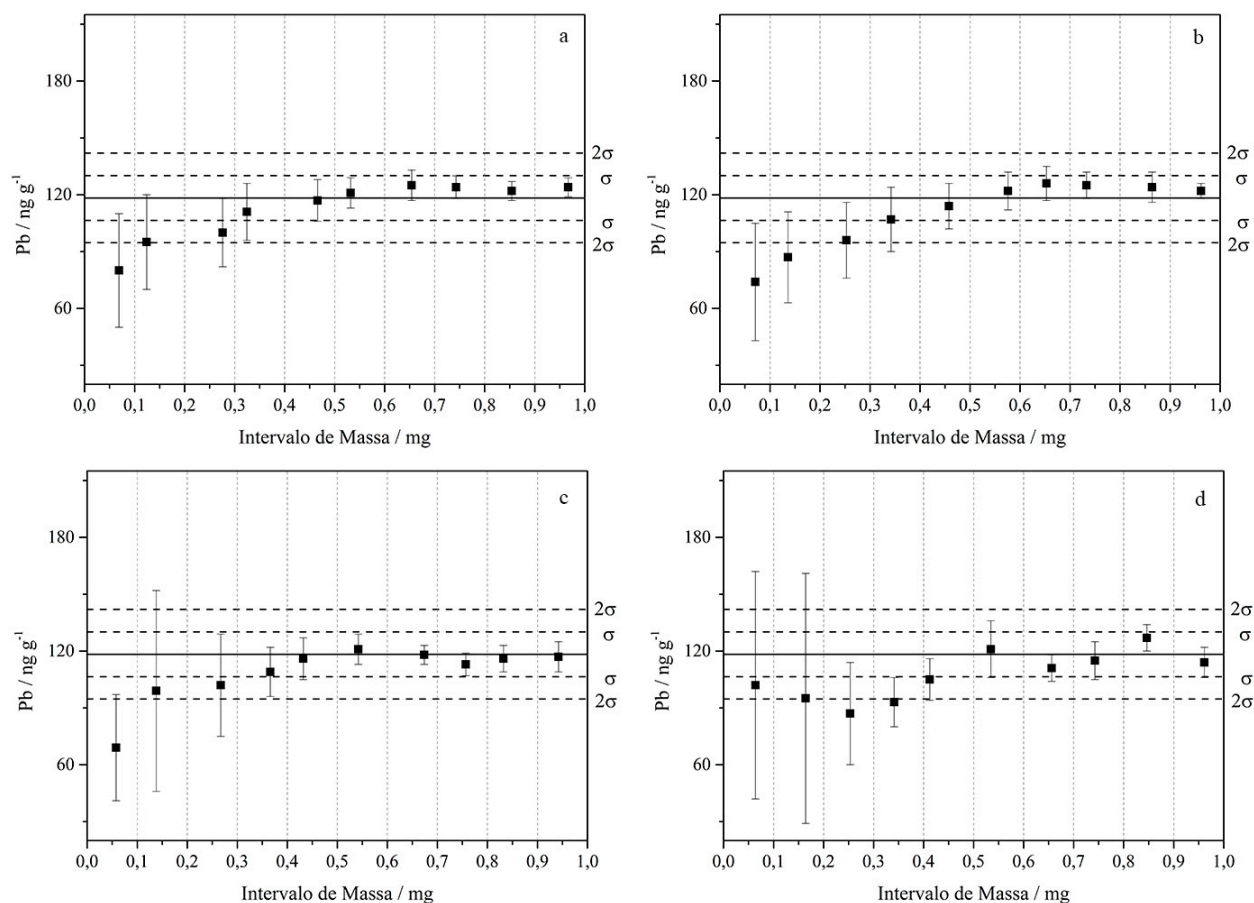
5.3.2 Avaliação da homogeneidade para chumbo

Os estudos de massa mínima e homogeneidade para o Pb foram feitos com as amostras Guaçatonga (*Casearia sylvestris*) e Erva cidreira (*Melissa officinalis*) que apresentaram em sua composição $118,3 \pm 2,8$ e $2116,3 \pm 98,1,3$ ng g⁻¹ Pb respectivamente. A Figuras 69 ilustra a influência da massa mínima na determinação de Pb na amostra Guaçatonga, no qual observou-se que os resultados menos precisos foram obtidos quando massas inferiores a 0,2 mg foram utilizadas. Massas menores que este valor, resultaram em valores subestimados, com desvio padrão relativo entre 28 e 58 %. Os resultados mais precisos foram obtidos com moagem criogênica, porém resultados muito similares foram obtidos utilizando o moinho de facas com peneira de 30 mesh. Os altos valores de desvio padrão relativo observados para massas menores que 0,3 mg indicam pouca homogeneidade da amostra com relação a Pb, o que reflete em valores de H_e maiores que 10 (Tabela 36). Além disso, massas muito pequenas (<0,1 mg) apresentam quantidades de Pb próximas ao LOD.

No caso da amostra Erva cidreira (*Melissa officinalis*), os valores obtidos foram próximos ao valor referência quando esta foi moída em moinho criogênico ou moinho de facas com peneira de 30 mesh empregando massas maiores que 0,2 mg (Figura 70). Utilizando o moinho de facas com peneira de 10 e 20 mesh os resultados foram menos precisos e subestimados quando massas menores que 0,5 mg foram utilizadas no estudo, que pode ser resultado da pouca homogeneidade da amostra. Isto reflete diretamente nos valores de H_e que são maiores que 10 quando massas menores que 0,5 mg de são utilizadas após serem submetidas a estas condições de moagem. Valores subestimados também são

observados quando se utiliza massas maiores que 0,9 mg, fato que pode ser atribuído ao aumento do efeito de matriz.

Figura 69 - Influência da massa mínima na determinação de Pb em Guaçatonga (*Casearia sylvestris*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

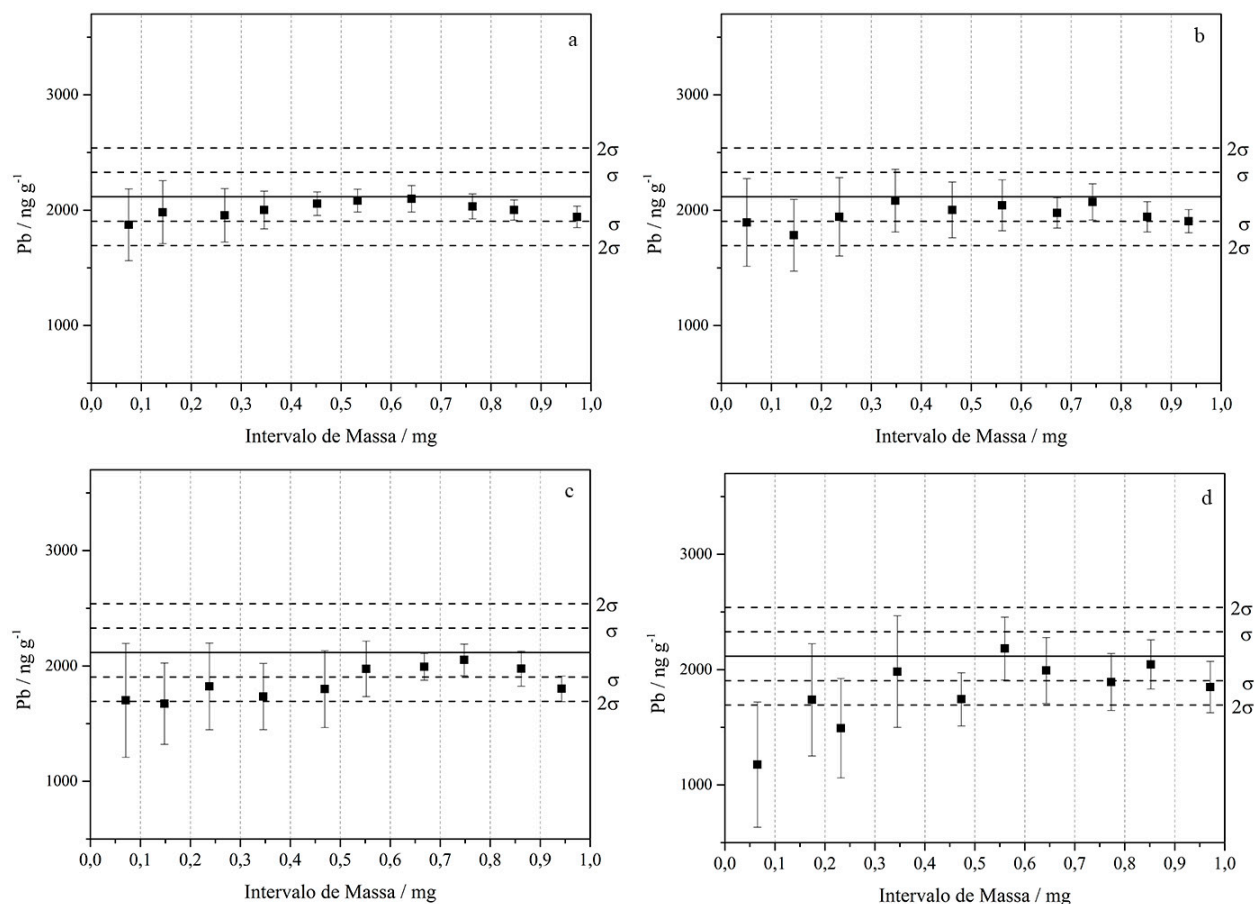
Tabela 36 - Estimativa do valor de H_e em Guaçatonga (*Casearia sylvestris*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	11,19	12,6	12,7	14,9
0,1 - 0,2	9,27	10,2	19,9	28,1
0,2 - 0,3	9,46	10,5	14,2	15,6
0,3 - 0,4	7,66	8,9	7,2	8,7
0,4 - 0,5	6,49	6,7	6,2	6,7
0,5 - 0,6	4,82	6,2	4,9	9,1
0,6 - 0,7	5,18	5,8	3,5	5,0
0,7 - 0,8	4,17	4,8	4,7	7,4
0,8 - 0,9	3,79	6,0	5,5	5,1
0,9 - 1,0	4,01	3,1	6,8	6,7

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

Fonte: Autor

Figura 70 - Influência da massa mínima na determinação de Pb em Erva cidreira (*Melissa officinalis*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

Tabela 37 - Estimativa do valor de H_e em Erva cidreira (*Melissa officinalis*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	4,6	6,4	8,7	13,5
0,1 - 0,2	5,2	6,3	7,7	11,7
0,2 - 0,3	6,7	9,0	10,6	13,6
0,3 - 0,4	4,9	7,6	9,7	14,3
0,4 - 0,5	3,6	8,3	11,5	10,3
0,5 - 0,6	3,6	8,7	9,1	9,3
0,6 - 0,7	4,7	5,8	4,8	9,5
0,7 - 0,8	4,8	6,8	6,3	9,1
0,8 - 0,9	4,1	6,3	7,1	9,5
0,9 - 1,0	4,7	5,0	5,8	8,6

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

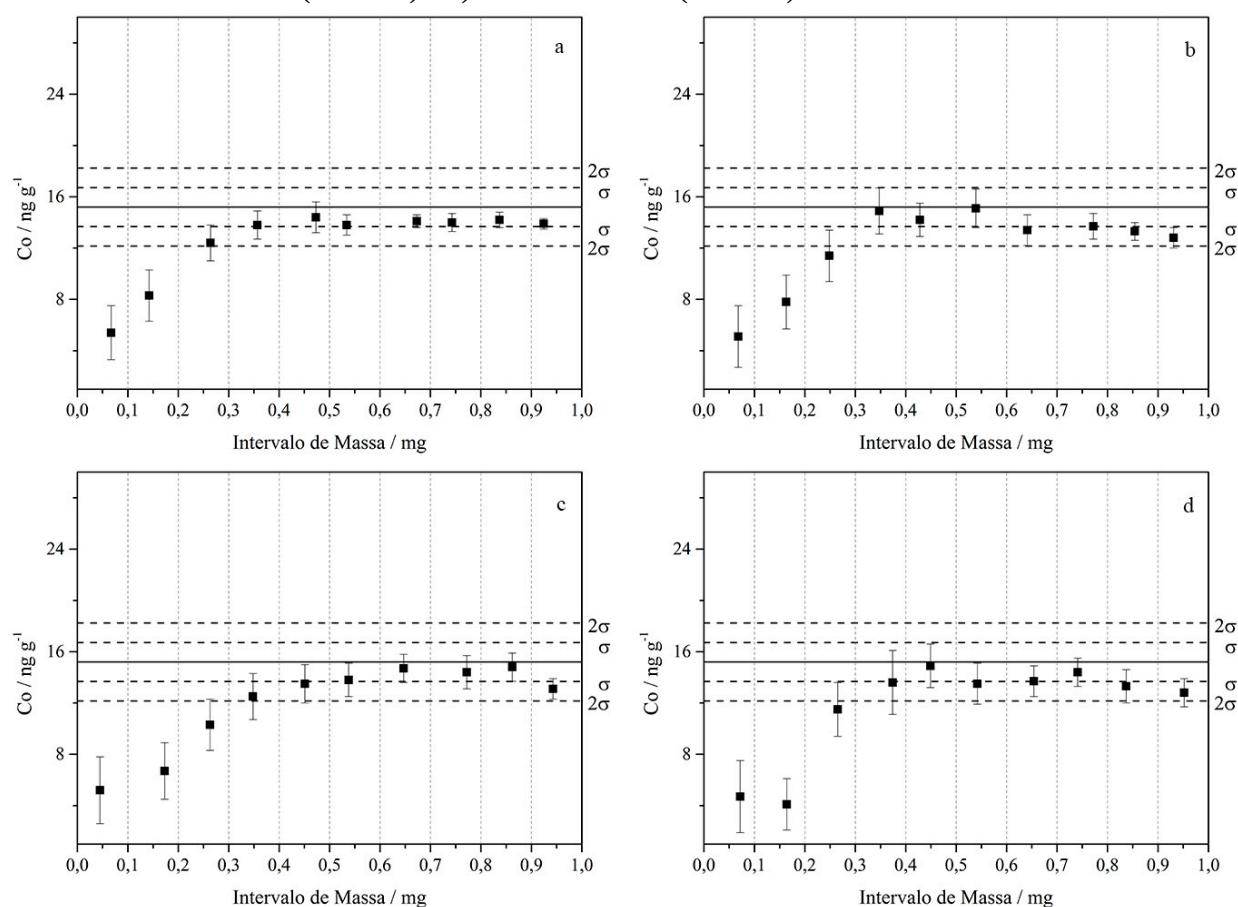
Fonte: Autor

5.3.3 Avaliação da homogeneidade para o cobalto

Os estudos de massa mínima e homogeneidade para o Co foram feitos com as amostras Quebra pedra (*Phyllanthus niruri* L.) e Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*) que apresentaram $15,2 \pm 0,7$ e $1282,7 \pm 67,2$ ng g⁻¹ Co respectivamente. É possível observar através da Figura 71 que os valores mais precisos são obtidos quando se emprega a moagem criogênica e o moinho de facas com peneira de 30 mesh. Em geral, observou-se que massas menores que 0,2 mg de amostra geram resultados menos preciso subestimados, o qual pode estar relacionado com a pouca quantidade de Co contida nessa massa, que é próxima ao valor de LOD. Entretanto, utilizando o moinho de facas com peneira de 10 mesh valores subestimados são observados abaixo de 0,3 mg de amostra com valores de RSD próximo a 50%. Este fato pode ser evidenciado através dos valores de H_e que chegam próximos a 60 nesta condição (Tabela 38).

Os estudos de massa mínima com a amostra Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*) mostram melhor homogeneidade durante o intervalo estudado, cujo os maiores valores de desvio padrão relativo observados foram na ordem de 20 % (10 mesh). A partir da Figura 72 observa-se que valores menos preciso são obtidos quando se utiliza o moinho de facas, principalmente com peneira de 10 mesh. Observa-se também valores subestimados quando massas menores que 0,2 mg e maiores que 0,9 mg são utilizadas, o que pode ser atribuído a homogeneidade da amostra e ao efeito de matriz. Contudo, os valores de H_e obtidos com o estudo sugerem que, independentemente do tipo de moagem empregada, o material é satisfatoriamente homogêneo dentro do intervalo de massa estudado (Tabela 39).

Figura 71 - Influência da massa mínima na determinação de Co em Quebra pedra (*Phyllanthus niruri* L.) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

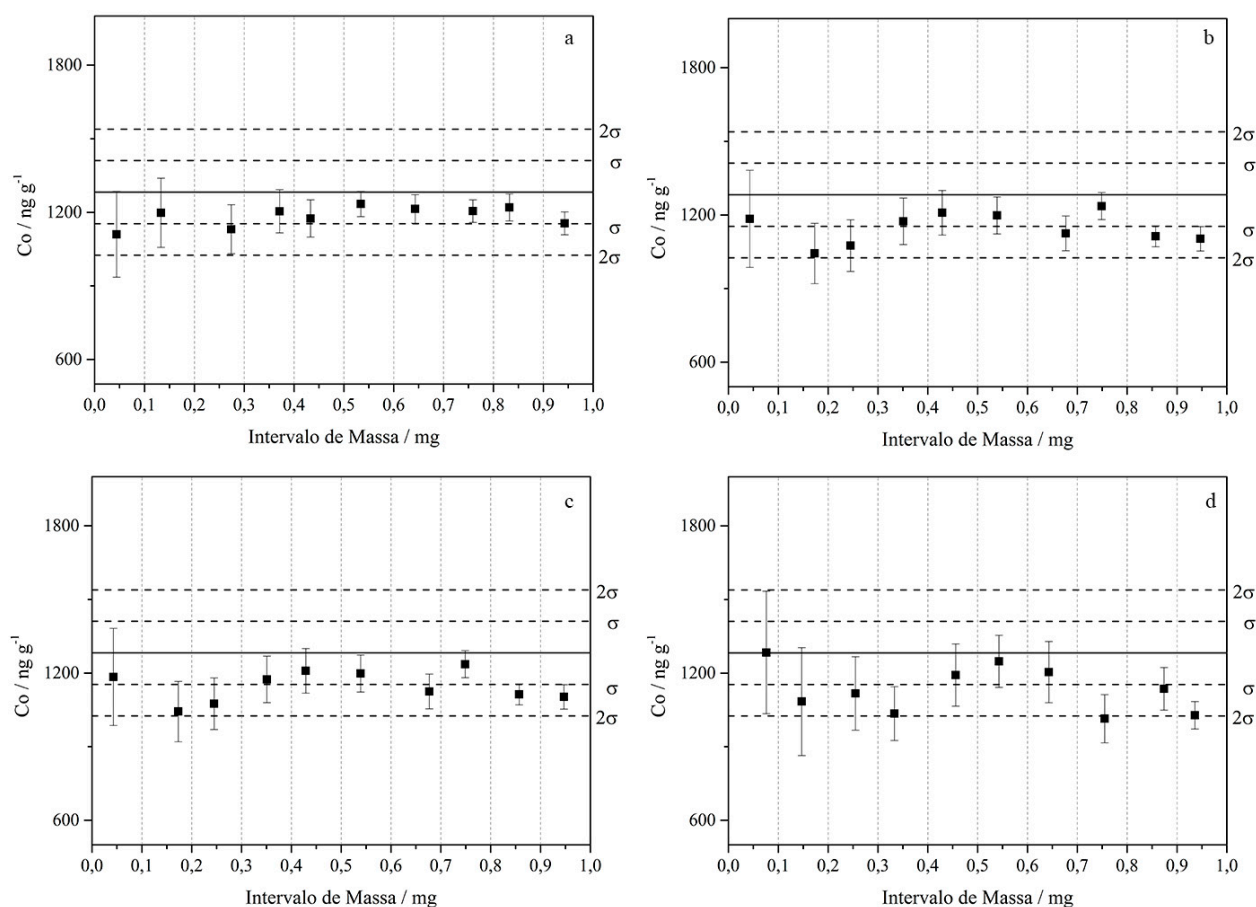
Tabela 38 - Estimativa do valor de H_e em Quebra pedra (*Phyllanthus niruri* L.)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	10,1	12,3	10,6	57,1
0,1 - 0,2	8,5	11,2	13,7	20,3
0,2 - 0,3	8,6	9,3	10,3	13,7
0,3 - 0,4	9,5	7,5	8,2	11,5
0,4 - 0,5	7,2	6,0	7,0	7,5
0,5 - 0,6	6,1	7,1	6,8	9,0
0,6 - 0,7	5,8	7,0	5,9	6,9
0,7 - 0,8	4,9	6,2	8,0	6,4
0,8 - 0,9	3,9	4,8	6,7	8,9
0,9 - 1,0	3,5	6,0	5,9	8,4

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

Fonte: Autor

Figura 72 - Influência da massa mínima na determinação de Co em Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

Tabela 39 - Estimativa do valor de H_e em Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	3,3	4,8	4,9	5,4
0,1 - 0,2	4,0	4,9	6,9	7,8
0,2 - 0,3	4,7	4,8	6,6	7,2
0,3 - 0,4	4,6	4,5	5,6	6,0
0,4 - 0,5	4,2	4,9	4,9	7,2
0,5 - 0,6	3,2	4,6	5,5	6,0
0,6 - 0,7	3,8	5,2	5,7	8,3
0,7 - 0,8	3,2	3,9	4,6	8,2
0,8 - 0,9	4,1	3,5	6,9	7,2
0,9 - 1,0	4,0	4,4	5,2	5,2

*CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

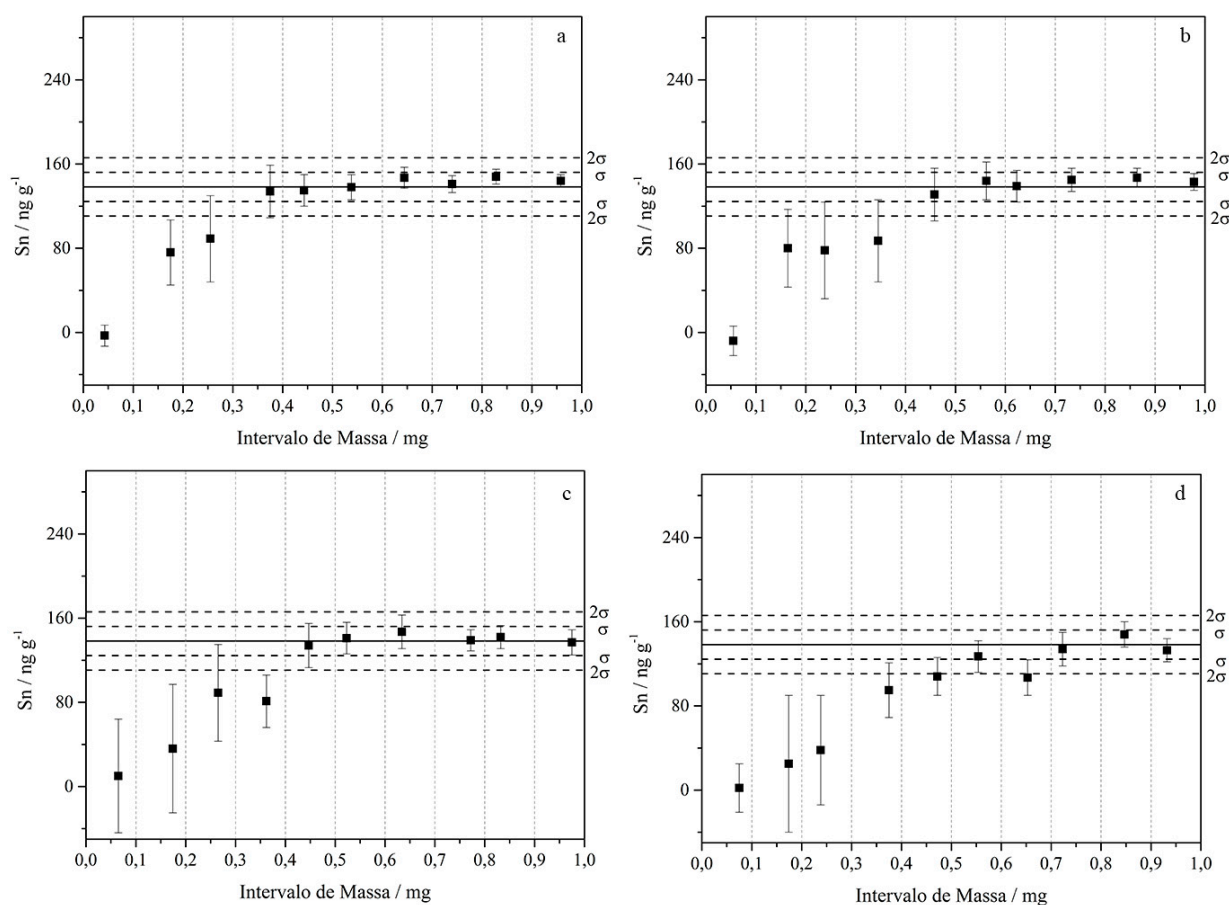
Fonte: Autor

5.3.4 Avaliação da homogeneidade para o estanho

A massa mínima e a homogeneidade para o Sn foram determinadas com as amostras Erva cidreira (*Melissa officinalis*) e Espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*) que apresentaram $138,3 \pm 4,0$ e $351,4 \pm 4,9$ ng g⁻¹ Sn respectivamente. A Figura 73 mostra que massas menores que 0,4 mg da amostra Erva cidreira (*Melissa officinalis*) geram resultados subestimados e com altos valores de RSD (>50%) independentemente do tipo de condição de moagem empregada. Isto ocorre porque massas menores que 0,3 mg apresentam quantidades de Sn menores que o LOD, gerando sinais analíticos muito baixos podendo ser influenciados pela variação do ruído instrumental. É possível observar que a medida que se aumenta o tamanho das partículas, os resultados são menos precisos. A partir dos dados expostos na Tabela 40, observa-se que, a homogeneidade obtida em massas menores que 0,5 mg não é satisfatória para as amostras que foram moídas em moinho de facas ($H_e > 10$).

Com relação a amostra Espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*), observa-se que os valores obtidos quando moagem é feita por moinho criogênico ou moinho de facas com peneira de 30 mesh, são muito próximos do valor referência (Figura 74). No entanto, utilizando o moinho de facas com peneiras de 10 ou 20 mesh os valores são menos precisos e subestimados para massas menores que 0,3 mg. Nesta condição, observa-se valores de desvio padrão relativo da ordem de 40%, o que pode ser atribuído ao fato da quantidade de Sn presente nessa massa de amostra estar entre o limite de detecção e quantificação. Mesmo assim, os valores de H_e mostram que a homogeneidade não é satisfatória somente no caso em que o moinho de facas é utilizado com a peneira de 10 mesh (Tabela 41).

Figura 73 - Influência da massa mínima na determinação de Sn em Erva cidreira (*Melissa officinalis*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

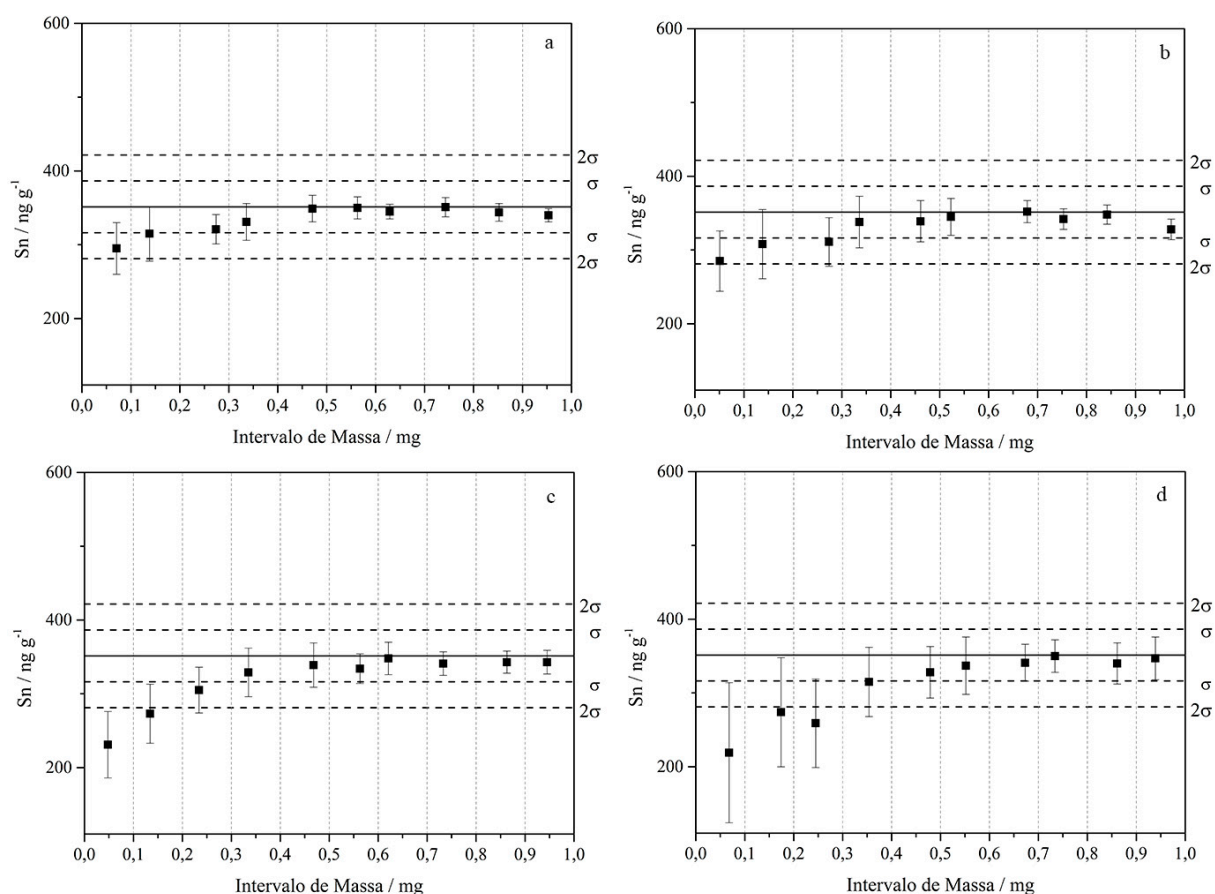
Tabela 40 - Estimativa do valor de H_e em Erva cidreira (*Melissa officinalis*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	-	-	-	-
0,1 - 0,2	17,1	19,8	70,7	111,5
0,2 - 0,3	24,6	27,5	27,6	63,9
0,3 - 0,4	11,6	26,3	17,2	16,8
0,4 - 0,5	7,4	12,9	10,5	11,5
0,5 - 0,6	6,3	9,5	7,7	8,5
0,6 - 0,7	5,3	8,5	8,7	13,2
0,7 - 0,8	4,9	6,5	6,4	10,2
0,8 - 0,9	4,3	5,8	7,3	7,5
0,9 - 1,0	4,1	5,4	8,5	8,0

CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

Fonte: Autor

Figura 74 - Influência da massa mínima na determinação de Sn em Espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*) moídas em: a) moinho criogênico; b) moinho de facas (30 mesh); c) moinho de facas (20 mesh) e d) moinho de facas (10 mesh)



Fonte: Autor

Tabela 41 - Estimativa do valor de H_e em Espinheira santa (*Maytenus ilicifolia*)

Intervalo de massa / mg	$H_e / \%mg^{1/2}$			
	CR	FC30	FC20	FC10
0,0 - 0,1	3,6	5,0	4,3	12,9
0,1 - 0,2	4,4	4,1	5,4	11,3
0,2 - 0,3	3,4	4,5	4,9	11,5
0,3 - 0,4	4,3	4,1	5,8	8,9
0,4 - 0,5	3,6	5,3	6,1	7,4
0,5 - 0,6	3,2	4,2	4,4	8,3
0,6 - 0,7	2,3	4,0	5,0	6,0
0,7 - 0,8	3,4	3,7	4,0	5,4
0,8 - 0,9	3,2	4,5	4,1	7,4
0,9 - 1,0	2,6	4,4	4,5	8,1

CR: moinho criogênico; FC: moinho de facas (10 mesh, 20 mesh e 30 mesh)

Fonte: Autor

5.4 Análise nas amostras de plantas medicinais

Os métodos desenvolvidos para determinação de As, Cd, Co, Pb, Se e Sn por amostragem direta de sólidos foram aplicados para determinação em dezoito amostras de plantas medicinais que estão liberadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para produção de fitoterápicos. Todas as amostras utilizadas neste procedimento foram moídas por moagem criogênica. Os resultados obtidos foram comparados aos obtidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Tabelas 42 a 44).

Empregando o método proposto, a concentração de Cd nas amostras, variou de 3,2 a 287,2 ng g⁻¹ (Tabela 42). No caso das amostras em que a concentração de Cd foi relativamente elevada, massas em torno de 0,15 mg foram empregadas para análise, assim como massas em torno de 1,0 mg foram empregadas para as amostras com baixas concentrações. Observa-se que o método proposto apresenta sensibilidade significativamente maior quando comparado a técnica de LS GFAAS convencional no qual o Cd foi determinado em apenas cinco das dezoito amostras. Empregando a técnica de ICP-MS é possível observar que os valores obtidos foram concordantes ao nível de 95 % (*test t*). As concentrações de Cd ficaram abaixo do limite recomendado pela Organização Mundial de Saúde (300 ng g⁻¹).

Para o As (Tabela 42), observa-se que nenhuma amostra apresentou concentrações acima do limite de quantificação. Em função da alta concentração de Al em algumas amostras de planta e da presença constante do fundo estruturado provocado pela presença de moléculas diatômicas, o método desenvolvido para determinação de As por amostragem direta de sólidos utilizou dois recursos de correção de fundo, o LSBC e o IBC. Este último por sua vez, reduz a sensibilidade por volta de 30%. As análises foram feitas utilizando massas de até 1,0 mg, porém nenhum valor foi maior que o LOD. O As não é um elemento que está presente naturalmente nas plantas, cujas quantidades presentes dependem de diversos fatores, dentre os quais a contaminação dos solos em que as plantas são cultivadas.

As concentrações de Co determinadas por amostragem direta de sólidos variaram de 14,7 a 1195,7 ng g⁻¹ (Tabela 43). Empregando a técnica de LS GFAAS o Co foi determinado apenas na amostra Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*). Os resultados obtidos pela técnica de ICP-MS e o método proposto foram concordantes ao nível de 95 % (*test t*) e sugerem que o método desenvolvido apresenta aplicação para um amplo intervalo de concentrações e também que a correção por LSBC é eficiente para corrigir o fundo neste intervalo em que o Co foi determinado nas plantas medicinais.

As concentrações de chumbo determinadas pelo método proposto variaram entre 124,2 e 1946,1 ng g⁻¹ (Tabela 43). Apenas 3 amostras foram determinadas pela técnica de LS GFAAS, o que reflete uma significativa diferença de sensibilidade entre as duas técnicas. Este fato pode estar atribuído à linha analítica recomendada para análise em LS GFAAS (283,3 nm) apresentar cerca de 40% de sensibilidade relativa. A preferência por esta linha de menor sensibilidade em GFAAS é justificada pela presença de fundo estruturado causado por moléculas diatômicas de PO e que podem não ser totalmente corrigidas pelos corretores baseados no efeito Zeeman. Entretanto, os resultados foram concordantes ao nível de 95% (*test t*) com os obtidos por análise em ICP-MS. As concentrações de Pb ficaram abaixo do limite recomendado pela Organização Mundial de Saúde (10.000 ng g⁻¹).

As concentrações de Sn determinadas pelo método proposto variaram de 142,8 a 342,6 ng g⁻¹ (Tabela 44). Em virtude da baixa concentração, nenhuma amostra apresentou concentrações em níveis detectáveis por GFAAS. Além disso, devido a problemas com interferências espectrais causados por moléculas diatômicas de PO, a linha analítica recomendada para análise (286,3 nm) possui cerca de 55% de sensibilidade relativa. Empregando a técnica de ICP-MS os resultados obtidos foram concordantes ao nível de 95%.

O Se não foi determinado pelas técnicas analíticas empregadas em nenhuma das amostras, mesmo empregando massas de até 3,0 mg de amostra no caso da amostragem direta de sólidos (Tabela 44) o que sugere que neste tipo de amostra o Se esteja ausente ou em concentrações relativamente muito baixas, menores que o LOD (Tabela 44).

Tabela 42 - Resultados em ng g^{-1} ($n=5$) para As e Cd em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Amostra	As			Cd		
	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP MS	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP-MS
Boldo	<LOD	<LOD	<LOD	$7,7 \pm 0,5$	<LOD	$8,0 \pm 0,4$
Camomila	<LOD	<LOD	<LOD	$89,4 \pm 2,2$	<LOQ	$87,4 \pm 1,4$
Carqueja	<LOD	<LOD	<LOD	$163,6 \pm 3,5$	$161,4 \pm 1,8$	$158,6 \pm 2,8$
Cavalinha	<LOD	<LOD	<LOD	$11,1 \pm 0,2$	<LOD	$10,8 \pm 0,1$
Chapéu de couro	<LOD	<LOD	<LOD	$5,4 \pm 0,3$	<LOD	$5,8 \pm 0,2$
Crajirú	<LOD	<LOD	<LOD	$3,2 \pm 0,2$	<LOD	$2,9 \pm 0,1$
Dente de leão	<LOD	<LOD	<LOD	$171,7 \pm 1,1$	$169,0 \pm 2,0$	$173,0 \pm 1,8$
Erva cidreira	<LOD	<LOD	<LOD	$123,8 \pm 5,3$	$120,6 \pm 2,7$	$120,6 \pm 2,7$
Erva doce	<LOD	<LOD	<LOD	$40,1 \pm 2,7$	<LOD	$38 \pm 1,3$
Espinheira santa	<LOD	<LOD	<LOD	$22,8 \pm 1,9$	<LOD	$19,7 \pm 1,6$
Graviola	<LOD	<LOD	<LOD	$13,4 \pm 0,9$	<LOD	$13,4 \pm 0,9$
Guaçatonga	<LOD	<LOD	<LOD	$32,9 \pm 1,9$	<LOD	$29,8 \pm 1,3$
Guaco	<LOD	<LOD	<LOD	$287,2 \pm 8,5$	$289,2 \pm 2,5$	$291,2 \pm 2,1$
Hortelã	<LOD	<LOD	<LOD	$26,9 \pm 1,5$	<LOD	$27,5 \pm 0,9$
Pata de vaca	<LOD	<LOD	<LOD	$38,9 \pm 0,9$	<LOD	$41,1 \pm 2,6$
Sabugueiro	<LOD	<LOD	<LOD	$15,6 \pm 0,8$	<LOD	$14,7 \pm 0,1$
Quebra pedra	<LOD	<LOD	<LOD	$189,9 \pm 2,7$	$185,3 \pm 1,9$	$194,3 \pm 1,5$
Unha de gato	<LOD	<LOD	<LOD	$23,5 \pm 1,7$	<LOD	$20,8 \pm 1,2$

SS HR-CS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 0,15 (Cd); 28,7 (As)

LS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 17,3 (Cd); 141,1 (As)

ICP MS: LOD (ng g^{-1}): 0,27 (Cd); 47,8 (As)

LOQ: $3,3 \times \text{LOD}$

Tabela 43 - Resultados em ng g^{-1} ($n=5$) para Co e Pb em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Amostra	Co			Pb		
	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP MS	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP MS
Boldo	116,7 ± 9,3	<LOD	121,8 ± 6,8	371,2 ± 21,4	<LOD	389 ± 11,8
Camomila	144,5 ± 8,9	<LOD	155,5 ± 4,7	309,4 ± 12,5	<LOD	312,7 ± 8,9
Carqueja	164,0 ± 7,1	<LOD	167,1 ± 5,3	942,8 ± 43,2	<LOD	934,1 ± 28,7
Cavalinha	260,7 ± 16,4	<LOQ	272,1 ± 13,7	965,4 ± 22,1	<LOD	1004 ± 56,6
Chapéu de couro	1195,7 ± 84,0	1239,2 ± 55,0	1282,7 ± 67,2	882,1 ± 93,6	<LOD	956 ± 36,1
Crajirú	271,5 ± 13,4	<LOQ	280,2 ± 9,7	518,7 ± 16,2	<LOD	499,7 ± 14,8
Dente de leão	219,6 ± 7,4	<LOQ	215,1 ± 5,7	1882,6 ± 120,4	1905,2 ± 57,1	2011,8 ± 83,4
Erva cidreira	238,8 ± 14,2	<LOQ	228,1 ± 6,9	1946,1 ± 65,3	2017,4 ± 77,9	2116,3 ± 98,1
Erva doce	623,7 ± 45,8	<LOQ	655,3 ± 39,2	763,9 ± 17,8	<LOD	778,2 ± 22,0
Espinheira santa	126,3 ± 3,9	<LOD	124,0 ± 2,9	752,5 ± 48,2	<LOD	744,2 ± 35,5
Graviola	58,9 ± 3,8	<LOD	55,1 ± 0,8	449,6 ± 21,8	<LOD	430,1 ± 10,2
Guaçatonga	25,7 ± 1,4	<LOD	<LOQ	124,2 ± 7,4	<LOD	118,3 ± 2,8
Guaco	115,7 ± 6,3	<LOD	109,7 ± 2,1	827,9 ± 37,7	<LOD	810,7 ± 24,0
Hortelã	473,9 ± 35,2	<LOQ	479,0 ± 15,8	1269,2 ± 40,1	<LOQ	1307,6 ± 22,7
Pata de vaca	276,5 ± 18,4	<LOQ	269,7 ± 18,3	181,9 ± 12,6	<LOD	195,1 ± 18,6
Sabugueiro	28,1 ± 1,9	<LOD	<LOQ	1340,7 ± 99,5	<LOQ	1200,5 ± 81,3
Quebra pedra	14,7 ± 1,2	<LOD	<LOQ	1853,4 ± 110,2	1870,1 ± 49,3	1870,1 ± 49,3
Unha de gato	106,9 ± 12,6	<LOD	100,9 ± 3,8	1179,3 ± 49,5	<LOQ	1108 ± 39,7

SS HR-CS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 7,3 (Pb); 3,2 (Co)

LS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 105,0 (Pb); 40,9 (Co)

ICP MS: LOD (ng g^{-1}): 28,3 (Pb); 6,8 (Co)

LOQ: 3,3 x LOD

Tabela 44 - Resultados em ng g^{-1} ($n=5$) para Se e Sn em plantas medicinais determinados pelo método proposto (SS HR-CS GF AAS), por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e fonte de linhas (LS GFAAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Amostra	Se			Sn		
	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP MS	SS HR-CS GFAAS	LS GFAAS	ICP MS
Boldo	<LOD	<LOD	<LOD	$329,8 \pm 21,5$	<LOD	$320 \pm 5,2$
Camomila	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ
Carqueja	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cavalinha	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Chapéu de couro	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Craijirú	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ
Dente de leão	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Erva cidreira	<LOD	<LOD	<LOD	$142,8 \pm 5,8$	<LOD	$138,3 \pm 4,0$
Erva doce	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Espinheira santa	<LOD	<LOD	<LOD	$342,6 \pm 15,4$	<LOD	$351,4 \pm 4,9$
Graviola	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Guaçatonga	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Guaco	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ
Hortelã	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Pata de vaca	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sabugueiro	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Quebra pedra	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ
Unha de gato	<LOD	<LOD	<LOD	$209,8 \pm 2,7$	<LOD	$206,4 \pm 6,3$

SS HR-CS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 24,5 (Sn); 40,1 (Se)

LS GFAAS: LOD (ng g^{-1}): 340,9 (Sn); 208,6 (Se)

ICP MS: LOD (ng g^{-1}): 29,1 (Sn); 56,1 (Se)

LOQ: $3,3 \times \text{LOD}$

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego da técnica de espectrometria de absorção atômica de fonte contínua com alta resolução em forno de grafite (SS HR-CS GFAAS) para determinação de As, Cd, Co, Pb, Sn e Se em plantas medicinais com amostragem direta de sólidos mostrou ser uma alternativa rápida, simples e que devido ao menor consumo de reagentes, diminui substancialmente a quantidade de resíduos tóxicos formados contribuindo para a “química verde”.

O uso de modificadores químicos aliado a otimização dos programas de forno de grafite, permitiu que as determinações quantitativas dos elementos estudados nas amostras de plantas fosse feita empregando calibração com soluções aquosas, o que dispensa o uso de padrões sólidos.

A amostragem direta aumenta os problemas relacionados a interferências espectrais. Entretanto, com o emprego da SS HR-CS GFAAS é possível identificar e avaliar os efeitos provocados pelas espécies interferentes, possibilitando a escolha da melhor estratégia para correção dos sinais de fundo. O emprego da correção de fundo pelo algoritmo de mínimos quadrados (LSBC) mostrou ser uma ferramenta eficiente para corrigir a maioria das interferências espectrais. Em alguns casos específicos, como por exemplo a interferência do Al em As, é necessário que este algoritmo seja aplicado em conjunto com a correção de fundo interativa (IBC) que é voltada para casos específicos onde o LSBC apresenta limitações.

O perfil de homogeneidade das amostras, varia conforme o tipo de moagem empregada e características peculiares de cada amostra. A moagem criogênica foi considerada a mais adequada por proporcionar melhor homogeneidade independente da amostra ou analito. Contudo, resultados semelhantes foram obtidos empregando o moinho de facas com peneira de 30 mesh, o que do ponto de vista prático é interessante, por se tratar de uma alternativa mais simples e barata em relação a moagem criogênica.

Por fim, os métodos desenvolvidos apresentam resultados precisos e exatos quando comparadas com procedimentos convencionais, que envolvem digestão da amostra e que são comumente empregadas nos laboratórios de rotina. A amostragem direta de sólidos apresentou sensibilidade superior a técnica de forno de grafite com fonte de linhas (LS GF AAS) e comparável a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) porém sem a necessidade de etapas de decomposição da amostra o que permite um aumento na frequência analítica e redução nos custos de análise.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC 17 de 24 de fevereiro de 2000. Aprova o regulamento técnico de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 fev. 2000. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/1052296/pg-25-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-25-02-2000>>. Acesso em: 21 mar. 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE 90 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o guia para os estudos de toxicidade de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2004a. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/496160/pg-34-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-18-03-2004>>. Acesso em: 05 abr. 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE 91 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o guia para realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamento pós-registro de fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2004b. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/496162/pg-36-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-18-03-2004>>. Acesso em: 05 abr. 2013.
- AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. **Cerrado: ecologia e caracterização**. Brasília, DF: Embrapa-CPAC, 2004.
- AJASA, A. M. O.; BELLO, M. O.; IBRAHIM, A. O.; OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O. "Heavy trace metals and macronutrients status in herbal plants of Nigeria". **Food Chemistry**, v. 85, p. 67-71, 2004.
- ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; NOGUEIRA, C. M. D.; MAGALHÃES, C. E. C.; MORAIS, N. M. T. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 99-97, 2002.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 3. ed. Salvador: Ed. UFBA, 2011.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones SRL, 2004.
- ARAÚJO, R. G. O.; WELZ, B.; VIGNOLA, F.; BECKER-ROSS, H. Correction of structured molecular background by means of high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry - determination of antimony in sediment reference materials using direct solid sampling. **Talanta**, v. 80, p. 846-852, 2009.
- ARAÚJO, R. G. O.; VIGNOLA, F.; CASTILHO, I. N. B.; BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; GORETI, M. G. R.; SMICHOWSKI, P.; FERREIRA, S. L. C.; BECKER-ROSS, H. Determination of mercury in airborne particulate matter collected on glass fiber filters using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sampling. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, p. 378-382, 2011.
- ATSUYA, I.; ITOH, K. The use of an inner miniature cup for direct determination of powdered biological samples by atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 38, n. 9, p. 1259-1264, 1983.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SIDOLI, C. D. M.; REEVES, R. D. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulation plants. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 11, p. 41-49, 1994.

BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. Observation, identification and correction of structured molecular background by means of continuum source AAS - determination of selenium and arsenic in human urine. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, n. 2, p. 137-141, 2000.

BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; WEIBE, R. Influence of the spectral bandwidth of the spectrometer on the sensitivity using continuum source AAS. **Frenesius Journal Analytical Chemistry**, v. 355, n. 3/4, p. 300-303, 1996.

BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; HUANG, M. D.; OKRUSS, M.; RADZIUK, B. Continuum source atomic absorption spectrometry and detector technology: a historical perspective. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 9, p. 1015-1030, 2006.

BELARRA, M. A.; RESANO, M.; CASTILLO, J. R. Theoretical evaluation of solid sampling-electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 4, p. 547-552, 1999.

BELARRA, M. A.; RESANO, M.; VANHAECHT, F.; MOENS, L. Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how? **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, p. 828-839, 2002.

BENDICHO, C.; DE LOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Solid sampling in electrothermal atomic absorption spectrometry using commercial atomizers: a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 6, p. 353-374, 1991.

BERGLUND, M.; BAXTER, D. C. Methods of calibration in the direct analysis of solid samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 47, n. 14, p. 1567-1586, 1992.

BIANCHIN, L.; NADVORNY, D.; SILVA, A. F.; VALE, M. G. R.; SILVA, M. M.; SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Feasibility of employing permanent chemical modifiers for the determination of cadmium in coal using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 174-182, 2006.

BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. **Revista Analytica**, v. 18, n. 18, p. 58-67, 2005.

BRASIL. Serviço de Fiscalização da Medicina e Farmácia. Portaria 22 de 30 de outubro de 1967. Estabelece as normas para o emprego de preparações fitoterápicas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 nov. 1967. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/3008186/pg-46-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-16-11-1967>>. Acesso em: 17 fev. 2013.

BRASIL. Presidência da República. Decreto 79.094 de 5 de janeiro de 1977. Regulamenta a Lei no 6.360/76. Submete a sistema de vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 jul. 1977. Disponível em:

<<http://www.jusbrasil.com.br/topicos/11792422/decreto-n-79094-de-05-de-janeiro-de-1977>>. Acesso em: 24 maio 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 06 de 31 de janeiro de 1995. Institui e normatiza o regulamento de produtos fitoterápicos junto à Secretaria de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 fev. 1995. Disponível em:

<<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/995482/pg-23-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-06-02-1995>>. Acesso em: 24 maio 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria 971 de 03 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Prática Integrativas no Sistema Único de Saúde. Brasília, DF, 2006a. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/PNPIC.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2012.

BRASIL. Presidência da República. Decreto 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 jun. 2006b. Disponível em: <<http://www.jusbrasil.com.br/diarios/621859/pg-2-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-23-06-2006>>. Acesso em: 25 de abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira**. Brasília, DF, 2007. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/estudo_fitoterapicos.pdf>. Acesso em: 03 maio 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF, 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/plantas_medicinais.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Edital nº 01 de 24 de maio de 2013**. Seleção pública de processos de arranjo produtivo e local de plantas medicinais e fitoterápicos no âmbito do SUS. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Edital_APL_2013.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2013.

BUTCHER, D. J. Molecular absorption spectrometry in flames and furnaces: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 804, p. 1-15, 2013.

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

CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; LÓPEZ-GARCÍA, I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Selenium determination in biological fluids using Zeeman background correction electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v. 280, n. 2, p. 195-200, 2000.

CAMPOS, R. C.; CURTIUS, A. J.; BERNDT, H. Combustion and volatilisation of solid samples for direct atomic absorption spectrometry using silica or nickel tube furnace atomisers. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 5, n. 8, p. 669-673, 1990.

CHAKRABARTI, C. L.; WAN, C. C.; LI, W. C. Atomic absorption spectrometric determination of Cd, Pb, Zn, Cu, Co and Fe in oyster tissue by direct atomization from the solid state using the graphite furnace platform technique. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 35, n. 9, p. 547-560, 1980a.

CHAKRABARTI, C. L.; WAN, C. C.; LI, W. C. Direct determination of traces of copper, zinc, lead, cobalt, iron and cadmium in bovine liver by graphite furnace atomic absorption spectrometry using the solid sampling and the platform techniques. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 35, n. 2, p. 93-105, 1980b.

CHAKRABARTI, C. L.; HAMED, H. A.; WAN, C. C.; LI, W. C.; BERTELS, P. C.; GREGOIRE, D. C.; LEE, S. Capacitive discharge heating in graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 52, p. 167-176, 1980.

CHAVES, A. J. L. **Viva melhor com as plantas medicinais**. 2. ed. Lisboa: Une, 2008.

COUDERT, M. A.; VERGNAUD, J. M. Atomic absorption spectrometry for direct determination of metals in powders. **Analytical Chemistry**, v. 42, p. 1303-1304, 1970.

DAVID, J. P. L.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma**, v. 16, p. 71-6, 2004.

DELVES, H. T. The home of premier fundamental discoveries, inventions and applications in the analytical and bioanalytical sciences. **Analyst**, n. 95, p. 431-438, 1970.

DITTERT, I. M.; BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; BECKER-ROSS, H. Determination of silver in geological samples using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry and direct solid sampling. **Microchimica Acta**, v. 167, p. 21-26, 2009.

DUARTE, A. T.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B.; ANDRADE, J. B. Sequential determination of Cd and Cr in biomass samples and their ashes using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Talanta**, v. 115, p. 55-60, 2013.

FASSEL, V. A.; MOSSOTTO, V. G.; GROSSMAN, W. E. L.; KNISELEY, R. N. Evaluation of spectral continua as primary sources in atomic absorption spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 22, n. 2, p. 347-357, 1966.

FERNANDEZ, F. J.; BEATY, M. M. Elimination of spectral interferences in the determination of Se in bickel-base alloys using Zeeman background correction. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 39, n. 2/3, p. 519-523, 1984.

FERNANDO, R.; CALLOWAY, C. P. Jr.; JONES, B. T. Continuum source atomic absorption spectrometry in ar-acetylene flame with improved detection limits. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 14, p. 1556-1560, 1992.

FLORES, E. M. M.; COSTA, A. B.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; PANIZ, J. N. G.; MARTINS, A. F. Direct flame solid sampling for atomic absorption spectrometry: determination of copper in bovine liver. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy** v. 56, n. 10, p. 1875-1882, 2001.

FLORES, E. M. M.; SAIDELLES, A. P. F.; MATTOS, J. C. P.; MÜLLER, E. I.; PEREIRA, J. S. F.; PANIZ, J. N. G.; DRESSLER, V. L. Determination of Cd and Pb in medicinal plants using solid sampling flame atomic absorption spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 89, n. 2, p. 129-140, 2009.

FLÓREZ, M. R.; RESANO, M. Direct determination of bromine in plastic materials by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 88, n. 1, p. 32-39, 2013.

FRANKENBERGER, W.; BENSON, S. **Selenium in the environment**. New York: Marcel Dekker, 1994.

FREIRE, M. F. I. Plantas medicinais: a importância do saber cultivar. **Revista Científica Eletrônica Agronomia**, n. 5, 2004. Disponível em:
< http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/7ucemh9Yj4dcHPw_2013-4-26-12-10-36.pdf>. Acesso em: 12 out. 2012.

GIL, E. S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GOVINDARAJU, K.; MEVELLE, G.; CHOUARD, C. Direct atomic absorption determination of rubidium on pulverized silicate rock samples. **Chemical Geology**, v. 8, n. 2, p. 131-137, 1971.

GROBENSKI, Z.; LEHMANN, R.; TAMM, R.; WELZ, B. Improvements in graphite furnace atomic absorption microanalysis with solid sampling. **Mikrochimica Acta**, v. 1, p. 115-125, 1982.

GRÜN, T. A.; KOHLER, U.; NAGELL, A. Contamination of medicinal plants with residues of pesticides, microorganisms, aflatoxines and heavy metals. **Acta Horticulturae**, v. 333, p. 195-235, 1993.

HEITMANN, U.; WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; LEPRI, F. G. Feasibility of peak volume, side pixel and multiple peak registration in high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, p. 1222-1230, 2007.

JACKSON, K.W. **Electrothermal atomization for analytical atomic spectrometry**. New York: John Wiley & Sons, 1999.

- KALNY, P.; FIJA, Z.; DASZCZUK, A.; OSTAPCZUK, P. Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. **Science of the Total Environment**, v. 381, p. 99-104, 2007.
- KANIPAYOR, R.; NARANJIT, D. A.; RADZIUK, B. H.; VAN LOON, J. C.; THOMASSEN, Y. Direct analysis of solids for trace elements by combined electrothermal furnace/quartz T-tube/flame atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 166, p. 39-49, 1985.
- KELIHER, N.; WOHLERS, C. C. High resolution atomic absorption spectrometry using an echelle grating monochromator. **Analytical Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 682-687, 1974.
- KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009.
- KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba: CENA/USP, 2008.
- KURFÜRST, U. Potential relevance of imprecise data from solid sample analysis with graphite furnace AAS. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 346, n. 6/9, p. 556-559, 1993.
- KURFÜRST, U. **Solid sample analysis**: direct and slurry sampling using G F-AAS and ETV-ICP. Heidelberg: Springer, 1998.
- LANGMYHR, F. J. Direct atomic-absorption spectrometric analysis of geological materials - a review. **Talanta**, v. 24, n. 5, p. 277-282, 1977.
- LANGMYHR, F. J. The solid sampling technique of atomic absorption spectrophotometry - what can the method do? **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, v. 322, p. 654-656, 1985.
- LEITE, F. **Validação em análise química**. 5. ed. Campinas: Átomo, 2008.
- MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência Tecnologia Alimentação**, v. 26, n. 2, p. 401-407, 2006.
- MIOR, R.; MORÉS, S.; WELZ, B.; CARASEK, E.; ANDRADE, J. B. Determination of sulfur in coal using direct solid sampling and high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry of the CS molecule in a graphite furnace. **Talanta**, v. 106, p. 368-374, 2013.
- NETTO, E. M., SHUQAIR, N. S. M. S. A. Q.; BALBINO, E. E.; CARVALHO A. C. B. Comentários sobre o registro de fitoterápicos. **Revista Fitos**, v. 1, p. 9-17, 2006.
- NICOLETTI, M. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, M. A.; BERTASSO, C. C.; COPOROSSO, P. Y.; TAVARES A. P. L. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. **Infarma**, v. 19, p. 32-40, 2007.

NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Amostragem direta de sólidos. In: KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba: CENA/USP, 2008. p. 104-128.

NOMURA, C. S.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; OLIVEIRA, P. V. Bovine liver sample preparation and micro-homogeneity study for Cu and Zn determination by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 5, p. 673-680, 2005.

OLIVEIRA, S. R.; GOMES NETO, J. A.; NÓBREGA, J. A.; JONES, B. T. Determination of macro-and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 65, p. 316-320, 2010.

PAUWELS, J.; HOFMANN, C.; VANDECASTEELE, C. On the usefulness of SS-ZAAS for the microhomogeneity control of CRM's. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**. v. 348, n. 7, p. 418-421, 1994.

PEARSE, R. W. B.; GAYDON, A. G. **The identification of molecular spectra**. 4th. ed. London: Chapman and Hall, 1976.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

PRASAD, M. N. V. **Heavy metal stress in plants**. 2nd ed. Berlin: Springer, 2004.

RAPOSO JÚNIOR, J. L.; OLIVEIRA, S. R.; NÓBREGA, J. A.; GOMES NETO, J. A. Internal standardization and least-squares background correction in high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry to eliminate interferences on determination of Pb in phosphoric acid. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 63, p. 992-995, 2008.

RELLO, L.; LAPEÑA, A. C.; ARAMENDÍA, M.; BELARRA, M. A.; RESANO, M. A dried urine spot test to simultaneously monitor Mo and Ti levels using solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 81, p.11-19, 2013.

RESANO, M.; FLÓREZ, M. R. Direct determination of sulfur in solid samples by means of high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using palladium nanoparticles as chemical modifier. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 401-412, 2012.

RESANO, M.; BRICEÑO, J.; BELARRA, M. A. Direct determination of Hg in polymers by solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry - a comparison of the performance of line source and continuum source instrumentation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 64, p. 520-529, 2009.

RESANO, M.; FLÓREZ, M. R.; GARCÍA RUIZ, E. High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 88, p. 85-97, 2013.

RESANO, M.; LAPEÑA, A. C.; BELARRA, M. A. Potential of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry to monitor the Ag body burden in individual *Daphnia magna* specimens exposed to Ag nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1130 - 1139, 2013.

RESANO, M.; RELLO, L.; FLÓREZ, M.; BELARRA, M. A. On the possibilities of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 66, n. 5, p. 321-328, 2011.

RESANO, M.; BOLEA-FERNÁNDEZ, E.; MOZAS, E.; FLÓRES, M. R.; GRINBERG, P.; STURGEON, R. E. Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and Pb in carbon nanotubes by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, 657-665, 2013.

RETTBERG, T. M.; HOLCOMBE, J. A. Direct analysis of solids by GFAA using a second surface atomizer. **Analytical Chemistry**, n. 58, p. 1462-1467, 1986.

RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; SILVA, A. F. da; BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; HEITMANN, CURTIUS, A. J. Determination of cobalt in biological samples by line-source and high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry using solid sampling or alkaline treatment. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 5, p. 693-698, 2005.

RILEY, K. W. Significant reactions of aluminum, magnesium and fluoride during the graphite-furnace atomic-absorption spectrophotometric determination of arsenic in coal. **Analyst**, v. 109, n. 2, p. 181-182, 1984.

ROSE, M.; LEWIS, J.; LANGFORD, N.; BAXTER, M.; ORIGGI, S.; BARBER, M.; MacBAIN, H.; THOMAS, K. Arsenic in seaweeds - forms, concentration and dietary exposure. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p.1263-1267, 2007.

SCHUETZ, M.; MURPHY, J.; FIELDS, R. E.; HARNLY, J. M. Continuum source-atomic absorption spectrometry using a two-dimensional charge coupled device. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 55, n. 12, p. 1895-1912, 2000.

SILVA, A. F.; BORGES, D. L. G.; LEPRI, F. G., WELZ, B.; CURTIUS, A. J.; HEITMANN, U. Determination of cadmium in coal using solid sampling graphite furnace high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, p. 1835-184, 2005.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAM, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2007.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.

SLAVIN, W.; MANNING, D. C.; CARNRICK, G. R. The stabilized temperature platform furnace. **Atomic Spectroscopy**, v. 2, p. 137-145, 1981.

SOLTANPOUR, P. N.; WORKMAN, S. M. Use of NH_4HCO_3 -DTPA soil test to assess availability and toxicity of selenium to alfafa plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.11, p. 1147-1156, 1980.

SUBRAMANIAN, R.; GAYATHRI, S.; RATHNAVEL, C.; RAJ, V. Analysis of mineral and heavy metals in some medicinal plants collected from local market. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 1, p. S74-S78, 2012.

TAKADA, K.; HIROKAWA, K. Atomization and determination of traces of copper, manganese, silver and lead in microamounts of steel. atomic-absorption spectrometry using direct atomization of solid sample in a graphite-cup cuvette. **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, v. 312, n. 2, p. 109-113, 1982.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 15, n.1, p. 115-121, 2006.

VENGHIATTIS, A. A. A new method for the atomisation of solid samples for atomic absorption spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 23, n. 2, p. 67-70, 1967.

VERREPT, P.; DAMS, R.; KURFURST, U. Electrothermal vaporization inductively-coupled plasma-atomic emission-spectrometry for the analysis of solid samples - contribution to instrumentation and methodology. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 346, n. 12, p. 1035-1041, 1993.

VOLYNSKII, A. B. Chemical modifiers in modern electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 905-921, 2003.

VOLYNSKY A. B.; WENNRICH, R. Mechanisms of the action of platinum metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry: aims and existing approaches. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 8, p. 1301-1316, 2002.

VÖLLKOPF, U.; GROBENSKI, Z.; TAMM, R.; WELZ, B. Solid sampling in graphite furnace atomic-absorption spectrometry using the cup-in-tube technique. **Analyst**, n. 110, p. 573-577, 1985.

WALSH, A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 7, n. 2, p. 108-117, 1955.

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

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-resolution continuum-source AAS: the better way to do atomic absorption spectrometry**. Weinheim: VCH, 2005.

WELZ, B.; VALE, M. G. R.; BORGES, D. L. G.; HEITMANN. Progress in direct solid sampling analysis using line source and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, p. 2085-2095, 2007a.

WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; LEPRI, F. G.; VALE, M. G. R.; HEITMANN, U. High resolution continuum source eletrothermal atomic absorption spectrometry - an analytical and diagnostic tool for trace analysis. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 873-883, 2007b.

WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; VALE, M. G. R. Highresolution continuum-source atomic absorption spectrometry - what can we expect? **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 220-229, 2003.

WELZ, B.; LEPRI, F. G.; ARAUJO, R. G. O.; FERREIRA, S. L. C.; HUANG, M. D.; OKRUSS, M.; BECKER-ROSS, H. Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces - a review. **Analytica Chimica Acta**, n. 647, p. 137-148, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva, 2011.

YUAN, X.; CHAPMAN, R. L.; WU, Z. Analytical methods for heavy metals in herbal medicines. **Phytochemical Analysis**, v. 22, p. 189-198, 2011.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria e fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZUIN, V. G.; VILEGAS, J. H. Y. Pesticide residues in medicinal plants and phytomedicines. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 73-88, 2000.