



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**“Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Química de Araraquara**



Dissertação de Mestrado

**“Determinação simultânea de Cd e Pb e de Cr e Ni em plantas
medicinais empregando a espectrometria de absorção atômica com
amostragem direta de suspensões”**

Felipe Manfroi Fortunato

**ARARAQUARA - SP
2013**

Felipe Manfroi Fortunato

**“Determinação simultânea de Cd e Pb e de Cr e Ni em plantas
medicinais empregando a espectrometria de absorção atômica com
amostragem direta de suspensões”**

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

Orientador: Prof. Dr. José Anchieta Gomes Neto
Co-orientador: Prof. Dr. Gian Paulo G. Freschi

ARARAQUARA - SP
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

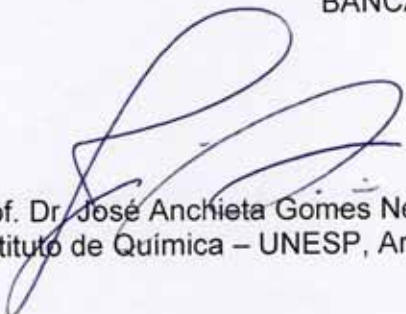
F745d	Fortunato, Felipe Manfroí Determinação simultânea de Cd e Pb e de Cr e Ni em plantas medicinais empregando a espectrometria de absorção atômica com amostragem direta de suspensões / Felipe Manfroí Fortunato. – Araraquara : [s.n], 2013 60 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: José Anchieta Gomes Neto Coorientador: Gian Paulo Giovanni Freschi 1. Química analítica. 2. Amostragem de suspensão. 3. GF AAS. 4. Plantas medicinais. I. Título.
-------	--

FELIPE MANFROI FORTUNATO

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

Araraquara, 26 de fevereiro de 2013.

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Dário Santos Junior
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Diadema - SP



Profª Drª Maria Teresa de Alvarenga Freire
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – USP, Pirassununga - SP

Felipe Manfroi Fortunato

1. Dados pessoais

1.1 Data de nascimento: 13/05/1988

1.2 Nacionalidade: Brasileiro

1.3 Naturalidade: Naviraí - MS

1.4 Filiação: Ademir Fortunato da Silva

Vera Cristina Manfroi

1.5 Profissão: Químico

1.6 Endereço: Av. Alberto Tolói 185, Bloco 42; Apto 42 - Araraquara

1.7 Endereço Profissional: Instituto de Química - Unesp

Rua Professor Francisco Degni 55

CEP 14800-900 - Araraquara - SP

2. Formação acadêmica

2.1 Graduação em Química - Bacharelado

Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Dourados - MS.

Período: 09/2006 – 07/2010.

2.2 Mestrado em Química

Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Araraquara - SP.

Período: 03/2011 – 02/2013.

3. Artigos aceitos e submetidos para publicação

3.1 FRESCHI, G.P.G.; FORTUNATO, F.M.; FRESCHI, C.D.; GOMES NETO, J.A. Simultaneous and Direct Determination of As, Bi, Pb, Sb, and Se and Co, Cr, Cu, Fe, and Mn in Milk by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Food Anal. Methods**, v. 5, n. 4, p. 861-866, 2012.

3.2 FORTUNATO, F.M.; FRESCHI, G.P.G.; GOMES NETO, J.A., Simultaneous Determination of Cadmium and Lead in Medicinal Plants using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Slurry Sampling. **Atomic Spectroscopy**, v. 33, n. 4, p. 138-142, 2012.

3.3 FORTUNATO, F.M.; FRESCHI, G.P.G.; GOMES NETO, J.A., Direct and Simultaneous Determination of Chromium and Nickel in Medicinal Plants by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Employing Slurry Sampling. **Journal of Food and Composition Analysis** (submetido).

4. Principais trabalhos apresentados em congressos

4.1 FORTUNATO, F.M. ; FRESCHI, G.P.G.; GOMES NETO, J.A. Direct and simultaneous determination of cadmium and lead in medicinal plants by graphite furnace atomic absorption spectrometry employing slurry sampling. 12th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2012, Foz do Iguaçu - PR.

4.2 FORTUNATO, F.M.; FRESCHI, G.P.G.; GOMES NETO, J.A. Simultaneous determination of Cr and Ni in medicinal plants using GF AAS and direct slurry sampling. 12th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2012, Foz do Iguaçu - PR.

4.3 FORTUNATO, F.M.; WONDRAK, M.H.; ALVES, V.M.; GOMES NETO, J.A.; FRESCHI, G.P.G. Determinação de Sb(III) e Sb(V) em amostras de água, torta e silagem de girassol por HG-AAS. 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão - SP.

4.4 FORTUNATO, F.M.; OLIVEIRA, I.P.; WONDRAK, M.H.; MORAES, L.F.R.; KUPFER, V.L.; FRESCHI, G.P.G.; RINALDI, A.W.; DOMINGUES, N.L.C. Determinação de As, Sb e Sn em águas residuárias da cidade de Dourados-MS por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos. 33º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia - SP.

4.5 FORTUNATO, F.M.; OLIVERIA, I.P.; DOMINGUES, N.L.C.; RINALDI, A.W.; FRESCHI, G.P.G. Especificação redox de Sb em amostras agronômicas e ambientais empregando HG AAS. Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão UFGD, 2010, Dourados - MS.

4.6 FORTUNATO, F.M.; OLIVERIA, I.P.; BRABES, K.C.S.; DOMINGUES, N.L.C.; NEGRAO, F.J.; RINALDI, A.W.; FRESCHI, G. P. G. Determinação de As, Cd, Cr, Mn e Pb em amostras de água empregando a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. 3º Encontro de extensão, 3º Encontro de iniciação científica e 2º Encontro de pós-graduação da UFGD, 2009, Dourados - MS.

4.7 FORTUNATO, F.M.; OLIVERIA, I.P.; RINALDI, A.W.; BRABES, K.C.S.; FRESCHI, G.P.G. Desenvolvimento de método analítico para a determinação de Fe em amostras ambientais por espectrofotometria UV-Vis. 2º Encontro de iniciação científica UFGD/UEMS e 1º Encontro de pós-graduação UFGD/UEMS, 2008, Dourados - MS.

4.8 FORTUNATO, F.M.; SILVA, G.R.; FRESCHI, G.P.G.; FRESCHI, C.D.; GOMES NETO, J.A. Determinação simultânea de As, Bi, Pb, Sb e Se em leite por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. 2008. 11º Encontro Nacional de Contaminantes Inorgânicos, 2008, Campinas – SP.

4.9 FORTUNATO, F.M.; RAIZER, J.; OLIVERIA, I.P.; FRESCHI, G.P.G.; GOMES NETO, J.A. Determinação de As, Cd, Hg e Pb em antibióticos por espectrometria de absorção atômica. 15º Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – Sul, 2007, Ponta Grossa - PR.

5. Outras informações relevantes

5.1 II Prêmio ENIC Melhor Trabalho - Melhor Trabalho de Iniciação Científica na área de Ciências Exatas e da Terra, UFGD, 2010, Dourados - MS.

DEDICATÓRIA

A minha namorada **Caroline** e aos meus pais **Ademir e Cristina**, minha irmã **Bruna**, minha vó **Helena**, minha prima **Daniela** e a toda minha família, pelo incentivo e compreensão nessa etapa da minha vida. vocês são os grandes responsáveis por tudo de bom que tenho obtido ao longo dessa minha jornada.

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida.

Ao Profº Dr. José Anchieta Gomes Neto pela orientação, amizade, confiança, ensinamentos e paciência durante esse período.

Ao Profº Dr. Gian P. G. Freschi pela co-orientação, amizade, confiança, ensinamentos, conselhos e momentos de descontração.

A todos os professores e funcionários do instituto de química UNESP – Araraquara, por todo apoio e confiança.

Aos companheiros de laboratório: Alex, Rodrigo, Tiago, Jardes, Jorge, Mariana, Ariane, Kelber pela amizade, por todos os momentos vividos nesse tempo.

Ao Bruno, Marcos e Guilherme que foram como irmãos nesses dois anos de mestrado, pelas conversas, apoio.

A CAPES pela bolsa concedida.

A FAPESP pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que influenciaram diretamente ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

A todos, muito obrigado!

RESUMO

Esta dissertação versa sobre o desenvolvimento de métodos analíticos empregando a amostragem de suspensão na determinação simultânea de Cd e Pb e de Cr e Ni em plantas medicinais pela espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. A utilização de Ir como modificador permanente possibilitou determinar Cd e Pb simultaneamente em suspensões 0,5% m/v de plantas medicinais empregando calibração com soluções aquosas. As temperaturas de pirólise e de atomização foram 1000°C e 2200°C, respectivamente. As massas características foram 1,8 pg Cd e 59 pg Pb, limites de detecção de 0,024 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd e 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb e desvios padrão relativos da ordem de 5,3% (Cd) e 3,5% (Pb). Os resultados da análise de três materiais de referência certificados foram concordantes com os valores certificados ao nível de 95% de confiança (teste-t). Para determinação simultânea de Cr e Ni não foi necessário o uso de modificadores químicos e foram empregados suspensões 0,5% (m/v) e calibração aquosa. As temperaturas de pirólise e de atomização foram de 1600°C e 2300°C, respectivamente. As massas características foram 5,8 pg Cr e 31 pg Ni e os limites de detecção 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr e 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni. Os desvios padrão relativos foram 2,8% e 2,2% para Cr e Ni, respectivamente. Quatro materiais de referência certificados de plantas foram analisados e os resultados foram concordantes com os teores certificados a 95% de confiança (teste-t). Dez plantas medicinais foram analisadas pelos métodos propostos e os teores dos analitos variaram de 0,19 a 0,34 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd, 1,02 a 1,91 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 1,73 a 11,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr e 0,78 a 5,54 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni. Estas concentrações estão compatíveis com as usualmente encontradas em plantas medicinais.

ABSTRACT

This dissertation deals with the development of analytical methods employing slurry sampling in simultaneous determination of Cd and Pb, Cr and Ni in medicinal plants by graphite furnace atomic absorption spectrometry. The use of iridium with permanent modifier allowed simultaneous determination of Cd and Pb in 0.5% (m/v) slurries of medicinal plants using aqueous standards calibration. The pyrolysis and atomization temperatures were 1000°C and 2200°C, respectively. The characteristic masses were 1.8 pg Cd and 59 pg Pb, limits of detection were 0.024 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd and 0.24 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb and relative standard deviation the order of 5.3% (Cd) and 3.5% (Pb). Results obtained for analysis of three certified reference materials were in agreement with certified values at 95% confidence level (*t*-test). For simultaneous determination of Cr and Ni did not require chemical modifier and 0.5% (m/v) slurries and aqueous calibration were employed. Pyrolysis and atomization temperatures were 1600°C and 2300°C, respectively. The characteristic masses were 5.8 pg Cr and 31 pg Ni and the limits of detection 0.04 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr and 0.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni. The relative standard deviation were 2.8% and 2.2% for Cr and Ni, respectively. Four plant certified reference materials were analyzed and results were in agreement at a 95% confidence level (*t*-test) with certified values. Ten medicinal plant samples were analyzed by the proposed methods and found concentrations were in the range of 0.19 - 0.34 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd, 1.76 - 11.60 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr, 0.78 - 5.54 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni and 1.02 - 1.91 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb ranges. These levels are comparable to levels commonly found in medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite <i>Perkin Elmer</i> , SIMAA 6000.....	31
Figura 2 -	Moinho criogênico <i>SPEX</i> , 6800 Freezer/Mill.....	32
Figura 3 -	Curvas de pirólise (■: Cd; ■: Pb) e de atomização (●: Cd; ●: Pb) em meio aquoso (A) e em suspensão de vegetal (B). Curvas em A correspondem a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb. Curvas em B correspondem a suspensões 0,5% (m/v) de Ginkgo Biloba Leaves ($4,9 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) e Pine Needles ($1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd), ambas preparadas em 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3	38
Figura 4 -	Sinais transientes de absorção atômica para $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb em meio 0,2% (v/v) HNO_3	39
Figura 5 -	Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) para Cd e Pb em suspensão 0,5% (m/v) de Ginkgo Biloba Leaves ($4,9 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) e Pine Needles ($1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd).....	39
Figura 6 -	Curvas analíticas construídas em solução aquosa (■) e suspensões 0,5% m/v de boldo (●), camomila (▼) e ginseng (▲).....	40
Figura 7 -	Influência da concentração da suspensão na determinação de Cd....	41
Figura 8 -	Influência da concentração da suspensão na determinação de Pb....	42
Figura 9 -	Curva analítica para Cd e Pb obtida em meio 0,2% (v/v) HNO_3	42
Figura 10 -	Curvas de pirólise (■: Cr; ■: Ni) e de atomização (●: Cr; ●: Ni) em meio aquoso (A) e em suspensão de vegetal (B). Curvas em A correspondem a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni. Curvas em B correspondem a suspensões 0,5% (m/v) de Tomato Leaves ($11 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $8,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni) enriquecida com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni, preparadas em 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3	45
Figura 11 -	Sinais transientes de absorção atômica para $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni em meio 0,2% (v/v) HNO_3	46
Figura 12 -	Sinais transientes de absorção atômica para Cr e Ni em suspensão 0,5% (m/v) de Tomato Leaves ($11 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $8,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni) enriquecida com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni contendo 0,5% (v/v) triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3	46

Figura 13 -	Sinais transientes de absorção atômica de Cr e Ni referente a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni em solução 0,2% (v/v) HNO_3 utilizando Ir permanente (A) e utilizando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (B).....	47
Figura 14 -	Curvas analíticas construídas em solução aquosa (■) e suspensões 0,5% m/v de camomila (●) e carqueja (▲).....	48
Figura 15 -	Influência da concentração da suspensão na determinação de Cr.....	49
Figura 16 -	Influência da concentração da suspensão na determinação de Ni.....	49
Figura 17 -	Curva analítica para Cr e Ni preparada em 0,2% (v/v) HNO_3	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Aplicações da amostragem de suspensão na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por GFAAS.....	26
Tabela 2 -	Programa de moagem para as amostras de plantas medicinais.....	32
Tabela 3 -	Programa de aquecimento utilizado no recobrimento da plataforma de grafite. Volume injetado: 50 µL.....	33
Tabela 4 -	Programa de aquecimento utilizado no estudo do comportamento eletrotérmico dos analitos. Volume injetado: 20 µL.....	34
Tabela 5 -	Principais parâmetros de desempenho analítico para Cd e Pb.....	43
Tabela 6 -	Determinação de Cd e Pb nos materiais de referência certificados....	44
Tabela 7 -	Resultados da determinação ($n=3$) de Cd e Pb em plantas medicinais.....	44
Tabela 8 -	Principais parâmetros de desempenho analítico para Cr e Ni.....	51
Tabela 9 -	Resultados da determinação ($n=3$) de Cr e Ni nos materiais de referência certificados.....	52
Tabela 10 -	Resultados da determinação ($n=3$) de Cr e Ni em plantas medicinais	52
Tabela 11 -	Teores comparativos de Cd, Cr, Ni e Pb.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AA - Do inglês *Atomic Absorption*, Absorção Atômica

AAS - Do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*, Espectrometria de Absorção Atômica

BG - Do inglês *Background*, Fundo

CRM - Do inglês *Certified Reference Material*, Material de Referência Certificado

EDL - Do inglês *Electrodeless Discharge Lamp*, Lâmpada de Descarga sem Eletrodo

HCL - Do inglês *Hollow Cathode Lamp*, Lâmpada de Cátodo Oco

GFAAS - Do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite

GF SIMAAS - Do inglês *Graphite Furnace Simultaneous Atomic Absorption Spectrometry*, Espectrometria de Absorção Atômica Simultânea em Forno de Grafite

m_0 – Massa Característica

STPF - Do inglês *Stabilized Temperature Platform Furnace*, Forno de Grafite com Plataforma à Temperatura Estabilizada

THGA - Do inglês, *Transversely Heated Graphite Atomizer*, Tubo de grafite com Aquecimento Transversal

IUPAC - Do inglês International Union of Pure and Applied Chemistry, União Internacional de Química Pura e Aplicada.

LOD - Do inglês *Limit of Detection*, Limite de Detecção

LOQ - Do inglês *Limit of Quantification*, Limite de Quantificação

r - Coeficiente de Correlação Linear

RSD - Do inglês *Relative Standard Deviation*, Desvio Padrão Relativo

T_p - Temperatura de Pirólise

T_a - Temperatura de Atomização

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1 Amostragem de suspensão.....	20
2.1.1 Método de moagem.....	21
2.1.2 Tamanho de partícula.....	21
2.1.3 Homogeneidade.....	22
2.1.4 Concentração da suspensão.....	24
2.1.5 Modificadores químicos.....	24
2.2 Determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite empregando amostragem de suspensão.....	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1 Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados.....	30
3.2 Instrumentação.....	30
3.3 Moagem e preparo das suspensões.....	32
3.4 Procedimento analítico.....	33
3.4.1 Tratamento do tubo de grafite.....	33
3.4.2 Avaliação do comportamento eletrotérmico.....	33
3.4.3 Avaliação da matriz no comportamento eletrotérmico dos analito.....	34
3.4.4 Influência da concentração da suspensão.....	34
3.4.5 Determinação dos analitos nos CRMs e amostras de plantas medicinais.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Determinação de Cd e Pb.....	37
4.1.1 Comportamento eletrotérmico.....	37
4.1.2 Efeito de matriz.....	40
4.1.3 Influência da concentração da suspensão.....	41
4.1.4 Determinação de Cd e Pb nos materiais de referência certificados e nas amostras de plantas medicinais.....	42

4.2 Determinação de Cr e Ni	45
4.2.1 Comportamento eletrotérmico.....	45
4.2.2 Efeito de matriz.....	47
4.2.3 Influência da concentração da suspensão.....	48
4.2.4 Determinação de Cr e Ni nos materiais de referência certificados e nas amostras de plantas medicinais.....	50
5 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais no tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das práticas medicinais mais antigas da humanidade¹. Estima-se que na década de 90, entre 70 e 80% da população dos países em desenvolvimento, eram dependentes, exclusivamente, do uso de plantas medicinais no tratamento de doenças¹⁻³.

No entanto, apesar de bem-intencionado, o uso dessas plantas como alternativa terapêutica de baixo custo na forma de chás, extratos ou da própria planta seca não é isento de risco, e deve ser encarado com a mesma seriedade e cautela requerida a qualquer outro medicamento⁴. Além do princípio ativo terapêutico, a planta pode conter outras substâncias com potenciais tóxicos, provocando danos à saúde²⁻⁵.

Com o objetivo de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade e desenvolver a cadeia produtiva e a indústria nacional, foi aprovado em 22 de junho de 2006 o Decreto 5.813 instituindo a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos⁶. Em 03 de maio do mesmo ano o Ministério da Saúde aprovou a Portaria 971 instituindo a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS). Esta política de âmbito nacional recomenda que as secretarias de saúde dos estados e dos municípios implantem e implementem ações e serviços relativos às práticas integrativas e complementares (PIC)⁷.

O acesso a plantas medicinais e fitoterápicos a uma parte da população brasileira é uma realidade e tende a aumentar. Assim como é relevante pesquisar plantas medicinais e fitoterápicos, também é indispensável garantir o monitoramento da sua qualidade⁸. O risco de intoxicação por metais presentes em plantas medicinais é uma realidade³ e o conhecimento da composição inorgânica dessas plantas, principalmente as mais populares e consumidas, é de interesse público. Desta forma, torna-se importante e promissor estabelecer métodos de análise de plantas medicinais visando um controle eficiente da qualidade, fazendo com que a probabilidade de ocorrência de problemas toxicológicos seja minimizada⁹.

Cádmio e Pb são elementos extremamente tóxicos para os seres humanos. O Cd tem efeito tóxico agudo e preocupa principalmente pelo longo tempo de meia vida no corpo humano (aproximadamente 30 anos), tornando-o vulnerável durante exposições severas ou prolongadas^{10,11}. O Pb se acumula no organismo e é considerado um veneno citoplasmático, pois se liga a grupos SH de enzimas e proteínas celulares e ataca os sistemas nervoso, sanguíneo e ósseo¹¹. Em plantas o Pb geralmente é encontrado em concentrações baixas (em média $1 \mu\text{g g}^{-1}$)¹², já o Cd é encontrado com menos frequência na composição das plantas^{13,14}, mas quando presente, é encontrado em concentrações traço (em média $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$)¹².

Cromo e Ni são elementos essenciais para o ser humano em baixas concentrações. O Cr(III) tem uma função importante no mecanismo de ação da insulina e no metabolismo de glicose e gorduras¹⁵, já o Ni participa como ativador de varias enzimas¹⁶. No entanto, ambos em altas concentrações e principalmente o Cr(VI) são extremamente tóxicos. Nas plantas tanto Cr quanto Ni geralmente são encontrados em baixas concentrações (em média $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$)¹² e não são considerados essenciais para o desenvolvimento da planta¹²⁻¹⁴.

Como Cd, Cr, Ni e Pb geralmente são encontrados em baixas concentrações em plantas, as suas quantificações requerem técnicas analíticas sensíveis. Dentre as técnicas disponíveis para a determinação elementar a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) é amplamente utilizada em função de sua alta especificidade, sensibilidade, robustez, baixos limites de detecção para vários elementos em diferentes amostras e dos pequenos volumes de amostras requeridos¹⁵.

O advento de espectrômetros de absorção atômica simultâneos multielementares com atomização em forno de grafite (GF SIMAAS), possibilitou a determinação de até seis elementos simultaneamente, agregando mais vantagens à técnica como menores tempos de análise, gastos reduzidos de reagentes e otimização no uso do tubo de grafite¹⁷⁻¹⁸.

O emprego da amostragem de suspensão em GF AAS destaca-se pela simplicidade de operação, facilidade de automação, além de uma maior rapidez e diminuição dos riscos de contaminação, durante a etapa de manipulação da amostra, etapa considerada crítica. Problemas relacionados com a homogeneidade da suspensão, formação de resíduos na plataforma de grafite, desgaste acelerado do tubo são evidenciados na literatura, porém o emprego de agentes estabilizantes,

sistemas de homogeneização e modificadores químicos podem minimiza ou mesmo solucionar esses problemas¹⁹⁻²¹.

Amostragem de suspensão e determinações simultâneas empregando a GF AAS, são tópicos bastante difundidos na literatura em determinação de varios elementos em diversas matrizes. No entanto, determinações simultâneas empregando amostragem suspensão em GF AAS ainda são escassas, e em se tratando de plantas, não há registros na literatura especializada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em análises químicas cresce cada vez mais a busca pelo aperfeiçoamento das técnicas analíticas e por metodologias que sejam simples, rápidas, exatas, precisas e que atendam aos princípios sustentáveis da química verde¹⁹.

Entre as metodologias disponíveis na literatura que atendam esses quesitos, destaca-se a amostragem de suspensão em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, que vem sendo empregada na análise de diversas amostras como alternativa aos métodos que empregam decomposições ácidas^{20,21}.

2.1 Amostragem de suspensão

O termo suspensão em química analítica é definido como uma mistura heterogênea, onde partículas com diâmetro maior que 1 μm (fase interna) são dispersas em um fluido (fase externa) por meio de agitação²⁰.

O emprego de suspensões em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite data de 1974 por Brady et al.²². A partir desse trabalho, vários outros foram realizados empregando diversas matrizes na determinação de vários analitos. Cita-se como principais vantagens o preparo mínimo da amostra, menor risco de contaminação, menor possibilidade de perdas do analito, facilidade na automação do método, menor tempo de análise, não utilizada de ácidos perigosos acarretando em um menor risco ao analista e atende aos princípios básicos da química verde e sustentabilidade¹⁹⁻²¹.

No entanto, alguns problemas relacionados à amostragem de suspensão também são relatados: falta de homogeneidade, efeito de matriz acentuado, formação de resíduos no interior do tubo e menor tempo de vida útil do tubo de grafite¹⁹⁻²¹.

Para contornar esses problemas relacionados à amostragem de suspensão alguns aspectos devem ser levados em consideração, tais como: otimização do método de moagem da amostra, controle sobre o tamanho médio de partículas e da microhomogeneidade, otimização da concentração da suspensão e utilização de modificadores químicos.

2.1.1 Método de moagem

Vários métodos de moagem de amostras estão disponíveis visando a amostragem de suspensões. As características e a composição química da amostra são determinantes na escolha do método.

Procedimentos de moagem convencionais utilizando almofarizes e moinhos de faca e bola²³ são amplamente utilizados no preparo de suspensões. No entanto, amostras com teores maiores de água, fibras e gordura dificultam esses procedimentos, sendo que nessas condições a moagem criogênica é a mais indicada²⁴.

Stephen et al.²³ avaliaram o emprego de almofariz e moinho de bolas na moagem de amostras de espinafre. Nas amostras moídas em almofariz, apenas 80% das partículas tiveram tamanho $\leq 50 \mu\text{m}$; quando foi utilizado moinho de bolas por 1,5 h de moagem, a totalidade das partículas apresentaram diâmetros $\leq 50 \mu\text{m}$, sendo que 75% das partículas tiveram tamanho de partícula $\leq 17 \mu\text{m}$.

Santos Junior et al.²⁴ empregaram a moagem criogênica para amostras alimentícias e obtiveram partículas com tamanho $\leq 60 \mu\text{m}$, sendo 90% delas $\leq 21 \mu\text{m}$ quando um programa de apenas 5 minutos de pré congelamento e 2 minutos de moagem foi utilizado. Destaca-se aqui o uso da moagem criogênica para amostras com altos teores de gordura e analitos voláteis.

2.1.2 Tamanho de partícula

O tamanho da partícula sólida é um fator importante, pois ela influencia na estabilização da suspensão, na amostragem e dispensa da alíquota no atomizador e na eficiência de atomização, que afetam diretamente a exatidão e precisão do método^{19,21}.

O tamanho de partícula ideal para o preparo da suspensão está relacionado com a composição da matriz e o analito de interesse. Problemas associados ao tamanho de partícula são mais acentuados em técnicas com chama e plasmas quando comparados às técnicas eletrotérmicas²⁰.

Stupar et al.²⁵ avaliaram a influência do tamanho de partícula na determinação de Cd, Cr, Mn e Pb em amostras biológicas e observaram que

partículas $\leq 35 \mu\text{m}$ forneceram melhor exatidão e precisão principalmente para Pb, quando comparadas a partículas moídas mais grosseiramente $\geq 150 \mu\text{m}$.

Córdoba et al.²⁶ apresentaram um estudo sistemático da influência do tamanho de partículas (≤ 30 até $200 \mu\text{m}$) na determinação de Pb em amostras de pimentão. Observaram que partículas com diâmetros $\geq 30 \mu\text{m}$ acarretavam em grandes erros na precisão e exatidão que foram atribuídos a dificuldade de amostragem e de interação do modificador com partículas de diâmetros maiores.

Sanchez-Moreno et al.²⁷ avaliaram a influência do tamanho de partícula na estabilidade da suspensão de fascículos de pinheiro por turbidimetria e relataram que partículas inferiores a $100 \mu\text{m}$ apresentam uma maior estabilidade. Partículas $\leq 100 \mu\text{m}$ forneceram boas recuperações de Cd, Cu, Pb e Ni.

2.1.3 Homogeneidade

Este é um dos pontos mais críticos na amostragem de suspensão, pois a homogeneidade da suspensão a ser introduzida no tubo de grafite está associada com a representatividade da amostragem¹⁹⁻²¹.

Para garantir a homogeneidade das suspensões geralmente são utilizados agentes estabilizantes que atuam como umectantes, anti-aglutinantes e dispersores que dificultam a sedimentação das partículas. A escolha do agente estabilizante deve ser feita com cautela, pois o mesmo pode influenciar diretamente na amostragem. Dentre os agentes estabilizantes mais empregados cita-se o agar²⁸, α -metil- ω -metoxipolidimetilsiloxano (Antifoam B)²⁹, etanol³⁰, glicerol³¹, polietileno glicol *p*-(1,1,3,3-tetrametil-butil)-fenil éter (Triton X-100)³²⁻³⁴, copolímeros de poliacrilato (Viscalex)²³, entre outros.

Sanchez-Moreno et al.²⁷ avaliaram o uso de glicerol, hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), Triton X-100, poli-(óxido de etileno) trioleato de sorbitana (Tween 85) e dodecil sulfato de sódio (SDS) como agentes estabilizantes na determinação de Cd, Cu, Ni e Pb em fascículos de pinheiro. Tween 85 e Triton X-100 apresentaram os menores sinais de fundo para todos os elementos, maior tempo de estabilidade da suspensão e em testes de adição e recuperação ambos apresentam recuperações satisfatórias para Cd, Cu e Ni. Para Pb, apenas o Tween 85 apresentou recuperações próximas de 71 %.

Bermejo-Barrera et al.³⁵ avaliaram o uso de glicerol, Triton X-100 e Viscalex no preparo de suspensões de solo, para a determinação de Pb. Os melhores resultados foram obtidos com o uso de Triton X-100 como agente estabilizante em concentrações de 0,1% (v/v). Já o uso de glicerol e Viscalex apresentou altos sinais de fundo, baixa reprodutibilidade, além da necessidade de ajustes frequentes no programa de aquecimento, devido a dificuldade na decomposição desses estabilizantes.

Além de agentes estabilizantes, o uso de agitadores mecânicos²³ ou magnéticos²⁹, banhos ou sondas ultrassônicas^{36,37}, borbulhamento de argônio³⁸ e até mesmo agitação manual¹¹ são empregados na homogeneização das suspensões. Diversos dispositivos comerciais ou adaptados são relatados na literatura. No entanto, o uso de banhos e sondas ultrassônicas são os mais difundidos, porque além de homogeneizar as amostras eles auxiliam na extração do analito²⁴.

Lima et al.³⁷ avaliaram a eficiência da sonda ultrassônica na amostragem de suspensão de material biológico na determinação de Pb. O emprego de 20 segundos de sonicação permitiu recuperações entre 99 e 102%; sem a sonda as recuperações obtidas foram entre 57 e 60%. Esses erros foram relacionados a sedimentação do sólido em suspensão e a aglomeração das partículas.

Silva et al.³⁹ otimizaram o uso da sonda ultrassônica na determinação de Cr em fezes de peixe. Um estudo sistemático do tempo de sonicação foi realizado, sendo constatado que a partir de 20 segundos já havia a estabilização no sinal analítico, sendo esse tempo utilizado na homogeneização das suspensões.

Krivan et al.⁴⁰ avaliaram o emprego da sonda ultrassônica nas determinações de elementos traço em trióxido de tungstênio, e observaram recuperações de aproximadamente 98% sem o uso de agente estabilizante.

Santos Junior et al.²⁴ avaliaram a eficiência da sonda ultrassônica na determinação de Cd e Pb em amostras alimentícias. Observaram que com o emprego da sonda ultrassônica 95% do Cd e 45% do Pb presente na amostra já eram extraídos para a fase líquida da suspensão antes mesmo da introdução no atomizador, sendo que a eficiência da extração está diretamente relacionada com as características da amostra e a concentração da suspensão.

2.1.4 Concentração da suspensão

Um fator importante a ser considerado é a concentração da suspensão, pois ela é um ponto determinante da amostragem e sensibilidade. Suspensões muito diluídas podem acarretar em perda de precisão devido ao número reduzido de partículas distribuídas no volume total da amostra; suspensões muito concentradas podem dificultar a amostragem devido a dificuldade de homogeneização, facilitar o entupimento do capilar do auto-amostrador e efeitos de matriz mais acentuados^{19,21}.

Lynch et al.²⁹ avaliaram a concentração de suspensões em amostras de alimentos. Observaram boas precisões em suspensões com concentrações de até 10% (m/v); no entanto, concentrações maiores que 5% (m/v) resultaram em baixas recuperações do analito, provavelmente devido a deposição incompleta da suspensão no atomizador.

Viñas et al.⁴¹ avaliaram a influência da concentração da suspensão de vegetais na determinação de Al e Cr. Eles variaram as concentrações entre 0,007 - 1,6% (m/v) e 0,3 - 2,0% (m/v) para Al e Cr, respectivamente. Apenas as concentrações menores que 0,3% (m/v) Al apresentaram desvios altos, devido a alta diluição da suspensão, assim afetando a representatividade da amostra.

Krivan et al.⁴⁰ avaliaram a concentração das suspensões de trióxido de tungstênio de alta pureza na determinação de Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na e Ni. Suspensões com até 7,5% (m/v) apresentam resultados com precisão e exatidão adequadas; suspensões com concentrações maiores que 7,5% (m/v), apresentaram problemas na homogeneização levando a altos desvios e baixas recuperações.

2.1.5 Modificadores químicos

O emprego de modificadores químicos visa melhorar os processos físicos e/ou químicos que acontecem no atomizador, tendo como finalidade aumentar a temperatura de volatilização do analito e/ou dificultar a formação de compostos térmicos de íons interferentes e em alguns casos auxiliar por meio catalítico na degradação da matriz, ajudando assim a eliminação de concomitantes da matriz, facilitando o emprego de calibração em meio aquoso. O uso de modificadores permanentes apresentam algumas vantagens quando comparados aos modificadores convencionais, pois não necessita de reagentes com alto grau de

pureza porque durante o tratamento térmico as impurezas voláteis são eliminadas e aumenta a vida útil do tubo porque evita o contato direto da amostra com a plataforma de grafite^{15,37}.

Dobrowolsky et al.¹⁵ avaliou o uso do modificador convencional $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e os permanentes Ir-Nb e W-Nb na determinação de Cr em alimentos. O $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ se mostrou ineficaz na amostragem de suspensão, por causa da formação de carbeto de cromo com resíduos carbonáceos, evidenciada por análises de difração de raio X. Já entre os modificadores permanentes o uso de Ir-Nb proporcionou os melhores resultados, pois a formação de carbeto de nióbio impede a formação do carbeto de cromo, o uso do Ir-Nb prolonga a vida útil do tubo e pode ser utilizando tanto na determinação de Cr como outros metais refratários.

Acar⁴² avaliou o uso de modificadores permanentes (V, Ir, Ru, V-Ir, V-Ru e W-V) e convencional (Pd + Mg) na determinação de Cd, Pb e Zn em amostras botânicas e biológicas, onde o uso de modificadores permanentes V-Ir, V-Ru e W-V quando comparados aos modificadores permanentes V, Ir e Ru, com modificador convencional Pd + Mg e sem o uso de modificadores melhorou os limites de detecção, massas características e recuperações dos analito. O uso dos modificadores permanentes no tratamento do tubo de grafite melhorou o seu tempo de vida útil entre 50-95%, quando comparado aos tubos sem tratamento.

Lima et al.³⁷ observaram melhorias nos parâmetros analíticos (melhor limite de detecção, aumento no tempo de vida útil do tubo, estabilidade do sinal analítico, melhor repetibilidade e programas de aquecimentos mais curtos) quando utilizado W-Rh permanente na determinação de Pb em suspensões de materiais biológicos.

2.2 Determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite empregando amostragem de suspensão

A amostragem de suspensão é bem difundida na literatura na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb em diversas amostras como alimentos, farinha, plantas, solo, sedimento entre outras. Vários agentes estabilizantes, métodos de homogeneização e modificadores foram estudados para o emprego da amostragem de suspensões na espectrometria de absorção atômica em forno de grafite como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Aplicações da amostragem de suspensão na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por GFAAS.

Matriz	Analito	Estabilizante	Homogeneização	Modificador	Ref
Alimentos	Cd e Pb	Triton X-100	Sonda ultrassônica	W-Rh permanente + $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	24
Alimentos	Pb	Antifoam B	Agitação magnética	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	29
Alimentos	Cr	-	Sonda ultrassônica	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ / Ir-Nb e Ir-W permanente	15
Biológicas	Cd, Cr, Mn e Pb	-	Sonda ultrassônica	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	25
Biológicas e botânicas	Cd, Pb e Zn	Triton X-100	Banho ultrassônico	V, Ir, Ru, V-Ir, V-Ru, W-V permanente	42
Carvão	Cd, Co e Pb	Triton X-100	Banho ultrassônico	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	36
Carvão, sedimento e solo	Cr, Ni e V	-	Sonda ultrassônica	-	43
Compostagem	Cr	Triton X-100	Sonda ultrassônica	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	32
Dióxido de titânio	Co, Cr e Ni	Agar	Agitação manual e por ultrassom	-	29
Farinha	Cd e Pb	Agar	-	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	44
Farinha	Co, Cr e Ni	-	Banho ultrassônico e vortex	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	45
Farinha	Cd	-	Banho ultrassônico e Bolhas de argônio	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ / $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	10
Fezes de peixe	Cr	Triton X-100	Sonda ultrassônica	Pd permanente	39
Folhas de tabaco	Cd, Co, Pb e Ni	-	Sonda ultrassônica	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	46

Continuação Tabela 1 - Aplicações da amostragem de suspensão na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por GFAAS.

Matriz	Analito	Estabilizante	Homogeneização	Modificador	Ref
Frutas secas e chás de frutas	Cd e Pb	Cloreto de Cetil Trimetil Amônio	Agitação manual	Pd(NO ₃) ₂ /Mg(NO ₃) ₂	11
Goma de mascar	Cu, Cr, Fe, Pb e Zn	Etanol	Banho ultrassônico	NH ₄ H ₂ PO ₄	30
Lodo de esgoto	Cd e Pb	Hexametafosfato de sódio	Bolhas de Argônio	NH ₄ H ₂ PO ₄	38
Material biológico	Pb	Triton X-100	Sonda ultrassônica	W-Rh Permanente	37
Material particulado	Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb Se, Zn	-	Banho ultrassônico	Pd(NO ₃) ₂ /H ₂	33
Material suspenso em águas naturais	Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb	Glicerol	Agitador mecânico	Pd(NO ₃) ₂	31
Peixe	Pb	Triton X-100	Banho ultrassônico	Mg(NO ₃) ₂ /NH ₄ H ₂ PO ₄	47
Pimentão	Pb	Triton X-100	Agitador mecânico	NH ₄ H ₂ PO ₄	26
Plantas	Cd e Pb	Triton X-100	Banho ultrassônico	-	48
Plantas	Cd, Cu, Ni e Pb	Vários	Sonda ultrassônica	Pd(NO ₃) ₂ /Mg(NO ₃) ₂	27
Plantas	Cd, Co, Ni, Pb	Triton X-100	Sonda ultrassônica	Pd(NO ₃) ₂	34
Plantas	Co e Ni	-	Agitador Vortex	Ir-Ni e Ir-W permanentes	16
Produtos a base de cereal	Cd e Pb	Etanol	Agitador magnético	Pd(NO ₃) ₂ e NH ₄ H ₂ PO ₄	49
Produtos lácteos	Cd e Pb	Triton X-100	Agitador Shaker	NH ₄ H ₂ PO ₄ /NH ₄ NO ₃	50
Sedimento	Cr	Triton X-100	Agitador Shaker e agitação magnética	Mg(NO ₃) ₂	51

Continuação Tabela 1 - Aplicações da amostragem de suspensão na determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por GFAAS.

Matriz	Analito	Estabilizante	Homogeneização	Modificador	Ref
Sedimento	Pb	Vários	Agitador Shaker e agitação magnética	Pd(NO ₃) ₂ / Mg(NO ₃) ₂	35
Sedimento e solo	Co e Ni	Triton X-100	Sonda ultrassônica	-	52
Sedimento e solo	As, Cr, Cr, Cu, Ni e Pb	-	Sonda ultrassônica	Pd(NO ₃) ₂ / Mg(NO ₃) ₂ e Mg(NO ₃) ₂	53
Solo	Cr e Ni	-	Sonda ultrassônica	-	54
Solo	Pb	-	Agitação magnética	Pd(NO ₃) ₂ / Mg(NO ₃) ₂	55
Solo	Pb	-	Agitação magnética	-	56
Solo	Pb	-	Agitação magnética	-	57
Solo	Cd e Pb	-	Agitação magnética	-	58
Trióxido de tungstênio de alta pureza	Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na e Ni		Sonda ultrassônica	Pd(NO ₃) ₂ / Mg(NO ₃) ₂	40
Vegetais	Al e Cr	Etanol	Banho ultrassônico e agitação magnética	H ₂ O ₂	41
Vegetais	Cd e Pb	Etanol	Banho ultrassônico e agitação mecânica	NH ₄ H ₂ PO ₄	59

Fonte: Autor

A análise da Tabela 1 revela que há poucos trabalhos abordando a determinação de Cd, Cr, Ni e Pb em plantas empregando a amostragem de suspensão pela espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. E esses trabalhos envolvendo a análise de plantas, se limita a determinações mono-elementares.

Nesse contexto, este trabalho trata do desenvolvimento de métodos analíticos envolvendo medidas simultâneas de Cd e Pb e de Cr e Ni em plantas medicinais pela espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, dando ênfase no emprego da amostragem de suspensão.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes, soluções, amostras e materiais de referência certificados

Todas as soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) obtida pelo sistema de osmose reversa Millipore Rios 5[®], combinado com desionizador Millipore Milli-Q academic.

Soluções padrões de Cd, Cr, Ni e Pb foram preparadas por meio de diluições de soluções padrão 1000 mg L^{-1} (Qhemis High Purity).

Ácido nítrico Suprapur (Merck) e Triton X-100 (Mallinckrodt) foram utilizados no preparo de todas as soluções e suspensões analíticas.

Solução 1000 mg L^{-1} Ir (Fluka), Rh (Fluka) e W (Qhemis High Purity), foram utilizadas como modificadores permanentes sem prévia diluição.

As amostras de plantas medicinais foram adquiridas na Casa de Ervas São Francisco em Araraquara - SP: boldo (*Peumus boldus*), camomila (*Matricaria chamomilla*), carqueja (*Baccharis trimera*), cavalinha (*Equisetum giganteum L.*), chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*), erva-cidreira (*Melissa officinalis*), erva-doce (*Pimpinella anisum*), ginseng (*Panax ginseng*), graviola (*Annona muricata*), guaco (*Mikania glomerata*) e pata de vaca (*Bauhinia forficata*).

Os materiais de referência certificados (CRMs) 3464 Ginkgo Biloba Leaves, 1547 Peach Leaves, 1575a Pine Needles do *National Institute of Standard & Tecnoplogy* (NIST) foram utilizados para avaliar a exatidão do método de determinação de Cd e Pb. Os CRMs 1515 Apple Leaves, 1547 Peach Leaves, 1575a Pine Needles e 1573a Tomato Leaves (NIST) foram utilizados para avaliar a exatidão do método para Cr e Ni.

Todos os materiais volumétricos, vidrarias e frascos utilizados durante os experimentos foram imersos em banho 10% (v/v) HNO_3 por 24 horas e enxaguados com água deionizada antes do uso.

3.2 Instrumentação

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite *Perkin Elmer*, modelo SIMAA 6000, equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman e amostrador automático *Perkin Elmer*, modelo

AS-72 (Figura 1). Os atomizadores foram tubos de grafite pirolíticos com aquecimento transversal (THGA) contendo plataforma integrada. Como fonte de radiação foram utilizadas lâmpadas de catodo oco (HCL) para Cr, Ni e Pb operando em 357,9; 232,0 e 283,3 nm e 25, 25 e 10 mA e lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) para Cd operando em 228.9 nm e 240 mA. Argônio 99,99% de pureza (White Martins) foi empregado como gás de purga a uma vazão de 250 mL min⁻¹. Sonda ultrassônica com ponteira de titânio *Perkin Elmer*, modelo USS-100, foi empregada durante a amostragem e foi operada em 40% da amplitude total por 10 segundos. Todas as medidas foram feitas em triplicatas e sob as condições STPF (*Stabilized Temperature Platform Furnace*).

Figura 1 – Espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite *Perkin Elmer*, SIMAA 6000.



Fonte: Autor

Para moagem das amostras foi utilizado moinho criogênico *SPEX*, modelo 6800 Freezer/Mill (Figura 2), equipado com tubos de policarbonato e barra magnética de aço inoxidável.

Figura 2 – Moinho criogênico SPEX, 6800 Freezer/Mill



Fonte: Autor

3.3 Moagem e preparo das suspensões

As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar (Tecnal TE 394/2) a 50°C por 48 horas até massa constante. Em seguida, foram armazenadas em sacos de papel para posterior moagem. As amostras secas foram moídas em moinho criogênico para o preparo das suspensões, produzindo partículas $\leq 60 \mu\text{m}^{60}$. O programa utilizado para moagem é apresentado na Tabela 2. Depois de moídas as amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno.

Tabela 2. Programa de moagem para as amostras de plantas medicinais.

Etapas	Tempo, min
Pré-congelamento	4
Moagem*	2
Congelamento entre moagens	4

* 2 ciclos e moagem

Fonte: Autor

Não houve necessidade da moagem dos CRMs, pois os mesmos já foram adquiridos moídos.

As suspensões das amostras e dos CRMs foram preparadas dispersando-se 50 mg do material vegetal moído em 10 mL de solução contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + 0,05% (v/v) Triton X-100.

3.4 Procedimento analítico

3.4.1 Tratamento do tubo de grafite

Nos estudos envolvendo modificadores permanentes, as plataformas de grafite foram recobertas termicamente com 500 μg Ir ou Rh e 250 μg W, utilizando o programa da Tabela 3 proposto por Freschi et al.⁶¹.

Tabela 3. Programa de aquecimento utilizado no recobrimento da plataforma de grafite. Volume injetado: 50 μL .

Etapa	Temperatura	Tempo de rampa, s	Tempo de permanência, s	Vazão de Ar, mL min^{-1}
1	110	5	25	250
2	150	10	25	250
3	600	10	20	250
4	1200	10	20	250
5	2000	3	2	250
6	2200	0	5	0

Fonte: Adaptado de Freschi et al.⁶¹

3.4.2 Avaliação do comportamento eletrotérmico

O comportamento eletrotérmico foi avaliado por meio de curvas de pirólise e de atomização construídas em a) solução 0,2% (v/v) HNO_3 e b) suspensões 0,5% (m/v) de material vegetal contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + 0,05% (v/v) de Triton X-100. Para otimização da temperatura de pirólise (T_p) fixou-se a temperatura de atomização (T_a) em 2200°C para Cd e Pb e 2400°C para Cr e Ni e variou-se a T_p de 200 em 200 °C. Para T_a fixou-se a T_p na temperatura otimizada anteriormente e

variou-se T_a de 200 em 200 °C. Próximas as temperaturas consideradas ótimas para T_p e a T_a , variou-se novamente a temperatura em intervalo de 100 °C para melhor avaliar o comportamento nessa região. O programa de aquecimento do tubo de grafite está descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Programa de aquecimento utilizado no estudo do comportamento eletrotérmico dos analitos. Volume injetado: 20 μ L.

Etapa	Temperatura	Tempo de rampa, s	Tempo de permanência, s	Vazão de Ar, mL min^{-1}
1	110	1	30	250
2	130	15	30	250
3	600	10	40	250 (ar)
4	40	5	35	250
5	T_p	10	10	250
6	T_a	0	5	0
7	2500	1	3	250

T_p – temperatura de pirólise; T_a – temperatura de atomização

Fonte: Autor

3.4.3 Avaliação da matriz no comportamento eletrotérmico dos analitos

Os efeito de matriz foram avaliados por meio da comparação das inclinações de curvas analíticas (0,5 – 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cd e 5,0 – 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr, Ni e Pb) preparadas em 0,2% (v/v) HNO_3 e em suspensões 0,5% (m/v) de plantas medicinais contendo 0,2% (v/v) HNO_3 + 0,05% (v/v) de Triton X-100. As plantas medicinais utilizadas no preparo das suspensões neste estudo apresentaram concentrações menores que o limite de detecção para Cd e Pb e as concentrações mais baixas para Cr e Ni.

3.4.4 Influência da concentração da suspensão

A influência da concentração das suspensões na precisão e exatidão do método foi avaliada analisando-se suspensões de CRMs preparadas em um intervalo de 0,5 - 2,0% (m/v).

3.4.5 Determinação dos analitos nos CRMs e amostras de plantas medicinais

Depois da otimização dos principais parâmetros dos métodos para a determinação de Cd e Pb e de Cr e Ni os mesmos foram aplicados a análise de dez plantas medicinais e cinco CRMs.

Os limites de detecção e de quantificação foram calculados de acordo com as recomendações da IUPAC⁶².

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um estudo sistemático do emprego da amostragem de suspensão na determinação simultânea de Cd e Pb e de Cr e Ni foi o foco principal deste trabalho. O programa de aquecimento empregado inicialmente compreendia o uso de duas etapas de secagem, uma etapa de pirólise, uma etapa de atomização e uma etapa de limpeza. No entanto, após alguns ciclos de aquecimento, observou-se diminuição do sinal analítico, devido resíduos carbonáceos formados sobre a plataforma do tubo de grafite, dificultando a passagem da radiação. O emprego de uma pirólise adicional com um fluxo de ar sintético⁶³ foi avaliada. Essa pirólise adicional permitiu remover a matriz da plataforma do tubo de grafite. Deve-se destacar que temperaturas acima de 600°C não devem ser empregadas em presença de ar, pois poderá causar um consumo acelerado do tubo via combustão. Assim, é fundamental que ocorra a troca de gases (de ar para Ar) para se obter um ambiente inerte e dar início as próximas etapas. Por isso incluiu-se uma etapa adicional de purga após a pirólise assistida por ar (Tabela 4).

O emprego da sonda ultrassônica, também foi importante para garantir uma melhor homogeneidade das suspensões. Testes preliminares revelaram que 10 segundos de sonicação eram suficientes para produzir sinais analíticos repetitivos.

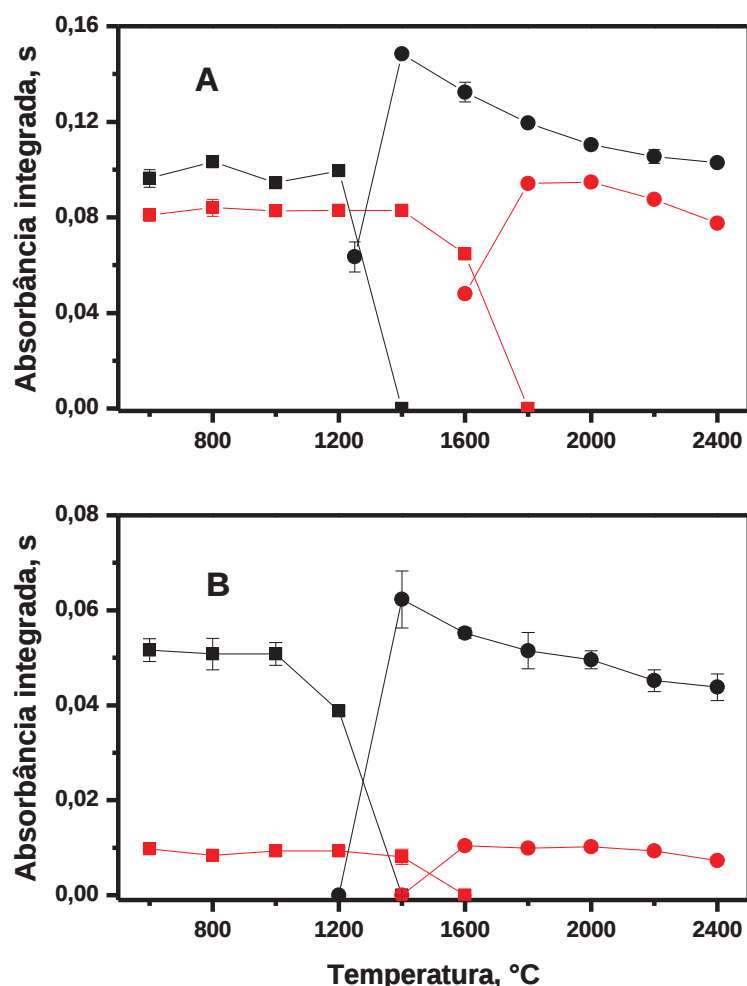
4.1 Determinação de Cd e Pb

4.1.1 Comportamento eletrotérmico

Como os elementos Cd e Pb são facilmente volatilizados da plataforma de grafite entre 500°C - 600°C na ausência de modificadores químicos⁴⁴, a análise direta de plantas exigiu programas de aquecimento efetivos na remoção da matriz. Os modificadores químicos podem auxiliar por meio da influência na temperatura de volatilização do analito ou pela ação catalítica de degradação da amostra. Os modificadores avaliados foram a mistura universal $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e os modificadores permanentes W e Ir. Vale destacar que a mistura Pd+Mg e o modificador permanente W não foram efetivos para Cd: os perfis dos sinais transientes apresentavam-se duplos; ainda, observou-se efeito de memória significativo entre medidas sucessivas do analito em suspensão de vegetal. A plataforma do tubo de grafite recoberta com Ir forneceu os melhores resultados, que serão a seguir apresentados.

O comportamento eletrotérmico de Cd e Pb em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 e em suspensão 0,5% (m/v) de material vegetal utilizando a plataforma do tubo recoberta com Ir permanente estão ilustrados pelas curvas de pirólise e atomização (Figura 3). A análise desta figura revela que o Cd apresentou uma estabilidade térmica em meio de 0,2% (v/v) HNO_3 parecida com a obtida em suspensão 0,5% (m/v). Comportamento semelhante ao do Cd foi observado para Pb.

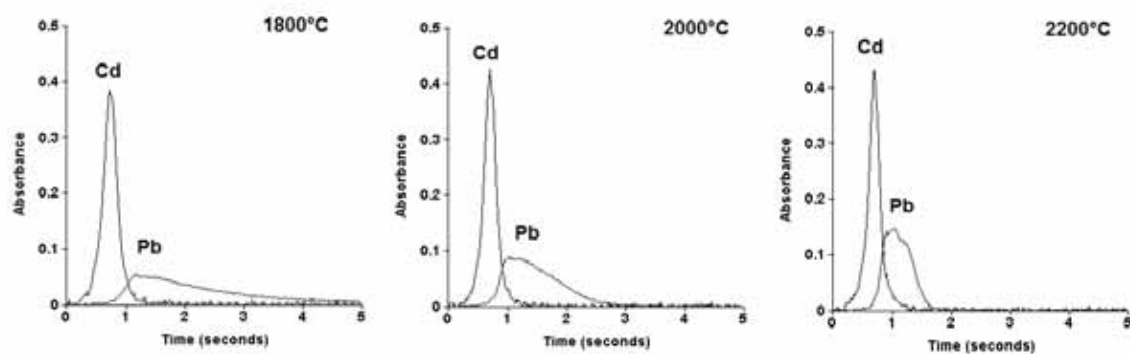
Figura 3. Curvas de pirólise (■: Cd; ■: Pb) e de atomização (●: Cd; ●: Pb) em meio aquoso (A) e em suspensão de vegetal (B). Curvas em A correspondem a $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb. Curvas em B correspondem a suspensões 0,5% (m/v) de Ginkgo Biloba Leaves ($4,9 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) e Pine Needles ($1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd), ambas preparadas em 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

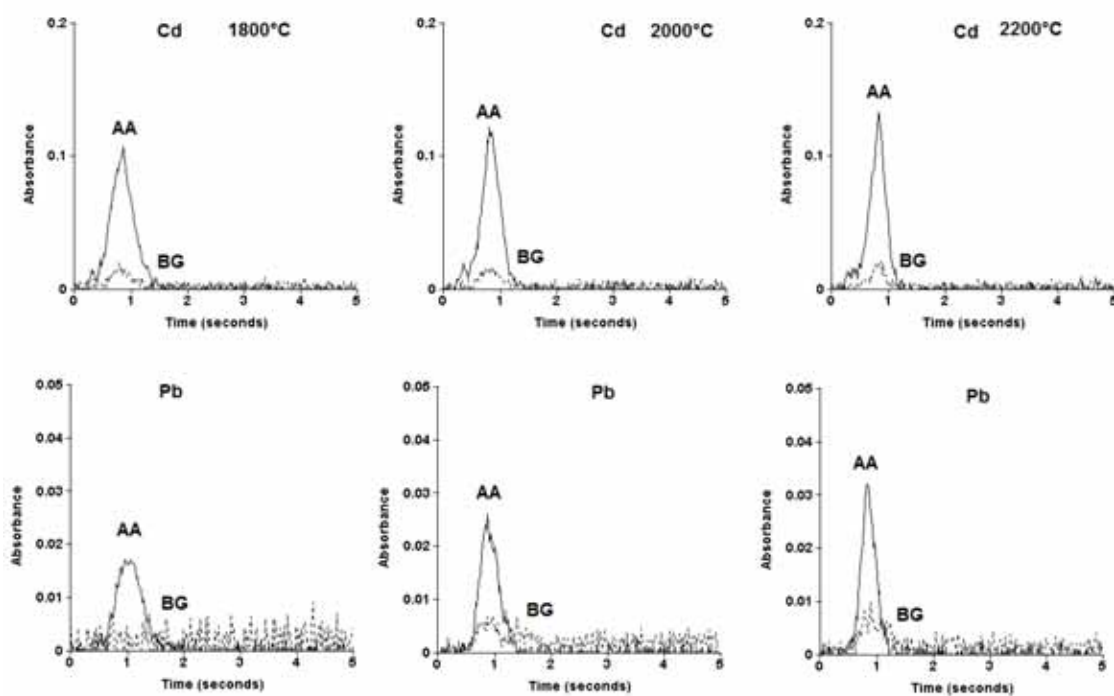
Determinações simultâneas requerem um único programa de aquecimento do atomizador cujas temperaturas serão as mesmas para todos os analitos, ou seja, a condição escolhida será em função da sensibilidade e da precisão desejada. Cádmio e Pb foram estabilizados pelo Ir até 1000°C , nesta temperatura também foi observado baixos sinais de fundo para ambos os analitos, sendo esta a temperatura de pirólise escolhida. A atomização ótima dos analitos foi atingida a 2200°C . Esta temperatura não forneceu as maiores absorvâncias, mas ofereceu boas precisões ($\text{RSD} < 2,5\%$ para Cd e $< 3,5\%$ para Pb) e perfis dos sinais transientes mais bem definidos, tanto para solução aquosa (Figura 4) como para suspensão (Figura 5).

Figura 4. Sinais transientes de absorção atômica para $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb em meio 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

Figura 5. Sinais transientes de absorção atômica (AA) e de fundo (BG) para Cd e Pb em suspensão 0,5% (m/v) de Ginkgo Biloba Leaves ($4,9 \mu\text{g L}^{-1}$ Pb) e Pine Needles ($1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd).

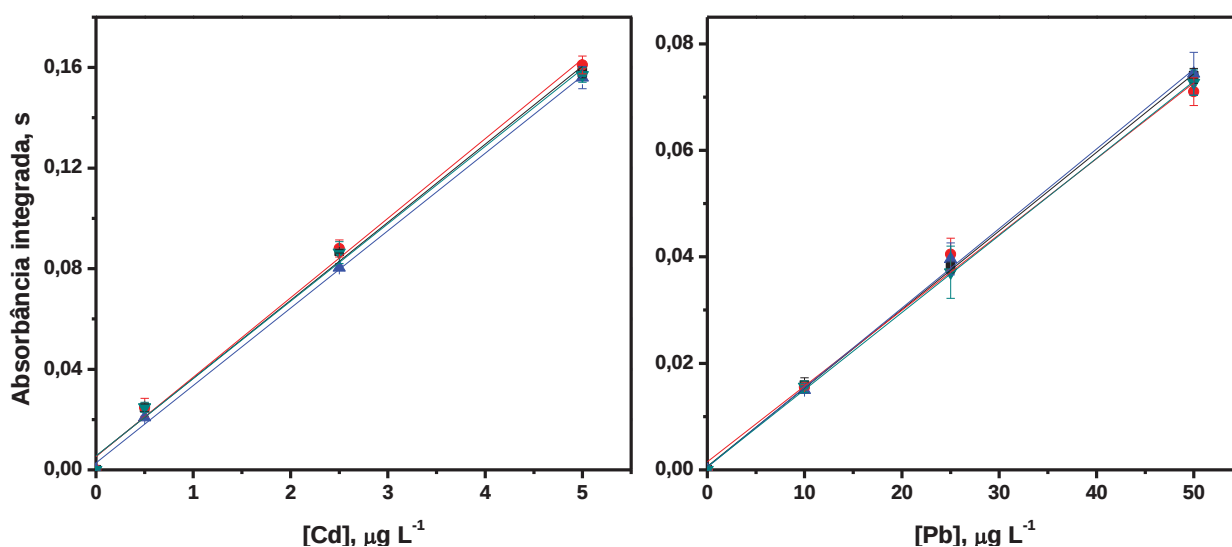


Fonte: Autor

4.1.2 Efeito de matriz

O efeito de matriz foi avaliado através da comparação das inclinações das curvas analíticas construídas em solução aquosa e em suspensões de boldo, camomila e ginseng (Figura 6). Foram obtidos bons coeficientes de correlação para Cd (0,9984; 0,9951; 0,9918; 0,9955) e Pb (0,9974; 0,9980; 0,9965; 0,9995). Os coeficientes angulares das curvas foram: 0,0329; 0,0329; 0,0310; 0,0339 (Cd) e 0,00144; 0,00144; 0,00150; 0,00151 (Pb). Quando comparados as curvas obtidas através das suspensões com a curva obtida em meio aquoso, observa-se que a diferença nas inclinações acarretam em erros menores que 6% e 4% para Cd e Pb respectivamente. Considerando que os erros obtidos foram menores que 6%, e que erros dessa grandeza são aceitáveis na análise de traço utilizando a amostragem direta de suspensões, foi adotada calibração aquosa para os estudos seguintes.

Figura 6. Curvas analíticas construídas em solução aquosa (■) e suspensões 0,5% m/v de boldo (●), camomila (▼) e ginseng (▲).

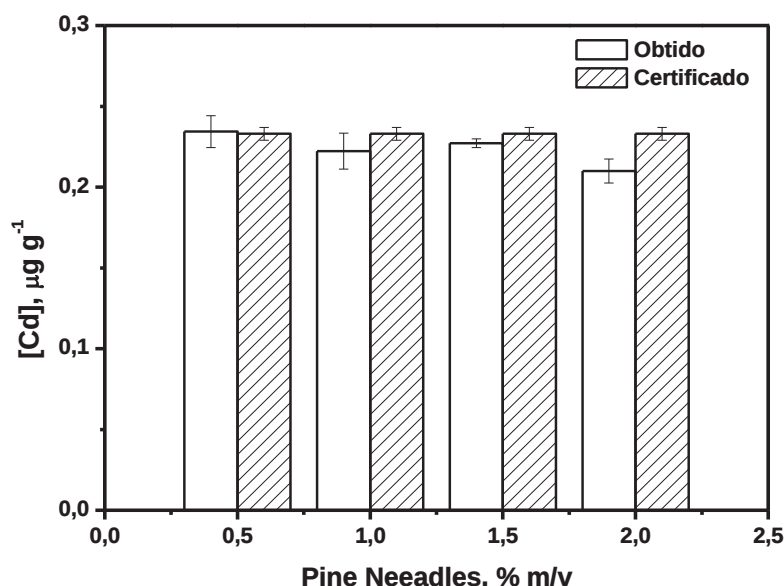


Fonte: Autor

4.1.3. Influência da concentração da suspensão

Uma das etapas críticas da análise direta de suspensão está relacionada a homogeneidade da amostra. Nesse sentido, fez-se um estudo sobre a influência da concentração da suspensão na exatidão analítica. Os resultados para Cd foram concordantes ao nível de 95% de confiança com o valor certificado do CRM Pine Needles para suspensões contendo até 1,5% (m/v) de acordo com o teste-*t* (Figura 7). Concentrações superiores apresentaram entupimento do capilar do auto-amostrador, prejudicando a amostragem, a dispensa e portanto a precisão e a exatidão.

Figura 7. Influência da concentração da suspensão na determinação de Cd.

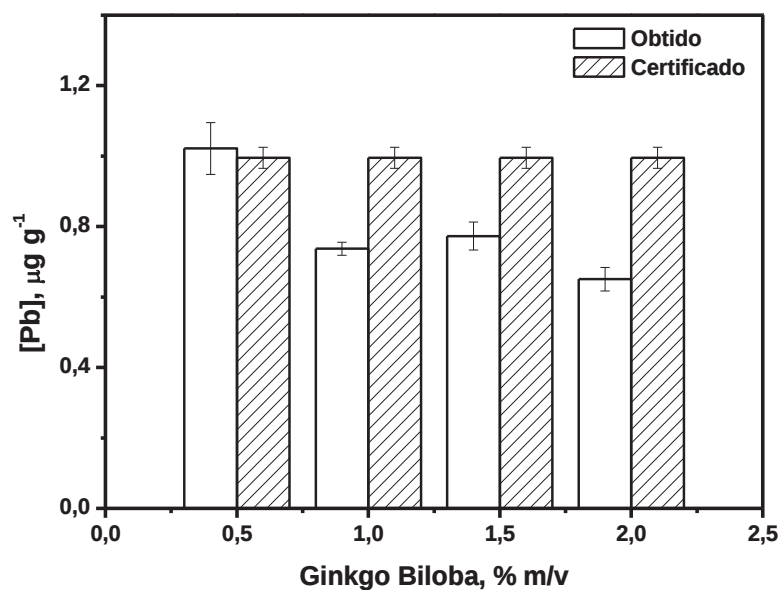


Fonte: Autor

Os melhores resultados para Pb foram obtidos com suspensão 0,5% (m/v) do CRM Ginkgo Biloba (Figura 8). Visando a determinação simultânea de Cd e Pb nas amostras de plantas medicinais, a concentração da suspensão ficou estipulada em 0,5% (m/v). Nesta situação a massa de material vegetal contida no volume injetado de 20 µL corresponde a 100 µg.

A diferença na influência da concentração da suspensão de Cd e Pb, pode ser atribuída ao fato de aproximadamente 95% do Cd da matriz ser extraído para a fase líquida por meio da agitação ultrassônica, facilitando sua atomização como observado por Santos Junior et al²⁴

Figura 8. Influência da concentração da suspensão na determinação de Pb.

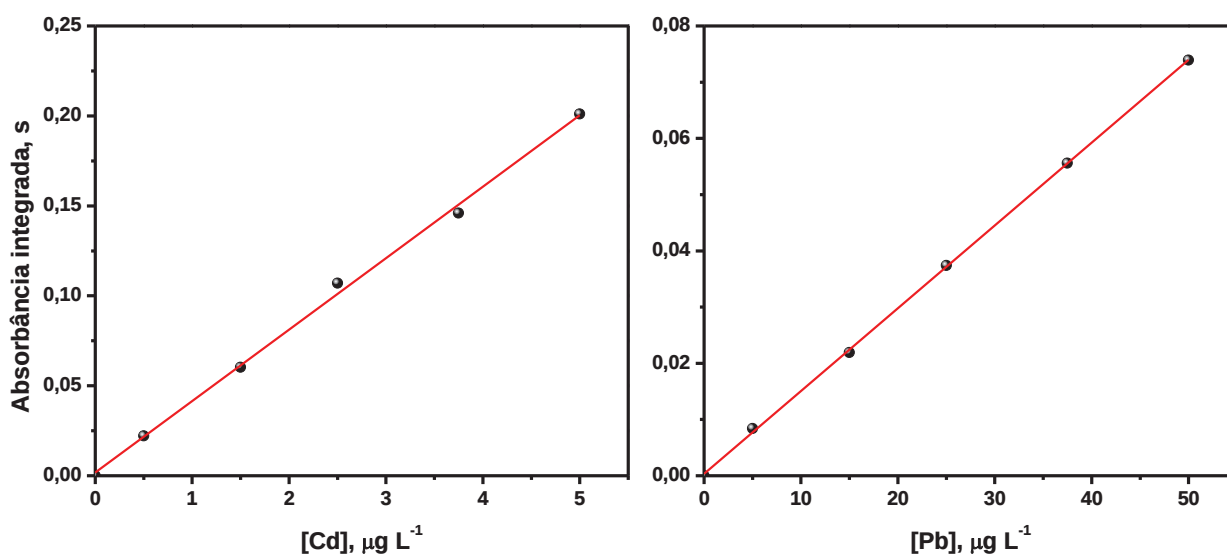


Fonte: Autor

4.1.4 Determinação de Cd e Pb nos materiais de referência certificados e nas amostras de plantas medicinais

Com o método otimizado, curvas analíticas de 0,5 a 5,0 µg L⁻¹ para Cd e 5,0 a 50,0 µg L⁻¹ para Pb (Figura 9) foram construídas em meio 0,2% (v/v) HNO₃.

Figura 9. Curva analítica para Cd e Pb obtida em meio 0,2% (v/v) HNO₃.



Fonte: Autor

Os parâmetros de desempenho analítico para a determinação simultânea de Cd e Pb em plantas medicinais empregando a amostragem direta de suspensão, utilizando Ir como modificador permanente estão compilados na Tabela 5. Foram obtidas boas linearidades, as massas características foram 1,8 pg Cd e 59 pg Pb, os limites de detecção foram 0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd e 1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb. O desvio padrão relativo do método para Cd (5,3%) e Pb (3,5%) foram obtidos através da amostra de erva cidreira contendo 0,19 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cd e 1,91 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb. Irídio, como modificador permanente foi eficaz na estabilização térmica dos analitos e na degradação da matriz ao longo de 200 ciclos de aquecimento sucessivos. Novos ciclos de aquecimento foram possíveis (cerca de 750), mas para isso foram necessários novos recobrimentos da plataforma do tubo de grafite a cada 200 ciclos. A vida útil do atomizador modificado com Ir foi aproximadamente o dobro daquela observada para modificadores convencionais empregados na análise direta e simultânea de Cd e Pb⁶⁴.

Tabela 5. Principais parâmetros de desempenho analítico para Cd e Pb.

Parâmetros	Cd	Pb
LOD	0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$
LOD	0,024 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$
LOQ	0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$	4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
m_0	1,8 pg	59 pg
RSD	5,3%	3,5%
Coeficiente angular	0,04695	0,00147
Intervalo de trabalho	0,12 – 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,2 - 50 $\mu\text{g L}^{-1}$
Coeficiente de correlação linear	0,9982	0,9997
Temperatura de pirólise	1000 °C	
Temperatura de atomização	2200 °C	
Volume injetado	20 μL	
Suspensão	0,5% (m/v)	
Modificador	500 $\mu\text{g Ir}$ (permanente)	

Fonte: Autor

A exatidão do método foi avaliado por meio da análise dos materiais de referência certificados (1575a Pine Needles, 1547 Peach Leaves e 3246 Ginkgo Biloba Leaves), onde revelam concordância entre os valores obtidos e certificados ao nível de 95% de confiança de acordo com o teste-*t* (Tabela 6).

Tabela 6. Determinação de Cd e Pb nos materiais de referência certificados.

CRM	Cd		Pb	
	Obtido, $\mu\text{g g}^{-1}$	Certificado, $\mu\text{g g}^{-1}$	Obtido, $\mu\text{g g}^{-1}$	Certificado, $\mu\text{g g}^{-1}$
1575a	$0,218 \pm 0,020$	$0,233 \pm 0,004$	$< 0,24$	$0,167 \pm 0,015$
1547	$< 0,024$	$0,026 \pm 0,003$	$0,81 \pm 0,03$	$0,87 \pm 0,03$
3246	$< 0,024$	$0,020 \pm 0,001$	$1,00 \pm 0,07$	$1,00 \pm 0,03$

Fonte: Autor

Dez amostras de plantas medicinais foram analisadas utilizando o método proposto, sendo os valores obtidos compilados na Tabela 7. Dentre as plantas que apresentaram teores acima do limite de detecção $0,024 \mu\text{g.g}^{-1}$ para Cd e $0,24 \mu\text{g.g}^{-1}$ para Pb, os teores se apresentaram entre $0,19$ e $0,34 \mu\text{g g}^{-1}$ e entre $1,02$ e $1,91 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cd e Pb respectivamente.

Tabela 7. Resultados da determinação ($n=3$) de Cd e Pb em plantas medicinais.

Amostra	Cd, $\mu\text{g g}^{-1}$	Pb, $\mu\text{g g}^{-1}$
Boldo	$< \text{LOD}$	$< \text{LOD}$
Camomila	$< \text{LOD}$	$< \text{LOD}$
Chapéu de couro	$< \text{LOD}$	$1,28 \pm 0,07$
Carqueja	$0,34 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,18$
Cavalinha	$< \text{LOD}$	$< \text{LOD}$
Erva-cidreira	$0,19 \pm 0,01$	$1,91 \pm 0,06$
Erva-doce	$< \text{LOD}$	$1,06 \pm 0,19$
Ginseng	$< \text{LOD}$	$< \text{LOD}$
Graviola	$< \text{LOD}$	$< \text{LOD}$
Guaco	$0,19 \pm 0,01$	$< \text{LOD}$

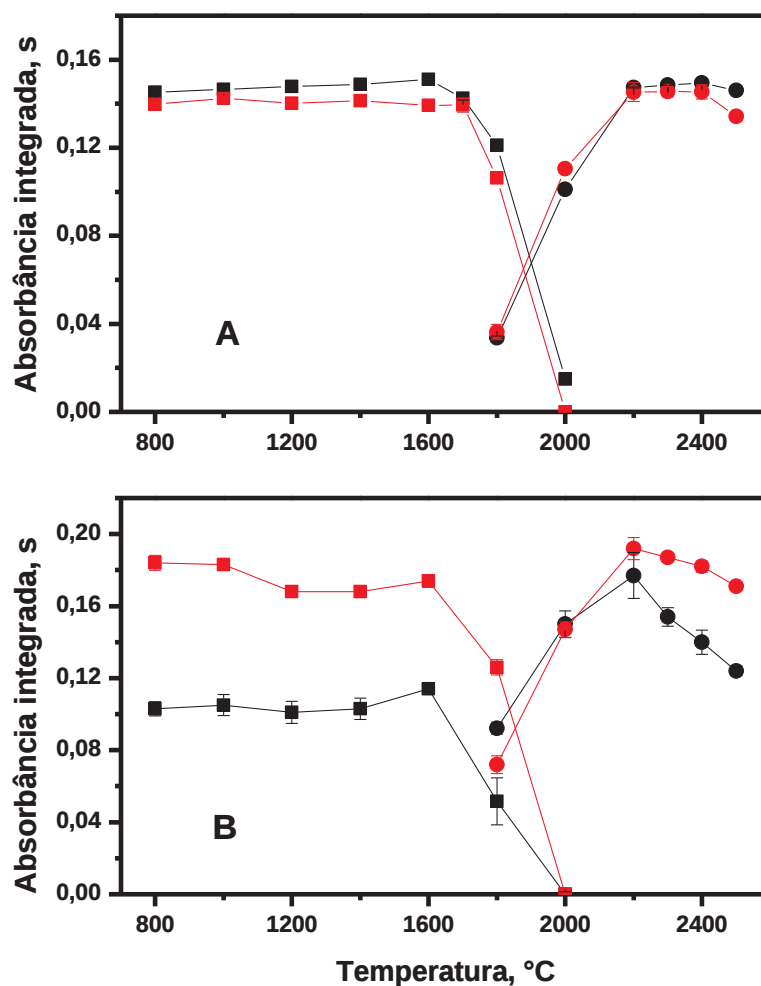
Fonte: Autor

4.2 Determinação de Cr e Ni

4.2.1 Comportamento eletrotérmico

O comportamento térmico de Cr e Ni em meio aquoso e de suspensão na ausência de modificador químico está ilustrado nas curvas de pirólise e de atomização da Figura 10. Pode-se observar que tanto o Cr quanto o Ni apresentaram um comportamento térmico parecido para solução aquosa (Fig. 10A) e suspensão (Fig. 10B).

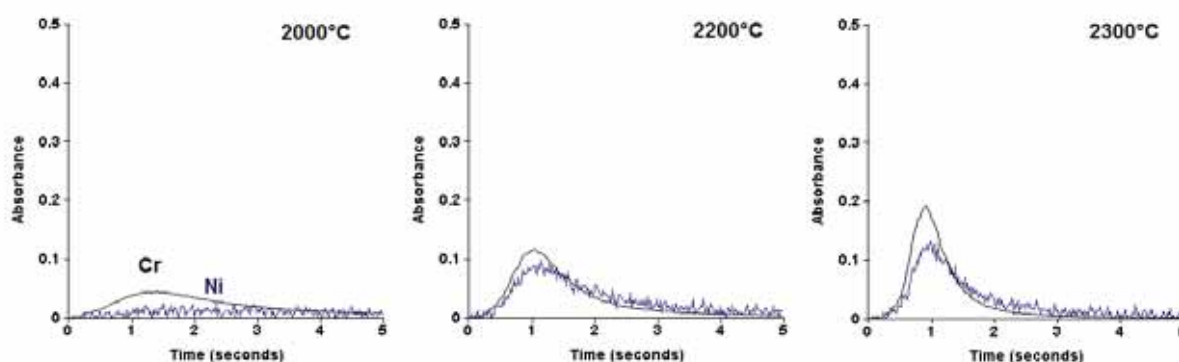
Figura 10. Curvas de pirólise (■: Cr; ■: Ni) e de atomização (●: Cr; ●: Ni) em meio aquoso (A) e em suspensão de vegetal (B). Curvas em A correspondem a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni. Curvas em B correspondem a suspensões 0,5% (m/v) de Tomato Leaves ($11 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr e $8,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni) enriquecida com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Ni, preparadas em 0,05% (v/v) Triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

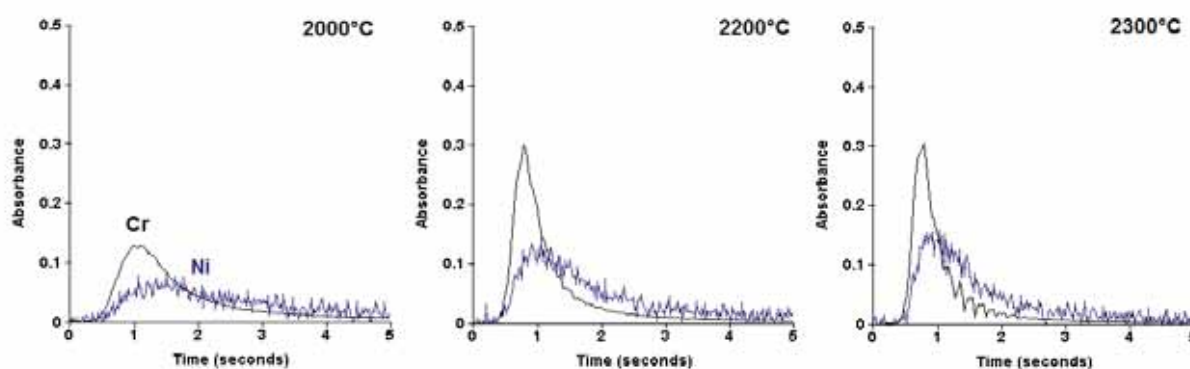
Em determinações simultâneas por GF AAS, as temperaturas de pirólise e atomização podem não ser as ótimas para cada um dos analitos. Neste caso, Cr e Ni apresentaram comportamentos térmicos semelhantes: ambos foram estabilizados até 1600°C e apresentaram baixos sinais de fundo, e a melhor atomização foi obtida a 2300°C. Esta temperatura de atomização não forneceu a melhor sensibilidade, mas sim melhores precisões (RSD < 3,0% para Cr e < 1,0% para Ni) e perfis dos sinais transientes registrados em meio aquoso (Figura 11) e em suspensão (Figura 12).

Figura 11. Sinais transientes de absorção atômica para 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ni em meio 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

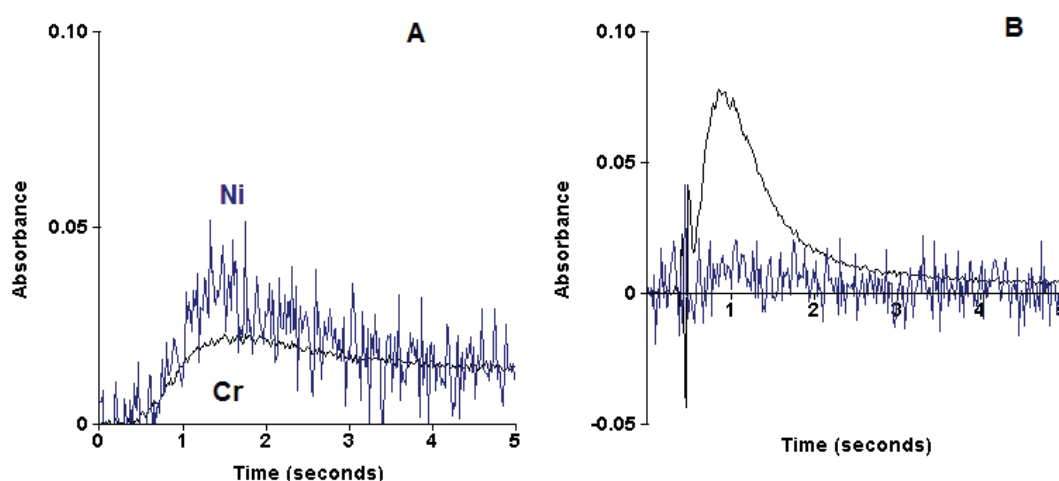
Figura 12. Sinais transientes de absorção atômica para Cr e Ni em suspensão 0,5% (m/v) de Tomato Leaves (11 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr e 8,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ni) enriquecida com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Ni contendo 0,5% (v/v) triton X-100 + 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

Quando se trabalha com elementos refratários como Cr e Ni, o uso de modificadores pode ser dispensável³², a menos que se queira recobrir a plataforma do tubo visando aumentar a vida útil do mesmo ou auxiliar na degradação da matriz. Irídio (Figura 13 A) e Rh foram avaliados como modificadores permanentes, mas ambos dificultaram a atomização dos analitos, acarretando atomizações lentas (os picos não retornavam a linha base após os 5 segundos de atomização) e perda de sensibilidade. A mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foi avaliada para fins comparativos e impediu, completamente, a atomização do Ni (Figura 13 B).

Figura 13. Sinais transientes de absorção atômica de Cr e Ni referente a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ni em solução 0,2% (v/v) HNO_3 utilizando Ir permanente (A) e utilizando $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (B).



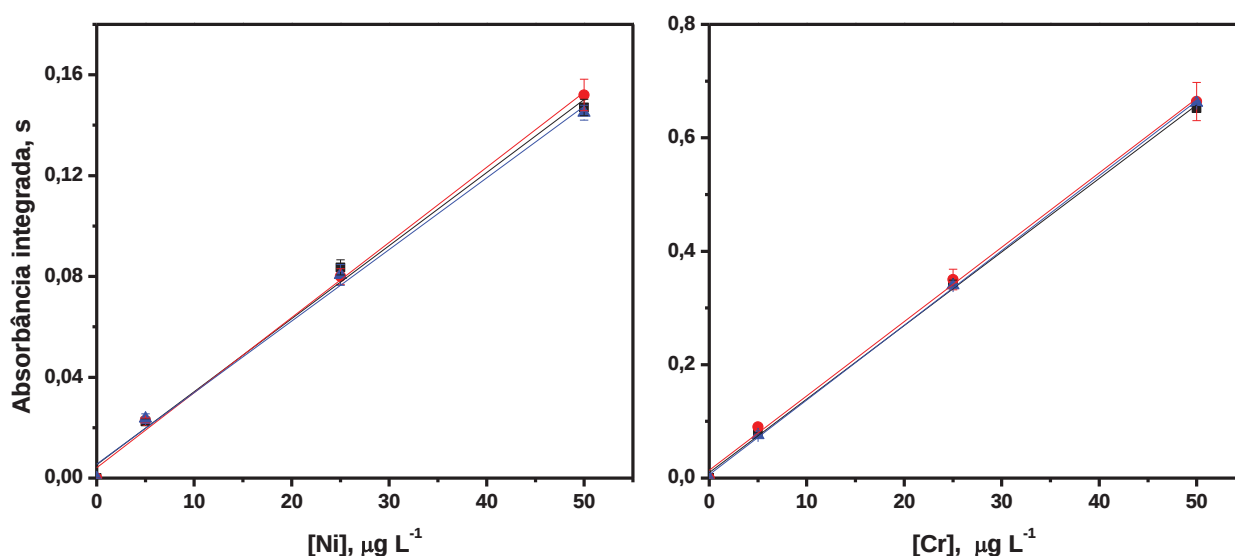
Fonte: Autor

4.2.2 Efeitos de matriz

Possíveis efeitos de matriz foram avaliados pela comparação das inclinações de curvas analíticas construídas em meio aquoso e em suspensões de camomila e carqueja (Figura 14). Os coeficientes angulares correspondentes foram 0,01297 (aquoso); 0,1318 (camomila); 0,01311 (carqueja) para Cr e 0,00290 (aquoso); 0,00284 (camomila); 0,00298 (carqueja) para Ni. Os coeficientes de correlação foram 0,9984 (aquoso); 0,9996 (camomila); 0,9977 (carqueja) para Cr e 0,9910 (aquoso); 0,9918 (camomila); 0,9963 (carqueja) para Ni. Comparando os coeficientes angulares obtidos através das curvas construídas em suspensões de

camomila e carqueja e da curva construída em meio aquoso, os erros obtidos quando empregado a calibração aquosa são menores que 2,0% e 3,4% para Cr e Ni, respectivamente. Considerando a magnitude dos erros, curvas de calibração aquosa foram adotadas para os estudos subsequentes, pois erros menores que 3,4% são aceitáveis na análise de elementos em quantidades traço.

Figura 14. Curvas analíticas construídas em solução aquosa (■) e suspensões 0,5% m/v de camomila (●) e carqueja (▲).

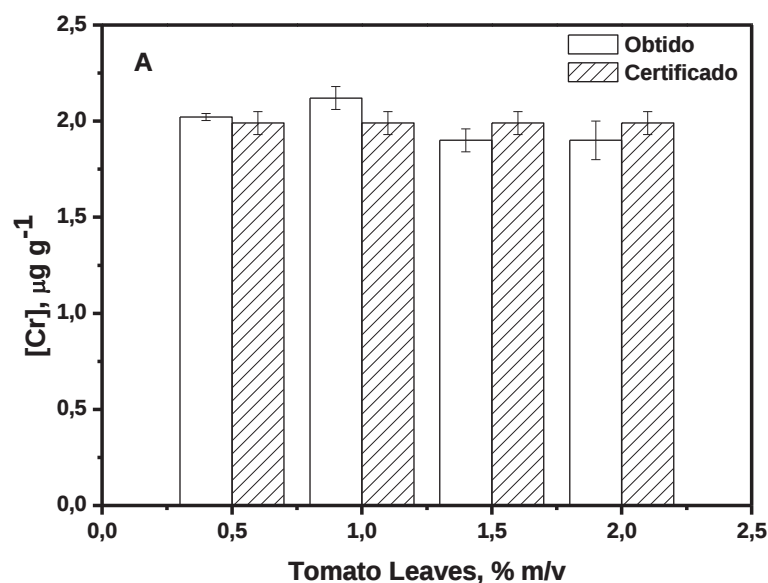


Fonte: Autor

4.2.3 Influência da concentração da suspensão

A influência da concentração da suspensão na exatidão analítica revela que resultados para Cr foram concordantes ao nível de 95% de confiança com o valor certificado do material de referência Tomato Leaves para suspensões de 0,5 até 2,0% (m/v) (Figura 15).

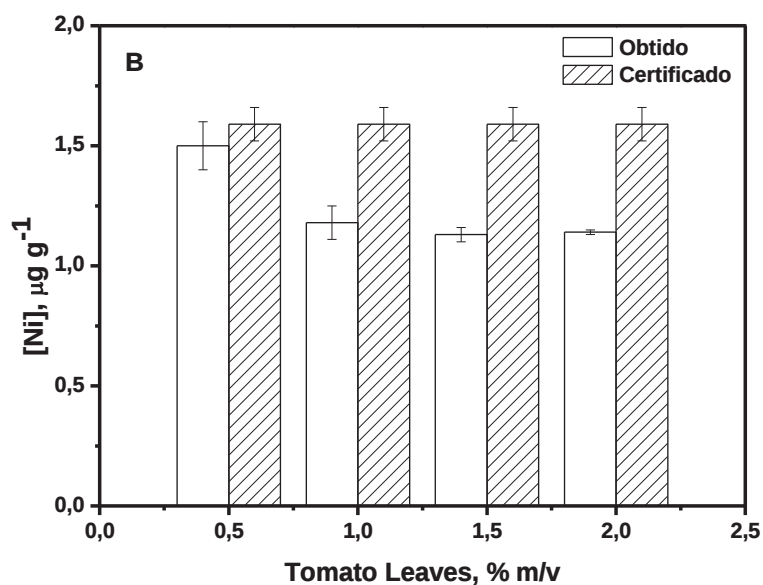
Figura 15. Influência da concentração da suspensão na determinação de Cr.



Fonte: Autor

Para Ni o único valor concordante com o valor certificado do material de referência Tomato Leaves foi obtido com suspensão 0,5% (m/v) (Figura 16). Visando a determinação simultânea de Cr e Ni nas amostras de plantas medicinais, a concentração da suspensão foi de 0,5% (m/v). Para suspensão de 0,5% (m/v) e volume injetado de 20 µL, a massa amostrada corresponde a 100 µg.

Figura 16. Influência da concentração da suspensão na determinação de Ni.

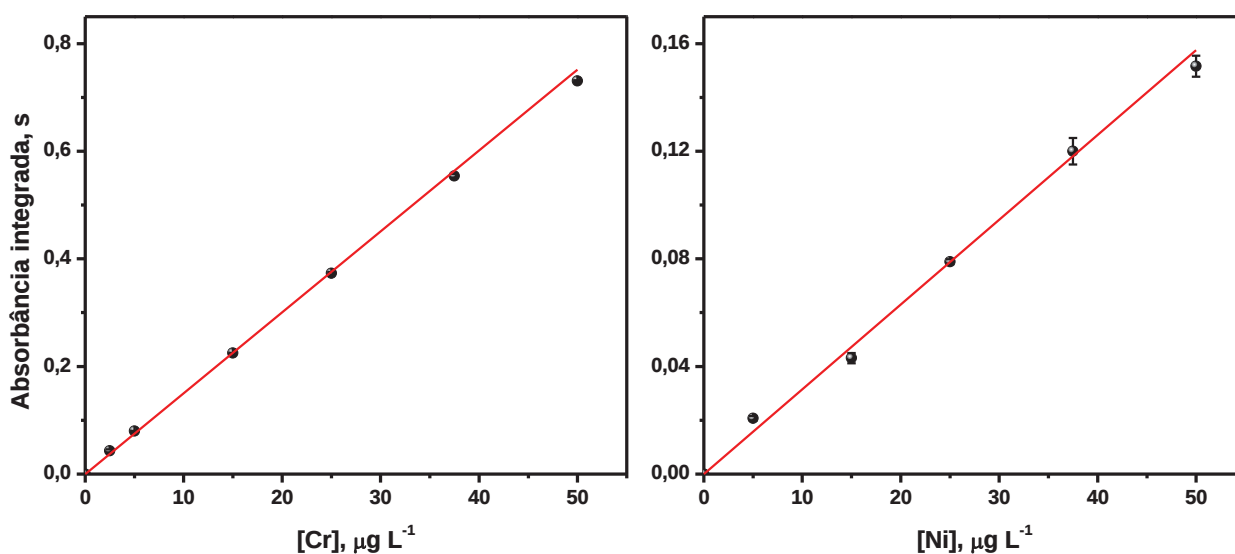


Fonte: Autor

4.2.4 Determinação de Cr e Ni nos materiais de referência certificados e nas amostras de plantas medicinais

Com o método otimizado, curvas analíticas de 5,0 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cr e Ni foram construídas em meio 0,2% (v/v) HNO_3 (Figura 17).

Figura 17. Curva analítica para Cr e Ni preparada em 0,2% (v/v) HNO_3 .



Fonte: Autor

Os parâmetros de desempenho analítico obtidos para a determinação simultânea de Cr e Ni em plantas medicinais empregando a amostragem direta de suspensão podem ser observadas na Tabela 8. Utilizando aliquotas de 20 μL de suspensões, foram obtidas massas características de 5,8 pg Cr e 31 pg Ni. Os limites de detecção de 0,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr e 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ni, foram calculados de acordo com as recomendações da IUPAC⁶². O desvio padrão relativo do método para Cr e Ni foi calculado através da amostra de erva-doce contendo 5,68 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr e 1,54 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni, sendo esses desvios de 2,8% para Cr e 2,2% para Ni. A vida útil do tubo de grafite foi de aproximadamente 600 queimas.

Tabela 8. Principais parâmetros de desempenho analítico para Cr e Ni.

Parâmetros	Cr	Ni
LOD	0,20 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$
LOD	0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$
LOQ	0,65 $\mu\text{g L}^{-1}$	5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
m_0	5,9 pg	31 pg
RSD	2,8%	2,2%
Coeficiente angular	0,01503	0,00315
Intervalo de trabalho	0,20 - 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,5 - 50 $\mu\text{g L}^{-1}$
Coeficiente de correlação linear	0,9986	0,9957
Temperatura de pirólise	1600 °C	
Temperatura de atomização	2300°C	
Volume injetado	20 μL	
Suspensão	0,5% (m/v)	

Fonte: Autor

Os resultados da análise dos materiais de referência certificados (1575a Pine Needles, 1547 Peach Leaves, 1573a Tomato Leaves, 1515 Apple Leaves) revelaram concordância entre os valores obtidos e certificados ao nível de 95% de confiança (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados da determinação ($n=3$) de Cr e Ni nos materiais certificados de referência.

CRM	Cr		Ni	
	Obtido, $\mu\text{g g}^{-1}$	Certificado, $\mu\text{g g}^{-1}$	Obtido, $\mu\text{g g}^{-1}$	Certificado, $\mu\text{g g}^{-1}$
1573 ^a	$2,02 \pm 0,03$	$1,99 \pm 0,06$	$1,59 \pm 0,07$	$1,51 \pm 0,10$
1515	$0,38 \pm 0,01$	0,3*	$0,95 \pm 0,07$	$0,91 \pm 0,12$
1575 ^a	$0,47 \pm 0,03$	(0,3-0,5)*	$1,15 \pm 0,17$	$1,47 \pm 0,10$
1547	$1,17 \pm 0,02$	1,0*	$0,66 \pm 0,10$	$0,69 \pm 0,09$

* Valores informativos (não certificados).

Fonte: Autor

A análise de dez amostras de plantas medicinais apresentou teores de Cr entre 1,73 e 11,60 $\mu\text{g g}^{-1}$ e Ni entre 0,78 e 5,54 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 10). Todos os valores obtidos situaram-se acima dos respectivos limites de detecção: 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cr e 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ni.

Tabela 10. Resultados da determinação ($n=3$) de Cr e Ni em plantas medicinais.

Amostra	Cr, $\mu\text{g g}^{-1}$	Ni, $\mu\text{g g}^{-1}$
Boldo	$3,50 \pm 0,13$	$1,67 \pm 0,12$
Camomila	$1,76 \pm 0,08$	$1,67 \pm 0,20$
Chapéu de couro	$4,28 \pm 0,27$	$2,12 \pm 0,08$
Carqueja	$2,46 \pm 0,16$	$0,78 \pm 0,11$
Cavalinha	$8,83 \pm 0,40$	$3,92 \pm 0,05$
Erva-cidreira	$11,60 \pm 0,22$	$4,58 \pm 0,18$
Erva-doce	$5,68 \pm 0,16$	$5,54 \pm 0,12$
Graviola	$3,58 \pm 0,30$	$2,67 \pm 0,07$
Guaco	$3,36 \pm 0,09$	$1,21 \pm 0,12$
Pata de Vaca	$8,82 \pm 0,42$	$3,26 \pm 0,08$

Fonte: Autor

Desgaste da barra magnética do moinho criogênico, causado pelo atrito com a amostra, pode provocar contaminação por metais constituintes do material da barra²⁰. Checagem periódica da superfície metálica da barra revelou a sua integridade, por isso uma avaliação da possível ocorrência de contaminação não foi realizada.

Os teores encontrados de Cd, Cr, Ni e Pb nas amostras de plantas medicinais escolhidas - que estão entre as mais populares e consumidas – estão compatíveis com os teores totais desses elementos usualmente encontrados em plantas medicinais (Tabela 11). No entanto, não se pode afirmar que as concentrações determinadas estão dentro de um limite aceitável, pois não existe na legislação vigente no país os valores máximos permitidos para estes elementos neste tipo de amostra.

Tabela 11. Teores comparativos de Cd, Cr, Ni e Pb.

Amostra	Cd, $\mu\text{g g}^{-1}$	Cr, $\mu\text{g g}^{-1}$	Ni, $\mu\text{g g}^{-1}$	Pb, $\mu\text{g g}^{-1}$	Referência
Plantas medicinais	0,19 – 0,34	1,73 – 11,6	0,78 – 5,54	1,02 – 1,91	Este trabalho
Plantas medicinais	0,06 - 0,44	4,23 $\pm$ 13,18	0,90 – 5,40	0,26 – 1,14	65, 66
Alimentos	0,24 – 0,55	0,58 – 2,18	1,37 – 2,50	0,95 – 1,08	15, 24, 29, 67

Fonte: Auto

5 CONCLUSÃO

Os métodos desenvolvidos são simples, rápidos e eficientes para determinar Cd, Cr, Ni e Pb em plantas medicinais empregando GF AAS e amostragem de suspensão.

A utilização de Ir como modificador permanente permitiu aumentar a vida útil do atomizador em aproximadamente duas vezes quando comparado a métodos utilizando modificadores convencionais na determinação direta e simultânea de Cd e Pb.

O procedimento baseado na amostragem de suspensão proporcionou um menor tempo de análise, menor risco de contaminação da amostra (pelo preparo mínimo da mesma) e pode ser considerado um método analítico sustentável: não se utiliza de reagentes perigosos, riscos ao analista são menores e ainda tem uma geração mínima de resíduos, quando comparado a métodos tradicionais de preparo de amostra como a digestão ácida.

Os teores médios de Cd, Cr, Ni e Pb determinados foram compatíveis com os valores encontrados na literatura para plantas medicinais.

REFERÊNCIAS

- 1 VEIGA JUNIOR., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. A. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, maio/jun. 2005.
- 2 CHAN, K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. **Chemosphere**, v. 52, n. 9, p. 1361-1371, Sept. 2003.
- 3 FREIRE, M. F. I. Metais pesados em plantas medicinais. **Rev. Cient. Eletrôn. Agron.**, v. 4, n. 8, p. 1-14, dez. 2005.
- 4 ZHANG, J. et al. Quality of herbal medicines: challenges and solutions. **Complement. Ther. Med.**, v. 20, n. 1/2, p. 100-106, Feb./Apr. 2012.
- 5 RAO, M. M.; MEENA, A. K.; GALIB, A. Detection of toxic heavy metals and pesticide residue in herbal plants which are commonly used in the herbal formulations. **Environ. Monit. Assess.**, v. 181, n. 1/4, p. 267-271, Oct. 2011.
- 6 BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto n. 5.813, 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, p. 2-4, 22 jun. 2006a. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5813.htm>. Acesso em: 15 out. 2012.
- 7 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a política nacional de práticas integrativas e complementares (PNPIC) no sistema único de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p. 20-25, 03 maio 2006. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/PNPIC.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2012.
- 8 CARVALHO, A. C. B. et al. Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos. **Rev. Fitos**, v. 7, n. 1, p. 5-16, jan./mar. 2012.
- 9 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneve, 1998. 122 p.
- 10 ARAUJO, R. G. O. et al. Comparison of direct solid sampling and slurry sampling for the determination of cadmium in wheat flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 77, n. 1, p. 400-406, Oct. 2008.
- 11 BOBROWSKA-GRZEIK, E.; JAKÓBIK-KOLON, A. Leaching of cadmium and lead from dried fruits and fruit teas to infusions and decoctions. **J. Food. Compos. Anal.**, v. 21, n. 4, p. 326-331, June 2008.
- 12 FARAGO, M. E. **Plants and the chemical elements**: biochemistry, uptake, tolerance and toxicity. Weinheim: Wiley-VHC, 1994. 292 p.
- 13 MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 527 p.

14 PRASAD, M. N. V. **Heavy metal stress in plants**: from biomolecules to ecosystems. 2nd ed. Berlin: Springer, 2004. 462 p.

15 DOBROWOLSKI, R.; PAWLOWSKA-KAPUSTA, I.; DOBRZYNSKA, J. Chromium determination in food by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using classical and permanent modifiers. **Food Chem.**, v. 132, n. 1, p. 597-602, May 2012.

16 DOBROWOLSKI, R.; OTTO, M. Determination of nickel and cobalt in reference plant materials by carbon slurry sampling GFAAS technique after their simultaneous preconcentration onto modified activated carbon. **J.Food Compos. Anal.**, v. 26, n. 1/2, p. 58-65, May/June 2012.

17 FRESCHI, G. G. F. et al. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações. **Eclet. Quím.**, v. 25, p. 213-226, 2000.

18 CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. **Rev. Anal.**, v. 5, p. 52-59, jun./jul. 2003.

19 MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Amostragem de suspensão: emprego da técnica na análise direta de amostras. **Quím. Nova**, v. 21, n. 4, p. 459-466, jul./ago.1998.

20 KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostra**: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. Piracicaba, 2008, 340 p.

21 CAL-PRIETO, M. J. et al. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, v. 56, n. 1, p. 1-51, Jan. 2002.

22 BRADY, D. V. et al. Direct determination of zinc in sea-bottom sediments by carbon tube atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 70, n. 2, p. 448-452, 1974.

23. STEPHEN, S. C.; LITTLEJOHN, D.; OTTAWAY, J. M. Evaluation of a slurry technique for the determination of lead in spinach by electrothermal atomic-absorption spectrometry. **Analyst**, v. 110, n. 9, p. 1147-1151, Sept. 1985.

24 SANTOS JUNIOR, D. et al. Determination of Cd and Pb in foods slurries by GFAAS using cryogenic for sample preparation. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 373, n. 3, p. 183-189, June 2002.

25 STUPAR, F.; DOLINGEK, F. Determination of chromium, manganese, lead and cadmium in biological samples including hair using direct electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 51, n. 7, p. 665-683, June 1996.

- 26 CÓRDOBA, M. H.; GARCÍA, I. L. A fast method for the determination of lead in paprika by electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Talanta**, v. 38, n. 11, p. 1247-1251, Nov. 1991.
- 27 SÁNCHEZ-MORENO, R. A. et al. Direct and rapid determination of ultratrace heavy metals in solid plant materials by ET-AAS ultrasonic-assisted slurry sampling. **Phytochem. Anal.**, v. 21, n. 4, p. 340-347, July/Aug. 2010.
- 28 ZHU, X. et al. *In-situ* separation of the matrix for the direct determination of traces of chromium, cobalt, and nickel in titanium dioxide powder by electrothermal atomic-absorption spectrometry with slurry sampling. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 371, n. 4, p. 497-501, Oct. 2001.
- 29 LYNCH, S.; LITTLEJOHNT, D. Palladium as a chemical modifier for the determination of lead in food slurries by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 4, n. 2, p. 157-161, Mar. 1989.
- 30 VIÑAS, P. et al. Slurry-electrothermal atomic absorption spectrometry methods for the determination of copper, lead, zinc, iron and chromium in sweets and chewing gum after partial dry ashing. **Analyst**, v. 119, n. 6, p. 1119-1123, June 1994.
- 31 HOERING, M.; REGNIER, P.; WOLLAST, R. Automated trace metal analyses of slurried solid samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry with application to sediments and suspended matter collected in natural waters. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 4, n. 7, p. 631-634, Oct. 1989.
- 32 LABORDA, F.; GÓRRIZ, M. P.; CASTILLO, J. R. Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry as screening method for chromium in compost. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 631-636, Oct. 2004.
- 33 PANCRAS, J. P.; ONDOV, J. M.; ZEISLER, R. Multi-element electrothermal AAS determination of 11 marker elements in fine ambient aerosol slurry samples collected with SEAS-II. **Anal. Chim. Acta**, v. 538, n. 1/2, p. 303-312, May 2005.
- 34 DOBROWOLSKI, R.; MIERZWA, J. Determination of trace elements in plant materials by slurry sampling graphite furnace AAS - some analytical problems. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 346, n. 12, p. 1058-1061, Aug. 1993.
- 35 BERMEJO-BARRERA, P. et al. Slurry sampling for the determination of lead in marine sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry using palladium-magnesium nitrate as a chemical modifier. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 9, n. 3, p. 469-475, Mar. 1994.
- 36 SCACCIA, S.; MECOZZI, R. Trace Cd, Co, and Pb elements distribution during Sulcis coal pyrolysis: GFAAS determination with slurry sampling technique. **Microchem. J.**, v. 100, p. 48-54, Jan. 2012.
- 37 LIMA, E. C.; BARBOSA JUNIOR, F.; KRUG, F. J. Lead determination in slurries of biological materials by ETAAS using a W-Rh permanent modifier. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 369, n. 6, p. 496-501, Mar. 2001.

- 38 LÓPEZ-GARCÍA, I. et al. Rapid determination of lead and cadmium in sewage sludge samples using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 367, n. 8, p. 727-732, Aug. 2000.
- 39 SILVA, F. A. et al. Determination of chromium by GFAAS in slurries of fish feces to estimate the apparent digestibility of nutrients in feed used in pisciculture. **Talanta**, v. 69, n. 4, p. 1025-1030, June 2004.
- 40 KRIVAN, V.; HEGER, A.; HAUPTKORN, S. Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry for trace element analysis of high-purity tungsten trioxide. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 360, n. 2, p. 167-174, Jan. 1998.
- 41 VIÑAS, P. et al. Slurry-electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminium and chromium in vegetable using hydrogen peroxide as a matrix modifier. **Talanta**, v. 42, n. 4, p. 527-533, Apr. 1995.
- 42 ACAR, O. Evaluation of V, Ir, Ru, V–Ir, V–Ru, and W–V as permanent chemical modifiers for the determination of cadmium, lead, and zinc in botanic and biological slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Ana. Chim. Acta**, v. 545, n. 2, p. 244-251, July 2005.
- 43 FELIPE-SOTELO, M. et al. Slurry-based procedures to determine chromium, nickel and vanadium in complex matrices by ETAAS. **Microchim. J.**, v. 81, n. 2, p. 217-224, Oct. 2005.
- 44 CHEN, H. et al. Direct determination of Cd and Pb in gel forming konjac samples by enzymatic hydrolysis assisted slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchim. Acta**, v. 162, n. 1/2, p.133-139, July 2008.
- 45 GONZÁLEZ, M.; GALLEGU, M.; VALCÁRCEL, M. Determination of nickel, chromium and cobalt in wheat flour using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 48, n. 5, p. 1051-1060, May 1999.
- 46 DOBROWOLSKI, R.; MIERZWA, J. Direct solid vs. slurry analysis of tobacco leaves for some trace metals by graphite furnace AAS. A comparative study. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 344, n. 7/8, p. 340- 344, Nov. 1992.
- 47 ARRUDA, M. A. Z.; FOSTIER, A. H.; KRUG, F. J. On-line microwave-assisted sample decomposition for lead determination in fish slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 8, n. 1, p. 39-45, Jan./Feb. 1997.
- 48 KARADJOVA, I.; KARADJOV, M. ETAAS determination of Cd and Pb in plants. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 360, n. 2, p. 246-251, Jan. 1998.
- 49 VIÑAS, P. et al. Slurry procedures for the determination of cadmium and lead in cereal-based products using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 349, n. 4, p. 306-310, June 1994.

50 CABRERA, C.; LORENZO, M. L.; LOPEZ, M. C. Lead and cadmium contamination in dairy products and its repercussion on total dietary intake. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 6, p. 1605-1609, June 1995.

51 PAZOS-CAPEÁNS, P. et al. Chromium in marine sediment samples from the Ría de Arousa (Galicia, NW of Spain): analysis of the total content in slurries by ETAAS. **Anal. Chim. Acta**, v. 524, n. 1/2, p. 121-126, Oct. 2004.

52 MIERZWA, J.; SUN, Y.; YANG, M. Determination of Co and Ni in soils and river sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 355, n. 2/3, p. 277-282, Nov. 1997.

53 KLEMM, W.; BOMBACH, G. Trace element determination in contaminated sediments and soils by ultrasonic slurry sampling and zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 353, n. 1, p. 12-15, Sept. 1995.

54 DOBROWOLSKI, R. Determination of Ni and Cr in soils by slurry graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 51, n. 2, p. 221-227, Jan. 1996.

55 HINDS, M. W.; KATYALT, M.; JACKSON, K. W. Effectiveness of palladium plus magnesium as a matrix modifier for the determination of lead in solutions and soils slurries by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 3, n. 1, p. 83-87, Jan. 1988.

56 JACKSON, K. W.; NEWMAN, A. P. Determination of lead in soil by graphite furnace atomic absorption spectrometry with the direct introduction of slurries. **Analyst**, v. 108, p. 261-264, Feb. 1983.

57 HINDS, M. W.; KATYALT, M.; JACKSON, K. W. Determination of lead in soil by slurry electrothermal atomic absorption spectrometry with a fast temperature programme. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 6, n. 6, p. 473-476, Sept. 1991.

58 HINDS, M. W.; JACKSON, K. W.; NEWMAN, A. P. Electrothermal atomization atomic absorption spectrometry with the direct introduction of slurries. Determination of trace metals in soil. **Analyst**, v. 110, n. 8, p. 947-950, Aug. 1985.

59 VIÑAS, P. et al. Slurry atomization of vegetables for the electrothermal atomic absorption spectrometric analysis of lead and cadmium. **Food Chem.**, v. 50, n. 3, p. 317-321, 1994.

60 AMBROZINI, B. et al. Evaluation of modifiers for determination of V in parsley by GFAAS. **Food Chem.**, v. 116, n. 4, p. 1024-1028, Oct. 2009.

61 FRESCHI, G. P. G. et al. Evaluation of Ir-based modifiers in the simultaneous determination of As, Bi Pb, Sb and Se in milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **At. Spectrosc.**, v. 27, n. 6, p. 179-185, Nov./Dec. 2006.

62 CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Anal. Chim. Acta**, v. 391, n. 2, p. 105-126, May 1999.

63 VOLYNSKY, A. B. Application of graphite tubes modified with high-melting carbides in electrothermal atomic absorption spectrometry. I. General approach. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 53, n. 4, p. 509-535, Apr. 1998.

64 FRESCHI, G. P. G. et al. Simultaneous of cadmium and lead in wine by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 56, n. 10, p. 1987-1993, Oct. 2001.

65 RADJASSEGARIN, A. et al. Determination of element contents in herbal drugs: Chemometric approach. **Food Chem.**, v. 135, n. 4, p. 2372-2377, Dec. 2012

66 BASGEL, S.; ERDEMOGLU, S. B. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusion consumed in Turkey. **Sci. Total Environ.**, v. 359, n. 1/3, p. 82-89, Apr. 2006.

67 MILACIC, R.; KRALJ, B. Determination of Zn, Cu, Cd, Pb, Ni, and Cr in some Slovenian foodstuffs. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 217, n. 3, p. 211-214, 2003.