

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



**INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**

**DETERMINAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE
METAIS EM PLANTAS MEDICINAIS POR FLUORESCÊNCIA
DE RAIOS-X E VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO ANÓDICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MÓNICA CECILIA VARGAS MAMANI

ORIENTADOR : PROF. Dr. LUIZ MANOEL ALEIXO

CO-ORIENTADORA : PROFA. Dra. SUSANNE RATH

**CAMPINAS
Fevereiro/ 2003**



1150054089



IQ

T/UNICAMP V416d

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL**

UNIDADE	ICA
Nº CHAMADA	I UNICAMP
	V426d
V	EX
TOMBO BC	54089
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	22/05/03
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

CM00187376-4

V426d

Vargas Mamani, Mónica Cecilia

Determinação qualitativa e quantitativa de metais em plantas medicinais por fluorescência de raios-x e voltametria de redissolução anódica / Mónica Cecilia Vargas Mamani. -- Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientador: Luiz Manoel Aleixo.

Co-orientadora: Susanne Rath.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Metais. 2. Voltametria de redissolução.
3. Fluorescência de raios-x. I. Aleixo, Luiz Manoel. II. Rath, Susanne. III. Universidade Estadual de Campinas. IV. Título.

“Tudo posso em Cristo que me fortalece”

Filipenses 4:13

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Constantino e Benigna, à
minha irmã Yenny e meus irmãos Oscar e
David, que mesmo distantes, sempre estiveram
presentes. Obrigada pelo carinho, apoio e
incentivo. Amo vocês!...

Ao Pablo pelo constante apoio, carinho e
compreensão, tanto nas horas difíceis como nos
momentos agradáveis.
Muito obrigada por tudo.....Valeu!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e pela coragem, que foram essenciais para eu alcançar os meus objetivos.

Ao professor Dr. Luiz Manoel Aleixo pela confiança, amizade, compreensão e orientação desta tese.

A professora Dra. Susanne Rath pelo apoio, amizade e interesse com que acompanhou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto de Química da Unicamp, aos professores e funcionários pelas oportunidades e facilidades concedidas à realização deste trabalho.

À profa. Dra. Maria Izabel Bueno pelas sugestões valiosas desta tese.

À os amigos e colegas de trabalho, Jamil, Kleber, Eduardo, Luciano, Kennedy, David, Arturo, Regiane G., Regiane F., Socorro, Paula, Gabriella, Silvane, Raquel, Rosangela, Luciane pela agradável convivência e pela amizade durante este tempo. A Luis pela amizade e desenhos.

Aos meus queridos amigos, Carmen, Noemi, María, Pascual, Ausberta, Karin, Percy, Érika, Griseida, Alina, Jose, Jorge, Ana, Michel, Ali, Roddy, Abdon, Honorato, Florentino e toda minha gente peruana, pela amizade e apoio em todo momento.

Aos meus amigos colombianos Nuri, Adriana, Carolina, Maya, William, German pela sua amizade incondicional.

A minhas irmãs em Cristo Maria Izabel, Tânia, Patrícia, Andréa, Noemi, Lu, Mercedes pela amizade e apoio constante.

A todas as pessoas que, de uma forma direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

**Research partially supported by LNLS -
National Synchrotron Light Laboratory, Brazil**

PROJETO N° XRF1034/01

RESUMO

Determinação qualitativa e quantitativa de metais em plantas medicinais por fluorescência de raios-X e voltametria de redissolução anódica

Autora : Mónica Cecilia Vargas Mamani

Orientador : Prof. Dr. Luiz Manoel Aleixo

Co-Orientador: Profa. Dra. Susanne Rath

Palavras-chaves: cádmio, chumbo, metais pesados, plantas medicinais, voltametria de redissolução, fluorescência de raios-X, radiação síncrotron.

Avaliou-se a presença de contaminantes inorgânicos em plantas medicinais destinadas à produção de fitoterápicos por fluorescência de raios-X de energia dispersiva (do inglês, energy dispersive X-ray fluorescence, EDXRF) e fluorescência de raios-X com luz síncrotron (do inglês, synchrotron radiation X-Ray fluorescence, SYXRF), assim como se estabeleceu metodologia analítica por voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (do inglês, differential pulse anodic stripping voltammetry, DPASV) para a determinação simultânea de Cd e Pb em plantas medicinais, ao nível de ultratraços.

Dez amostras de plantas medicinais foram analisadas por fluorescência de raios-X no estado sólido, em forma de pastilhas. As medidas de EDXRF foram realizadas com uma fonte de Rh com voltagem de até 50 keV. A radiação síncrotron no LNLS é proveniente do armazenamento de elétrons no anel (1,37 GeV e 100 mA). A detecção, tanto na SYXRF como EDXRF, foi realizada com um detector semicondutor de Si(Li). A análise semi-quantitativa dos metais foi realizada mediante calibração do sistema com amostras de referência.

As medidas voltamétricas foram realizadas empregando o eletrodo de gota pendente de mercúrio como eletrodo de trabalho e os de platina e Ag/AgCl, KCl sat. como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente. A pré-concentração dos metais foi realizada em -0,73 V por 180 s. A varredura anódica, empregando a técnica de pulso diferencial ($\Delta E=50$ mV), foi realizada a 5 mV s^{-1} . A abertura das amostras (1 g) e do material de referência foi realizada por via seca (2,5 h a 500°C). O resíduo foi dissolvido no eletrólito de suporte (HCl $0,8 \text{ mol L}^{-1}$). As amostras analisadas foram hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*) e boldo (*Peumus boldus*).

A SYXRF permitiu a identificação e determinação simultânea dos seguintes elementos: K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Zr, Ba e Br. Dependendo da espécie vegetal, verificou-se uma variação significativa dos teores dos elementos essenciais, assim como contaminantes. A SYXRF mostrou ser uma ferramenta bastante atraente para avaliar a presença de metais em plantas medicinais, uma vez que permite a determinação simultânea de vários elementos em uma ampla faixa de concentração, com elevada frequência analítica e, principalmente, por permitir a análise de amostras no estado sólido. O método é adequado para procedimentos de *screening*. No entanto, a SYXRF não apresenta sensibilidade para a

determinação de cádmio e chumbo, visto que estes metais geralmente encontram-se em concentrações menores do que 1 ppm.

O método voltamétrico foi validado mediante análise de duas amostras de referência de plantas. O método foi aplicado na quantificação de cádmio e chumbo em amostras de *Hypericum perforatum*, *Mikania guaco*, *Mikania glomerata* and *Peamus boldus*. A voltametria permite a determinação de traços destes metais e, portanto, é adequada para o controle de contaminantes em plantas medicinais. A matéria orgânica é um importante interferente na determinação e necessita ser devidamente destruída antes da análise voltamétrica.

ABSTRACT

Qualitative and quantitative determination of metals in medicinal plants by X-ray fluorescence and anodic stripping voltammetry

Author : Mónica Cecilia Vargas Mamani

Advisor : Prof. Dr. Luiz Manoel Aleixo

Co-Advisor: Profa. Dra. Susanne Rath

Key-words: cadmium, lead, heavy metals, medicinal plants, stripping voltammetry, X-ray fluorescence, synchrotron radiation.

The presence of inorganic contaminants in medicinal plants destined for production of phytoterapics was evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) and synchrotron radiation X-ray fluorescence (SYXRF), as well as with a differential pulse anodic stripping voltammetric method for the simultaneous determination of Cd and Pb in medicinal plants, at ultratrace level.

Ten samples of medicinal plants were analyzed in the solid state by X-ray fluorescence. EDXRF measurements were carried out with a Rh source with a maximum applied voltage of 50 keV. Synchrotron radiation at the LNLS is provided from electron storage in a ring (1.37 GeV and 100 mA). The semiquantitative analyses of the metals were carried out through the calibration of the system with reference samples.

The voltammetric measurements were carried out using a hanging mercury dropping electrode (HMDE) as working electrode and platinum and Ag/AgCl (KCl sat.) as auxiliary and reference electrodes, respectively. The pre-concentration of the metals was done at -0.73 V for 180 s. The anodic scan, using the differential pulse technique ($\Delta E = 50 \text{ mV}$), was made with a scan rate of 5 mV s^{-1} . The sample preparation was performed by dry ashing of 1 g of plant sample and reference material (2.5 h at 500°C). Before voltammetric measurement, the obtained residues were dissolved in the supporting electrolyte ($0.8 \text{ mol L}^{-1} \text{HCl}$). The samples analyzed were: *Hypericum perforatum*, *Mikania guaco*, *Mikania glomerata* and *Peamus boldus*.

The SYXRF allowed the identification and simultaneous determination of the following elements: K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Zr, Ba and Br. In accordance with the plant species, a significant variation of the concentration levels for essential elements and contaminants was observed. SYXRF was shown to be a powerful tool to evaluate the presence of metals in medicinal plants, due to the fact that it allows simultaneous multi-element determination in a wide concentration range with high analytical frequency and, specially, allows the analysis of solid samples. The method is adequate for *screening* procedures. However, SYXRF does not present enough sensitivity for determination of cadmium and lead, since these metals generally are present in concentrations below 1 ppm.

The voltammetric method was validated with two plant reference samples. The method was applied to the quantification of cadmium and lead in samples *Hypericum perforatum*, *Mikania guaco*, *Mikania glomerata* and *Peumus boldus*. The technique allows the determination of Cd and Pb at the trace level, and was shown to be adequate for the control of contaminants in medicinal plants. Organic matter is an important interferent in the voltammetric technique and needs to be destroyed before analysis.

CURRÍCULO

Mónica Cecília Vargas Mamani
Solteira
Peruana
RNE: V323307-B
monivarm@hotmail.com

Formação Acadêmica

- ❖ Mestrado em Química Analítica –UNICAMP.
Período: julho 2001 a fevereiro 2003
- ❖ Bacharelado em Farmácia y Bioquímica, concluído em 1996, na Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Peru.
Numero de colégio Farmacêutico Peruano: 5913

Experiências Profissionais

- ❖ HOSPITAL CENTRO MÉDICO NAVAL "Cirujano Mayor Santiago Tavera". junho 1996- maio 1997, Lima- Peru. (Estágio)
- ❖ LABORATÓRIOS FARMINDÚSTRIA, outubro 1997 a abril 1998, Lima- Peru. (Estagio)
- ❖ LABORATÓRIOS LANSIER S.A.C. julho 1998- agosto 1999, Lima- Peru.
- ❖ LABORATÓRIOS M&G VIDA NATURAL. outubro 1999 a maio 2001, Lima- Peru.

Apresentações de trabalhos em eventos científicos

- ❖ XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Centro de Eventos do Pantanal - Cuiabá-MT (19 a 22/11/2002).
- * **Mónica C. Vargas Mamani**, Mônica F. Abreu, Susanne Rath, Luiz M. Aleixo. Determinação simultânea de cádmio e chumbo em plantas medicinais por voltametria de redissolução anódica.
- * **Eder J. Franco**, Luiz C.M. Pataca, **Mónica C. Vargas Mamani**, Marilí V.N. Rodrigues, Rodnei A. F. Rodrigues, Vera Lúcia G. Rehder, Pedro M. Magalhães, Mônica F. Abreu, Carlos A. Perez, Maria I.M.S. Bueno, Susanne Rath. Avaliação da presença de metais em plantas medicinais por fluorescência de raios-x com luz síncrotron (SYXRF).

- ❖ XIII RAU (Reunião anual do usuário da LNLS) Fevereiro 2003

Eder J. Franco, Luiz C.M. Pataca, **Mónica C. Vargas Mamani**, Carlos A. Perez, Maria I.M.S. Bueno, Susanne Rath. Determinação de metais em plantas medicinais destinadas a produção de fitoterápicos por fluorescência de raios-x com luz síncrotron (SYXRF).

INDICE

RESUMO	XI
ABSTRACT	XIII
ÍNDICE DE TABELAS	XXI
ÍNDICE DE FIGURAS	XXIII
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	6
REVISÃO BIBLIOGRAFICA	7
2.1. Plantas medicinais e fitoterápicos	7
2.2 Contaminantes	10
2.3. Metais pesados	10
2.3.1. Chumbo.....	12
2.3.2. Cádmio.....	13
2.3.3. Limites de Tolerância	14
2.4. Fluorescência de Raios-X	16
2.4.1. Fundamento	16
2.4.2. Fluorescência de Raios- X de Energia dispersiva (EDXRF)	21
2.4.3. Fluorescência de Raios- X de Energia dispersiva com Luz Síncrotron (SYXRF).....	22
2.5. Métodos Voltamétricos	24
2.5.1. Fundamentos	24
2.5.2. Voltametria de Redissolução.....	26
2.5.3. Voltametria de Pulso Diferencial	31
2.6. Metodologias analíticas	33
2.6.1 Métodos instrumentais	33

2.7. Técnicas voltamétricas	39
PARTE EXPERIMENTAL	41
3.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.1.1. EQUIPAMENTOS	41
3.1.2. REAGENTES E MATERIAIS	42
3.1.2.1. Eletrólitos de suporte	45
3.2. PROCEDIMENTOS	45
3.2.1. Fluorescência de raios-x (SYXRF) e (EDXRF)	45
3.2.2. Voltametria (DPASV) – Abertura da amostra.....	46
3.2.2.1. Oxidação via úmida com $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	46
3.2.2.2. Oxidação via seca em mufla	46
3.2.2.3. Análise quantitativa de Pb e Cd nas amostras por DPASV	47
3.2.2.4. Validação do Método DPASV	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1. Fluorescência de raios-X (EDXRF) e (SYXRF).....	49
4.1.1. Análise qualitativa de elementos por fluorescência de raios-X de energia dispersiva (EDXRF) e luz síncrotron (SYXRF).....	49
4.1.2. Análise qualitativa de elementos em amostras de plantas medicinais por EDXRF e SYXRF	51
4.1.3. Análise semiquantitativa de elementos por fluorescência de raios-X de luz síncrotron (SYXRF).....	54
4.1.4. Análise semiquantitativa de elementos em amostra de plantas medicinais por fluorescência de raios-X de luz síncrotron (SYXRF)	55
4.2. Voltametria de redissolução anódica	62
4.2.1. Estudo dos parâmetros voltamétricos	63
4.2.1.1 Efeito do eletrólito de suporte e tempo de deposição.....	63
4.2.1.2. Efeito da concentração de citrato de amônio e HCl.....	65
4.2.1.3. Efeito de pH de citrato de amônio	66
4.2.1.4. Efeito da concentração de Cd(II) e Pb(II) vs corrente de pico ..	67

4.2.1.5. Preparo de amostra.....	69
4.2.1.6. Validação do Método.....	71
4.2.1.7. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em hipérico (<i>Hypericum perforatum</i>).....	73
4.2.1.8. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em guaco (<i>Mikania guaco</i> , <i>Mikania</i>).....	75
4.2.1.9. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em boldo (<i>Boldus peamus</i>).....	77
CONCLUSÕES.....	81
BIBLIOGRAFIA.....	84
ANEXO I.....	100
ANEXO II.....	110

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Constituintes químicos e uso comum de plantas medicinais de uso popular.....	3
Tabela 2. Energia de emissão e absorção de alguns elementos.....	17
Tabela 3. Alguns métodos de determinação de elementos.....	35
Tabela 4. Tipos de plantas medicinais e informações a respeito do processo de secagem, parte da planta e origem das mesmas.....	42
Tabela 5. Identificação de elementos nas amostras de hipérico, guaco e boldo por EDXRF e SYXRF.....	50
Tabela 6. Valores de referência e valores estimados por SYXRF para a amostra de referência R2.....	53
Tabela 7. Estimativa das concentrações dos elementos determinados por SYXRF nas amostras de hipérico, guaco, boldo, carqueja, erva baleeira, quebra pedra, alecrim, confrei, sabugueiro e senne.....	54
Tabela 8. Parâmetros analíticos para a determinação voltamétrica de cádmio e chumbo.....	65
Tabela 9. Resultados obtidos na análise voltamétrica de chumbo e cádmio nas amostras de referência R1 e R2.....	70
Tabela 10. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de hipérico (<i>Hypericum perforatum</i>) de três diferentes procedências.....	71
Tabela 11. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de Guaco (<i>Mikania guaco</i> , <i>Mikania glomerata</i>) de três diferentes procedências.....	73
Tabela 12. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de Boldo (<i>Boldus peamus</i>) de três diferentes procedências.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de um tubo de raios-X.....	16
Figura 2. Representação dos fundamentos da Fluorescência de Raios-X. (a) Efeito fotoelétrico; (b) Emissão proveniente de transições eletrônicas.....	16
Figura 3. Diagrama das transições e suas respectivas denominações.....	18
Figura 4. Esquema do anel gerador de radiação síncrotron.....	21
Figura 5. Polarograma de a) Solução de HCl 1 mol L ⁻¹ com 5x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de Cd ⁺² e b) solução de HCl 1 mol L ⁻¹	25
Figura 6. Voltametria de Redissolução anódica.....	27
Figura 7. a) Sinal de excitação para a determinação de Cd ⁺² e Cu ⁺² por redissolução anódica. b) Voltamograma de redissolução.....	29
Figura 8. Sinais de excitação para Polarografia de pulso diferencial.....	30
Figura 9. Voltamograma de um experimento de voltametria de pulso diferencial.....	31
Figura 10. a) Voltamograma de pulso diferencial, b) Polarograma de corrente contínua.....	31
Figura 11. Espectro de fluorescência de raios-X com energia dispersiva (EDXRF) para a mostra de referencia R1.....	48
Figura 12. Espectro de fluorescência de raios-X com luz síncrotron (SYXRF) para a amostra de referência R1 (representação dos elementos a partir das linhas mais intensas).....	48
Figura 13. Espectro de EDXRF para a amostra de hipérico (H1).....	51
Figura 14. Espectro de SYXRF para a amostra de hipérico (H1).....	51
Figura 15. Estimativa das concentrações de ferro nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.....	55
Figura 16. Estimativa das concentrações de cobre, zinco e manganês nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.....	56
Figura 17. Estimativa das concentrações de estrôncio, bário e rubídio nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.....	57
Figura 18. Estimativa das concentrações de cobalto, níquel e cromo nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.....	57

Figura 19. Estimativa das concentrações de selênio e arsênio nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.....	58
Figura 20. Voltamograma obtido por DPASV. Cd^{2+} e Pb^{2+} : 20 ng mL^{-1}	60
Figura 21. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico.....	61
Figura 22. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico.....	61
Figura 23. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico para o íon chumbo.....	62
Figura 24. Dependência da corrente de pico em função da concentração de HCl e citrato de amônio. Concentração de Cd^{2+} e Pb^{2+} 20 ng mL^{-1}	63
Figura 25. Dependência da corrente de pico em função do pH de citrato de amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Concentração de Cd^{2+} e Pb^{2+} 20 ng mL^{-1}	64
Figura 26. Curva analítica corrente de pico vs concentração de Cd(II) e Pb(II) . Eletrólito suporte: HCl $0,8 \text{ mol.L}^{-1}$, t_d :180 s, t_r :15 s, ΔE : -50 mV , E_d : -730 mV , v : 5 mV s^{-1} . A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.....	65
Figura 27. Abertura da amostra de referência R1 por (a) digestão via úmida com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, (b) digestão via úmida com $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ e (c) digestão via seca em mufla e ressuspensão do resíduo em HCl. Condições experimentais: t_d :180 s, t_r :15 s, ΔE : -50 mV , E_d : -730 mV , v : 5 mV s^{-1}	67
Figura 28. Voltamogramas da análise da amostra de referência R1 pelo método de adição de padrão. (a) Determinação de cádmio. Concentração de cádmio: (1) 0, (2) 1 ug L^{-1} , (3) 2 ug L^{-1} , (4) 4 ug L^{-1} . (b) Determinação de chumbo. Concentração de chumbo: (1) 0, (2) 12 ug L^{-1} , (3) 36 ug L^{-1} , (4) 60 ug L^{-1}	68
Figura 29. Voltamogramas da análise da amostra de referência R2 pelo método de adição de padrão. (a) Determinação de cádmio. Concentração de cádmio: (1) 0, (2) 2 ug L^{-1} , (3) 5 ug L^{-1} , (4) 7 ug L^{-1} . (b) Determinação de chumbo. Concentração de chumbo: (1) 0, (2) 12 ug L^{-1} , (3) 36 ug L^{-1} , (4) 60 ug L^{-1}	69
Figura 30. Voltamogramas referentes a análise da Amostra H3 de hipérico (a) Amostra; (b) Adições de padrão (1) Pb^{2+} : 0 ng mL^{-1} e Cd^{2+} : 0 ng mL^{-1} , (2) Pb^{2+} : 25 ng mL^{-1} e Cd^{2+} : 10 ng mL^{-1} , (3) Pb^{2+} : 50 ng mL^{-1} e Cd^{2+} : 30 ng mL^{-1} e (4) Pb^{2+} :	

74 ng mL ⁻¹ e Cd ²⁺ : 50 ng mL ⁻¹	71
Figura 31. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de hipérico (<i>Hypericum perforatum</i>) de três procedências diferentes.....	72
Figura 32. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de Guaco (<i>Mikania guaco</i> , <i>Mikania glomerata</i>) de três procedências diferentes.....	73
Figura 33. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de Boldo (<i>Boldus peamus</i>) de três procedências diferentes.....	74
Figura 34. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras hipérico, guaco e boldo de diferentes procedências diferentes.....	75

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem crescido o interesse pelo uso de terapias alternativas, principalmente pelos produtos naturais derivados de plantas. Esse interesse em plantas medicinais se deve a várias razões, entre essas, os efeitos colaterais da medicina tradicional, o uso abusivo de fármacos sintéticos e o poder aquisitivo da população, que não tem acesso ao tratamento convencional e que acredita fielmente no folclore de que os produtos “naturais” são inofensivos [1].

O crescente emprego de medicamentos fitoterápicos despertou, em todo o mundo, a preocupação com a sua qualidade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou um roteiro básico para avaliar a qualidade de plantas medicinais, abrangendo tópicos que vão desde a classificação e identificação botânica, dosagem dos princípios ativos (quando conhecidos) até as possíveis e prováveis contaminações.

As plantas medicinais, que servem como matéria prima para a elaboração dos fitoterápicos, como qualquer outro produto agrícola, podem ser contaminadas com substâncias orgânicas como pesticidas, elementos inorgânicos como os metais pesados ou por microorganismos, entre esses, bactérias e fungos [2].

Visto que a ingestão de metais pesados pode causar sérios danos à saúde, a OMS recomenda a realização de ensaios para a avaliação qualitativa e quantitativa de metais tóxicos, principalmente no caso de matérias-primas de origem duvidosa e de áreas de cultivo agrícola intensivo [3]. Ainda, a contaminação pode ocorrer pelo desrespeito das boas práticas agrícolas ou durante o armazenamento inadequado das plantas [4].

Segundo SCHILCHER *et al.*, 1987 [5], as monografias contidas nas farmacopéias, baseadas nos ensaios-limite, não são seletivas para diferenciar os metais, além de apresentarem pouca sensibilidade e baixa precisão.

No Brasil, a informação disponível sobre a presença de metais pesados em plantas medicinais é muito escassa, assim como sua presença nos fitoterápicos produzidos a partir destes. Informações sobre a qualidade dos produtos são praticamente inexistentes. Cabe destacar que a ingestão de metais pesados através de medicamentos, bem como alimentos, pode levar a uma acumulação destes no organismo, causando, entre outros, danos renais e hepáticos e levando ao aparecimento de sintomas de toxicidade crônica [6,7].

Entre as plantas medicinais de uso popular no Brasil destacam-se o hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*), boldo (*Peumus boldus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), carqueja (*Baccharis genistelloides*), confrei (*Symphytum officinalis*), erva Baleeira (*Cordia verbenácea*, *Cordia curanavice*), quebra pedra (*Phyllanthus spp*), senne (*Cássia angustifólia*) e sabugueiro (*Sambucus nigra*) cujos dados sobre os constituintes químicos e a finalidade terapêutica estão apresentados na Tabela 1.

Nos últimos anos houve, de modo geral, uma demanda crescente pela detecção e quantificação de componentes traços em matrizes complexas. Para isso, métodos analíticos sensíveis e seletivos, que envolvem pouca manipulação da amostra são necessários. Neste contexto, a fluorescência de raios-X, tanto de energia dispersiva (do inglês, Energy-Dispersive X-Ray Fluorescence, EDXRF) como de luz síncrotron (do inglês, Synchrotron X-Ray Fluorescence, SYXRF) são técnicas bastante atraentes no âmbito da química analítica, pois, além de serem técnicas não destrutivas, permitem a análise multi-elementar simultânea. Ainda, tem capacidade para análise qualitativa e quantitativa, não requerendo tratamento prévio da amostra e apresentando quase total insensibilidade à forma química em que as espécies de interesse se encontram [23].

Tabela 1. Constituintes químicos e uso comum de plantas medicinais de uso popular.

Planta medicinal	Constituintes químicos	Uso Comum
Hipérico (<i>Hypericum perforatum</i>) [8]	Naftodiantronas: hipericina, isohipericina, protohipericina; flavonóides: hiperósideo, rutósideo, quercitrósideo, isoquercitrósideo; ácido: caféico, clorogénico, gentísico, ferúlico; protoantocianidóis; taninos; cumarinas, fitoesteróis.	Antidepressivo, tranqüilizante suave.
Guaco (<i>Mikania guaco</i> , <i>Mikania glomerata</i>) [9,10]	Taninos, saponinas, resina cumarínica e ácidos caurenóico, cinamoil e grandiflórico.	Antiasmático, analgésico, anti-reumático, antiinflamatório, antitérmico, vermífugo.
Boldo (<i>Peumus boldus</i>) [11-13]	Óleo essencial (2%) ascaridol (cheiro), peróxido do monoterpene (40%); outros derivados do terpeno. Outros óleos não essenciais p-cimeno, 1,8-cineol e o linalool, alcalóide amargo boldine e o glucosídeo boldin ou boldoglucin.	Indicado para pedras na vesícula, regulador do sistema digestivo, tônico, anti-séptico, estimulante, inflamação genito-urinário.
Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>) [14,15]	Saponinas, flavonóides, nicotinamida, colina, pectina, taninos, rosmarina, vitamina C, óleo essencial (pineno, canfeno, cineol, borneol, eucaliptol, acetato de isobornila, valerianato de isobornila, cânfora).	Diurético, antimicrobiano, cicatrizante, tônico, cardiotônico, anti-reumático, estimulante, colagogo, digestivo, antiespasmódico, anti-reumático.
Carqueja (<i>Baccharis genistelloides</i>) [8,15,16]	Flavonóides, lactonas, polifenóis, taninos, esteróides, saponinas, terpenos, resinas e pectinas, carquejol, acetato carquejilo.	Tônico regulador do aparelho digestivo e depurativo e diurético.
Confrei (<i>Symphytum officinalis</i>) [15,17]	Ferro, simpetina, sais minerais, vitaminas, colina, consolidina, fósforo, etc.	Hemostático, antiinflamatório, cicatrizante, tônico, depurativo, adstringente e analgésico.
Erva Baleeira (<i>Cordia verbenácea</i> , <i>Cordia curatavice</i>) [18-20,21]	Óleo essencial, pigmentos flavonóides (armentina), alantoina, açúcares.	Antiinflamatório e anti-reumático.
Quebra pedra (<i>Phyllanthus spp</i>) [19,20,22]	Flavonóides, quercitrina, quercetina, rutina, astragalina, nirurina, fisetina-4-O glicosídeo, triacontanál, triacantanól e hipofilantina, alcalóides, lignanos e terpenos.	Diurético, hipoglicemiante, antiespasmódico, hepatoprotetor, litolítico, colagoga.
Senne (<i>Cássia angustifolia</i>)	Glicosídeos, flavonóides, mucilagens, antracenos, crisofanol, senosidos A e B,	Laxante e purgante.

[8,15,19]	heterosidos complexos.	
Sabugueiro (<i>Sambucus nigra</i>)	Glicosídeos, flavonóides e ácidos orgânicos, antrocianosídeos.	Diurético, sedativo, antitérmico, antiinflamatório, hipoglicemiante e laxante.
[11,15,19]		

A fluorescência de raios-X (do inglês, X-Ray Fluorescence, XRF) é uma técnica de emissão atômica fundamentada no efeito fotoelétrico. O átomo submetido a um processo de irradiação por uma fonte de raios-X, ejeta um elétron de uma camada eletrônica interna. Para a estabilização da forma excitada resultante do processo, elétrons das camadas eletrônicas mais externas caem rapidamente para as lacunas geradas, liberando a diferença de energia potencial existente entre os dois níveis de energia envolvidos. Como este processo envolve níveis de energia que são característicos de cada elemento, a radiação emitida para cada transição é também característica. Desta maneira, a energia de radiação emitida pode ser diretamente empregada para a identificação do elemento em questão. Como a intensidade de radiação emitida é uma função da concentração do elemento, a técnica também fornece informações quantitativas [24].

A voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (do inglês, Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, DPASV) têm-se destacado para a determinação de traços de metais, entre outros, como cádmio, chumbo, zinco, cobre, ouro, estanho em matrizes diversas. Aplica-se um potencial mais negativo do que o potencial de redução do metal em questão para a etapa de pré-concentração. A oxidação do elemento pré-concentrado na superfície do eletrodo ocorre durante a varredura anódica, onde a corrente de pico para cada elemento é proporcional à concentração. Considerando-se o eletrodo de gota pendente de mercúrio (do inglês, Hanging mercury drop electrode, HMDE) como eletrodo de trabalho, durante a deposição ocorre a formação de uma amalgama, e, portanto a ASV somente pode ser usada para determinar metais que possuem uma apreciável solubilidade no mercúrio [25,26].

Levando-se em consideração a complexidade e diversidade das matrizes (plantas medicinais) e o número elevado de elementos, a fluorescência de raios-X tem potencial para gerar informações qualitativas e semi-quantitativas, enquanto a voltametria permite a quantificação de alguns metais a nível de traços.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a presença de metais em plantas medicinais destinadas à produção de fitoterápicos.

Os objetivos específicos compreenderam:

- Estabelecer metodologia analítica e comparar as técnicas de fluorescência de raios-X com energia dispersiva com fonte de Rh (EDXRF) e com luz síncrotron (SYXRF) para procedimentos de *screening*, visando a análise semiquantitativa de elementos inorgânicos, em particular metais, em plantas medicinais.
- Desenvolver método analítico, empregando a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV), para a determinação seqüencial de cádmio e chumbo em plantas medicinais.
- Aplicação dos métodos em amostras de plantas medicinais de uso popular.

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. Plantas medicinais e fitoterápicos

Planta medicinal é um vegetal que produz em seu metabolismo natural substâncias, em quantidade e qualidade necessárias e suficientes, capazes de provocar modificações nas funções biológicas. Essas substâncias são denominadas princípios ativos, que tem finalidade terapêutica. Alguns princípios ativos, no entanto, podem apresentar elevada toxicidade e, portanto, a dosagem deve ser cuidadosamente avaliada. O fitoterápico é o produto final obtido a partir da planta medicinal, podendo ou não conter excipientes em adição [27-30].

A definição de produto fitoterápico, segundo a Portaria nº 6 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 1995b), deixa entrever que a transformação de uma planta em medicamento deve visar a preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância de sua ação biológica e a segurança de utilização, além de valorizar o seu potencial terapêutico. Para alcançar esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer necessariamente, estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos, toxicológicos e analíticos. Essa fundamentação científica, necessária para o desenvolvimento de um produto fitoterápico propriamente dito, o diferencia das plantas medicinais e das preparações utilizadas na medicina popular. Ao mesmo tempo, essa prática origina uma hierarquização das plantas medicinais quanto ao conhecimento científico acumulado e, portanto refere-se também, à potencialidade de uso na produção de medicamentos [31].

A fitoterapia é provavelmente a mais antiga forma terapêutica de que se tem registro na medicina. Começou a ser praticada há cinco mil anos e veio para o ocidente, combinando os antigos ensinamentos orientais com os remédios populares e as tradições indígenas.

Do conhecimento popular para o conhecimento científico foram necessários anos de pesquisas, que comprovaram o que os médicos de todas as épocas já sabiam: as plantas medicinais realmente exercem um efeito terapêutico e, portanto, podem ser consideradas como uma excelente alternativa à medicina tradicional.

O uso de plantas medicinais *in natura* e formulações como chás, cocções, infusões, tinturas, xaropes, encapsulados e outros, tem sido incrementada grandemente nos últimos anos. O desenvolvimento deste mercado pelas indústrias farmacêuticas, os remédios que se originam das plantas medicinais, assim como o desenvolvimento de novas estruturas moleculares, a partir dos princípios ativos das mesmas, é de grande interesse das indústrias químicas e farmacêuticas [32].

Apesar da riqueza da flora brasileira, com cerca de 55 mil espécies e da ampla utilização de plantas medicinais pela população, existe consenso sobre a insuficiência de estudos científicos sobre o assunto. Pouca atenção foi dada tradicionalmente a esta área de conhecimento pelas instituições acadêmicas e pelas agências governamentais de fomento à pesquisa e ao desenvolvimento de fitofármacos [29].

Estima-se que das 250.000-500.000 espécies de plantas a nível mundial, apenas uma pequena porcentagem tem sido caracterizada fitoquímica e farmacologicamente. Em 1997, o mercado norte-americano lucrou, cerca de, US\$ 2 bilhões com produtos de origem vegetal [31]. No entanto, o uso potencial das plantas medicinais como fontes de novos fármacos ainda é pouco explorado. Estima-se que, em 1997, as vendas mundiais de produtos fitoterápicos alcançaram cifras de US\$ 10 bilhões de dólares, com previsão de um crescimento anual de 6,5 %. A OMS incluiu roteiros básicos para a avaliação de medicamentos de origem vegetal em países em desenvolvimento. Países orientais, como a China e Índia, apresentam uma indústria de fitoterápicos muito bem estabelecida. Países

da América Latina vêm investindo em programas de pesquisa em plantas medicinais, padronização e normatização de produtos fitoterápicos, a exemplo do que já vem ocorrendo há algum tempo nos países europeus como a França e a Alemanha. Como resultado dos estudos científicos e procedimentos de normatização e, conseqüente credibilidade dos produtos a base de plantas, na Alemanha, 50 % dos produtos fitoterápicos são vendidos com prescrição médica e os custos ressarcidos pelo seguro de saúde. Nos Estados Unidos, onde até pouco tempo os produtos fitoterápicos eram comercializados como "health food", grupos de consumidores e profissionais têm buscado uma alteração deste quadro, através da obtenção de informações sobre a eficácia e segurança destes produtos, sendo que um redirecionamento dos registros é previsto pelo FDA (Food and Drug Administration). Em 1997, o mercado norte-americano de produtos vegetais movimentou US\$ 2 bilhões de dólares.

No Brasil, o mercado de fitoterápicos movimenta US\$ 40 milhões ao ano. No entanto, as indústrias de fitoterápicos são constituídas, basicamente, por empresas familiares, de pequeno porte, muitas vezes funcionando precariamente, de forma empírica.

Em 1995, a Secretaria de Vigilância Sanitária, considerando a situação crítica em que se encontrava o mercado de fitoterápicos no Brasil, estabeleceu normas para o registro de fitoterápicos e, posteriormente, publicou proposta de normas para o estudo de toxicidade destes produtos [33].

A complexidade da composição das plantas medicinais e sua variação biológica inerente fazem com que muitas vezes seja difícil avaliar a sua segurança, eficácia e qualidade. A segurança é determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos tóxicos, bem como pela inexistência de contaminantes nocivos à saúde, como, por exemplo, metais pesados, agrotóxicos, microorganismos nocivos e seus produtos metabólicos, produtos de degradação, entre outros. A segurança e a eficácia dependem de diversos fatores, como a metodologia de obtenção, a formulação e a forma farmacêutica, entre outros e, portanto, devem ser definidas para cada produto, estabelecendo-se parâmetros de controle da qualidade do produto final.

A qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Nos procedimentos rotineiros de análise de qualidade, geralmente é preconizado o emprego de metodologias químicas, físicas ou físico-químicas e biológicas, sendo necessária a correlação entre os parâmetros analisados e a finalidade a que se destina [31].

2.2. Contaminantes

Os contaminantes presentes nas plantas medicinais e fitoterápicos, como os microorganismos e substâncias xenobióticas são um importante parâmetro no controle de qualidade. Ainda assim, como qualquer outro produto agrícola, as plantas medicinais podem ser contaminadas com substâncias orgânicas, inorgânicas, naturais e sintéticas, tais como microorganismos, fungos e suas micotoxinas, assim como, metais pesados, substâncias radioativas, fertilizantes, resíduos de pesticidas e outros [2].

2.3. Metais pesados

Embora o termo “metais pesados” geralmente refere-se aos metais da tabela periódica desde IIA até VIA, os elementos semimetais B, As, Se e Te são freqüentemente incluídos nesta classificação.

Em todas as épocas, o homem tem sido exposto aos metais pesados existentes no meio ambiente. Em áreas com altas concentrações desses metais pesados, é provável que a contaminação dos alimentos e da água por metais tenha provocado os primeiros casos de intoxicações. Os metais lixiviados dos utensílios de cozinha e mesa também têm contribuído para intoxicações acidentais. O advento da era industrial e o grande desenvolvimento da mineração provocaram doenças ocupacionais ocasionadas por diversos metais tóxicos. Os ingredientes a base de metais dos pesticidas e agentes terapêuticos (por exemplo, antimicrobianos) constituem outra fonte de exposição. A queima de combustíveis

fósseis que contenham metais pesados, o acréscimo de chumbo tetraetila à gasolina e o aumento das aplicações industriais dos metais fizeram da poluição ambiental a principal fonte de intoxicação por esses metais.

Os metais pesados como o Cd e Pb, que naturalmente não podem ser metabolizados, permanecem no organismo e nele exercem seus efeitos tóxicos combinando-se com um ou mais grupos reativos essenciais para as funções fisiológicas normais. Os metais pesados, sobretudo os que pertencem à série de transição, são capazes de reagir com grupos que contêm O-, S- e N- e os quais se encontram no organismo sob a forma de OH-, -COO⁻, -OPO₃H⁻, >C=O, -SH, -S-S-, -NH₂ e >NH [7].

Entre alguns metais essenciais para os seres vivos ou micronutrientes destacam-se o Fe, Mn, Zn, B, Cu e Mo. Porém, estes podem ser tóxicos em altas concentrações. Os metais pesados de maior potencial tóxico são Pb, Cd, Cr, Tl e Hg. Alguns desses metais têm sido atribuídas propriedades carcinogênicas e o aparecimento de problemas cardíacos. Metais micro-nutrientes essenciais como Cu e Zn podem exercer um caráter tão tóxico quanto Pb ou Cd, dependendo das suas concentrações.

Os metais presentes em solos de floresta têm principalmente origem natural endógena e deposição atmosférica. Quando presentes na atmosfera, sejam como partículas ou como vapores, eles podem ser de origem natural ou antrópica. Entre as fontes antrópicas de metais para a atmosfera, destacam-se principalmente as atividades de mineração, a combustão de combustíveis fósseis, a produção de cimento, as indústrias metalúrgicas e a combustão de resíduos sólidos e entre as fontes naturais temos aqueles provenientes de vulcões.

A presença de metais pesados em plantas medicinais pode ser decorrente de vários fatores, tais como poluentes ambientais ou resíduos de agrotóxicos [33].

No âmbito da análise farmacêutica, o termo “metal pesado” tem sido utilizado para descrever, principalmente, o chumbo, o arsênio, o cádmio, o cobre e o mercúrio, elementos cuja ingestão deve ser restrita devido a seus efeitos tóxicos.

2.3.1. Chumbo

O chumbo é um metal praticamente ubíquo no ambiente, em virtude da sua ocorrência natural e do seu uso industrial. De modo geral, a exposição do ser humano ao chumbo ocorre primariamente através dos alimentos. Nos Estados Unidos a ingestão diária média do adulto varia de 0,1 a 2 mg de chumbo/dia. Todavia, a maioria dos casos manifestos de toxicidade pelo chumbo decorre de exposição ambiental e/ou industrial.

As principais vias de absorção de chumbo são o trato gastrointestinal e o sistema respiratório. Os compostos orgânicos do chumbo podem também ingressar no organismo através da pele. As duas principais rotas de exposição humana ao chumbo advêm da atmosfera e da alimentação, cuja intensidade e duração podem provocar problemas neurológicos, renais, imunológicos, reprodutivos e cancerígenos [34,35].

A absorção gastrointestinal de chumbo varia de acordo com a idade. Enquanto o indivíduo adulto absorve aproximadamente 10% do chumbo ingerido, a criança chega a absorver até 40%. Pouco se sabe a respeito do transporte do chumbo através da mucosa do trato gastrointestinal. Surgiu-se a hipótese de que o Pb^{+2} e o Ca^{+2} podem competir por um mecanismo de transporte comum, visto que existe uma relação recíproca entre o conteúdo de cálcio da dieta e a absorção de chumbo. Após ser absorvido, o chumbo inorgânico se distribui inicialmente nos tecidos moles, sobretudo no epitélio tubular dos rins e no fígado. Com o tempo, o chumbo sofre redistribuição e deposita-se nos ossos, nos dentes e no cabelo. Cerca de 95% do chumbo acumulado pelo organismo são encontrados nos ossos. Apenas pequenas quantidades de chumbo inorgânico acumulam-se no cérebro, sendo a maior parte encontrada na substância cinzenta e nos gânglios da base. Praticamente todo o chumbo inorgânico circulante encontra-se associado aos eritrócitos. Somente quando o chumbo está presente em concentrações relativamente altas é que aparece uma porção significativa no plasma [7].

2.3.2. Cádmio

O cádmio ocupa um lugar próximo ao chumbo e ao mercúrio no interesse toxicológico atual. É encontrado na natureza em associação ao zinco e ao chumbo, de modo que a extração e o processamento destes metais resultam quase sempre em contaminação do meio ambiente pelo cádmio. O elemento foi descoberto em 1817, porém era raramente utilizado até que suas propriedades metalúrgicas valiosas fossem descobertas, há cerca de 50 anos. A alta resistência à corrosão, as interessantes propriedades eletroquímicas e outras propriedades químicas úteis são os fatores responsáveis pela larga aplicação do cádmio na galvanização e no revestimento elétrico, bem como no seu uso em plásticos, tintas e pilhas de níquel e cádmio. As aplicações e a produção do cádmio continuam aumentando. Como menos de 5% dos metais são reciclados, a poluição ambiental é um fator importante a ser considerado. O carvão e outros combustíveis contêm cádmio, e a sua combustão libera o elemento no meio ambiente [7].

Os fertilizantes produzidos a partir de minérios do fosfato constituem uma fonte principal da poluição difusa do cádmio. Em águas naturais, o cádmio é encontrado principalmente nos sedimentos inferiores e em partículas em suspensão [124].

O cádmio pode ser encontrado também no ar, no particulado, em que o óxido de cádmio é, provavelmente, o constituinte mais importante [124]. Os níveis são geralmente mais elevados na vizinhança de plantas metalúrgicas. Para a população em geral que não vive em tais áreas, a exposição ao cádmio proveniente do ar não excede 0,8 µg/dia [125].

A contaminação da água potável pode ocorrer em consequência da presença de cádmio em algumas tubulações galvânicas ou de soldas contendo o metal.

A dose oral letal de cádmio estimada para seres humanos é de 350 - 3500 mg [126].

Foi verificado que o rim é o órgão mais afetado por uma lata exposição de cádmio. O metal afeta a função dos túbulos proximais e o primeiro sintoma de intoxicação é um aumento na excreção urinária de proteínas.

Estudos epidemiológicos evidenciaram que não existe uma maior incidência de câncer em povos expostos ao cádmio através da dieta. No entanto, foi verificada uma maior incidência de câncer de pulmão em pessoas expostas ocupacionalmente ao elemento, por via inalatória [126].

Ainda, não existem evidências que o cádmio exerça efeitos genotóxicos.

2.3.3. Limites de Tolerância

O estabelecimento de limites de tolerância para esses elementos em plantas medicinais tem sido discutido. Algumas legislações consideram adequados os limites determinados para alimentos; outras, no entanto, entendem que as drogas vegetais devem seguir os mesmos critérios fixados para as demais matérias-primas farmacêuticas e medicamentos.

Segundo SCHILCHER et al. (1987) [5], os métodos de análise farmacopéica tradicionais, baseados em ensaios-limite, não são seletivos para metais pesados, além de apresentarem pouca sensibilidade e baixa precisão. A última versão da Farmacopéia Americana (USP XXV, 2001) ainda recomenda para os produtos vegetais, o ensaio limite para metais pesados. O ensaio envolve a adição de sulfeto de hidrogênio à amostra, onde a concentração de metais é calculada pela turbidez e expressa em microgramas de Pb. Os metais que respondem ao ensaio são Pb, Hg, As, Bi, Sb, Cd, Ag, Cu e Mo [35]. O limite aceito, para metais em plantas medicinais é de no máximo 0,005% (50 mg kg⁻¹).

Na monografia da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1990) - Seleção Das Plantas Medicinais - foram estabelecidos para os fitoterápicos limites para Pb e Cd de 10 e 0,3 mg kg⁻¹, respectivamente [36]. No caso das plantas medicinais, os procedimentos usuais de extração empregados na preparação de fitoterápicos

são capazes de extrair percentuais que variam de 3% a 48% do teor total de metais pesados presentes na planta [31].

A WHO/FAO recomenda uma ingestão semanal provisória tolerável (PTWI- provisional tolerable weekly intake) de 25 e 7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corpóreo de Pb e Cd, respectivamente [37,38].

Na literatura encontram-se poucos trabalhos sobre a presença de contaminantes em fitoterápicos. Um estudo realizado no Egito evidenciou a presença de metais pesados em plantas medicinais como flores de camomila, onde foram encontrados valores de chumbo (0,242 e 0,308 mg/kg), zinco (116 e 122 mg/kg), cobre (8,9 e 10,4 mg/kg) e ferro (105 e 125 mg/kg) [6]. Em amostras de menta, foram determinados cádmio (0,294 e 0,306 mg/kg), cromo (0,088 e 0,096 mg/kg) e manganês (36,9 e 38,8 mg/kg). As concentrações de chumbo e cádmio encontradas nas diferentes amostras foram atribuídas, principalmente, à água de irrigação, emprego de fertilizantes e herbicidas. Ainda, foi verificada uma acumulação de chumbo em plantas cultivadas em regiões próximas a fontes potenciais de emissão de chumbo. Estes resultados foram comparados com os valores reportados por KIM *et al.* (1994) [39], que analisaram amostras de plantas medicinais cultivadas em lugares não poluídos, sendo que os valores encontrados para Cd, Cu, Pb, Zn, Cr, Ni e As em plantas foram 0,386, 6,636, 0,817, 27,776, 1,448, 0,729, 40,277 mg kg^{-1} , respectivamente. Esses valores determinados estão muito próximos daqueles citados por ABOU-ARAB (1990) [6]. Por outro lado, GRAVEL *et al.* (1994) [40] e JANUZ *et al.* (1994) [41] verificaram que o teor de metais pesados em plantas cultivadas em regiões industriais apresenta um teor mais elevado de metais do que aquelas cultivadas em regiões menos industrializadas. SVICEKOVA e HAVRANEK (1995) [42] relatam que o teor de metais pesados nas plantas medicinais depende tanto do tipo de planta como das condições ambientais na qual é cultivada.

2.4. Fluorescência de Raios-X

2.4.1. Fundamento

A fluorescência de raios-X (FRX) é uma técnica de emissão atômica fundamentada no efeito fotoelétrico. O átomo submetido a um processo de irradiação por indução de partículas e ou por uma fonte de raios-X (tubo de ródio, radioisótopos naturais, luz síncrotron, etc) (Figura 1) ejeta um elétron de uma camada eletrônica interna (Figura 2a). Para a estabilização da forma excitada resultante do processo, os elétrons das camadas eletrônicas mais externas caem rapidamente para as lacunas geradas, liberando a diferença de energia existente entre os dois níveis de energia envolvidos (Figura 2b). Como este processo envolve níveis de energia que são característicos de cada elemento, a radiação emitida para cada transição é também característica. Desta maneira, a energia de radiação emitida pode ser diretamente empregada para a identificação do elemento em questão. Como a intensidade de radiação emitida é uma função da concentração do elemento, a técnica também fornece informações quantitativas [24].

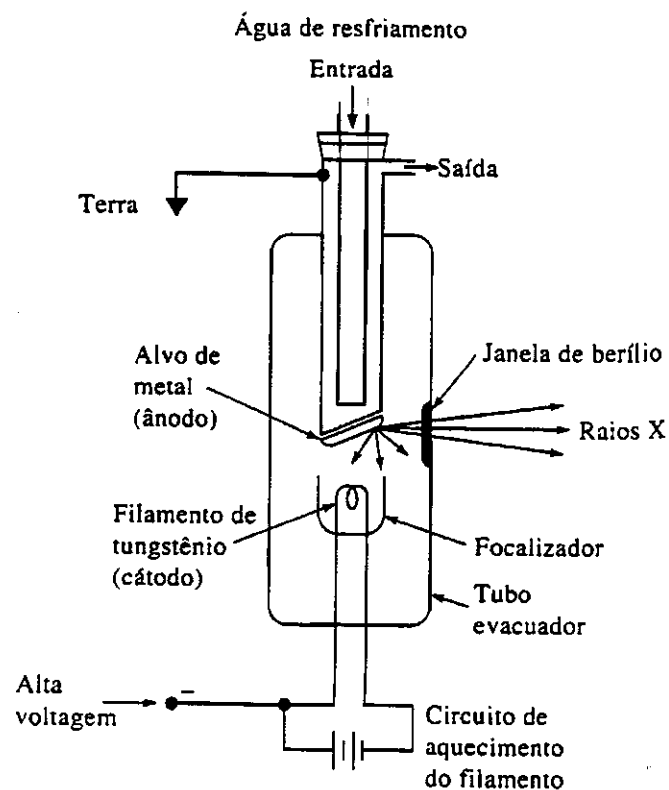


Figura 1: Esquema de um tubo de raios -X [24].

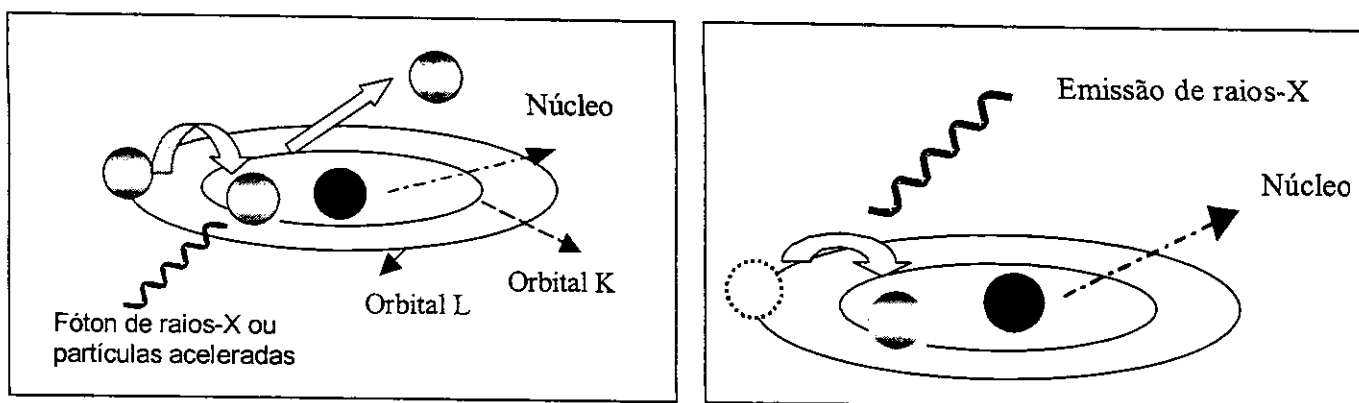


Figura 2: Representação dos fundamentos da Fluorescência de Raios-X. (a) Efeito fotoelétrico; (b) Emissão proveniente de transições eletrônicas.

O processamento do espectro tem a função de ler um espectro e integrar os picos determinando sua intensidade no espectro. Os elementos a serem analisados devem ser listados com suas respectivas linhas de emissão (K_α , K_β , L_α , L_β). Depois de processado o espectro, suas intensidades podem ser lidas em contagem por segundo (cps).

Nos espectros obtidos, os elementos podem ser identificados de acordo com sua posição na escala de energia conforme está ilustrado na Tabela 2, na qual estão apresentados apenas alguns elementos. Os dados completos com as linhas de emissão estão apresentados na Tabela I no ANEXO I.

Tabela 2. Energia de emissão e absorção de alguns elementos

Elementos	K_{abs}	K_α	K_β	L_{abs}	L_α	L_β
V	5,463	4,949	5,426	0,512	0,511	0,519
Cr	5,988	5,411	5,946	0,574	0,573	0,583
Mn	6,537	5,894	6,489	0,639	0,637	0,649
Fe	7,111	6,398	7,057	0,708	0,705	0,718
Co	7,709	6,924	7,648	0,779	0,776	0,791
Ni	8,331	7,471	8,263	0,853	0,851	0,869
Cu	8,980	8,040	8,904	0,933	0,930	0,950
Zn	9,660	8,630	9,570	1,022	1,012	1,034
Ga	10,368	9,241	10,262	1,117	1,098	1,125
Hg				12,285	9,87	11,821
Tl				12,657	10,267	12,211
Pb				13,044	10,550	12,612
Bi				13,424	10,837	13,021
Rh	23,224	20,165	22,712	3,002	2,696	2,834

Uma representação esquemática dos níveis de energia atômicos, das transições possíveis e das respectivas denominações é apresentada na Figura 3.

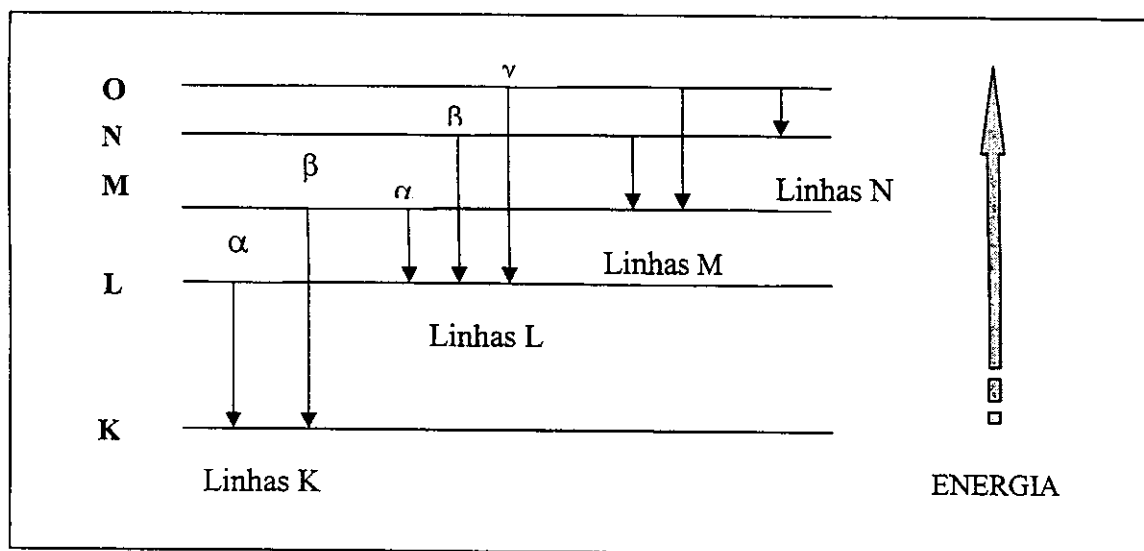


Figura 3: Diagrama das transições e suas respectivas denominações.

A técnica de FRX apresenta uma ampla variedade de espectrômetros, que se diferenciam pelo modo de excitação ou pela configuração do equipamento. Basicamente, a técnica pode ser dividida em 3 categorias principais [43,44]:

- 1.- Comprimento de Onda Dispersivo (seqüencial ou simultâneo).
- 2.- Energia Dispersiva (diferentes modos de excitação).
- 3.- Especiais:
 - a) Reflexão Total
 - b) Fonte de radiação síncrotron
 - c) Indução por partícula

Neste trabalho, será utilizado equipamento a base de energia dispersiva, seja usando-se fonte de tubo de ródio ou fonte de luz síncrotron.

A fluorescência de raios-X (XRF) é um dos métodos analíticos mais usados na identificação qualitativa dos elementos com número atômicos maior que o oxigênio (>8). Além disso, é freqüentemente empregada na análise elementar

semiquantitativa ou quantitativa. Uma vantagem particular da XRF é que, em contraste com a maioria das outras técnicas de análise elementar, é uma técnica não-destrutiva da amostra.

Uma área onde as técnicas de raios-X estejam encontrando aplicação crescente está na determinação de poluentes em amostras ambientais como ar, água e solo [45]. Por muitos anos, a sensibilidade do método da fluorescência não era suficiente para as medidas diretas de contaminantes ao nível de ppm e métodos de pré-concentração eram requeridos, anteriores à análise de matrizes diversas. ONAGA (1996) desenvolveu metodologia para a determinação de Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Hg e Pb em água empregando resina de troca iônica e precipitação com dibenzilditiocarbamato de sódio (NaDDC) para a pré-concentração dos metais com posterior determinação por EDXRF [127].

A fluorescência de raios-X oferece um número expressivo de vantagens. Os espectros são relativamente simples; assim, a interferência entre as linhas espectrais é improvável. Geralmente, o método de raios-X é não destrutivo e pode ser usado na análise de obras raras, espécies arqueológicas, jóias, moedas e outros objetos de valor, sem, contudo danificar ou mesmo destruir a amostra. Além disso, podem ser realizadas análises em amostras que variam desde uma mancha pouco visível até um objeto volumoso. Outra vantagem na análise multi-elementar é a elevada frequência analítica. Finalmente, a precisão e a exatidão dos métodos de fluorescência de raios-X freqüentemente se igualam ou são melhores que a de outros métodos.

Para os elementos leves, os métodos de fluorescência de raios-X não são tão sensíveis como os métodos espectroscópicos. As dificuldades nas medidas e detecção tornam-se progressivamente maiores quando os números atômicos diminuem, em parte devido a um processo que surge competindo com o de interesse chamado emissão Auger, que reduz a intensidade da fluorescência [24].

2.4.2. Fluorescência de Raios- X de Energia dispersiva (EDXRF)

A fluorescência de raios-X de energia dispersiva tem sido empregada na determinação simultânea de diversos elementos em uma ampla faixa de concentração. A instrumentação foi possível devido ao desenvolvimento simultâneo do detector Si(Li), do analisador multicanal da altura de pulso e de microcomputadores poderosos [24].

Os raios X característicos agem como fótons convertendo-se de um raios-X do transdutor à carga. A carga produzida é diretamente proporcional à energia dos raios-X que entram no detector [46].

EDXRF é uma técnica bastante interessante no âmbito da química analítica, pois, além de ser um método não destrutivo, permite a análise multielementar simultânea. Ainda, tem capacidade para análise qualitativa e quantitativa, não requerendo tratamento prévio da amostra e apresentando quase total insensibilidade à forma química em que as espécies de interesse se encontram.

A análise quantitativa por EDXRF embora apresenta menor resolução (causam alargamentos dos picos e assim maiores problemas de sobreposição espectral), ela é uma técnica extremamente vantajosa no requisito tempo. A técnica é recomendável para análises rápidas exploratórias ou análises quantitativas de sistemas bem conhecidos [47].

BOMAN et al. (1996) empregaram EDXRF para determinar metais (K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Pb) em árvores saudáveis e não saudáveis, ressaltando a simplicidade do método e o baixo custo da análise. Tudo isto propicia a sua vasta aceitação em métodos aplicados à identificação elementar relacionados a alimentos [48,49], plantas medicinais [50], material biológico [51], entre outros.

2.4.3. Fluorescência de Raios- X de Energia dispersiva com Luz Síncrotron (SYXRF)

Luz síncrotron é a radiação eletromagnética intensa produzida por elétrons de alta energia em um acelerador de partículas. A luz síncrotron abrange uma ampla faixa do espectro eletromagnético: raios-X, UV e Infravermelho e radiação VIS. É com esta radiação que cientistas estão descobrindo novas propriedades físicas, químicas e biológicas existentes em átomos e moléculas [52]. Neste caso, a radiação síncrotron substitui as fontes convencionais de excitação.

No síncrotron, os elétrons são injetados em um anel com alto vácuo e mantidos em alta energia cinética através de um oscilador magnético. Os campos verticais aceleram os elétrons horizontalmente, e estas acelerações causando a emissão tangencial de um feixe denominado radiação síncrotron (Figura 4) [43,44].

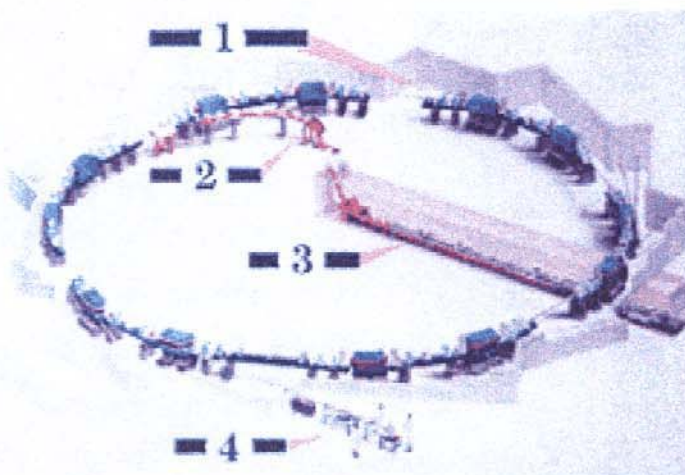


Figura 4. Esquema do anel gerador da radiação síncrotron.

1- Anel de armazenamento de elétrons, 2- Linha de transporte, 3- Acelerador linear de elétrons, 4- Linha de luz [52].

Os síncrotrons são construídos por uma câmara de vácuo, por ímãs dipolares que mantêm os elétrons em órbita circular e cavidades de radiofrequência que aceleram progressivamente os elétrons até que atinjam uma certa energia requerida para experiências de colisões de partículas elementares. O anel de armazenamento de elétrons é uma máquina com princípio de fundamento similar ao dos síncrotrons. O objetivo dos primeiros anéis de armazenamento de elétrons era o de armazenar uma corrente alta de elétrons a energias elevadas, para utilização em experiências de física de partículas elementares (colisões elétron-pósitron, por exemplo). Posteriormente, a partir do final da década de 60, os anéis de armazenamento começaram a ser usados também, em forma partilhada, como fontes de luz síncrotron. A partir dos anos 80 começou a construção de anéis de armazenamento de elétrons dedicados exclusivamente à produção de luz (sem nenhuma utilização em experiências de colisões). O anel de armazenamento de elétrons, além dos ímãs dipolares (ou dipolos), tem ímãs quadrupolares e sextupolares para focalizar e reduzir aberrações do feixe eletrônico. Devido aos princípios similares de funcionamento, o acelerador principal da fonte de luz síncrotron construído no LNLS é denominado de anel de armazenamento de elétrons ou síncrotron. Em alguns casos, usa-se o termo acelerador circular [52].

Este tipo de fonte tem proporcionado melhoras nos limites de detecção das análises por FRX, basicamente decorrente das próprias propriedades físicas deste tipo de radiação. Dentre elas, as principais são [45,53]:

- a) Feixe mais intenso que as fontes convencionais (4-5 ordem de grandeza), com distribuição contínua de energia.
- b) Radiação altamente colimada, permitindo a análise de amostras com tamanho reduzido.
- c) Polarização linear no plano da trajetória em que o elétron é mantido permitindo reduzir os efeitos de espalhamento e conseqüentemente a radiação de fundo (melhora a relação sinal/ruído).

Apesar das inúmeras vantagens associadas à utilização de fontes de radiação síncrotron, um dos principais inconvenientes desta técnica é o alto custo embutido na construção e manutenção do gerador deste tipo de radiação. Além disso, a intensidade da fonte diminui com o tempo, propriedades que devem ser contornadas através do monitoramento contínuo do feixe primário ou com o emprego de padrão interno nas amostras analisadas.

2.5. Métodos Voltamétricos

2.5.1. Fundamentos

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos nos quais a informação sobre o analito é obtida através de medidas de corrente em função do potencial aplicado em condições de polarização do eletrodo de trabalho. Geralmente, para aumentar o efeito de polarização, os eletrodos de trabalho na voltametria são microeletrodos com grandes áreas superficiais.

Historicamente, o campo da voltametria se desenvolveu a partir da polarografia, que é um tipo particular de voltametria, que foi descoberta pelo químico tchecoslovaco Jaroslav Heyrovsky, no início da década de 20 do século passado. A polarografia, que ainda é um ramo importante da voltametria, difere de outros tipos de voltametria porque o microeletrodo utilizado é um eletrodo gotejante de mercúrio (do inglês, dropping mercury electrode, DME).

A voltametria é largamente usada pelos químicos inorgânicos, físico-químicos e bioquímicos para diversas finalidades, incluindo estudos fundamentais de processos de redução e oxidação em vários meios, processos de adsorção em superfícies, mecanismos de transferência de elétrons em superfícies de eletrodos quimicamente modificados e outras.

Para a obtenção das medidas de corrente, utiliza-se um potenciostato para aplicar a diferença de potencial em função de um eletrodo de referência. Este permanece com o potencial estável enquanto a corrente medida flui entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar, que geralmente é um eletrodo de

platina. Os eletrodos encontram-se numa célula voltamétrica imersos em um eletrólito de suporte. O eletrólito de suporte é uma solução condutora e inerte na faixa de potencial de trabalho e, geralmente, a concentração deste eletrólito é bem elevada em relação à concentração do analito, para minimizar a corrente de migração.

Quando se aplica uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho (DME) e o auxiliar, a corrente que aparece é registrada em função desta diferença de potencial. Na presença de uma espécie eletroativa, a corrente aumenta se a diferença de potencial for suficiente para reduzir ou oxidar a espécie. A corrente limite, controlada por difusão (i_d), é proporcional à concentração da espécie eletroativa e pode ser representada pela equação de Ilkovic Eq (1) [26]:

$$i_d = 7,08 \times 10^4 n C D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} \quad \text{Eq (1)}$$

Onde:

- n: número de elétrons envolvidos no processo de transferências de carga;
- C: concentração da espécie eletroativa no seio da solução (mmol/L);
- D: coeficiente de difusão (m^2/s);
- m: taxa de escoamento do mercúrio (mg/s);
- t: tempo de gota (s).

Na Figura 5, está apresentado um polarograma característico para o cádmio, obtido através da polarografia de corrente contínua.

O potencial de meia-onda (representado por $E_{1/2}$) é o potencial no qual a corrente alcança a metade de seu valor limite e é similar ao potencial formal. Esse potencial oferece informações qualitativas, independe da concentração do analito e pode sofrer alterações em função do eletrólito de suporte utilizado [24].

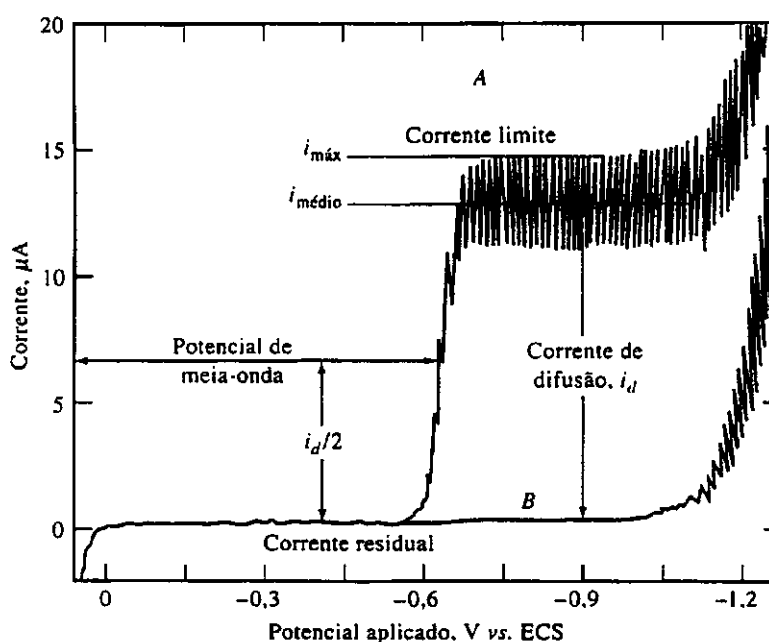


Figura 5: Polarograma para: A) solução de HCl 1 mol L⁻¹ com 5x 10⁻⁴ M de Cd⁺² e B) solução de HCl 1 mol L⁻¹ [24].

Um número considerável de novas técnicas voltamétricas tem sido desenvolvido para suplementar a polarografia de corrente contínua convencional, como: pulso normal, pulso diferencial, de onda quadrada, técnicas de voltametria de redissolução anódica/catódica e a voltametria adsortiva por redissolução.

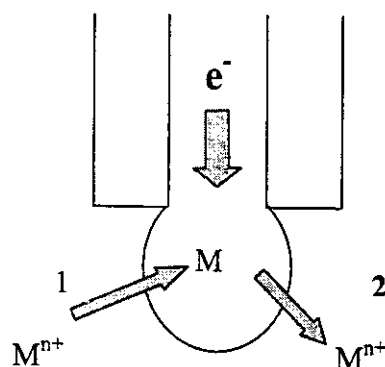
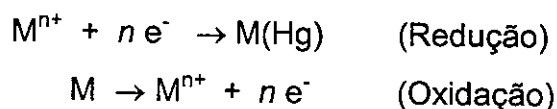
2.5.2. Voltametria de Redissolução

Nos últimos anos, houve uma demanda crescente pela detecção e quantificação de componentes traços em matrizes complexas. A conscientização de efeitos prejudiciais de alguns elementos traços em matrizes como alimentos, águas naturais, efluentes industriais e esgotos domésticos, fez com que surgissem rigorosas legislações públicas direcionadas ao monitoramento destes componentes em amostras a níveis de parte por bilhão (ppb). Para isso, métodos analíticos mais sensíveis eram necessários. Uma nova técnica voltamétrica

destinada à análise de traços foi desenvolvida, a voltametria de redissolução. Apesar de outras técnicas analíticas sensíveis e confiáveis (como espectrometria de absorção atômica e outras) terem sido utilizadas na análise de traços, fatores, tais como alto custo de instrumentação, extensiva preparação das amostras e seletividade limitada, reduzem a eficácia destas técnicas principalmente quando aplicadas à análise de multi-componentes em matrizes de amostras complexas [24].

De modo geral, a sensibilidade de toda técnica analítica pode ser aumentada introduzindo uma etapa preliminar de pré-concentração no preparo de amostra, por exemplo, uma extração com líquido-líquido, líquido-sólido ou extrato em fase sólida. Na voltametria de redissolução, uma técnica eletroquímica de pré-concentração é usada. O analito é concentrado, de soluções muito diluídas, pela eletrólise a um produto coletado no eletrodo e que possa subsequente ser determinada com uma sensibilidade muito elevada. O método é aplicável somente a um número limitado de analitos importantes. A voltametria de redissolução requer o uso dos eletrodos rotatórios ou estacionários.

A etapa de pré-concentração ou de deposição consiste no eletro-deposição o potencial constante da espécie de interesse em um eletrodo estacionário ou rotatório, sob agitação da solução, durante um tempo pré-determinado. Durante esta deposição, a solução é agitada pelo movimento do próprio eletrodo, no caso dele ser rotatório, ou por uma barra magnética usando-se um agitador magnético, no caso dele ser estacionário. Logo após a eletrodeposição, deixa a solução em repouso por alguns segundos, para que os metais depositados tenham um tempo suficiente para difundir-se no mercúrio, tornando a amalgama homogênea. Esse tempo é chamado de tempo de repouso ou de equilíbrio (t_r). Isto é seguido pela etapa da determinação que consiste na redissolução eletrolítica, voltando a espécie depositada à solução de onde havia sido retirada (Figura 6).



1: pré-concentração, 2: redissolução

Figura 6: Voltametria de Redissolução Anódica

Os eletrodos mais populares são o eletrodo de mercúrio de gota pendente (do inglês, hanging mercury drop electrode, HMDE) e o eletrodo de filme de mercúrio (do inglês, mercury film electrode, MFE) suportado em ouro, platina, e eletrodos de carbono incluindo pasta do carbono e carbono vítreo. Os eletrodos do mercúrio oferecem a vantagem na análise de determinados íons metálicos, de que o produto da deposição, ou seja, o metal reduzido, se dissolve no mercúrio para formar uma amálgama.

Durante a eletrólise, a corrente que flui é descrita pela equação de LEVICH Eq. (2) [128]:

$$i_{(t)} = 0,62 \, n \, F \, A \, D^{2/3} \, \omega^{1/2} \, \nu^{1/6} \, C_{A(t)} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde n é o número de elétrons transferidos durante a reação, F é a constante de Faraday, A é a área geométrica do eletrodo, D é o coeficiente de

difusão, ω é a velocidade de rotação, ν é a viscosidade cinemática e $C_{A(t)}$ é a concentração do analito.

Recomenda-se, em geral, usar o eletrodo de mercúrio de gota pendente para concentrações acima de 1 ppb e o de filme de mercúrio para concentrações abaixo desta.

O potencial a ser aplicado no processo de deposição permite controlar a seletividade na análise de uma solução que contém vários íons metálicos. Assim, somente um metal ou um grupo de metais pode ser depositado, evitando a deposição de outros metais que possam vir a interferir na etapa de redissolução. Quanto mais catódico o potencial, maior o número de elementos depositados e maior a possibilidade de interferência. Também, a formação de compostos intermetálicos pode causar problemas analíticos. Quando os metais, tais como o cobre e o zinco, estão presentes na solução, há uma tendência da formação de compostos intermetálicos de Zn/Cu no eletrodo de mercúrio [25].

A Figura 7a ilustra a forma do sinal de excitação de potencial usualmente aplicado no método de redissolução anódica de varredura linear para a determinação de cádmio e cobre em soluções aquosas. Inicialmente é aplicado, no microeletrodo, um potencial catódico de -1 V por um tempo definido e sob agitação. Após um tempo de repouso ou equilíbrio, sem agitação, o potencial do eletrodo é alterado linearmente para valores menos negativos e a corrente é registrada em função do potencial. A Figura 7b mostra o voltamograma resultante.

Entretanto cabe mencionar, que a presença de oxigênio dissolvido no eletrólito de suporte interfere na determinação das espécies eletroativas, visto que o oxigênio sofre redução, em duas etapas, no domínio de eletroatividade empregando o eletrodo de mercúrio. Para tanto, faz-se necessário, anterior medidas voltamétricas, a remoção do oxigênio dissolvido, por arraste com um gás inerte (nitrogênio) por um tempo de 5 a 10 minutos [24].

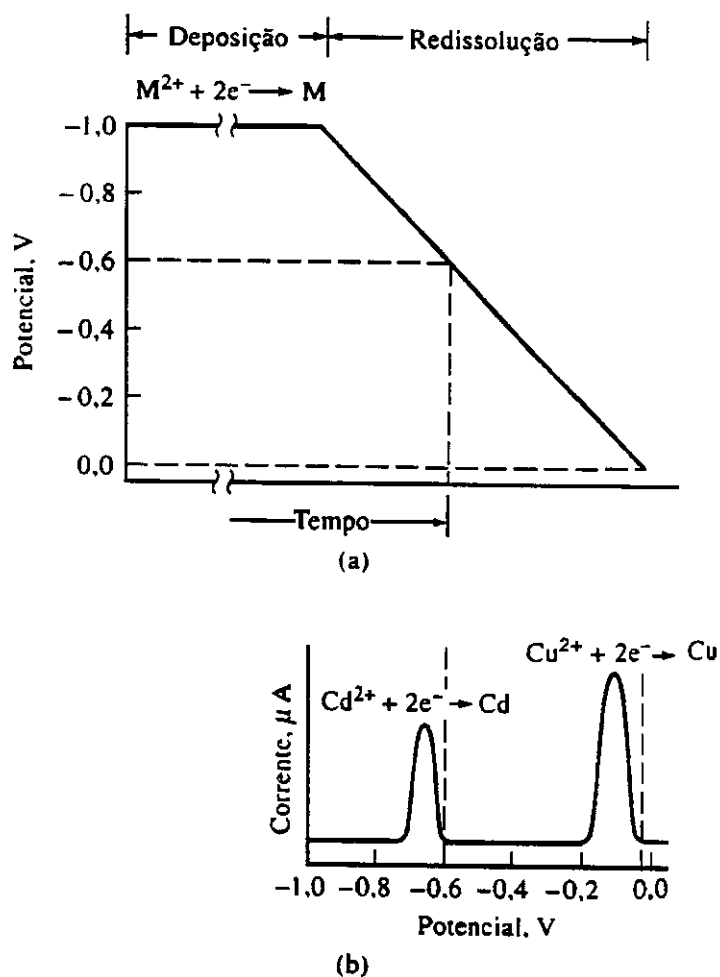


Figura 7: a) sinal de excitação para determinação de Cd^{+2} e Cu^{+2} por redissolução.
b) Voltamograma obtido para a redissolução dos elementos previamente depositados na superfície do eletrodo [24].

A sensibilidade da voltametria de redissolução depende da combinação da pré-concentração obtida na etapa de deposição e da técnica voltamétrica empregada na etapa de redissolução. Entre as técnicas voltamétricas, a de pulso diferencial permite registrar maiores intensidades de corrente para uma mesma concentração de analito frente à de corrente contínua ou pulso normal. De modo geral, a sensibilidade é elevada e é limitada freqüentemente pela pureza dos reagentes, técnicas de amostragem e abertura da amostra. Os limites típicos da

detecção para as técnicas de redissolução situam-se na faixa de 10^{-10} - 10^{-9} mol L⁻¹.

2.5.3. Voltametria de Pulso Diferencial

Na voltametria de pulso diferencial, pequenos pulsos são sobrepostos em uma rampa linear de potencial como está mostrado na Figura 8. A altura do pulso é chamada de amplitude de modulação. O pulso, com valores de 5 a 100 mV de amplitude, é aplicado durante os últimos 60 ms da vida da gota de mercúrio. A gota é então desalojada mecanicamente do capilar. A corrente é medida uma vez antes do pulso ser aplicado e novamente nos últimos 17 ms de duração do pulso. O polarógrafo subtrai a segunda corrente da primeira e plota essa diferença versus o potencial aplicado, como mostra Figura 9 [26].

Uma vantagem do polarograma em forma pico é que máximos individuais podem ser observados para substâncias com potenciais de meia-onda que diferem entre si por valores pequenos, como 0,04 a 0,05 V. Ao contrário, a polarografia clássica e de pulso normal requerem uma diferença de potencial de cerca de 0,2 V para resolução das ondas. Mais importante, entretanto, é que a polarografia de pulso diferencial aumenta a sensibilidade do método polarográfico, conforme a Figura 10.

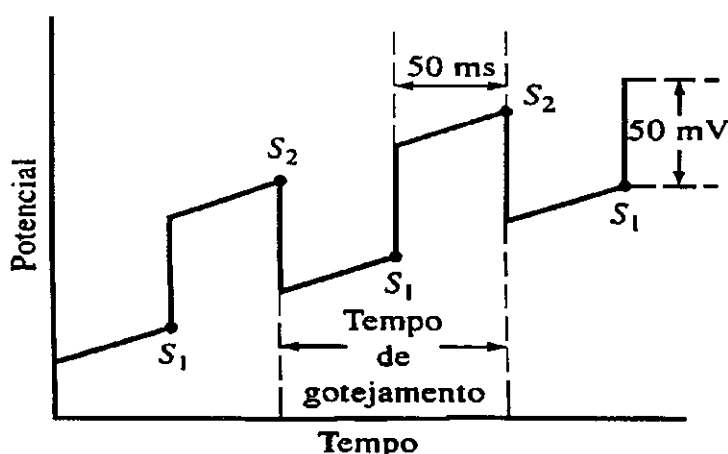


Figura 8: Sinais de excitação para polarografia de pulso diferencial [24].

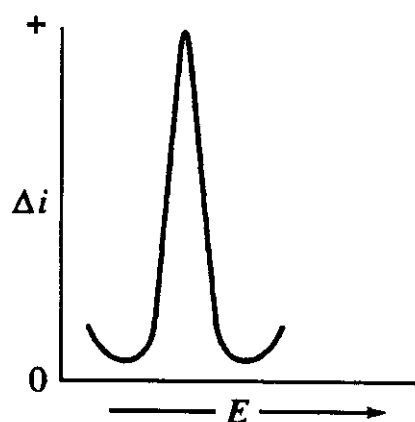


Figura 9: Voltamograma de um experimento de voltametria de pulso diferencial [24].

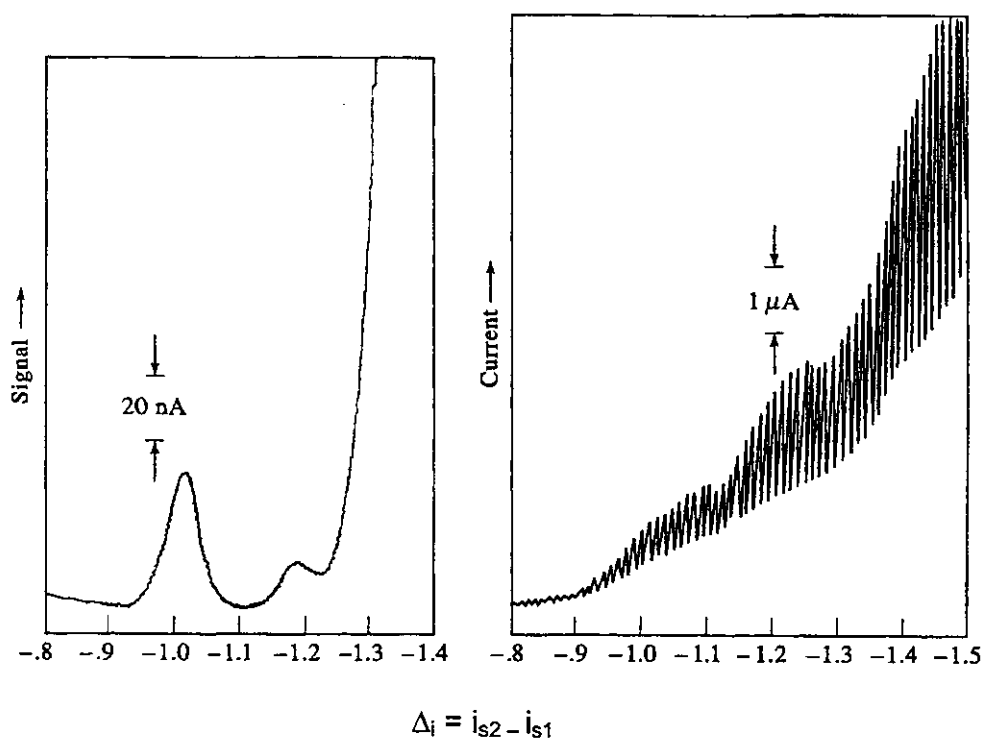


Figura 10: a) Voltamograma de pulso diferencial b) Polarograma de corrente contínua [24].

A maior sensibilidade da voltametria de pulso diferencial pode ser atribuída a duas fontes: (i) aumento da corrente faradáica e (ii) decréscimo da corrente de carga capacitiva, ou seja, não faradáica. Cabe ressaltar que apenas a corrente faradáica é proporcional à concentração do analito.

2.6. Metodologias analíticas

O chumbo e o cádmio são elementos determinados por diferentes métodos analíticos, que incluem desde os métodos volumétricos clássicos até as mais modernas técnicas instrumentais.

2.6.1. Métodos instrumentais

Diversos métodos analíticos instrumentais foram reportados na literatura para determinação de traços de metais pesados como o chumbo e cádmio em matrizes diversas, destacando-se, entre essas, os espectrométricos como espectrometria de absorção atômica, espectrometria de emissão atômica, fluorescência de raios-X, análise por ativação neutrônica e os eletroanalíticos, em especial, a voltametria.

Algumas reações clássicas envolvendo as técnicas espectroanalíticas e eletroanalíticas, na determinação de chumbo e cádmio, estão apresentadas a seguir.

Métodos Espectroanalíticos

- ***Colorimetria***

Chumbo: o Pb(II) reage com ditizona formando ditizonato de chumbo, que é um complexo de cor vermelha em pH 7, sendo o composto extraído com clorofórmio ou tetracloreto de carbono, anteriormente à medida [55,57,61].

Cádmio: o Cd(II) reage com ditizona formando ditizonato de cádmio(II), um complexo colorido em pH 10-12, sendo o composto extraído com clorofórmio ou tetracloreto de carbono, anteriormente à medida [55,60].

- *Espectrofotometria*

Chumbo: determinação de chumbo em ácido tartárico em solução de cianeto de potássio, amônio e sulfeto de sódio; a absorbância é medida a 430 nm [55].

Cádmio: determinação de cádmio usando-se ditizona em meio neutro ou altamente alcalino, formando o ditizonato de cádmio $\text{Cd}(\text{HD}_2)_2$; o complexo, previamente extraído em clorofórmio, absorve a 520 nm. Outros azocompostos são empregados para a determinação espectrofotométrica de cádmio, por exemplo: PAN (1-[(5-cloro-5-piridina)azo] -2-naftol), 5-Cl- β -PAN, bromobenzotiazol, arsenazo, entre outros [62].

- *Fluorimetria*

Cádmio: O elemento pode ser precipitado quantitativamente em solução alcalina na presença de tartarato por 2-(2-hidroxi fenil)-benzoxazol. O complexo formado, em ácido acético, fluoresce na região do UV [55].

- *Espectrometria atômica*

Chumbo: absorção atômica com chama ar/acetileno; a determinação é feita em soluções ácidas (HCl). Linhas de absorção do elemento: 283,31 nm. Limites de detecção na ordem de 10 ng mL^{-1} .

Fluorescência atômica; chama de Ar- O_2 - H_2 ; a determinação é feita em soluções ácidas (HCl). Linha de absorção do elemento: 405,8 nm. Consegue-se limites de detecção na ordem de 20 ng mL^{-1} [63-64].

Cádmio: Absorção atômica; chama ar/acetileno; a determinação é realizada em soluções ácidas (HCl), usando-se a linha de absorção do elemento a 228,80 nm. Limites de detecção ao redor de 1 ng mL^{-1} .

Fluorescência atômica; chama de O_2 / H_2 . Linha de absorção do elemento: 228,80 nm, limite de detecção ao redor de $0,001 \text{ ng mL}^{-1}$ [63,64,65].

- *Ativação neutrônica*

Chumbo: limites de detecção ao redor de 1 micrograma do elemento com o fluxo de nêutrons térmicos de 10^{13} n/cm³s e 1 hora de radiação [63].

Cádmio: limites de detecção ao redor de 5 ng do elemento com o fluxo de nêutrons térmicos de 10^{13} n/cm³s e 1 hora de radiação [63].

Métodos Eletroanalíticos

- *Coulometria*

Chumbo: titulações coulométricas com EDTA, usando como eletrólito EDTA e NH₄NO₃, pH 8,5 com NH₄OH; eletrodo indicador: mercúrio e eletrodo auxiliar: platina em solução saturada de K₂SO₄ [66].

Cádmio: Titulação coulométrica com EDTA, usando-se como eletrólito EDTA e NH₄NO₃ + NaAc, pH 5,5; eletrodo indicador: mercúrio e eletrodo auxiliar: platina em 0,1 mol L⁻¹ de NH₄NO₃ [66].

- *Eletrogravimetria*

Chumbo: Deposição quantitativamente sob a forma de dióxido de chumbo no ânodo em alta concentração de HNO₃ [55].

Cádmio: Deposição em solução levemente alcalina contendo cianeto de potássio, obtendo-se o complexo, K₂[Cd(CN)₄]. A deposição também pode ser feita em solução de ácido clorídrico, em presença de cloreto de hidroxilamina ou cloreto de hidrazina, que atuam como despolarizantes anódicos [55].

- *Titulações potenciométricas*

Chumbo: Utilizando-se EDTA mediante medidas diretas com eletrodo de Hg/Hg⁺², ou usando acetato (pH 4,6) ou com eletrodo de íon seletivo para Pb (II) [59].

Cádmio: Utilizando-se EDTA mediante medidas diretas com eletrodo de Hg/Hg⁺², ou usando-se acetato (pH 4,6) ou com eletrodo íon seletivo para Cd (II) [59].

Algumas aplicações mais recentes de alguns métodos instrumentais, na determinação de chumbo e cádmio, assim como de outros metais, em diferentes matrizes, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Alguns métodos de determinação de elementos

Elementos	Matriz	Técnicas	Referências
Ti, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Pb	Água de mar	TRXRF	Mazo <i>et al.</i> , 1997 [67].
Fe, Ni, Cu, Zn, Pb	Água de mar	RIXRF	Mazo <i>et al.</i> , 1997 [67].
K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Zr, Pb	Vegetais	EDXRF	Dos Anjos <i>et al.</i> , 2002 [68].
Na, Mg, Al, Si, P, S, K, Cl, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Ni, Zn, Pb, Rb, Sr, Mo, Ba, Br, V, Cr, Co, As	Plantas	XRF	Guohui <i>et al.</i> , 1995 [69].
Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb	Alimentos (leite, queijo, chocolate)	ETAAS	Karadjova <i>et al.</i> , 2000 [70].
Cd, As, Pb	vegetais	DPASV	Queirolo <i>et al.</i> , 2000 [71].
Cr	Plantas medicinais	XRF	López <i>et al.</i> , 2002 [72].
Cr, Pb, Ni, Cu, Zn, Fe, Mn	Plantas medicinais	AAS	Pluta <i>et al.</i> , 1984 [73].
Cu, Zn, Fe, Ni, Pb, Cd	Plantas medicinais	DPP	Svicekova <i>et al.</i> , 1995 [42].
Cu, P, Cd, Zn	Sedimento de rio	ICP-AES	Da Silva <i>et al.</i> , 2000 [74].

Cr, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb	Solo	AAS	Álvarez <i>et al.</i> , 2001 [75]
Pb, Cd, Ni, Cr, Mn, Cu	Calostro humano	ETAAS	Turan <i>et al.</i> , 2001 [76].
Al, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, Mn, Mo, Ni, Pb, Ti, V, Sb, Sn, Zn	Água	ICP-AES	Vassileva <i>et al.</i> , 2001 [77].
Cd, Pb, Cu	Água	SWASV	Silva <i>et al.</i> , 2001 [78].
K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr	Plantas medicinais	EDXRF	Obiajunwa <i>et al.</i> , 2002 [50].
Cd, Pb, Zn, Ni, Mo	Plantas medicinais	FAAS	Baranowska <i>et al.</i> , 2002 [79].
Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, Zn	Líquén	GFAAS	Tuzen, 2002 [80].
As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Pb, Ni, V, Zn	musgos	ICP-MS/ INAA	Ayrault <i>et al.</i> , 2002 [81].
Co, Ni, Cu, Pb	Água	ETV/ ICP-MS	Tanaka <i>et al.</i> , 2002 [82].
As, Pb, Cd, Cr, Co, Cu, Ni, Hg, Zn	Tecidos	TXRF	Dogan <i>et al.</i> , 2002 [83].
Ca, Cr, Fe, Mg, Ni, Pb, Zn	carvão de madeira	AAS	Rauf <i>et al.</i> , 2002 [84].
Pb, Cu, Mn, Cr, Cd, Zn, Hg	Amostra biológica	AAS	Naginiene, <i>et al.</i> , 2002 [85].
Pb, Cd, Ni	Amostra biológica	GFAAS	Horng <i>et al.</i> , 2002 [86].
Cd	Cosméticos	AAS	Vondruska, 1995

			[87].
Cu, Pb, Cd, zn, Hg	Água de mar	DPASV/GFAAS	Locatelli <i>et al.</i> , 1999 [88].
Fe, Co, Ni, Mn, Zn, Cu, Cd, Pb	Cabelo humano	ICP-AES	Rao <i>et al.</i> , 2002 [89].
Ca, V, CR, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Ag, Cd, Ba, TI, Th, U	Plantas	ICP-MS	Krachler <i>et al.</i> , 2002 [90].
As	Alimento (arroz)	ICP-AES/ ICP- MS/ HR-ICP-MS	D'Illo <i>et al.</i> , 2002 [91].
Cu, Mn, Zn, Fe, Cd	Amostra biológica	GFAAS	Tuzen, 2002 [92].
As, Hg	Alimento (açucar)	AAS	Ronda <i>et al.</i> , 2002 [93].
Cu, Mg, Pb	Alimento (fruto)	FAAS	Sivrikaya <i>et al.</i> , 2002 [94].
Se, Ge, Cu, Zn, Fe, Mn	Plantas medicinais	GFAAS	Liang <i>et al.</i> , 2002 [95].
As, Ba, Cd, Cr, Hg, Pb, Se, Sb	Pintura sobre brinquedos	ICP-AES	Liu <i>et al.</i> , 2002 [96].

TRXRF: Fluorescência de Raios-X com reflexão total (Total reflection X-ray fluorescence spectrometry).

RIXRF: Fluorescência de Raios-X com radioisótopo (Radioisotope X-ray fluorescence spectrometry).

EDXRF: Fluorescência de Raios-X de energia dispersiva (Energy dispersive X-ray fluorescence).

XRF: Fluorescência de Raios-X (X-ray fluorescence).

AAS: Espectrometria de absorção atômica (Atomic absorption spectrometry).

ETAAS: Espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (Electrothermal atomic absorption spectrometry).

DPASV: Voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (Differential pulse anodic stripping voltammetry).

DPP: Polarografia de pulso diferencial (Differential pulse polarography).

ICP-AES: Espectrometria de emissão atômica com plasma induzidamente acoplado (Induced coupled plasma-atomic emission).

SWASV: Voltametria de redissolução anódica de onda quadrada (Square wave anodic stripping voltammetry).

FAAS: Espectrometria de absorção atômica de chama (Flame atomic absorption spectrometry).

GFAAS: Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (Graphite furnace atomic absorption spectrometry).

ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma induzidamente acoplado (Inductively coupled plasma mass spectrometry).

INAA: Análise por ativação neutrônica instrumental (Instrumental neutron activation analysis).

ETV: Vaporização eletrotérmica (Electron thermal vaporization).

HR-ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma induzidamente acoplado com alta resolução magnética (Magnetic sector high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry).

2.7. Técnicas voltamétricas

As técnicas voltamétricas permitem a determinação seqüencial de vários elementos na mesma solução ao nível de traços e ultratraços em matrizes diversas. Assim, a voltametria de pulso diferencial pode ser utilizada para a determinação de Cu(II), Pb(II), Cd(II), Zn(II), Ni(II), Co(II), Fe(II) e Mn(II) em amostras de água de mar, sedimentos, algas e peixes [97].

A determinação de traços de Pb(II) em água potável pode ser realizada por voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial, utilizando um eletrodo de carbono coberto com PAN [1-(2-piridilazo)-2-(naftol)], o qual forma complexo com o chumbo [98]. Os polímeros também encontram aplicação na determinação de chumbo e cádmio por voltametria [99].

Para amostras de água também pode ser realizada, além da determinação de Cd e Pb por voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial, a determinação simultânea de elementos como Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Ni, Co e Fe na mesma solução, apenas alterando-se o pH da solução e mediante adição de agentes complexantes. Os limites de detecção situam-se na faixa de 10^{-9} , 10^{-10} mol L⁻¹ [100].

A voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial também tem sido empregada para a determinação de Cd, Pb e Cu em plantas aquáticas como a

Zannichellia palustris e a *Myriophyllum aquaticum* [101] e Pb, Cd, Zn e Cu em águas de chuvas, com limites de detecção na ordem de picogramas [102].

A DPASV também foi utilizada na determinação de Cd(II) em material de esgoto, utilizando-se técnicas de extração para pré-concentração dos elementos em solução com pH ajustado a 3,5 [103]. Pode ser realizado um pré-tratamento da amostra com peróxido de sódio e HCl, ajustando-se pH em 4 [104].

O Cd e Pb foram determinados por DPASV em sedimentos marinhos e sedimentos de rio [105-107]. Além disso as concentrações destes metais podem também ser estimadas em partículas de ar, água e alimentos [108,109], como café [110], vegetais [71], mel [111] ou em outros tipos matrizes como material biológico [51], cabelo humano [112] ou em matrizes marinhas [113].

A voltametria adsortiva por redissolução catódica foi empregada para a determinação de Cd e Pb em alimentos como leite, queijo e chocolate [70], utilizando o agente complexante 1-fenilpropano-1-pentilsulfonilhidrazona-2-oxima. Alta sensibilidade e seletividade têm sido conseguidas com a voltametria de redissolução adsortiva usando vários agentes quelantes como, por exemplo, o 2-amino-ciclopentano ditiocarboxilato para a determinação de traços e ultratraços em análise multielementar [114,115], em diversas matrizes, como água de mar por exemplo, obtendo-se limites $<10^{-8}$ mol/L [116].

Na determinação de Cd e Pb em plantas medicinais, foi sugerido o emprego da polarografia de pulso diferencial, utilizando-se o tampão acetato como eletrólito de suporte a pH 4,7, com limites de detecção na faixa de 5×10^{-8} a 1×10^{-8} mol/L [42].

A análise de injeção por fluxo utilizando a detecção por voltametria de pulso diferencial com eletrodo de mercúrio estático pode ser aplicada para a determinação de cádmio e chumbo, se pode trocar o tipo de eletrodo de trabalho e o eletrólito de suporte, para a determinação de outros elementos [109,117].

PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1. EQUIPAMENTOS

Fluorescência de raios-x com luz sincrotron (SYXRF)

As análises foram realizadas na linha de fluorescência de raios-X do Laboratório Nacional de Luz Sincrotron (LNLS), Campinas, SP. A radiação policromática é proveniente do armazenamento de elétrons no anel (1,37 GeV e 100 mA). A detecção do sinal foi realizada com um detector semicondutor de Si(Li). O tempo de irradiação das amostras foi de 100 s. A aquisição dos dados foi realizada na estação de trabalho, mediante o software AXIL.

Fluorescência de raios-x com energia dispersiva (EDXRF)

Usou-se o espectrômetro de raios-X de energia dispersiva, modelo EDX-700- Shimadzu no IQ, UNICAMP. A fonte usada foi de Rh com voltagem aplicável de até 50 keV, com filtro de Zr, usando-se como detector um semicondutor de Si(Li) com resolução de 0 – 40 keV, com um colimador de 10 mm.

Voltametria de redissolução anódica

As medidas voltamétricas foram realizadas em um polarógrafo Radiometer Copenhagen, modelo POL 150, acoplado a um “stand” polarográfico Radiometer Copenhagen modelo MDE 150, constituído por três eletrodos: eletrodo de gota pendente de mercúrio (HMDE) como eletrodo de trabalho; Ag/AgCl, KCl saturado,

como eletrodo de referência e um fio de platina como eletrodo auxiliar. O polarógrafo é acoplado a um microcomputador PC com sistema operacional Windows 95 e Trace Master versão X9737-2.03. A técnica utilizada foi a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV) com uma amplitude de pulso de 50 mV.

As medidas de pH das soluções utilizadas foram realizadas em um pHmetro Radelkis modelo OP-271. Para este fim, foi utilizado um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência de Ag/AgCl, KCl sat. de marca Radelkis.

Para as adições de volumes das soluções padrão e amostras à célula polarográfica utilizaram-se micropipetas de volume variável de 1-5 ml; 200-1000 µl e 5-50 µL.

3.1.2. REAGENTES E MATERIAIS

Os reagentes utilizados estão descritos abaixo:

Ácido Nítrico concentrado Mallinckrodt, PA.

Peróxido de Hidrogênio 30 % (v/v) Merck, PA.

Ácido Clorídrico concentrado 37 % Merck PA.

Soluções padrão TEC-LAB 1000 mg g⁻¹ para Cd e Pb.

Os reagentes utilizados possuíam grau analítico e, no preparo de soluções utilizou-se água deionizada e purificada em sistema *Milli-Q*.

Foram utilizadas soluções padrão para absorção atômica a 1000 mg L⁻¹ de íons Cd(II) e Pb(II) adquiridas junto a TEC-LAB, a partir das quais as soluções de trabalho foram preparadas mediante diluição com água *Milli-Q*.

As amostras de referência R1 (amostra 100, Grass GR94 - *poaceae*) e R2 (amostra 119, Rosa Plant, *Rosa L.*) foram fornecidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e são provenientes do "Wageningen Evaluating Programmes for Analytical Laboratories (WEPAL), Plant Sample Exchange Programme (PSEP) January-March 2000, 2001".

As plantas medicinais usadas para o presente estudo foram: hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*), boldo (*Peumus boldus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), carqueja (*Baccharis genistelloides*), confrei (*Symphytum officinalis*), erva baleeira (*Cordia verbenácea*, *Cordia curanavice*), quebra pedra (*Phyllanthus spp*), senne (*Cássia angustifólia*) e sabugueiro (*Sambucus nigra*), obtidas junto a farmácias de manipulação de São Paulo e região. As partes das plantas analisadas, bem como o processo de secagem e origem das mesmas, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Tipos de plantas medicinais e informações a respeito do processo de secagem, parte da planta e origem das mesmas.

Planta	Amos tras	Nome científico	Família botânica	Parte da planta	Secagem	Origem da planta
HIPÉRICO	H1	<i>Hypericum perforatum</i> ^a	Hipericaceae	Talo e folhas	Ao sol	China
	H2	<i>Hypericum perforatum</i> ^b	Gutiferae	Flores	Sombra	Bulgária
	H3	<i>Hypericum perforatum</i> ^c	*	Talo e folhas	Ao sol	China
GUACO	G1	<i>Mikania guaco</i> ^a	*	Talo e folhas	Estufa	Brasil (Sul)
	G2	<i>Mikania glomerata</i> ^b	Compositae	Talo e folhas	Estufa	Brasil
	G3	*	*	Talo e folhas	Estufa	Brasil
BOLDO	B1	<i>Peamus boldus</i> ^b	Monimiaceae	Folhas	Ao sol	Chile
	B2	<i>Peamus boldus</i> ^c	*	Folhas	-	Chile
	B3	*	*	Folhas	Estufa	Brasil
ALECRIM	A1	<i>Rosmarinus officinalis</i> ^a	*	Folhas	Estufa	Espanha
	A2	<i>Rosmarinus officinalis</i> ^e	Lamiaceae	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
CARQUEJA	C1	<i>Baccharis genistelloides</i> ^e	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
	C2	<i>Baccharis genistelloides</i> ^e	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
CONFREI	CO1	<i>Symphytum officinalis</i> ^e	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
	CO1	<i>Symphytum officinalis</i> ^a	Boraginaceas	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
ERVA	E1	<i>Cordia verbenácea</i> ^e	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
BALEEIRA	E2	<i>Cordia curanavice</i> ^e	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
QUEBRA	Q1	<i>Phyllanthus spp</i> ^b	Euphorbiaceae	Talo e folhas	Sombra	Brasil (Nordeste)
PEDRA	Q2	<i>Phyllanthus spp</i> ^b	*	Folhas	Estufa	Brasil (Sudeste)
SENNE	S1	<i>Cássia angustifolia</i> ^a	Leguminosae	Vagem	Ao sol	Índia
	S2	<i>Cássia angustifolia</i> ^c	*	Folhas	Ao sol	Índia
SABUGUEIRO	SA1	<i>Sambucus nigra</i> ^e	*	Folha e flor	Estufa	Brasil (Sudeste)
	SA2	<i>Sambucus nigra</i> ^a	Sambucaceae	Flor	Sombra	Polônia

A,b,c,d,e fornecedores (*) Informação não disponível das bulas providas pelos fornecedores.

A vidraria utilizada, inclusive a célula polarográfica e os frascos de plástico empregados no armazenamento das soluções, foram previamente descontaminados anteriormente ao uso. A descontaminação foi realizada

mediante imersão do material em banho de ácido nítrico 10 % v/v, durante 24 horas. Após este período, o material foi abundantemente lavado com água *Milli-Q*.

3.1.2.1. Eletrólitos de suporte

- Soluções de eletrólito de suporte citrato de amônio, de pH 3, 4, e 5 foram preparados a partir de ácido cítrico 0,01 mol L⁻¹, 0,1 mol L⁻¹ e 0,5 mol L⁻¹ e hidróxido de amônio. Os valores de pH do eletrólito foram ajustados com amônia concentrada.
- Soluções de eletrólito de suporte HCl 0,1 mol L⁻¹ e 0,8 mol L⁻¹ foi preparado a partir do HCl concentrado mediante diluição em água.

3.2. PROCEDIMENTOS

3.2.1. Fluorescência de raios-x (SYXRF) e (EDXRF)

As amostras analisadas por fluorescência de raios-X foram analisadas no estado sólido. Para tanto, as amostras sólidas e secas, finamente pulverizadas, foram prensadas para obtenção de pastilhas a uma pressão de $445,5 \times 10^6$ Pa. O diâmetro das pastilhas obtidas foi de 14 mm e a espessura, de aproximadamente, 1 mm. As amostras de folhas e talos, que não estavam homogêneas e trituradas, foram previamente moídas em moinho de bolas.

Para EDXRF, as amostras em forma de pastilhas foram colocadas sobre um filme de Mylar® de espessura de 2,5 µm, o qual foi fixado em um suporte de polietileno. As amostras foram irradiadas por 100 s com um ângulo de 90°. Para as análises por SYXRF, as amostras na forma de pastilhas foram fixadas com fita adesiva em um suporte de alumínio. O feixe de radiação advindo do anel incidiu sobre a amostra com ângulo de 90°, por um tempo de 100 s.

Os espectros de SYXRF foram interpretados com auxílio do programa AXIL (Analysis of X-ray spectra by iterative least-squares fitting), pelo qual foi gerado um modelo para a identificação dos elementos pela energia dos picos. A

intensidade do sinal (cps) foi empregada para o cálculo da estimativa da concentração de cada respectivo elemento.

3.2.2. Voltametria (DPASV) – Abertura da amostra

As amostras (folhas e talos) foram secas em estufa a 50 °C por 3 horas, e em seguida moídas em moinho de bolas por 1 minuto. As amostras de plantas medicinais (1 g) e o padrão de referência foram preparados mediante digestão por via úmida (3.2.2.1) e seca (3.2.2.2), onde os resíduos foram ressuspensos no eletrólito suporte (HCl 0.8 mol L⁻¹).

3.2.2.1. Oxidação via úmida com HNO₃/H₂O₂

A abertura da amostra, por oxidação via úmida, foi baseada nos trabalhos de Mingorance et al., 1993 [129] e Rodushkin, 1999 [130], com algumas modificações.

A amostra previamente moída (1 g) foi transferida para um frasco digestor aberto de Teflon e adicionados 10 mL de ácido nítrico concentrado e 1 mL de peróxido de hidrogênio 30 % (v/v). O frasco foi colocado no bloco digestor e aquecido a 120 °C, durante 2 horas. Em seguida, o material foi aquecido durante um período de 2 horas para reduzir o volume e depois foi resfriado. O material digerido foi filtrado em funil com papel de filtro, sendo então transferido para um balão volumétrico de 25 mL. A amostra foi conservada em um frasco de polietileno, previamente descontaminado com ácido nítrico 6 Mol L⁻¹, até a análise.

3.2.2.2. Oxidação via seca em mufla

Para tanto, 1 g do material vegetal, previamente seco em estufa e moído, foi mineralizado em cápsula de porcelana em mufla elétrica por 2.5 h a 500 °C. Após o resfriamento, as cinzas foram umedecidas com água, dissolvidas em 2 mL de HCl 6 mol L⁻¹ e aquecidas até evaporação do ácido adicionado. A seguir, o resíduo foi redissolvido em 5 mL de HCl 2 mol L⁻¹, aquecido e filtrado

quantitativamente. O material utilizado na mineralização e o resíduo retido no filtro foram lavados com 5 mL de HCl 2 mol L⁻¹. O filtrado foi recolhido em balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com água *Milli-Q*. A amostra foi conservada em um frasco de polietileno, previamente descontaminado com ácido nítrico 6 Mol L⁻¹, até a análise.

3.2.2.3. Análise quantitativa de Pb e Cd nas amostras por DPASV

Para a determinação de Pb(II) e Cd(II) em plantas medicinais, foi empregado o método de adição de padrão. Para tanto, 10,0 mL da solução da amostra obtida no preparo de amostra 3.2.2.2 são adicionados à cela voltamétrica, removendo-se o oxigênio, mediante passagem de N₂ por um tempo de 400 s, ajustando-se os parâmetros voltamétricos e registrando-se o voltamograma no intervalo de -0,54 a -0,29 V e -0,73 a -0,54 V, para chumbo e cádmio, respectivamente. Em seguida, um pequeno volume de solução padrão, de concentração exatamente conhecida, é adicionado sobre a solução com a amostra e um novo voltamograma é registrado. Os parâmetros voltamétricos empregados foram: potencial de deposição: -0,73 V; tempo de deposição: 180 s; velocidade de agitação: 300 rpm; velocidade de varredura: 5 mV s⁻¹; amplitude do pulso: 50 mV e duração do pulso 40 ms.

A adição de padrão é repetida três vezes. Constrói-se a curva corrente *versus* concentração do analito (mol L⁻¹). O valor de intersecção da curva obtida sobre o eixo X corresponde, em módulo correspondente, à concentração do analito presente na solução da amostra na célula voltamétrica.

Todas as análises das amostras de referência foram realizadas em quintuplicata e as amostras de plantas medicinais em triplicata.

3.2.2.4. Validação do Método DPASV

Para a validação do método desenvolvido e otimizado, foram avaliados os seguintes parâmetros analíticos: faixa linear da curva analítica, seletividade,

precisão, sensibilidade, repetibilidade, exatidão, efeito de matriz e limites de detecção do instrumento e limite de determinação do método.

O método foi validado mediante análise das amostras de referência R1 (amostra 100) e R2 (amostra 119) do "Wageningen Evaluating Programmes for Analytical Laboratories (WEPAL), Plant Sample Exchange Programme (PSEP) January-March 2000,2001". A abertura da amostra foi realizada por via seca e a quantificação voltamétrica foi realizada mediante método de adição de padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Fluorescência de raios-X (EDXRF) e (SYXRF)

4.1.1. Análise qualitativa de elementos por fluorescência de raios-X de energia dispersiva (EDXRF) e luz síncrotron (SYXRF)

Inicialmente, amostras de referência foram analisadas por fluorescência de raios-X de energia dispersiva e de luz síncrotron para avaliar a sensibilidade dos métodos para a determinação de elementos inorgânicos na matriz vegetal e a viabilidade de uma análise semiquantitativa dos mesmos. Para tanto, duas amostras de referência (R1 e R2) foram empregadas. Na SYXRF, a primeira serviu como padrão para geração do modelo com o programa AXIL e a segunda como padrão de referência para validação dos resultados. Os espectros obtidos por EDXRF e SYXRF para a amostra de referência R1 estão apresentados nas Figuras 11 e 12, respectivamente.

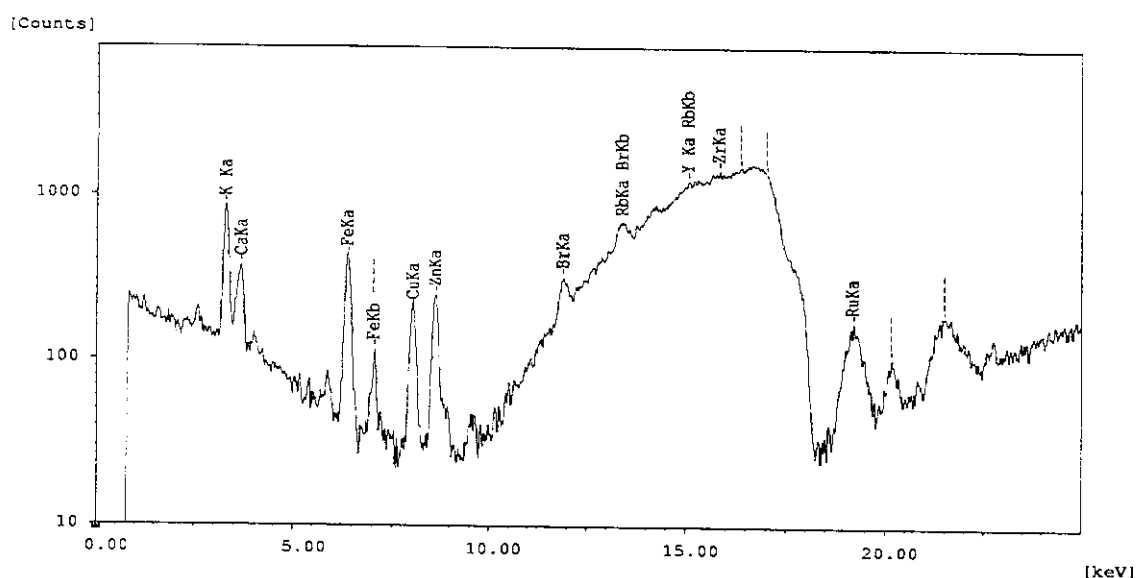


Figura 11. Espectro de fluorescência de raios-X com energia dispersiva (EDXRF) para a amostra de referencia R1.

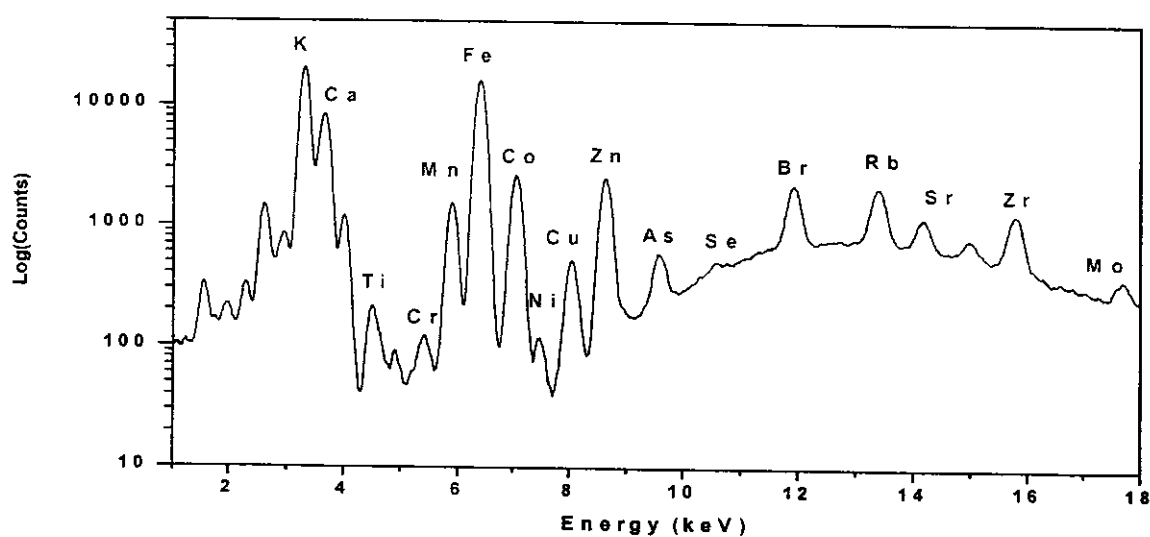


Figura 12. Espectro de fluorescência de raios-X com luz síncrotron (SYXRF) para a amostra de referência R1 (representação dos elementos a partir das linhas mais intensas).

Pelos espectros obtidos verifica-se que EDXRF possui menor sensibilidade em relação a SYXRF, visto que com EDXRF não foi possível detectar os elementos Ti, V, Cr, Co, Ni, As, Se, Mo, Cd, Ba, Hg, Pb e Bi. Por outro lado, com

SYRFX os elementos Bi, Pb, Cd e Hg não foram identificados nesta amostra de referência. Esses elementos encontram-se na ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$, exceto o chumbo que apresenta uma concentração de 2 mg kg^{-1} , segundo valor do material de referência.

A diferença na sensibilidade dos dois métodos é que SYXRF emprega radiação síncrotron, de alta intensidade, em vez da radiação proveniente do tubo de raios-X de intensidade muito menor na EDXRF. Ainda, na SYXRF o sinal de fundo é muito menor devido à alta polarização e colimação natural do feixe.

4.1.2. Análise qualitativa de elementos em amostras de plantas medicinais por EDXRF e SYXRF

Para fins comparativos dos métodos de EDXRF e SYXRF e para a finalidade de realizar uma avaliação dos metais presentes em amostras de plantas medicinais, três espécies de plantas foram selecionadas: *Hypericum perforatum* (hipérico), *Mikania guaco*, *Mikania glomerata* (guaco) e *Peamus boldus* (boldo). Ao total, foram analisadas 9 amostras por EDXRF e 6 amostras por SYXRF. Os resultados qualitativos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Identificação de elementos nas amostras de *Hypericum perforatum* (hipérico), *Mikania guaco*, *Mikania glomerata* (guaco) e *Peamus boldus* (boldo) por EDXRF e SYXRF. Os elementos detectados foram marcados com X.

Elementos	EDXRF									SYXRF					
	Hipérico			Guaco			Boldo			Hipérico			Guaco		
	H ₁	H ₂	H ₃	G ₁	G ₂	G ₃	B ₁	B ₂	B ₃	H ₁	H ₂	G ₁	G ₂	B ₁	B ₂
K	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Ca	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Ti										X	X	X	X	X	X
V													X	X	
Cr										X	X	X	X	X	X
Mn		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Fe	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Co										X	X	X		X	X
Ni										X	X	X	X	X	X
Cu	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
Zn	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X
As										X	X	X	X	X	X
Se														X	
Rb				X	X	X				X	X	X	X	X	X
Sr				X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Zr	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X			X	X
Ba										X	X	X	X	X	X
Br	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X

H₁, H₂, H₃: *Hypericum perforatum*; G₁: *Mikania guaco*; G₂: *Mikania glomerata*, G₃: *Mikania*; B₁, B₂: *Peamus boldus*.

A partir dos resultados da Tabela 5, observa-se que a SYXRF tem maior potencial analítico em avaliar a presença de elementos nas matrizes vegetais, fato esse já determinado anteriormente para as amostras de referência. A detecção dos elementos identificados por SYXRF nas amostras foi estimada conforme procedimento apresentado para a amostra de referência. Os espectros

característicos para a amostra de *Hypericum perforatum* analisada por EDXRF e SYXRF estão apresentados nas Figuras 13 e 14, respectivamente.

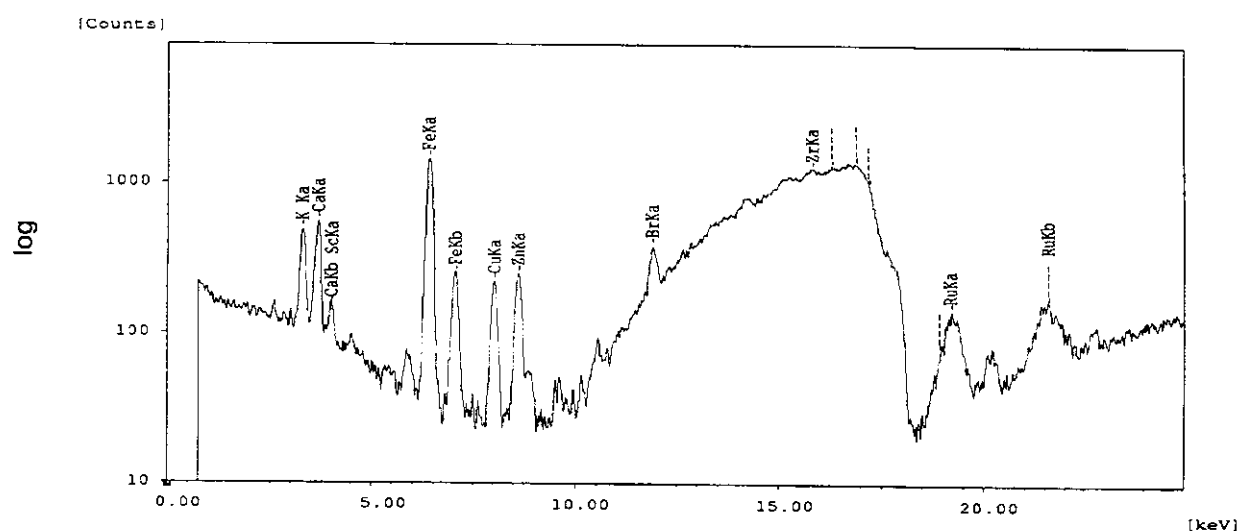


Figura 13. Espectro de EDXRF para a amostra de *Hypericum perforatum* (H1).

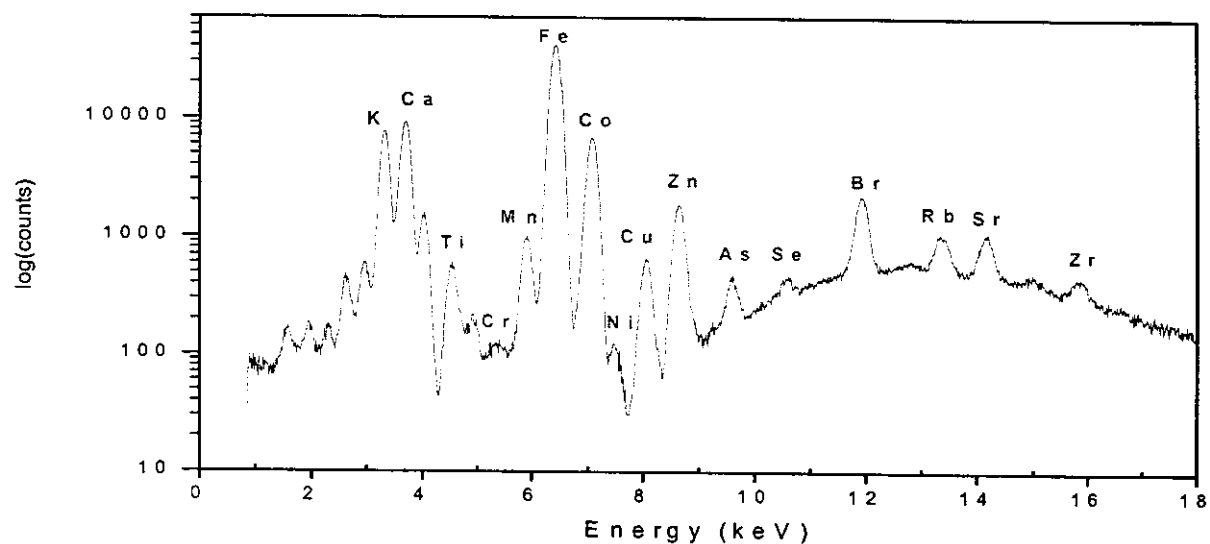


Figura 14. Espectro de SYXRF para a amostra de *Hypericum perforatum* (H1).

4.1.3. Análise semiquantitativa de elementos por fluorescência de raios-X de luz síncrotron (SYXRF)

Para validar o procedimento da análise semiquantitativa por SYXRF, foi criado um modelo com auxílio do programa AXIL para a amostra de referência R1. No modelo foram introduzidas as linhas principais para os elementos K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Mo, Ba, Hg e Pb. As intensidades dos picos foram normalizadas em função da corrente da câmara de ionização. Esse modelo foi aplicado para uma segunda amostra de referência (R2) e após normalização das intensidades as concentrações, foram calculadas a partir da seguinte equação:

$$W_x = P_x W_s / P_s \quad \text{Eq (1)}$$

onde W_x : concentração do elemento na amostra R2; P_x : é a intensidade do pico do elemento na amostra R2 (cps); P_s : intensidade do pico do elemento no padrão R1 e W_s : concentração do elemento no padrão R1. Neste caso, assume-se que a emissão do elemento de interesse não é afetada pela presença dos outros elementos contidos na amostra. Os valores calculados para a amostra de referência R2 e os valores de referência estão apresentados na Tabela 6.

A partir dos resultados verifica-se que as concentrações estimadas estão dentro de uma mesma ordem de magnitude em relação aos valores de referência. A estimativa da concentração apresenta um erro por um fator que varia de 0,2 a 2,08. Embora, esses resultados não possam servir para uma análise quantitativa, são bastante coerentes para fins semiquantitativos e, portanto, adequados para procedimentos de "screening".

Tabela 6: Valores de referência e valores estimados por SYXRF para a amostra de referência R2.

	REFERÊNCIA (R2)					
	Concentração de referência (mg kg ⁻¹)	n	S (mg kg ⁻¹)	Concentração estimada (mg kg ⁻¹)	S* (mg kg ⁻¹)	Fator (Valor de referência/concentração estimada)
Cr	0,44	27	0,11	0,53	0,04	0,84
Mn	42,8	114	2,5	37,1	0,2	1,15
Fe	97,7	107	11,5	128,0	0,3	0,76
Co	0,054	19	0,014	0,066	0,006	0,81
Ni	0,442	27	0,064	0,72	0,05	0,61
Cu	3,31	87	0,29	2,80	0,05	1,18
Zn	31,9	104	1,61	17,0	0,1	1,88
Rb	3,33	2	0,34	1,6	0,2	2,08
Sr	13,3	9	0,65	67,7	0,3	0,20

n: número de determinações por diferentes laboratórios; S: estimativa do desvio padrão absoluto, S*: estimativa do desvio padrão absoluto para as concentrações geradas a partir do modelo.

4.1.4. Análise semiquantitativa de elementos em amostra de plantas medicinais por fluorescência de raios-X de luz síncrotron (SYXRF)

O modelo para a análise semiquantitativa foi aplicado para as seguintes amostras de plantas medicinais: hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*), boldo (*Peumus boldus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), carqueja (*Baccharis genistelloides*), confrei (*Symphytum officinalis*), erva baleeira (*Cordia verbenácea*, *Cordia curanavice*), quebra pedra (*Phyllanthus spp*), senne (*Cássia angustifólia*) e sabugueiro (*Sambucus nigra*). Os resultados estão apresentados na Tabela 7 e Figuras 15 até 9.

As concentrações mínimas que podem ser estabelecidas no contexto de uma análise semiquantitativa dos elementos por SYXRF foram estimadas pelas análises realizadas nas amostras de referência e outras amostras de plantas medicinais. Os valores mínimos que foram possíveis de serem detectados, nas

plantas medicinais por SYXRF, foram: Cr 0,2 mg kg⁻¹, Mn 8 mg kg⁻¹, Fe 16 mg kg⁻¹, Co 0,03 mg kg⁻¹, Ni 0,1 mg kg⁻¹, Cu 0,7 mg kg⁻¹, Zn 4 mg kg⁻¹, As 0,1 mg kg⁻¹, Se 0,006 mg kg⁻¹, Rb 0,8 mg kg⁻¹, Sr 1,5 mg kg⁻¹ e Ba 3 mg kg⁻¹.

Tabela 7. Estimativa das concentrações dos elementos determinados por SYXRF nas amostras.

Plantas	Concentração (mg kg ⁻¹)											
	Elementos											
Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Ba	
Hipérico												
<i>Hypericum perforatum</i>	1,1	67	1864	0,8	2,5	13,0	33,8	0,14	nd	12,5	34,6	62,3
<i>Hypericum perforatum</i>	1,3	215	1325	0,5	6,4	12,7	39,8	0,14	nd	16,2	45,5	111,9
Guaco												
<i>Mikania guaco</i>	1,2	490	405	0,1	0,7	11,6	30,6	0,01	nd	54,6	53,5	20,9
<i>Mikania glomerata</i>	0,3	575	123	nd	0,4	10,3	33,9	0,19	nd	158,2	63,6	22,6
Boldo												
<i>Peumus boldus</i>	2,6	121	1427	0,6	1,7	5,8	23,4	0,16	0,05	11,5	104,7	42,1
<i>Peumus boldus</i>	0,8	87	1079	0,5	0,3	4,8	12,9	0,15	nd	4,4	71,3	45,8
Carqueja												
<i>Baccharis genistelloides</i>	0,3	34	396	0,1	0,4	22,4	66,8	0,1	nd	37,9	nd	15,6
	0,4	81	135	0,1	0,2	11,1	60,9	nd	nd	41,3	nd	18,7
Erva baleeira												
<i>Cordia verbenacea</i>	0,7	120	124	0,1	0,5	15,1	29,6	0,1	0,1	54,2	nd	84,8
<i>Cordia curanavice</i>	0,4	159	134	0,1	2,6	11,9	18,6	0,2	nd	46,2	nd	46,0
Quebra pedra												
<i>Phyllanthus spp</i>	16,6	404	1938	0,7	1,7	12,0	45,3	nd	nd	11,7	nd	0
	3,5	368	3063	1,1	2,0	7,2	50,0	nd	nd	34,6	nd	104,2
Alecrim												
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,0	35	746	0,3	1,0	7,2	35,2	nd	nd	4,9	151,9	26,2
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,4	38	148	0,1	0,6	11,9	25,4	0,1	nd	67,7	46,9	103,6
Confrei												
<i>Symphytum officinalis</i>	2,1	84	5485	2,7	3,6	11,2	24,0	0,2	nd	44,7	72,0	145,0
<i>Symphytum officinalis</i>	0,5	230	2188	0,9	1,3	13,5	28,5	nd	nd	129,6	148,4	161,0
Sabugueiro												
<i>Samabucus nigra</i>	0,3	37	79	nd	0,9	7,3	19,0	0,2	nd	74,1	17,9	20,2
<i>Samabucus nigra</i>	0,6	46	784	0,3	2,7	11,2	35,6	nd	0,2	56,8	123,8	119,7
Senne												
<i>Cassia angustifolia</i>	0,7	20	153	0,1	0,9	6,4	32,2	nd	0,1	24,7	nd	41,9
<i>Cassia angustifolia</i>	1,1	50	337	0,2	0,6	3,7	23,0	nd	0,1	8,6	nd	124,2

nd: não detectado.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, verifica-se que os elementos presentes nas plantas medicinais analisadas encontram-se em uma ampla faixa de concentração: Fe (79 a 5485 mg kg⁻¹), Sr (nd a 151,9 mg kg⁻¹), Ba (nd a 161 mg kg⁻¹), Mn (20 a 575 mg kg⁻¹), Cu (3,7 a 22,4 mg kg⁻¹), Zn (12,9 a 66,8 mg kg⁻¹), Cr (0,3 a 16,6 mg kg⁻¹), Co (nd a 2,7 mg kg⁻¹), Ni (0,2 a 6,4 mg kg⁻¹), As (nd a 0,2 mg kg⁻¹) e Se (nd a 0,2 mg kg⁻¹), onde nd: não detectado.

Entre os elementos avaliados, o ferro apresentou maior variação no seu teor em função da espécie de planta, sendo que o confrei (*Symphytum officinalis*) apresentou o maior teor de ferro (5485 mg kg⁻¹) em relação às demais amostras analisadas (Figura 15). Esses resultados corroboram os dados da literatura e apresentados na Tabela 1 que apontam como um dos constituintes do confrei o ferro. Plantas que apresentam elevado teor de ferro podem ser interessantes do ponto de vista agrônômico.

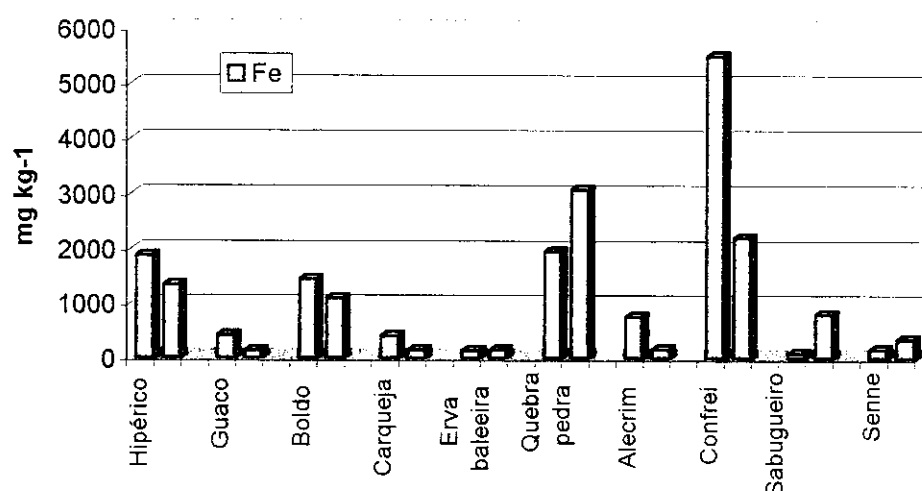


Figura 15. Estimativa das concentrações de ferro nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.

Os teores mais elevados de Mn foram verificados para as amostras de guaco (*Mikania guaco* 575,3 mg kg⁻¹) e quebra-pedra (*Phyllanthus spp* 403,8 mg kg⁻¹), conforme pode ser observado na Figura 16. Estes valores são elevados quando

comparados com àqueles reportados por Abu-Arab, 1990 de 38,8 mg de Mn kg⁻¹ de flores de camomila. Pluta et al., 1984 relatam um teor de Mn de 70,15 mg kg⁻¹ para extratos secos de plantas medicinais.

Os valores reportados para Cu e Zn por Kim et al., 1994, que analisaram amostras de plantas medicinais cultivadas em lugares não poluídos, foram de 6,636 e 27,776 mg kg⁻¹, respectivamente, cujos valores corroboram os resultados encontrados neste estudo, na faixa de 3,7 a 22,4 mg kg⁻¹ e 12,9 a 66,8 mg kg⁻¹ para Cu e Zn, respectivamente. As plantas terrestres respondem de várias formas ao cobre contido nos solos nas quais crescem. De modo geral, as espécies diferem tanto quanto na sua necessidade como na sua tolerância ao cobre. Cabe ressaltar que algumas espécies vegetais podem acumular de 2000 a 14000 mg Cu/kg de peso seco nas folhagens, em comparação a outras que apenas retêm de 20-40 mg Cu/kg de peso seco. O cobre pode se acumular nos solos em consequência da aplicação, durante períodos longos, de fertilizantes e fungicidas. No entanto, o tempo de residência de cobre no solo depende, entre outros fatores, das condições climáticas e do tipo de vegetação. Na agricultura, compostos de cobre, especialmente sulfato de cobre, tem sido empregados como fungicidas, pesticidas, algicidas, suplementos nutricionais na ração animal e como fertilizantes. Em relação ao zinco, enquanto os vegetais não folhosos são pobres neste elemento (em torno de 1 mg/kg), os cereais brutos podem conter zinco na faixa de 30 a 50 mg/kg.

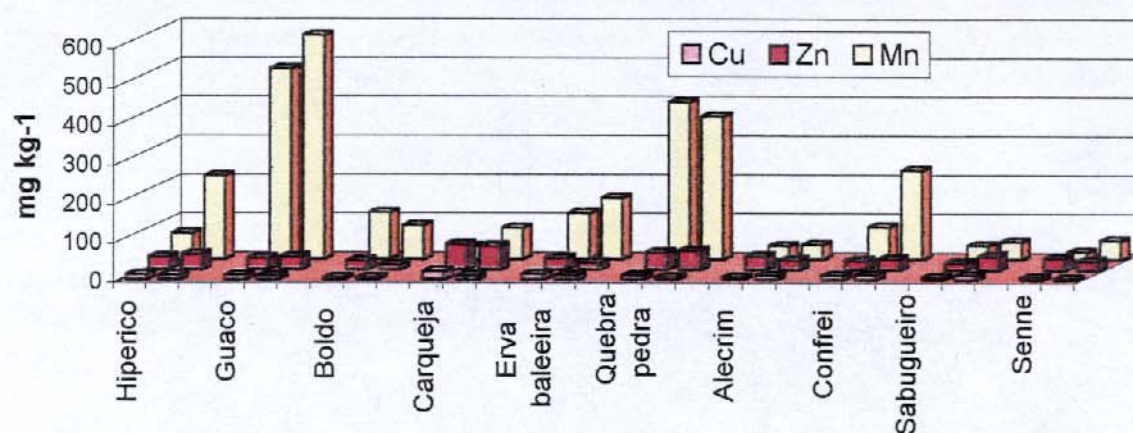


Figura 16. Estimativa das concentrações de cobre, zinco e manganês nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.

As concentrações de Sr, Rb e Ba estimadas nas plantas medicinais estão apresentadas na Figura 17 e os teores de Co, Ni e Cr na Figura 18.

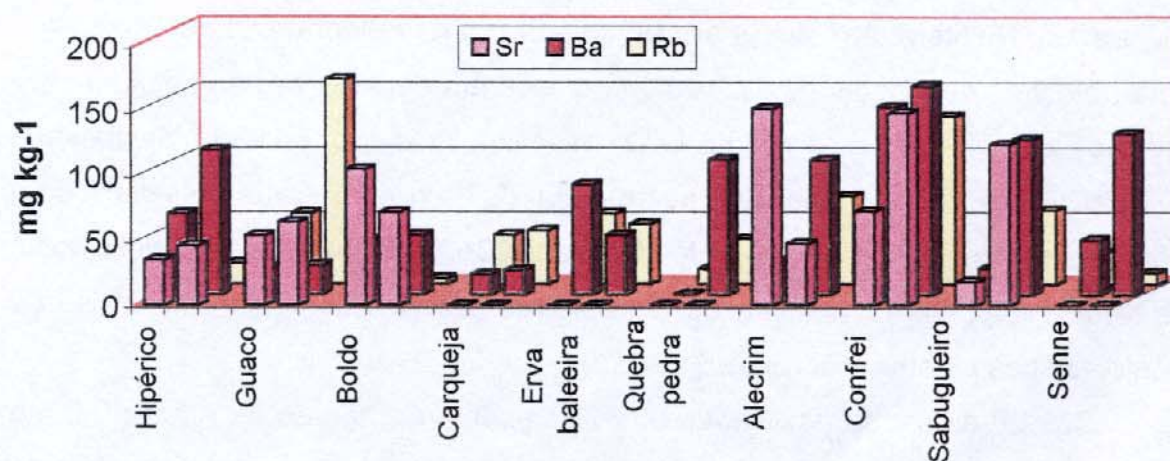


Figura 17. Estimativa das concentrações de estrôncio, bário e rubídio nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.

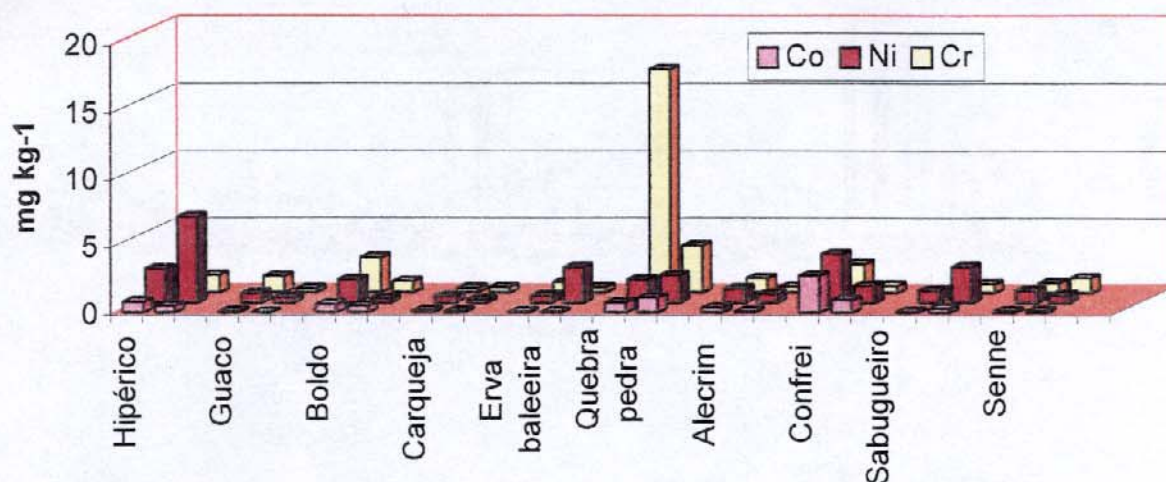


Figura 18. Estimativa das concentrações de cobalto, níquel e cromo nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.

Na determinação do cromo, a amostra de quebra-pedra apresentou a maior concentração ($16,6 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação às demais plantas medicinais analisadas (Figura 18). Na literatura, Kim et al., 1994 verificaram um teor de Cr de $1,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para amostras de plantas medicinais que cresceram em lugares não poluídos. Em relação ao Co, verifica-se que uma das amostras de confrei (*Symphytum officinalis*) apresenta o maior teor deste metal ($2,7 \text{ mg kg}^{-1}$). Cabe ressaltar que o Co interage com outros metais. Altos teores de Co (II) induzem a uma deficiência de ferro e suprimem a fixação de Cd pelas raízes. O Co regula o acúmulo de alcalóides nas plantas medicinais [118].

Das 20 amostras analisadas 60 % apresentaram teores de As até $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 19). O As pode ser considerado um poluente ambiental, geralmente de fonte antropogênica. Quando de origem natural, é encontrado em regiões vulcânicas. Kim et al., 1994 analisaram plantas em lugares não poluídos relatando teores de As de até $0,277 \text{ mg kg}^{-1}$. Para o Se, os maiores teores deste elemento foram encontrados nas amostras de sabugueiro (*Sambucus nigra*), senne (*Cássia*

angustifolia), erva baleeira (*Cordia verbenácea*, *Cordia curanavice*) e boldo (*Peamus boldus*).

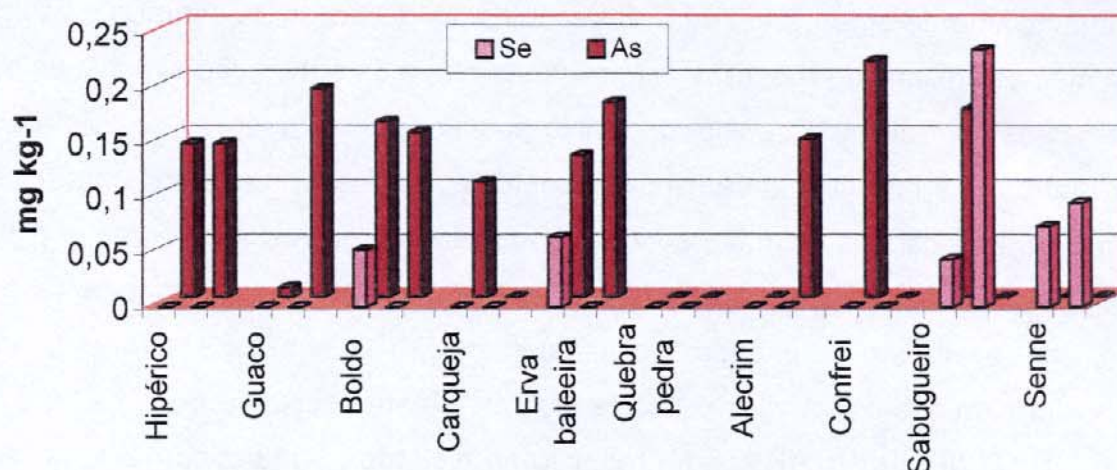


Figura 19. Estimativa das concentrações de selênio e arsênio nas amostras de plantas medicinais por SYXRF.

Os metais tóxicos como Pb e Cd, cuja ingestão necessita ser controlada devido aos aspectos toxicológicos, se encontram, na maioria dos casos, em nível de traços e não foram identificados nas amostras analisadas por EDXRF e por SYXRF. Esses elementos são de difícil detecção por fluorescência de raios-X, vistos que são elementos pesados e as principais linhas, dentro do espectro de energias pouco intensas [119]. Por esse motivo, foi desenvolvido outro método para a determinação destes elementos, a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV).

4.2. Voltametria de redissolução anódica

A voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DPASV) tem sido amplamente empregada para a determinação de traços de chumbo e cádmio em matrizes diversas [108-113]. A técnica permite a determinação simultânea dos elementos com elevada sensibilidade. No entanto, dependendo da complexidade da matriz, interferentes podem comprometer a análise e, portanto, parâmetros como composição do eletrólito suporte, concentração do eletrólito suporte, pH e, tempo de deposição necessitam serem avaliados. Não menos importante é o preparo de amostra que antecede a determinação voltamétrica, principalmente considerando que a matéria orgânica é um interferente em potencial.

O Cd (II) e o Pb (II) sofrem redução no eletrodo de mercúrio em torno de -0,6 e -0,4 V vs Ag/AgCl, KCl sat, respectivamente. Portanto, para pré-concentrar os dois íons na superfície do eletrodo de mercúrio, simultaneamente, faz-se necessário aplicar um potencial mais negativo do que -0,6 V. Para estes estudos, foi aplicado um potencial de -0,73 V para a etapa de deposição. Um voltamograma característico obtido por DPASV está apresentado na Figura 20.

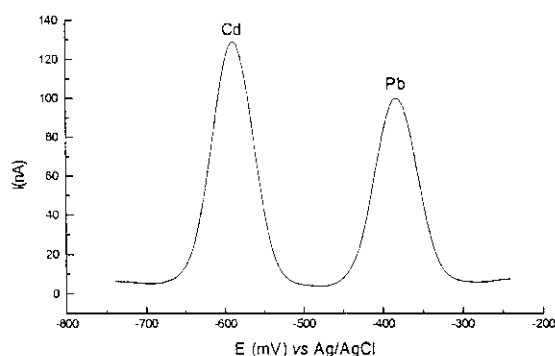


Figura 20: Voltamograma obtido por DPASV. Cd^{2+} e Pb^{2+} : 20 ng mL^{-1} . Eletrólito de suporte HCl $0,8 \text{ mol L}^{-1}$. Condições experimentais: t_d 180s, t_r 15s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s^{-1} .

4.2.1. Estudo dos parâmetros voltamétricos

Em diversos estudos na literatura, que têm focado a determinação simultânea de cádmio e chumbo em matrizes diversas, os autores recomendam como eletrólitos de suporte tampão acetato pH 4,7, tampão amoniacal pH 9,4, HCl 0,1 mol L⁻¹ e citrato de amônio pH 4, entre outros [42,51,71,97,100,120]. Com base nesses estudos, avaliou-se o emprego do HCl e citrato de amônio como eletrólitos suporte.

4.2.1.1 Efeito do eletrólito de suporte e tempo de deposição

Para os dois eletrólitos, HCl 0,1 mol L⁻¹ e tampão citrato pH 3, foi avaliada a dependência da intensidade da corrente de pico em função de tempo de deposição para os íons cádmio e chumbo. Para tanto, empregou-se uma concentração dos íons metálicos de 20 ng mL⁻¹ na cela voltamétrica e os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 21 e 22.

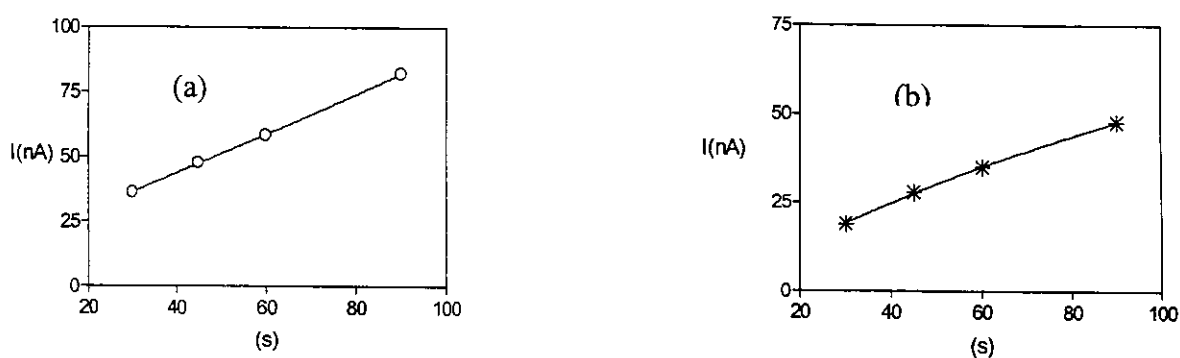


Figura 21. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico. Eletrólito suporte: HCl 0,1 mol L⁻¹, (a) Cd^{2+} 20 ng mL⁻¹; (b) Pb^{2+} 20 ng mL⁻¹. Condições experimentais: t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s⁻¹. A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.

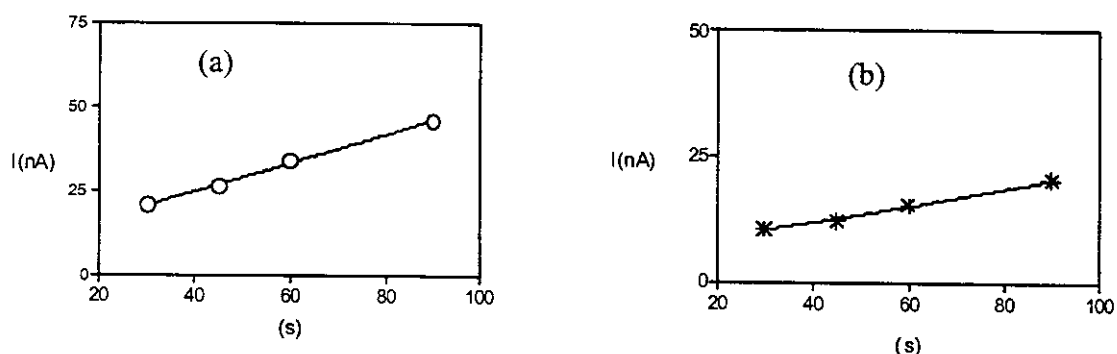


Figura 22. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico. Eletrólito suporte: citrato de amônio 0.1 mol L⁻¹, pH 3 (a) Cd²⁺ 20 ng mL⁻¹; (b), Pb²⁺ 20 ng mL⁻¹. Condições experimentais: t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s⁻¹. A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.

A partir destes resultados, verificou-se que o eletrólito de suporte HCl apresentou uma maior corrente de pico para uma mesma concentração dos íons cádmio e chumbo em relação ao citrato de amônio. Ainda, foi observado que não ocorre saturação da superfície do eletrodo de trabalho para uma concentração de 20 ng mL⁻¹ para tempos de deposição até 90 s, para os dois eletrólitos de suporte em estudo.

Novamente foi avaliada a dependência da corrente de pico para os íons cádmio e chumbo, para verificar se após digestão da amostra poderia ocorrer efeito matriz, levando-se em consideração que tempos maiores de deposição poderiam ser empregados para àquelas amostras que apresentam baixas concentrações dos íons em questão. Os resultados obtidos para o íon chumbo estão apresentados na Figura 23.

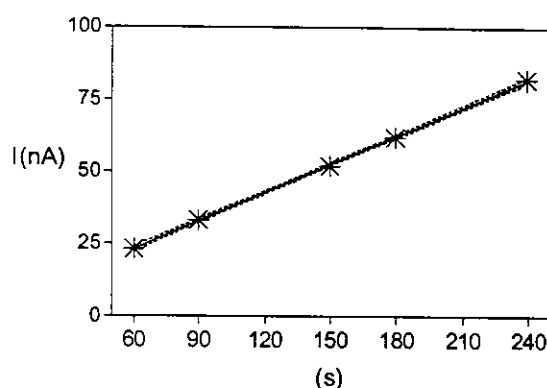


Figura 23. Efeito do tempo de deposição sobre a corrente de pico para o íon chumbo. Eletrólito suporte HCl 0,8 mol L⁻¹; concentração de Pb²⁺: 20 ng mL⁻¹. Condições experimentais: t_d : 180 s, t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s⁻¹, $E_{pPb(II)}$: -430 mV.

A partir do gráfico da Figura 23, pode-se verificar que não há saturação da superfície do eletrodo de mercúrio, até um tempo de pré-concentração de 240 s. Para os trabalhos posteriores estabeleceu-se um tempo de deposição de 180 s. Para o cádmio, não foi necessário fazer a mesma avaliação por que as concentrações deste elemento se encontram em concentrações muito mais baixas do que o chumbo, considerando-se então que a 180 s não haverá saturação da gota.

4.2.1.2. Efeito da concentração de citrato de amônio e HCl

Empregando-se um tempo de deposição de 60 s, avaliou-se a dependência da corrente de pico em função da concentração de HCl e citrato de amônio (Figura 24). As seguintes concentrações foram avaliadas: HCl 0,01, 0,1 e 1 mol L⁻¹ e citrato de amônio 0,01, 0,1, 0,5 mol L⁻¹ (pH 4).

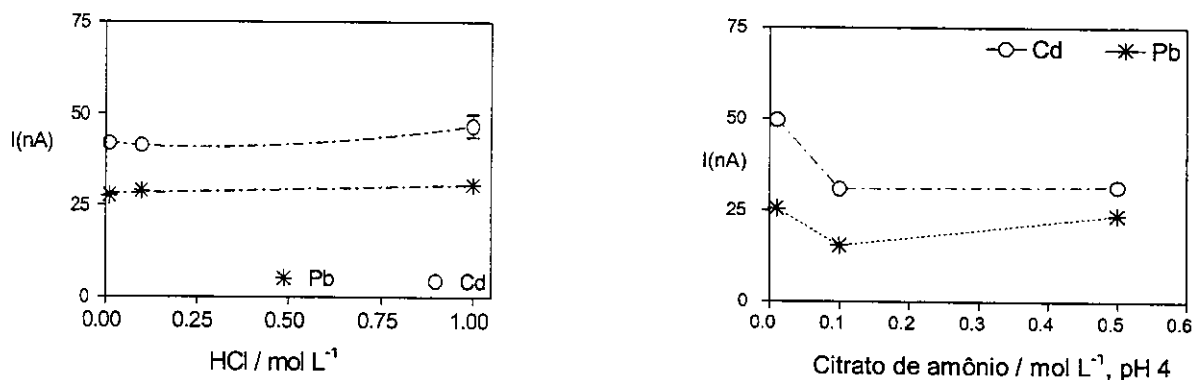


Figura 24. Dependência da corrente de pico em função da concentração de HCl e citrato de amônio (pH= 4). Concentração de Cd^{2+} e Pb^{2+} 20 ng mL^{-1} . Condições experimentais: t_d : 60 s, t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s^{-1} . A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.

A partir dos resultados obtidos, pode-se verificar que a corrente de pico, tanto para a reoxidação do cádmio como do chumbo, praticamente independem da concentração do eletrólito de suporte na faixa de 0,01 a 1 mol L^{-1} de HCl. Para o citrato de amônio se apresentou ligeira variação da intensidade da corrente com respeito à concentração na faixa de 0,1 até $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, sendo que maiores correntes foram registradas para uma menor concentração do citrato de amônio.

4.2.1.3. Efeito de pH de citrato de amônio

A dependência da intensidade de pico em função de pH do citrato de amônio está apresentada na figura 25. Verifica-se que a intensidade de corrente de pico, tanto para o cádmio como para chumbo, são independentes do pH no intervalo de 3 a 5, ou seja, independente prótons.

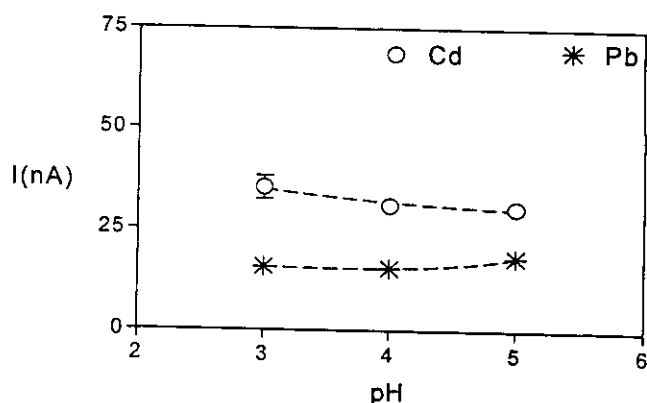


Figura 25. Dependência da corrente de pico em função do pH de citrato de amônio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Concentração de Cd^{2+} e Pb^{2+} 20 ng mL^{-1} . Condições experimentais: t_d : 60 s, t_r : 15 s, ΔE : -50 mV , E_d : -730 mV , v : 5 mV s^{-1} . A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.

Uma vez que empregando o HCl foram obtidas maiores correntes de pico para o cádmio e chumbo, ou seja, maior sensibilidade em relação ao citrato de amônio, optou-se por trabalhar com HCl como eletrólito de suporte. Ainda, na digestão via úmida emprega-se o HCl, que seria outra justificativa para o emprego deste ácido como eletrólito.

4.2.1.4. Efeito da concentração de Cd(II) e Pb(II) vs corrente de pico

Uma vez estabelecidas as condições do tempo de deposição e composição do eletrólito suporte, avaliou-se a dependência da corrente de pico em função da concentração de íons chumbo e cádmio (Figura 26).

Para esse estudo, empregou-se como eletrólito de suporte HCl $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ e um tempo de deposição de 180 s, os quais seriam os parâmetros mais favoráveis para realizar as análises das amostras.

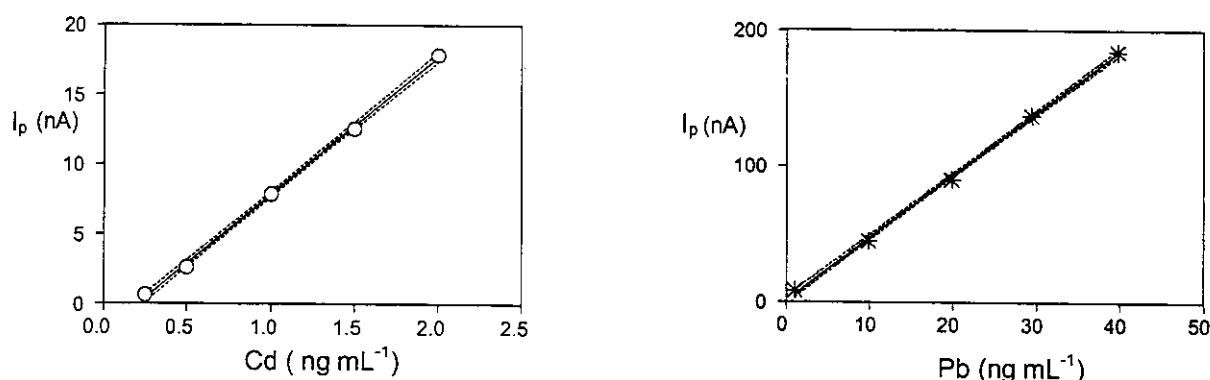


Figura 26. Curva analítica corrente de pico vs concentração de Cd(II) e Pb(II). Eletrólito suporte: HCl 0,8 mol L⁻¹, t_d:180 s, t_r:15 s, ΔE: -50 mV, E_d: -730 mV, v: 5 mV s⁻¹. A corrente de pico foi medida em -630 mV e -430 mV para o cádmio e chumbo, respectivamente.

Os parâmetros analíticos obtidos para a DPASV estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Parâmetros analíticos para a determinação voltamétrica de cádmio e chumbo.

Parâmetros	Chumbo	Cádmio
Faixa linear de curva analítica	0,1 a 50 ng mL ⁻¹	0,25 a 2,0 ng mL ⁻¹
Equação da reta	$I/nA = 0,9858 + 4,595 C/ng\ mL^{-1}$	$I/nA = -2,075 + 9,891 C /ng\ mL^{-1}$
Coefficiente de correlação (r).	0,999	0,999
Estimativa do desvio padrão da curva (n= 5)		
Conc. Pb: 20 ng mL ⁻¹ , Cd: 1 ng mL ⁻¹ .	2,14%	0,275%
Sensibilidade	$(4,59 \pm 0,05)\ nA\ mL\ ng^{-1}$	$(9,89 \pm 0,14)\ nA\ mL\ ng^{-1}$
Limite de detecção	1,4 ng mL ⁻¹	0,080 ng mL ⁻¹
Limite de determinação	4,7 ng mL ⁻¹	0,28 ng mL ⁻¹

Os limites de detecção (LD) e determinação (LQ) foram calculados segundo Miller e Miller [121], onde estes valores são obtidos a partir da curva analítica, segundo as seguintes equações:

$$LD = k s_{y/x} / m, \text{ onde } k=3$$

$$LQ = k s_{y/x} / m, \text{ onde } k=10,$$

Sendo que $s_{y/x}$ é a estimativa do desvio padrão absoluto da curva analítica e m é o coeficiente angular da mesma. Cabe destacar, que estes limites calculados e apresentados na Tabela 6 se referem apenas às concentrações que podem ser detectadas de chumbo e cádmio na cela voltamétrica, considerando apenas soluções padrão.

4.2.1.5. Preparo de amostra

Estabelecidas as condições ótimas para a quantificação dos íons cádmio e chumbo, avaliou-se a influência da matriz. Visto que a matéria orgânica é um interferente, dois processos de destruição da matéria orgânica foram avaliados: (i) digestão via úmida com ácido nítrico/ácido perclórico e ácido nítrico/peróxido de hidrogênio e (ii) oxidação via seca em mufla e posterior solubilização do resíduo em ácido clorídrico. Para estes estudos, foi empregada a amostra de referência R1. Os voltamogramas obtidos após o processo de abertura de amostra estão apresentados na Figura 27.

A partir dos voltamogramas, verifica-se que após oxidação via úmida, permanecem interferentes que deformam as curvas voltamétricas e impedem a quantificação de cádmio e chumbo, ou seja, a matéria orgânica não foi totalmente destruída. Essa interferência é decorrente da adsorção da matéria orgânica sobre a superfície do eletrodo de mercúrio afetando o processo de deposição dos íons metálicos sobre o mesmo. No caso da oxidação da amostra por via seca, esse fenômeno não foi observado e, portanto, a abertura da amostra por oxidação via seca é o mais adequado para esse tipo de matriz.

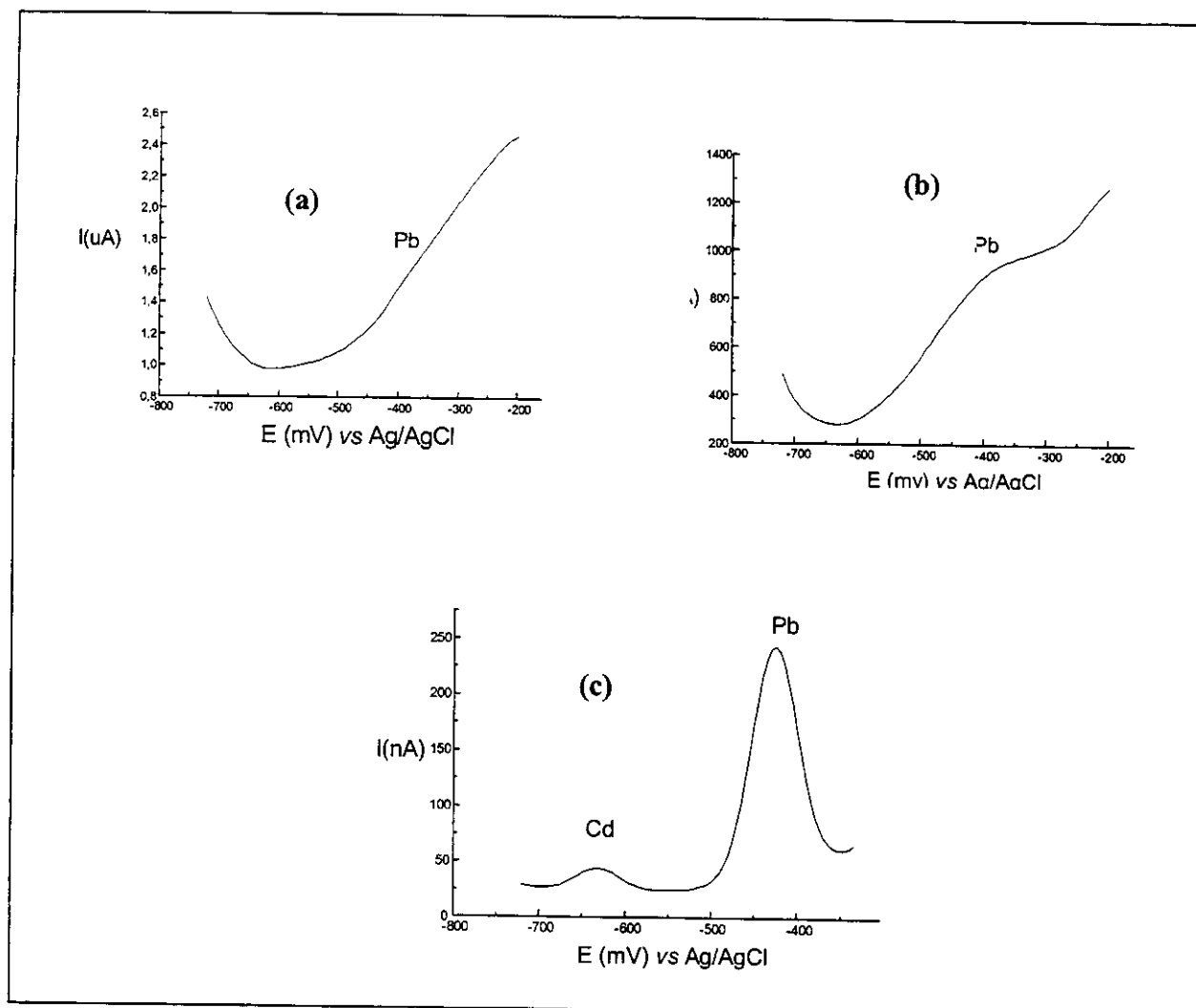


Figura 27. Abertura da amostra de referência R1 por (a) oxidação via úmida com $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, (b) oxidação via úmida com $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ e (c) oxidação via seca em mufla e ressuspensão do resíduo em HCl . Condições experimentais: t_d :180 s, t_r :15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s⁻¹.

4.2.1.6. Validação do Método

O método foi validado pela análise das amostras de referência R1 e R2. A abertura foi realizada por via seca e a quantificação voltamétrica foi realizada pelo método de adição de padrão. Os voltamogramas obtidos para a determinação de chumbo e cádmio nas amostras de referência R1 e R2 estão apresentados nas Figuras 28 e 29, respectivamente. Os resultados obtidos na quantificação estão apresentados na Tabela 9.

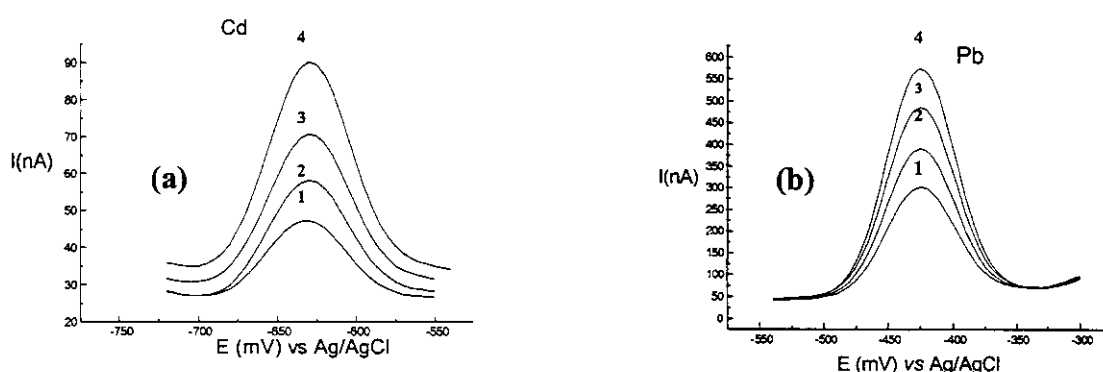


Figura 28. Voltamogramas da análise da amostra de referência R1 pelo método de adição de padrão. (a) Determinação de cádmio. Concentração de cádmio adicionada: (1) 0, (2) 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, (3) 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, (4) 4 $\mu\text{g L}^{-1}$. (b) Determinação de chumbo. Concentração de chumbo adicionado: (1) 0, (2) 12 $\mu\text{g L}^{-1}$, (3) 36 $\mu\text{g L}^{-1}$, (4) 60 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições experimentais: t_d : 180 s, t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s^{-1} .

Os valores obtidos pela curva de adição de padrão se ajustam as seguintes equações:

Para o Cd^{+2} : $I \text{ (nA)} = 24,13 + 6,935 C \text{ (}\mu\text{g L}^{-1}\text{)}$, $r: 0,998$

Para o Pb^{+2} : $I \text{ (nA)} = 203,3 + 4,317 C \text{ (}\mu\text{g L}^{-1}\text{)}$, $r: 0,999$

onde I: corrente de pico e C a concentração do analito, r: coeficiente de correlação.

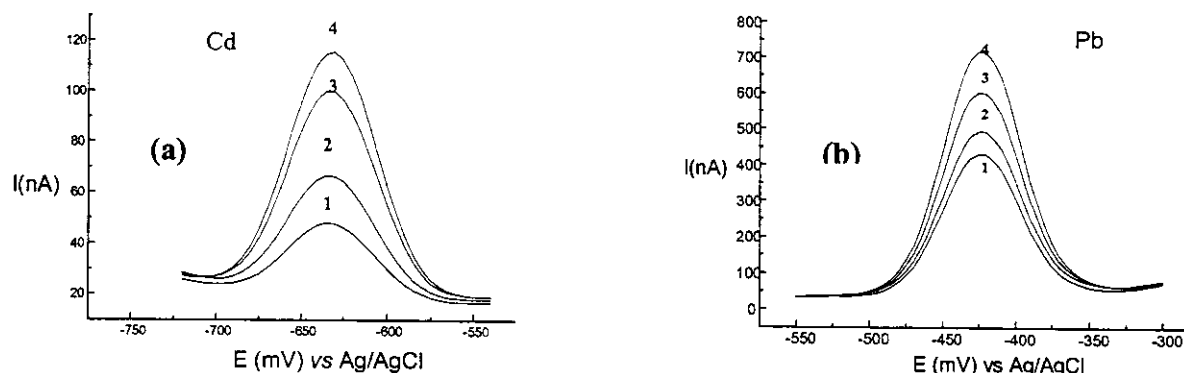


Figura 29. Voltamogramas da análise da amostra de referência R2 pelo método de adição de padrão. (a) Determinação de cádmio. Concentração de cádmio adicionada: (1) 0, (2) 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, (3) 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, (4) 7 $\mu\text{g L}^{-1}$. (b) Determinação de chumbo. Concentração de chumbo adicionado: (1) 0, (2) 12 $\mu\text{g L}^{-1}$, (3) 36 $\mu\text{g L}^{-1}$, (4) 60 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições experimentais: t_d :180 s, t_r :15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 mV s^{-1} .

Os valores obtidos pela curva de adição de padrão se ajustam às seguintes equações:

Para o Cd^{+2} : $I \text{ (nA)} = 26,11 + 7,497C \text{ (}\mu\text{g L}^{-1}\text{)}, r: 0,999$

Para o Pb^{+2} : $I \text{ (nA)} = 378,2 + 4,527C \text{ (}\mu\text{g L}^{-1}\text{)}, r: 0,999$

onde I: corrente de pico e C a concentração do analito, r: coeficiente de correlação.

Os resultados obtidos como parte integrante da validação do método estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados obtidos na análise voltamétrica de chumbo e cádmio nas amostras de referência R1 e R2, usando adição de padrão.

Metais	Valor de Referência (mg kg ⁻¹)	Valor determinado por DPASV (mg kg ⁻¹)		
		Valor médio (n=5)	S	μ
Cd	0,085 ± 0,022 ^a	0,082	0,011	0,082 ± 0,014
	0,120 ± 0,013 ^b	0,122	0,006	0,12 ± 0,01
Pb	1,259 ± 0,343 ^a	1,115	0,156	1,2 ± 0,2
	2,126 ± 0,196 ^b	2,173	0,015	2,17 ± 0,03

^a Material de referência R1, ^b material de referência R2., s: estimativa do desvio padrão para 5 determinações, μ : Intervalo de confiança da média (P <0,05).

Mediante avaliação dos resultados obtidos experimentalmente com os valores de referência (teste de significância), verifica-se que estes não diferem significativamente a um nível de confiança de 95%, o que significa que o método desenvolvido não apresenta erros sistemáticos e as diferenças entre os valores encontrados com os valores de referência seriam decorrentes apenas da presença de erros aleatórios.

O limite de determinação do método [121], levando-se em consideração 1,0 g de amostra, foi calculado em 0,12 mg kg⁻¹ e 0,01 mg kg⁻¹, para chumbo e cádmio, respectivamente.

4.2.1.7. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em Hipérico (*Hypericum perforatum*)

Três amostras de hipérico, constituídas de talo, folhas e flores foram analisadas, as quais foram denominadas de Amostras H1, H2 e H3. Cada amostra foi analisada em triplicata. Para fins ilustrativos, foram apresentados os voltamogramas obtidos na determinação de cádmio e chumbo pelo método de adição de padrão para a Amostra 3 (Figura 30). Os resultados obtidos para todas as amostras estão apresentados na Tabela 10.

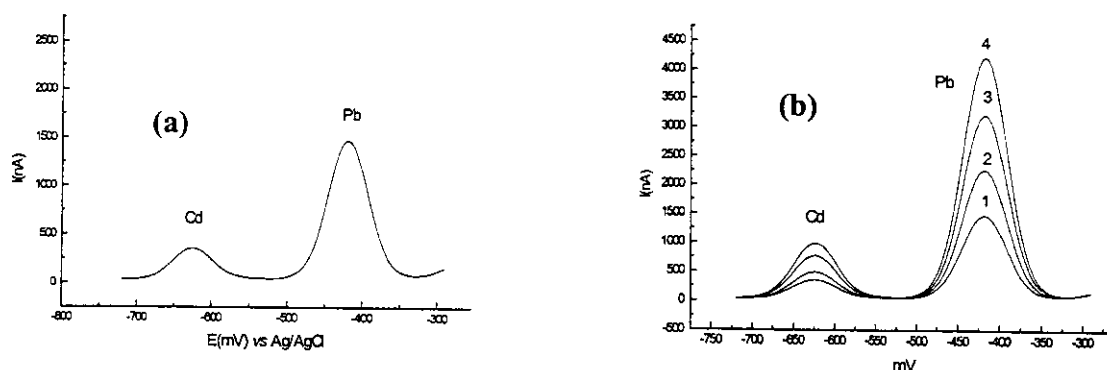


Figura 30. Voltamogramas referentes a análise da Amostra H3 de hipérico (a) Amostra; (b) Adições de padrão (1) Pb^{2+} : 0 $ng\ mL^{-1}$ e Cd^{2+} : 0 $ng\ mL^{-1}$, (2) Pb^{2+} : 25 $ng\ mL^{-1}$ e Cd^{2+} : 10 $ng\ mL^{-1}$, (3) Pb^{2+} : 50 $ng\ mL^{-1}$ e Cd^{2+} : 30 $ng\ mL^{-1}$ e (4) Pb^{2+} : 74 $ng\ mL^{-1}$ e Cd^{2+} : 50 $ng\ mL^{-1}$. Condições experimentais: t_d : 180 s, t_r : 15 s, ΔE : -50 mV, E_d : -730 mV, v : 5 $mV\ s^{-1}$.

Tabela 10. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de hipérico (*Hypericum perforatum*) de três diferentes procedências.

	H1		H2		H3	
	Concentração ($mg\ kg^{-1}$)		Concentração ($mg\ kg^{-1}$)		Concentração ($mg\ kg^{-1}$)	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Média	0,27	11,4	1,08	1,46	0,56	3,8
S	0,020	1,23	0,065	0,028	0,004	0,362
μ	$0,27 \pm 0,05$	$11,4 \pm 3,0$	$1,08 \pm 0,16$	$1,46 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,01$	$3,8 \pm 0,9$

H₁, H₂, H₃: *Hypericum perforatum*, S: estimativa do desvio padrão, μ : intervalo de confiança (P < 0,05).

Para melhor visualização e fins comparativos, os resultados referentes à determinação de chumbo e cádmio foram apresentados em gráfico de barras (Figura 31).

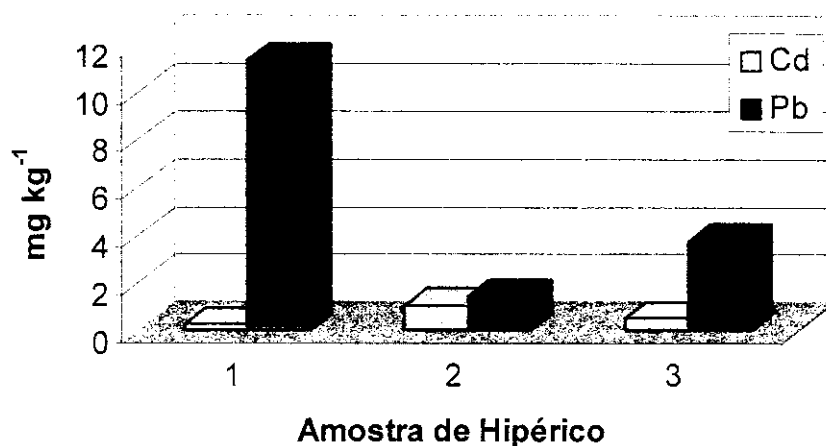


Figura 31. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de hipérico (*Hypericum perforatum*) de três procedências diferentes (1 e 3: China, 2: Bulgária).

Das três amostras analisadas, a amostra de hipérico 1, procedente da China apresentou o maior teor de chumbo. Já para o cádmio, a amostra da Bulgária foi a que apresentou maior contaminação.

4.2.1.8. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*)

Três amostras de guaco, constituídas de talo e folhas foram analisadas, as quais foram denominadas de Amostras G1, G2 e G3. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os resultados obtidos para todas as amostras estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de Guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*) procedentes do Brasil.

	G1		G2		G3	
	Concentração (mg kg ⁻¹)		Concentração (mg kg ⁻¹)		Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Média	0,12	1,22	0,21	0,43	0,13	0,51
S	0,007	0,160	0,015	0,014	0,007	0,042
μ	0,12 ± 0,02	1,22 ± 0,40	0,21 ± 0,04	0,43 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,51 ± 0,10

G₁: *Mikania guaco*; G₂: *Mikania glomerata*, G₃: *Mikania*, S: estimativa do desvio padrão, μ : intervalo de confiança (P <0,05).

Para melhor visualização, os resultados foram apresentados em gráfico de barras (Figura 32).

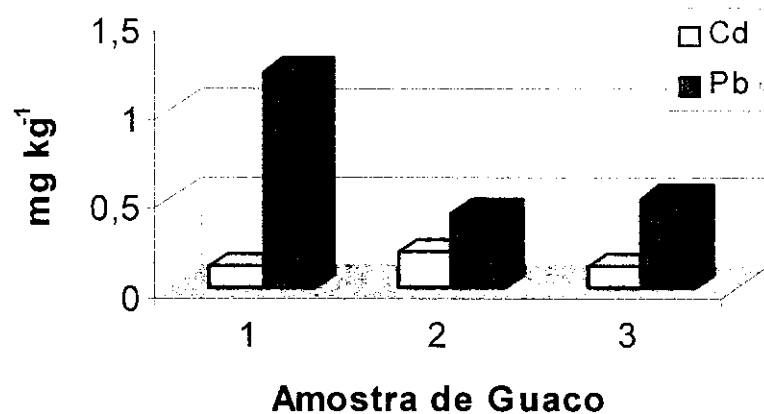


Figura 32. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de Guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*) procedentes do Brasil.

Das três amostras analisadas, a amostra de guaco G1 apresentou o maior teor de chumbo (1,22 mg kg⁻¹). Já para o cádmio, a segunda amostra foi a que apresentou maior contaminação (0,21 mg kg⁻¹).

4.2.1.9. Determinação de Cd(II) e Pb(II) em boldo (*Boldus peamus*)

Três amostras de boldo, constituído de folhas foram analisadas, as quais foram denominadas de Amostras B1, B2 e B3. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os resultados obtidos para todas as amostras estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Determinação da concentração de Cd(II) e Pb(II) nas amostras de Boldo (*Boldus peamus*) de três diferentes procedências.

	B1		B2		B3	
	Concentração (mg kg ⁻¹)		Concentração (mg kg ⁻¹)		Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Média	0,014	0,73	0,009	0,27	0,007	0,33
S	0,005	0,145	0,001	0,017	0,002	0,025
μ	0,014 ± 0,005	0,73 ± 0,36	0,009 ± 0,002	0,27 ± 0,04	0,007 ± 0,005	0,33 ± 0,06

B₁, B₂, B₃: *Peamus boldus*, S: estimativa do desvio padrão, μ : intervalo de confiança (P < 0,05).

Para melhor visualização, os resultados foram apresentados em gráfico de barras (Figura 33).

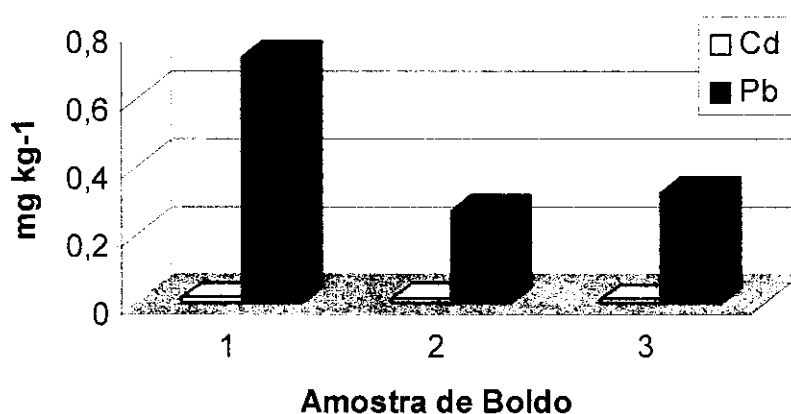


Figura 33. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras de Boldo (*Boldus peamus*) de procedências diferentes (1 e 2: Chile e 3: Brasil).

Das três amostras analisadas, as amostras de Boldo (1) procedente do Chile apresentou o maior teor de chumbo ($0,726 \text{ mg kg}^{-1}$). Para o cádmio a primeira amostra também apresentou maior contaminação ($0,014 \text{ kg}^{-1}$) comparada com as demais. Para fins comparativos entre as amostras de hipérico, guaco e boldo, os resultados foram compilados na Figura 34.

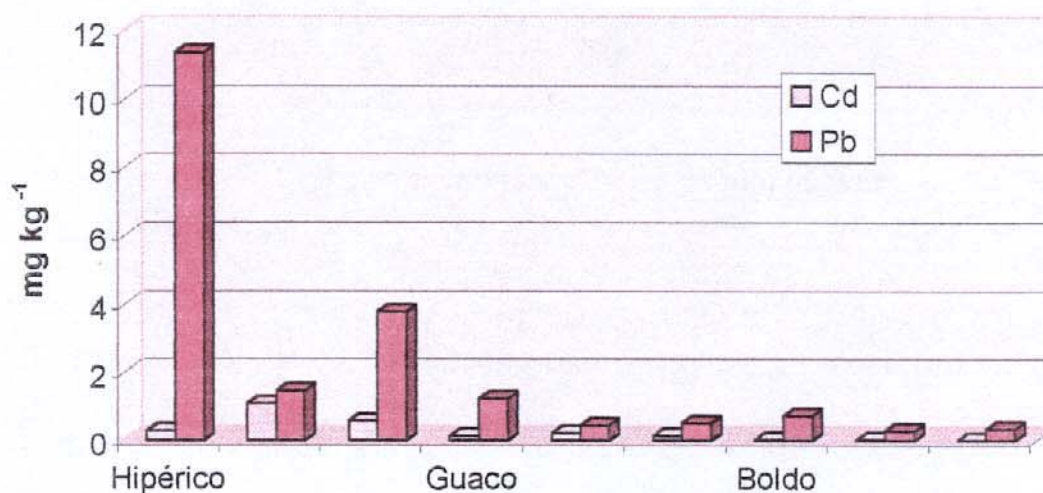


Figura 34. Concentrações de chumbo e cádmio nas amostras hipérico, guaco e boldo de diferentes procedências diferentes.

Pelos resultados observados na Figura 34, as concentrações mais elevadas foram encontradas nas amostras de hipérico, especialmente aquela proveniente da China ($11,36 \text{ mg kg}^{-1}$).

As concentrações altas de cádmio foram também encontradas nas amostras de hipérico procedente da Bulgária ($1,082 \text{ mg kg}^{-1}$) e concentrações baixas de Pb ($0,269 \text{ mg kg}^{-1}$) e Cd ($0,007 \text{ mg kg}^{-1}$) em amostras de boldo.

Ao comparar os resultados obtidos com outros trabalhos encontrados na literatura, a concentração de chumbo foi próxima à encontrada por Pluta et al., 1984 ($10,02 \text{ mg kg}^{-1}$) [73] em extrato de plantas medicinais da Polônia. Os valores de Cd que se encontraram nos resultados foram cerca de três vezes os valores reportados por Abou-Arab et al., 1999 [6] e Kim et al., 1994 [39].

Há muitas razões para o monitoramento dos níveis de metais tóxicos em plantas medicinais, uma das quais é a contaminação de meio ambiente em geral com metais tóxicos os quais tem aumentado nos últimos anos [6]. As fontes destes poluentes são variadas desde a contaminação industrial até aquelas produzidas nas áreas de cultivo pelo uso de fungicidas de mercúrio orgânico e inseticidas de arsenato de chumbo [5,122].

As concentrações encontradas neste trabalho de Pb e Cd nas amostras podem ser devido à irrigação das plantas com águas contaminadas, assim como adição de alguns fertilizantes e herbicidas ou mesmo devido ao chumbo tetraetila adicionado, em alguns países, à gasolina. Por outro lado o conteúdo de metais em plantas medicinais depende também da espécie da planta e dos fatores climáticos [123].

O estabelecimento de limites máximos de tolerância (LMTs) para metais tóxicos (Pb e Cd) em plantas medicinais tem sido objeto de preocupação por parte de alguns pesquisadores [6,42,31]. Alguns autores têm sugerido que a legislação de alimentos também se aplique aos fitoterápicos, outros, no entanto, entendem que os medicamentos de origem vegetal devam seguir os mesmos limites fixados para as matérias primas farmacêuticas e demais medicamentos.

A Farmacopéia Americana, USP XXV, 2001 apresentam limites máximos permitidos de metais pesados em plantas medicinais, expressos na forma de Pb de 0,005 %.

Considerando a ingestão provisória semanal tolerável (PTWI) de 25 e 7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Pb e Cd por kg de peso corpóreo, respectivamente, e considerando uma pessoa adulta de 70 kg de peso corpóreo e uma ingestão de 1 g da planta por dia (Joint FAO/WHO, 1999 [38]), calcula-se uma ingestão semanal de 79,1 μg e 7,56 μg para Pb e Cd, respectivamente, o que equivale a 4,52 % e 1,54 % do PTWI para chumbo e cádmio, respectivamente.

Contudo, de acordo com a monografia da Organização Mundial da Saúde "WHO- Seleção Das Plantas Medicinais" [36] recomenda-se para a forma de dosagem final do fitoterápico limites para Pb e Cd de 10 e 0,3 mg kg^{-1} ($\mu\text{g g}^{-1}$), respectivamente. Considerando os valores de 11,3 e 1,08 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb e Cd

respectivamente, determinados neste trabalho, verifica-se que o teor de cádmio em uma amostra de hipérico estaria fora do limite aceito. Portanto, verifica-se que existe a necessidade do controle de contaminantes em fitoterápicos.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que as autoridades responsáveis pela saúde pública devem tomar as medidas necessárias e urgentes, para estabelecer uma legislação adequada tomando-se em conta a frequência de consumo dos mesmos.

CONCLUSÕES

A fluorescência de raios-X com luz síncrotron (SYXRF) demonstrou ser uma ferramenta bastante atraente para avaliar a presença de metais em plantas medicinais, uma vez que permite a detecção simultânea de vários elementos em uma ampla faixa de concentração com elevada frequência analítica e por permitir a análise de amostras no estado sólido sem etapas prévias de preparo de amostra.

A SYXRF tem maior sensibilidade em relação à fluorescência de raios-X de energia dispersiva com fonte de Rh (EDXRF). Esta última técnica não possui sensibilidade adequada para o processo de "screening", levando-se em consideração que a análise é realizada no estado sólido sem etapas prévias de pré-concentração dos analitos.

A SYXRF permitiu a identificação simultânea dos seguintes elementos: K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Zr, Ba e Br. O método de análise semiquantitativo foi validado com amostras de referência de plantas. Os resultados das concentrações estimadas em relação aos valores de referência variam de 0,2 a 2,08, o seja, os resultados são satisfatórios no contexto de uma análise semiquantitativa e adequados para procedimentos de "screening".

A análise semiquantitativa foi aplicada para dez diferentes espécies de plantas medicinais: hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*), boldo (*Peumus boldus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), carqueja (*Baccharis genistelloides*), confrei (*Symphytum officinalis*), erva baleeira (*Cordia verbenácea*, *Cordia curanavice*), quebra pedra (*Phyllanthus spp*), senne (*Cassia angustifolia*) e sabugueiro (*Sambucus nigra*), nas quais foram identificados os elementos: Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr e Ba. Dependendo da espécie vegetal, verificou-se uma variação significativa dos teores dos elementos

essenciais, valores esses que estão na mesma ordem de grandeza com aqueles reportados na literatura. A SYXRF não mostrou sensibilidade adequada para os metais pesados chumbo e cádmio.

Para a determinação de chumbo e cádmio foi desenvolvido um método voltamétrico de análise. A técnica empregada foi a voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial com eletrodo de gota pendente de mercúrio. A partir da etapa de pré-concentração dos metais mediante aplicação de potencial, é possível a determinação destes elementos em concentrações em nível de traços. A matéria orgânica é um interferente na determinação e necessita ser previamente destruída. A digestão via úmida usando $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ não possibilitou a remoção completa de interferentes. Os melhores resultados para a análise de plantas medicinais foram obtidos com a oxidação via seca em mufla a 500°C por 2,5 horas e determinação da concentração dos analitos pelo método de adição de padrão. O método voltamétrico foi validado mediante emprego de amostras de referência. A voltametria de redissolução anódica foi aplicada na análise de amostras de hipérico (*Hypericum perforatum*), guaco (*Mikania guaco*, *Mikania glomerata*) e boldo (*Peumus boldus*). Das amostras analisadas, as concentrações mais elevadas de metais pesados foram encontradas na amostra de *Hypericum perforatum* procedente da China ($11,36 \text{ mg de Pb kg}^{-1}$) e de uma amostra de *Hypericum perforatum* procedente da Bulgária ($1,082 \text{ mg de Cd kg}^{-1}$).

A voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial permite a determinação de traços de metais tóxicos como cádmio e chumbo e, portanto, é adequada para o controle destes metais em plantas medicinais.

Os resultados obtidos indicam a necessidade do controle de qualidade de plantas medicinais quanto à presença de metais pesados.

A partir deste trabalho algumas proposições futuras podem ser feitas, tais como a monitoração de um número maior de amostras de plantas medicinais encontradas no mercado, usando o método semiquantitativo de fluorescência de raios-X de luz síncrotron, a otimização da técnica de voltametria de redissolução anódica para outras formas farmacêuticas de fitoterápicos como tinturas, xaropes,

Conclusões

cápsulas, extratos, etc. e, assim, ser empregada no controle de qualidade nas indústrias.

BIBLIOGRAFIA

1. RATES, S. M. K. Plants as source of drug. *Toxicon*. **2000**, 39 (5) 603-613.
2. KABELITZ, L. Heavy metal in Herbal drugs. *Pharmazeutische Industrie*. **1998**, 60 (5) 444-451.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Quality Assurance of Pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials. Volume 1. Geneva, **1997**.
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Quality Assurance of Pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials. Good manufacturing Practice and Inspection. Volume 2. Geneva, **1999**.
5. SCHILCHER, H.; PETERS.; WANK, H. Pestizide und Schwermetalle in Arzneipflanzen und Arzneipflanzen- Zubereitungen. *Pharmazeutische Industrie*. **1987**, 49 (2), 203-211.
6. ABOU-ARAB, A. A. K.; SOLIMAN, K. M.; EL TANTAWY, M. E.; ISMAIL, B. R.; NAGUIB, K. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian Market. *Food Chemistry*. **1999**, 67, 357-363.
7. GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.G. As Bases Farmacológicas da Terapêutica, oitava edição, editora Guanabara Koogan, **1990**.

8. FERNANDES A, C.; Farmacognosia, volume II, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1906**.
9. <http://www.jardimdeflores.com.br/ERVAS/ervas2.html> (07/2002)
10. <http://www.raizmedicinal.hpg.ig.com.br/pr02.htm> (07/2002)
11. BRUNETON, J.; Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales, 2^a edition, editora Lavoisier TEC & DOC, Paris, **1993**.
12. <http://www.rain-tree.com> reserved (07/2002)
13. <http://www.dosemedicinal.com.br/HTML/htm.htm> (07/2002)
14. http://www.robela.hpg.ig.com.br/page_master.htm (08/2002)
15. <http://www.rionet.com.br/~cantoverde/frameindice.html> (08/2002)
16. <http://www.dosemedicinal.com.br./HTML/html.htm> (08/2002)
17. <http://www.ciagri.usp.br/planmedi/confrei.html> (08/2002)
18. <http://www.geocities.com/HotSprings/Spa/6327/verbenacea.html> (08/2002)
19. <http://intermega.globo.com/hbatista/quebra.htm> (08/2002)
20. <http://www.tomdaservas.com.br/quebrapedra.html> (09/2002)
21. <http://www.lavras.br/cepe/fotos/erva%20baleeira.html> (12/2002)
22. <http://www.ciagri.usp.br/planmedi/quebra-pedra.html> (09/2002)

23. BOMAN, J.; LARSSON, C.; OLSSON, M.; RAITIO, H. Trace elements Analysis of Scots Pine and Norway Spruce by Energy Disperse X-Ray Fluorescence Spectrometry, *X-Ray Spectrometry*. **1996**, 25, 89-94.
24. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental. Quinta edição, Editora Bookman, São Paulo, **2002**.
25. RILEY, T.; WATSON, A. Polarography and other Voltammetric Methods. Published for John Wiley & Sons, Great Britain, **1987**.
26. HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. Livros técnicos e Científicos, editora S. A. Rio de Janeiro, **1999**.
27. QUALITY ASSURANCE OF PHARMACEUTICALS. Geneva, World Health Organization, A compendium of Guidelines and related material. Volume 1, **1997**.
28. QUALITY ASSURANCE OF PHARMACEUTICALS. Geneva, World Health Organization, Compendium of Guidelines and related materials, Good Manufacturing Practice and Inspection, Volume 2, **1999**.
29. FERREIRA, S. H.; BARATA, L. E. S.; SALLES, S. L. M.; QUEIROZ, S. R. R.; HELUY, N. N. E.; CORAZZA, R.; FARIAS, R. F. Medicamentos A Partir de plantas medicinais no Brasil, Academia Brasileira de ciências, Rio de Janeiro, **1998**.
30. DA SILVA, P. B.; AGUIAR, L. H.; DE MEDEIROS, C. F. O Papel do professor na Produção de medicamentos Fitoterápicos, Química Nova na Escola, **2000**.

31. OLIVEIRA, S. C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PALAZZO DE MELLO, J. C.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. P. *Farmacognosia de planta ao medicamento*. Editora da UFSC, Brasil, terceira edição, **2001**.
32. DE ABREU MATOS, F. J. Living Pharmacies, Natural Products Research in Brazil. *Ciência e Cultura Journal of Brazilian Association for the advancement of science*. **1997**, vol 49 (5/6) 409-412.
33. ZUCCOLOTTO, T.; APEL, M.; RATES, S. M. K. Avaliação da Qualidade de Produtos Fitoterápicos Comercializados em Porto Alegre. *RS. Ver. Inst. Adolfo Lutz*. **1999**, 58 (2): 25-31.
34. MCKENZIE, H. A.; SMYTHE, L. E. *Quantitative Trace Analysis of Biological Material*, Ed. Elsevier Science publishers B. V., **1988**.
35. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, XXV; ed. States Pharmacopeial Convention, INC. Washington, D.C, **2001**.
36. WHO MONOGRAPHS ON SELECTED: Medicinal Plants. Geneva, World Health organization, Volume 1, **1999**.
37. JOIN FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME, Codex Committee on food additives and contaminants, Draft maximum levels for lead, Thirty-first Session, The Hague, The Netherlands, 22-26, March **1999**.
38. JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, Fifty-fifth report, Geneva, 6-15, June **2000**.
39. KIM, B. Y.; KIM, K. S.; LEE, S. H.; & YOO, S. H. Survey on the natural content of heavy metal in medicinal herbs and their cultivated soils Korea. *KDA-J. of Agricultural Science, Soil and fertilizer*. **1994**, 36 (2), 310-330.

40. GRAVEL, I. V.; YAKOVLEV, G. P.; PETRPOV, N. N.; STULOUSKII, S. S.; & LISTOV, S.A. Content of heavy metals in some species of medicinal plants in Altaishii Krai. *Rastite'nye-Resursy*. **1994**, 30 (1-2).
41. JANUZ, M.; DANUTRA, W.; JERZY, K.; ROBART, R.; KRYSZTOF, L.; & JERZY, C. The occurrence of Pb, Cd, Cu, Mn, Ni, Co, and Cr in selected species of medicinal plants in Poland. *Bromatol. Toksykol.* **1994**, 28, 363-368.
42. SVICEKOVA, M.; HAVRANEK, E. Determination of heavy metals in samples of plant drugs by differential pulse polarography. *Pharmazie*. **1995**, 50, H.4.
43. TAYLOR, L. R.; PAPP, R. B.; POLLARD, B. O. Instrumental Method for determining elements; UCH Publishers, New York, **1994**.
44. JENKINS, R.; DE VRIES, J. L. Practical X-Ray spectrometry, 2nd edition; Spriger- Velag, New York, **1970**.
45. JENKIN, R.; GOULD, R. W.; GEDCKE, D. Applied Spectroscopy Review. **2000**, 35 (1&2), 129-150.
46. WHISTON, C.; PRICHARD, F. E. X-Ray Method; Ed. John Wiley & Sons, Great Britain, **1987**.
47. JENKINS, R. Chemical Analysis- X-Ray Spectrometry, Volume 99; Wiley-Interscience Publication, Toronto, **1988**.
48. DOS ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F.; SIMABUCO, S.M.; CESAREO, R. Quantitative Determination of Metals in Radish using X-Ray Fluorescence Spectrometry; *X-Ray Spectrometry*. **2002**, 31, 120-123.

49. SALVADOR, M. J.; LOPES, G. N.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; ZUCCHI, L. A. D. O. Quality control Of Commercial tea by X- Ray Fluorescence; *X-Ray Spectrometry*. **2002**, 31, 141-144.
50. OBIAJUNWAI, E. I.; ADEBAJO, A. C.; OMOBUWAJO, O. R. Essential and Trace element contents of some Nigerian medicinal plants, *Journal of Radioanalytical and nuclear chemistry*. **2002**, 252 (3), 473-476.
51. ADELOJU, S. B; BOND, A.M; BRIGGS, M. H. Multielement determination in biological materials by differential pulse voltammetry, *Anal Chem*. **1985**, 57, 1386.
52. www.inls.br (08/2002)
53. KLOCKENKAMPER, R. Total reflection X-ray Fluorescence Analysis; Ed. John Wiley & Sons, INC., Volume 140, **1997**.
54. BACCAN, N.; ANDRADE, J.C.; GODINHO, O.E.S.; BARONE, J. S. Química Analítica Quantitativa Elementar, 3ª Ed., Ed. Edgard Blucher, São Paulo, **2001**.
55. VOGEL, *Análise Inorgânica Quantitativa*, 4a edição, Guanabara Dois, Rio de Janeiro, **1981**.
56. GUENTER, W.B. Química Quantitativa, Medições e Equilíbrio, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, **1971**.
57. HERDRIDGE, J.B. Photometric Titrations, Pergamon Press, Oxford, **1961**.
58. WAGNER, W.; HULL, J. C. Inorganic Titrimetrics Analysis, Marcel Dekker INC, New York, **1971**.

59. SERJEANT, E.P. Potentiometry and Potentiometric Titrations, Wiley, New York, **1964**.
60. SNELL, F.D.; SNELL, C.T.; SNELL, C.A. Colorimetric Methods of Analysis, Vol. III A, D. Van Nostrand company, INC, New York, **1959**.
61. PRICE, W.J. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption, Heyden, London, **1979**.
62. MARCZENKO, Z. Spectrophotometric Determination of elements, John Wiley & Sons INC. Poland, **1976**.
63. SANDELL, E.B.; ONISHI, H. Colorimetric Determination of Traces of Metals; 4^a Ed, Interscience Pub, New York, **1978**.
64. ELWELL, W.T.; GIDLEY, J.A.F. Atomic Absorption Spectrophotometry, 2^a edition, Pergamon Press, Oxford, **1967**.
65. KICKBRIGHT, G.F.; SARGENT, M. Atomic Absorption and Fluorescence Spectroscopy, Academic Press, London, **1974**.
66. MILNER, G. W. C.; PHILIPS, D. Coulometric in Analytical Chemistry, Pergamon Press, London, **1967**.
67. MAZO-GRAY, V.; SBRIZ, I.; Alvarez, M. Determination of traces of Heavy Metals in Estuarine Waters of Barbacoas Bay, Colombia, by X-Ray Fluorescence Spectrometry, *X-Ray Spectrometry*. **1997**, 26, 57-64.
68. DOS ANJOS, M. J.; DE JESUS, E. F. O.; CESAREO, R.; BARRADAS, C. A. A. Quantitative and Analysis of metals in soil using X-ray fluorescence, *Spectrochimica Acta Part B- Atomic Spectroscopy*. **2000**, 55 (7), 1189-1194.

69. GUOHUI, I.; SHOUZHONG, F. Direct determination of 25 elements in dry powdered plant materials by X-ray fluorescence spectrometry, *Journal of Geochemical Exploration*. **1995**, 55, 75-80.
70. KARADJOVA, I.; GIROUSI, S.; ILIADOU, E.; STRATIS, I. Determination of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni and Pb in milk, cheese and chocolate, *Mikrochimica Acta*. **2000**, 134, 185-191.
71. QUEIROLO, F.; STEGEN, S.; RESTOVIC, M.; PAZ, M.; OSTAPCZUK, P.; SCHWUGER M. J. MUÑOZ, L. Total arsenic, lead, and cadmium levels in vegetables cultivated at the Andean Villages of Northern Chile, *The Science of the Total environment*. **2000**, 255, 75-84.
72. LOPEZ DE RUIZ, R. E.; OLSINA, R. A.; MASI, A. N. Different analytical methodologies for the preconcentration and determination of trace chromium by XRF in medicinal herbs with effects on metabolism, *X-Ray Spectrometry*. **2002**, 31, 150-153.
73. PLUTA, J. F.; LORENZ, K.; WENDT, L. Investigations of content of heavy metals in chosen dosage forms of drugs of vegetal origin, *Pharmazie*. **1984**, 39, H. 1.
74. DA SILVA, C. L.; MASINI, J. C. Determination of Cu, Pb, Cd and Zn in river sediments extracts by sequential injection anodic stripping voltammetry with thin mercury film electrode, *Fresenius Journal of Analytical chemistry*, **2000**, 367, 284-290.
75. ALVAREZ, J. R. E.; MONTERO, A. A. ; JIMENEZ, N. H.; MUNIZ, U. O.; PADILLA, A. R.; MOLINA, R. J.; DE VERA, S. Q. Nuclear and related analytical methods applied to the determination of Cr, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb

in a red ferralitic soil and Sorghum samples, *Journal of Radioanalytical and nuclear Chemistry*. **2001**, 27, 479-486.

76. TURAN, S.; SAYGI, S.; KILIC, O. Determination of heavy metal contents in human colostrum samples by electrothermal atomic absorption spectrophotometry, *Journal of Tropical pediatrics*. **2001**, 47 (2), 81-85.

77. VASSILEVA, e.; FURUTA, N. Application of high-surface-area ZrO₂ in preconcentration and determination of 18 elements by on-line flow injection with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. **2001**, 370 (1), 52-59.

78. SILVA, P. R. M.; EL KHAKANI, M. A.; CHAKER, M.; DUFRESNE, A.; COURCHESNE, F.; Simultaneous determination of Cd, Pb, and Cu metal trace concentrations in water certified samples and soil extract by means of Hg-electroplated-Ir microelectrode array based sensors, *Sensor and Actuators B- Chemical*. **2001**, 76 (1-3), 250-257.

79. BARANOWSHA, I.; SROGI, K.; WLOCHOWICZ, A.; SZCZEPANIK, K. Determination of heavy metal contents in samples of medicinal herbs, *Polish Journal of Environmental studies*. **2002**, 11(5), 467-471.

80. TUZEN, M.; A comparison of samples preparation procedures for the determination of heavy metals in lichen samples by GFAAS, *Analytical Letters*, 35 (10). **2002**, 1667-1676.

81. AYRAULT, S.; GALSOMIES, L.; AMBLARD, G.; SCJARRETTA, M. D.; BONHOMME, P.; GAUDRY, A. Instrumental neutron activation analysis (INAA) and inductively coupled plasma/mass spectrometry (ICP-MS) for trace element biomonitoring using mosses, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. **2002**, 82 (7), 463-473.

82. TANAKA, T.; ANDO, Y.; SAITOH, T.; HIRAIDE, M. Preconcentration of traces of cobalt, nickel, copper and lead in water by thermoresponsive polymer-mediated extraction for tungsten filament electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. **2002**, 17 (11) 1556-1559.
83. DOGAN, M.; SOYLAK, M.; ELCI, L.; VON BOHLEN, A. Application of total reflection X-ray fluorescence spectrometry in the textile industry, *Mikrochimica Acta*. **2002**, 138 (1-2), 77-82.
84. RAUF, M. A.; IKRAM, M.; AYUD, N. Determination of major and trace/toxic metals in coal samples by atomic absorption spectroscopy and neutron activation analysis, *Journal of trace and Microprobe Techniques*. **2002**, 20 (1), 91-103.
85. NAGINIENE, R.; ABDRAKMANOVAS, O.; KREGZDYTE, R.; RYSELIS, S. Investigation of heavy metals in people with alopecia, *Trace Elements and Electrolytes*. **2002**, 19 (2), 87-90.
86. HORNG, C. J.; TSAI, J. L.; HORNG P, H. LIN, S, R.; TZENG, C. C. Determination of urinary lead, cadmium and nickel in steel production workers, *Talanta*. **2002**, 56 (6), 1109-1115.
87. VONDRUSKA, M. AAS Determination of toxic metals in cosmetic oils via water emulsion, *Chemicke Listy*. **1995**, 89 (6), 383-386.
88. LOCATELLI, C.; ASTARA, A.; VASCA, E.; CAMPANELLA, V. Voltammetric and spectroscopic determination of toxic metals in sediments and sea water of Salerno Gulf, *Environmental Monitoring and Assessment*. **1999**, 58 (1) 23-37.

89. RAO, K. S.; BALAJI, T.; RAO, T. P.; BABU, Y.; NAIDU, G. R. K. Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta part B-Atomic Spectroscopy*. **2002**, 57 (8), 1333-1338.
90. KRACHLER, M.; MOHL, C.; EMONS, H.; SHOTYK, W. Analytical procedures for the determination of selected trace elements in peat and plants samples by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*. **2002**, 57 (8), 1277-1289.
91. D'ILIO, S.; ALESSANDRELLI, M.; CRESTI, R.; FORTE, G.; CAROLI, S. Arsenic content of various types of rices as determinates by plasma-based techniques, *Microchemical Journal*. **2002**, 73 (1-2), 195-201.
92. TUZEN, M. Determination of some trace elements in whole blood and serum by GFAAS, *Trace Elements and Electrolytes*. **2002**, 19 (4), 202-204.
93. RONDA, F.; SANCHO, D.; BLANCO, C. A.; GOMEZ, M.; CABALLERO, P. A. Determination of mercury and arsenic in White beet sugar by vapor generation atomic absorption spectrometry, *Zuckerindustrie*. **2002**, 127 (10), 763-767.
94. SIVRIKAYA, H.; BACAK, L.; SARACBASI, A.; TOROGLU, I.; EROGLU, H. Trace elements in *Pleurotus sajor-caju* cultivated on chemithermomechanical pulp for biobleaching, *Food Chemistry*. **2002**, 79 (2), 173-176.
95. LIANG, S. X.; SUN, H. W. Determination of six nutritional elements in Chinese herbal medicines by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectroscopy and Spectral Analysis*. **2002**, 22 (5), 847-849.

96. LIU, C. H.; ZHONG, Z. G.; LI, B. Z.; HUANG, L. N.; YI, L. Z. Simultaneous determination of the total content of As, Ba, Cd, Cr, Hg, Pb, Se, Sb in paint coating on toys by ICP-AES, *Spectroscopy and Spectral Analysis*. **2002**, 22 (5), 840-842.
97. LOCATELLI, C.; TORSI, G.; ROSSI, F. A New Analytical Procedure for Simultaneous Voltammetric Metal Determinations in sea Water, Sediments, algae and fishes, *Fresenius Environmental Bulletin*. **2000**, 9(11-12), 813-822.
98. HONEYCHURCH, K. C.; HART, J. P.; COWELL, D. C. Voltammetric studies of lead at a 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol modified screen-printed carbon electrode and its trace determination in water by stripping voltammetry, *Analytica Chimica Acta*. **2001**, 431, 89-99.
99. OSIPOVA, E.A.; SLADKOV, V. E.; KAMENEV, A. I.; SHKINEV, V. M.; GECKELEN, K. E. Determination of Ag(I), Hg (II), Cu(II), Pb(II), Cd(II) by stripping voltammetry in aqueous solutions using complexing polymers in conjunction with membrane filtration, *Analytica Chimica Acta*. **2000**, 404, 231-240.
100. GHONEIM, M. M.; HASSANEIN A. M.; HAMMAM, E.; BELTAGI, A. M. Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Co and Fe in water samples by differential pulse stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. **2000**, 367 (4) 378-383.
101. STEGEN, S.; QUEIROLO, F.; CORTES, S; PASTENES, J.; OSTAPCZUK, P.; BACKHAUS, F.; MOHL, C. Use of the water plants *Zannichellia palustri* and *Myriophyllum acuatum* for biomonitoring of Cd, Pb, and Cu in Andean

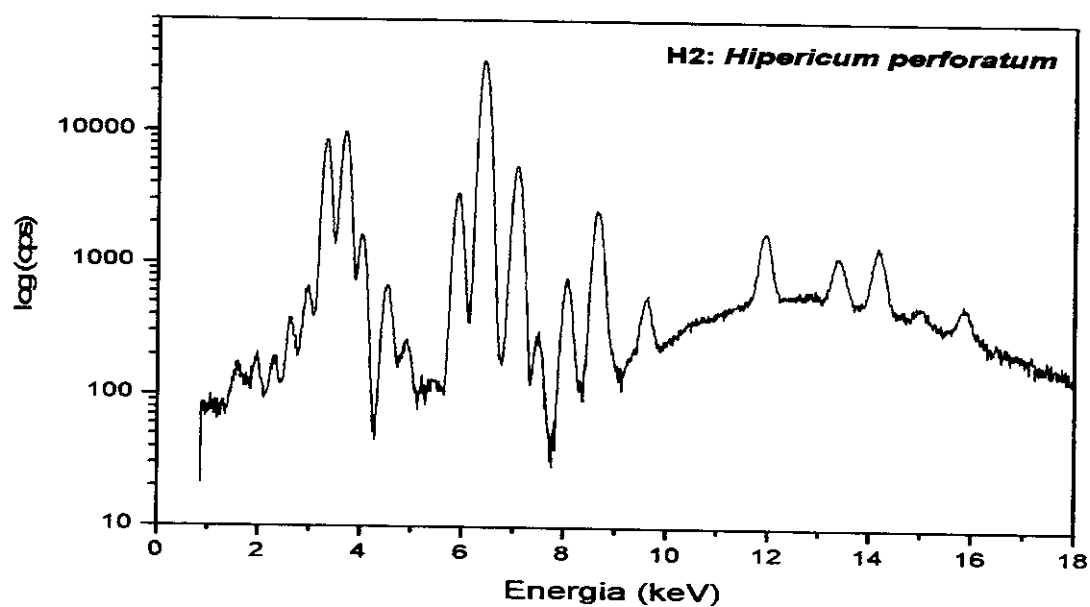
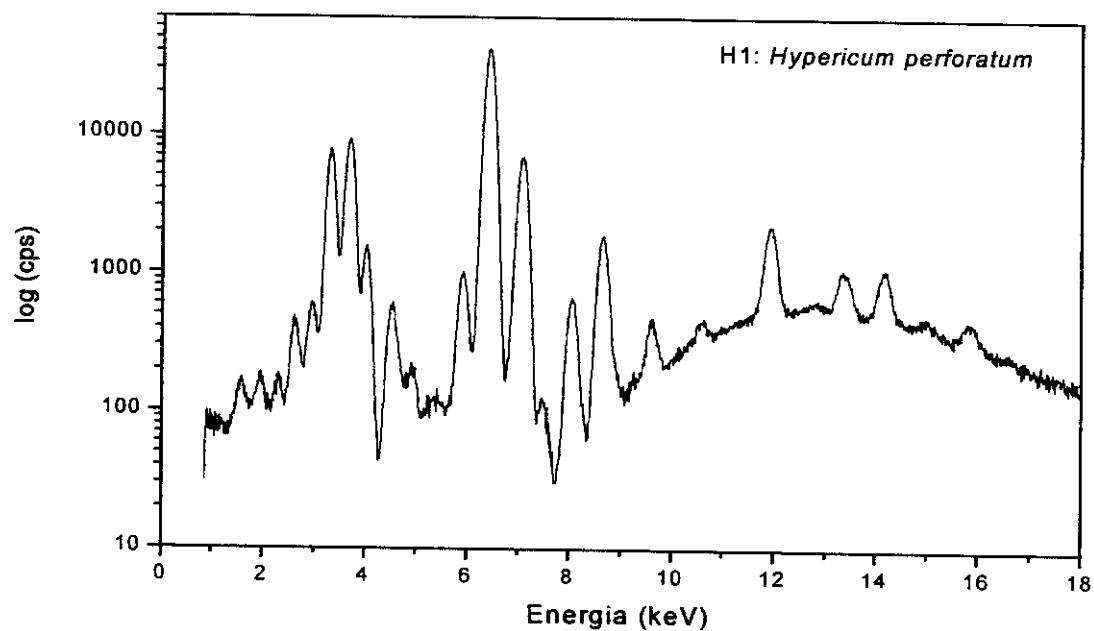
- rivers of Chile, *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*. **2000**, 45(3), 449-459.
102. EMOS, H.; BAADE, A.; SCHONING, M. J. Voltammetric determination of heavy metals in micro volumes of rain water, *Electroanal.* **2000**, 12(15), 1171-1176.
103. EL-HASANI, S. R.; AL-DHAHERI, S. M.; EL-MAAZAWI, S. M.; KAMAL, M. M. Polarographic and voltammetric determination of some toxic heavy metal ions in the treated wastewater at Abu-Ohabi, U. A. E, *Wat. Sci. Tech.* **1999**, vol. 40, N°7, 67-74.
104. PACER, R. A.; SCOTT, E. K. C.; RUZHAN, P. Determination of cadmium in sewage sludge by differential pulse anodic stripping voltammetry, *Talanta*. **1999**, 49, 725-733.
105. RODUSHKIN I., Ruth T., HUHTASAARI A. Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP techniques. *Analytical Chimica Acta*. **1999**, 378: (1-3), 4: 191-200.
106. PONCE, R.; FORJA, J. C.; GOMEZ-PARRA, A. Influence of Anthropogenic activity on the vertical Distribution of Zn, Cd, Pb and Cu in Interstitial Water and Coastal Marine Sediments (Cadiz Bay, Sw Spain), *Ciencias Marinas*. **2000**, 26(3), 479-502.
107. LOCATELLI, C.; TORSI, G. Cathodic and anodic stripping voltammetry: simultaneous determination of As-Se and Cu-Pb-Cd-Zn in the case of very high concentration ratios, *Talanta*. **1999**, 50, 1079-1088.

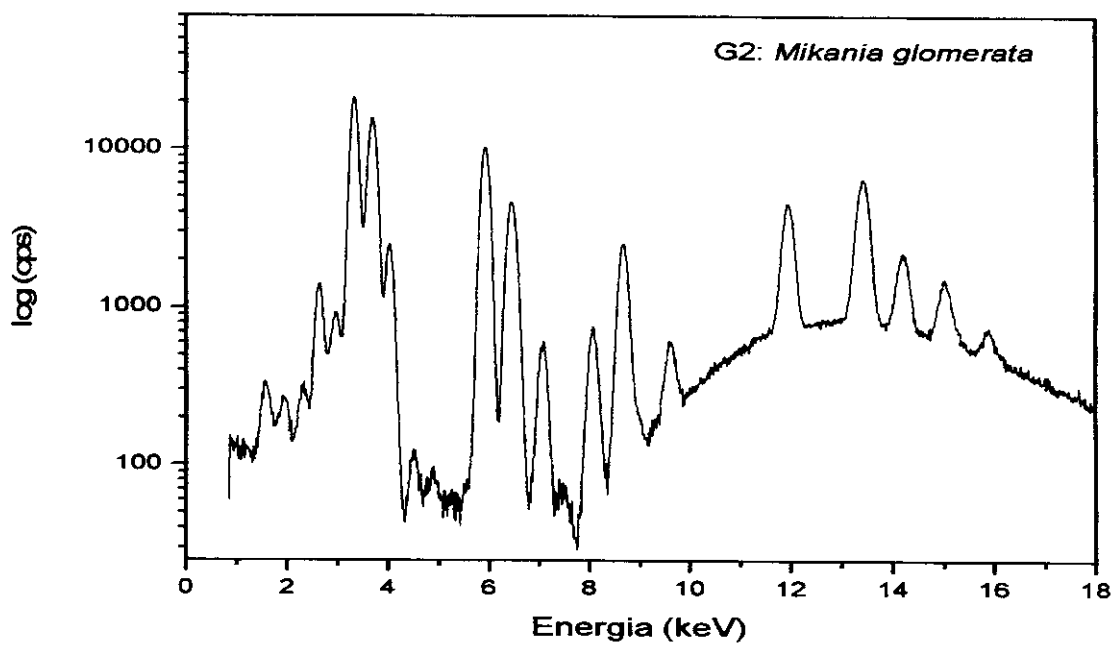
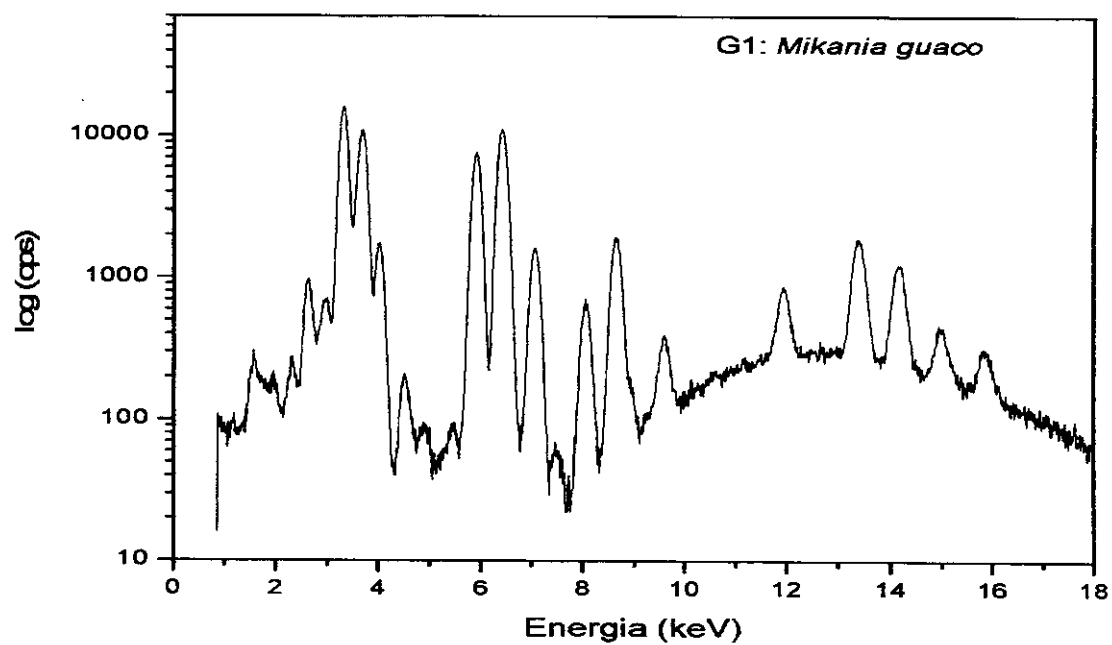
108. TRIPATHI, R. M.; RAGHUNATH, R.; KRISHNAMOORTHY, T. M. Dietary intake of heavy metals in Bombay city, India, *The science of the Total environment*. **1997**, 208, 149-159.
109. STADEN V. V. F.; MATOETOE, M. C. Simultaneous determination of copper, lead, cadmium and zinc using differential pulse anodic stripping voltammetry in flow system, *Analytica Chimica Acta*. **2000**, 411(1-2), 201-207.
110. SUSEELA, B.; BHALKE, S.; KUMAR, A. V.; TRIPATHI, R. M.; SASTRY, V. N. Daily intake of trace metals through coffee consumption in India, *Food Additive and Contaminants*. **2001**, 18(2), 115-120.
111. SANNA, G.; PILO, M. I.; PIU, P. C.; TAPPARO, A.; SEEBER, R. Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes, *Analytica Chimica Acta*. **2000**, 415, 165-173.
112. WASIAK, W.; CISZEWSKA, W.; CISZWESKI, A. Hair analysis. Part 1: Differential pulse anodic stripping voltammetry determination of lead, cadmium, zinc and copper in human hair samples of persons in permanent contact with a polluted workplace environment, *Analytica Chimica Acta*. **1996**, 335, 201-207.
113. LOCATELLI, C.; TORSI, G. Determination of Se, As, Cu, Pb, Cd, Zn and Mn by anodic and cathodic stripping voltammetry in marine environmental matrices in the presence of reciprocal interference. Proposal of a new analytical procedure, *Microchemical Journal*. **2000**, 65, 293- 303.
114. ENSAFI, A. A.; ZAREI, K. Simultaneous determination of trace amounts of cadmium, nickel and cobalt in water samples by adsorptive voltammetry

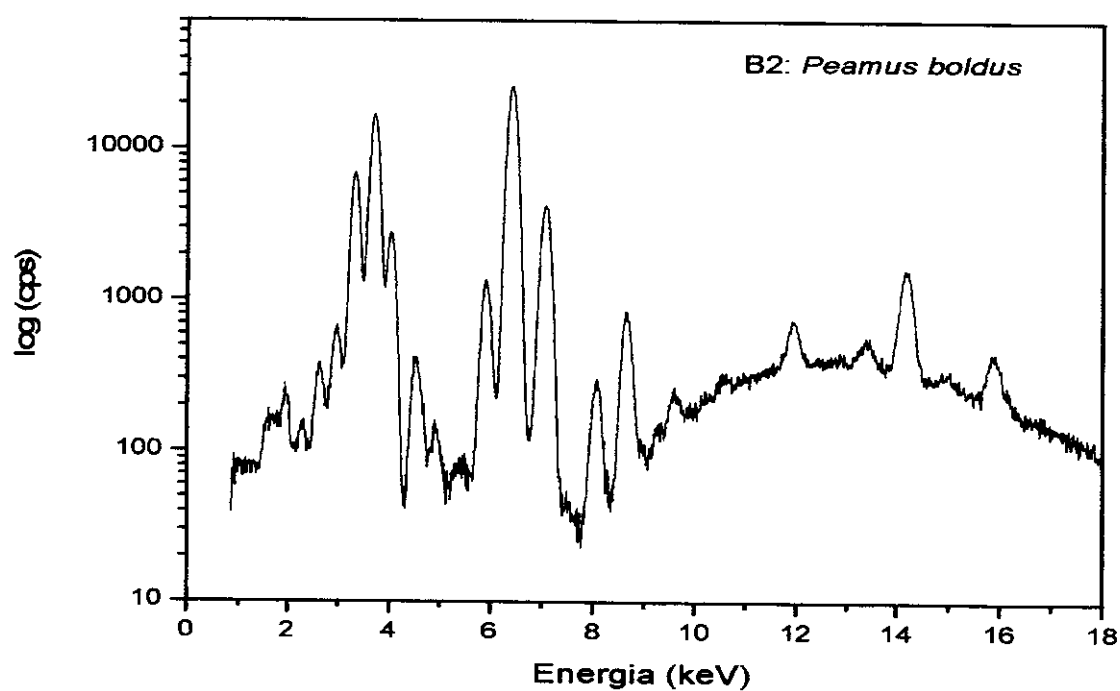
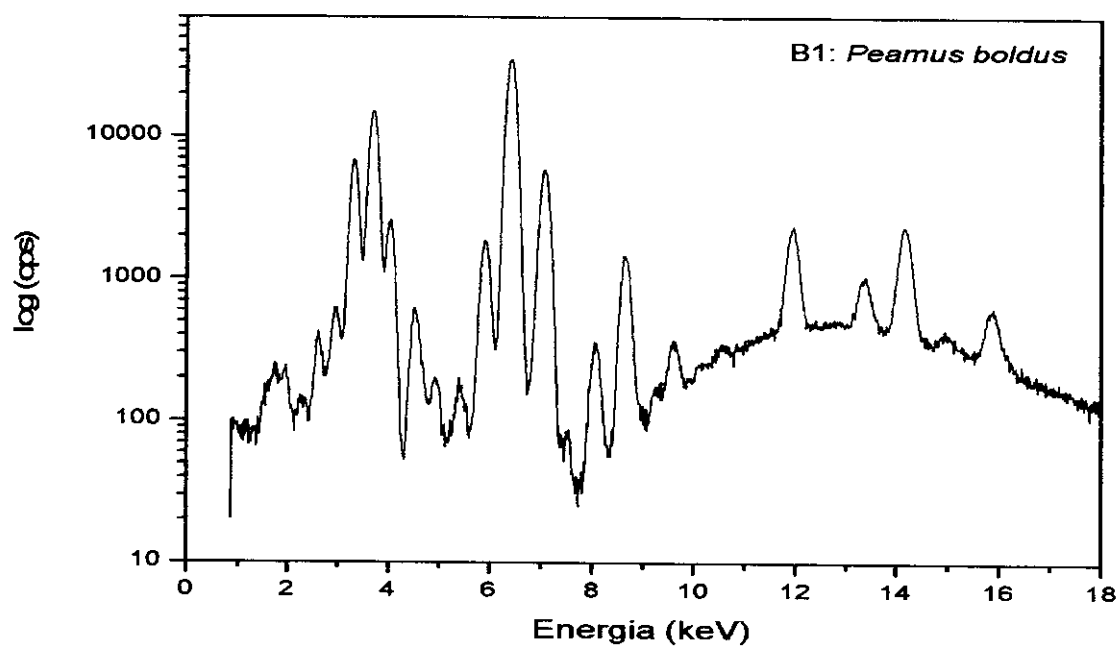
- using ammonium 2-amoni-cyclopentene dithiocarboxylate as a chelating agent, *Talanta*, 52, 435-440, 2000.
115. ALI, Z.; ZUHRI, A.; VOELTER, W. Applications of adsorptive stripping voltammetry for the trace analysis of metals, pharmaceuticals and biomolecules, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1998**, 360, 1-9.
116. ACHTERBERG, E. P.; BRAUNGARDT, C. Stripping Voltammetry for the determination of Trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters, *Analytical Acta.* **1999**, 400, 381-397.
117. ALPIZAR, J.; CLADERA, A.; CERDA, V.; LASTRE, E.; GARCIA, L.; CATASUS, M. Simultaneous flow injection analysis of cadmium and lead with differential pulse voltammetry detection, *Analytica Chimica Acta.* **1997**, 340, 149-158.
118. PALIT, S.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Effects of cobalt on plants, *Botanical Review*, 60(2). **1994**, 149-181.
119. KNOCHEL, A. TXRF, PIXE, SYXRF; Principles, critical comparison and applications, *Fresenius J. Anal.* **1990**, 337, 614-621.
120. JYOTHI, N. V. V, ANITHA K, SIRISHA and JAYARAMA. Simultaneous determination of copper and zinc by anodic stripping voltammetry in *Allamanda cathartica*, *J. Indian Chem. Soc.* **2000**, Vol. 77, 360.
121. MILLER J. C.; MILLER J. N. Estadística para Química Analítica, Segunda edición, Ed. Addison-Wesley Iberoamerica, **1993**.
122. GOSSLIM, R. E.; SMITH, R. P.; HODGE, H. C.; & BRADDOCK, L. E. Clinical toxicology of commercial products, 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, **1984**.

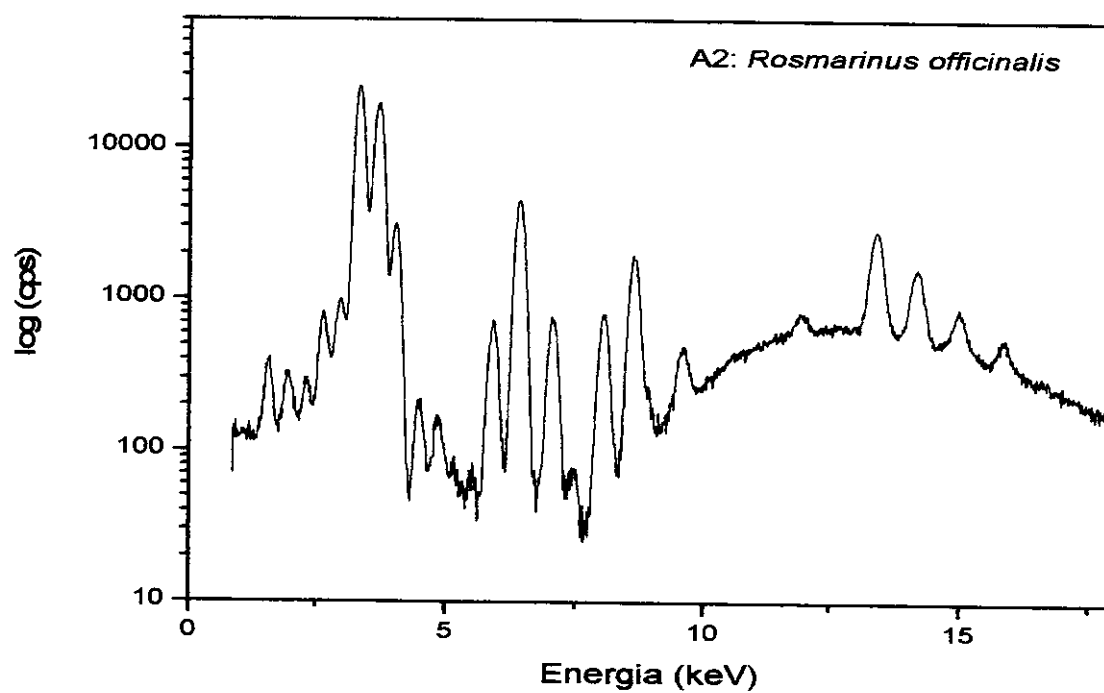
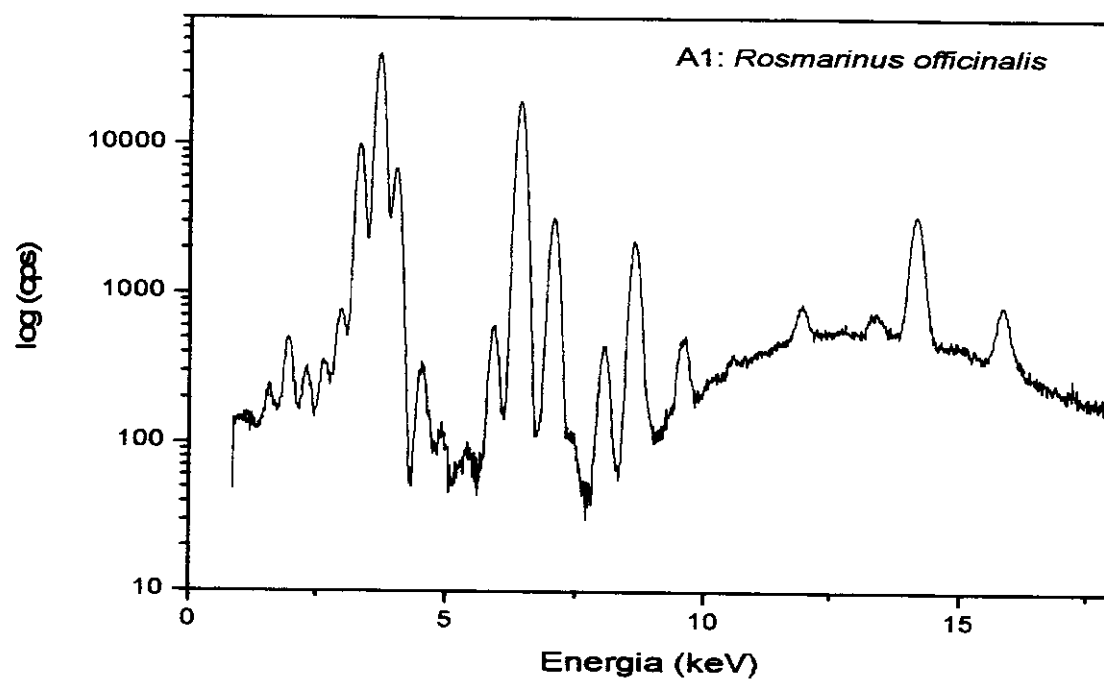
123. SOVLJANSKI, R.; LAZIC, S.; MACKO, V.; & OBRADOVIC, S. Heavy metal contents in medicinal and spice plants cultivated in Yugoslavia, *Herba-Hungarica*. **1990**, 29(3), 59-63.
124. FRIBERG L, NORDBERG GF, VOUK VB. *Handbook of the toxicology of metals*, Vol. II. Amsterdam, Elsevier, **1986**:130-184.
125. US Environmental Protection Agency. *Air quality criteria for lead*. Research Triangle Park, NC, **1986** (Report EPA-600/8-83/028F).
126. COSGROVE E. Childhood lead poisoning: case study traces source to drinking water. *Journal of environmental health*, **1989**, 52:346.
127. ONAGA H. Método de Pré-concentração para determinação simultânea de Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Hg e Pb por fluorescência de raios-X. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, **1996**, SP-Brasil.
128. ALLEN J. BARD; LARRY R. FAUKNER. *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*. Jonh Wiley & Sons, New York, **1980**.
129. MINGORANCE M. D, PERÉZ-VASQUEZ L. M, LACHICA M. J. *Anal. Atomic Spectrom*. **1993**, 8: 853-858.
130. RODUSHKIN I, RUTH T, HUHTASAARI A. *Analytical Chimica Acta*, **1999**, 378: (1-3), 4: 191-200.

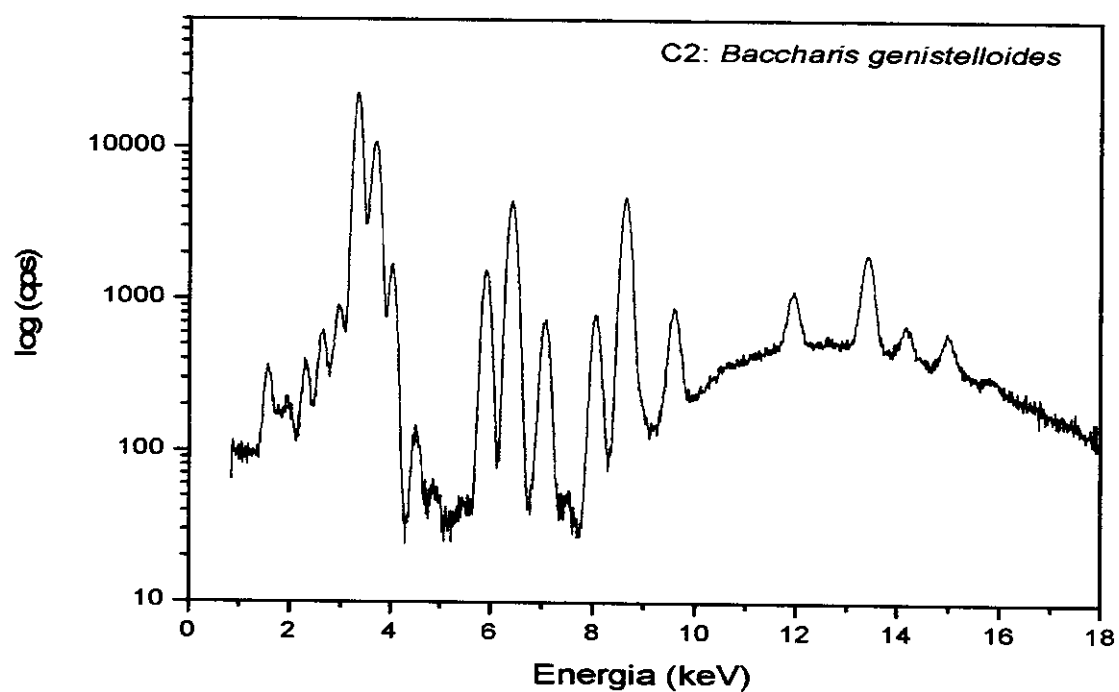
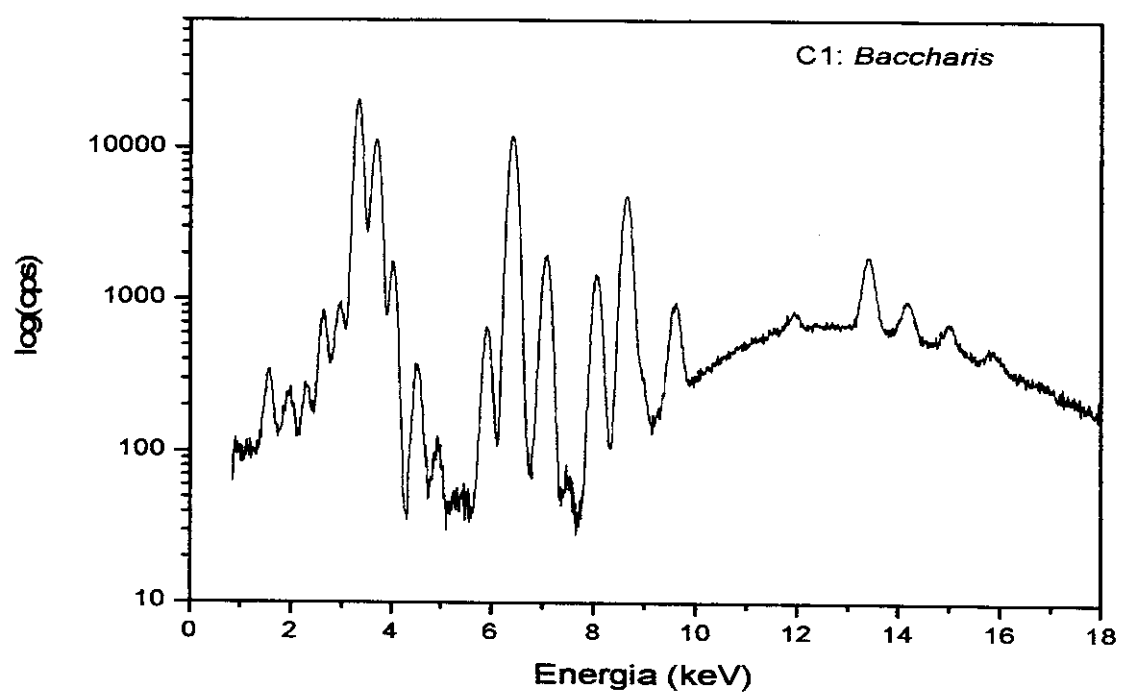
ANEXO I

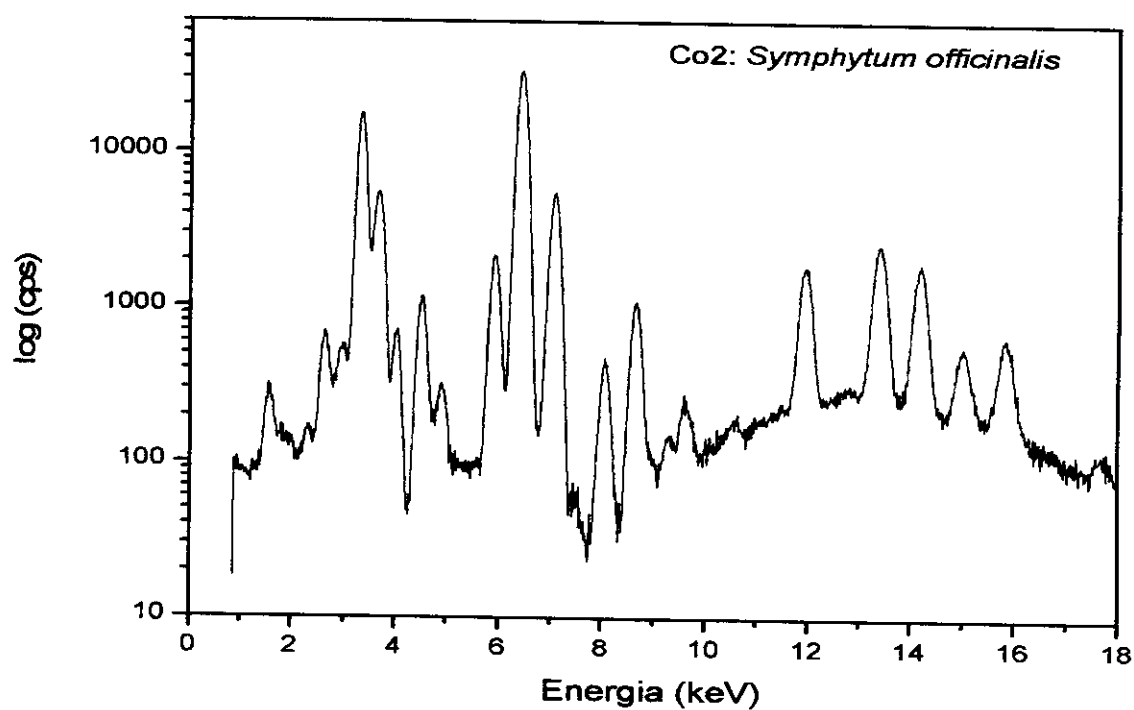
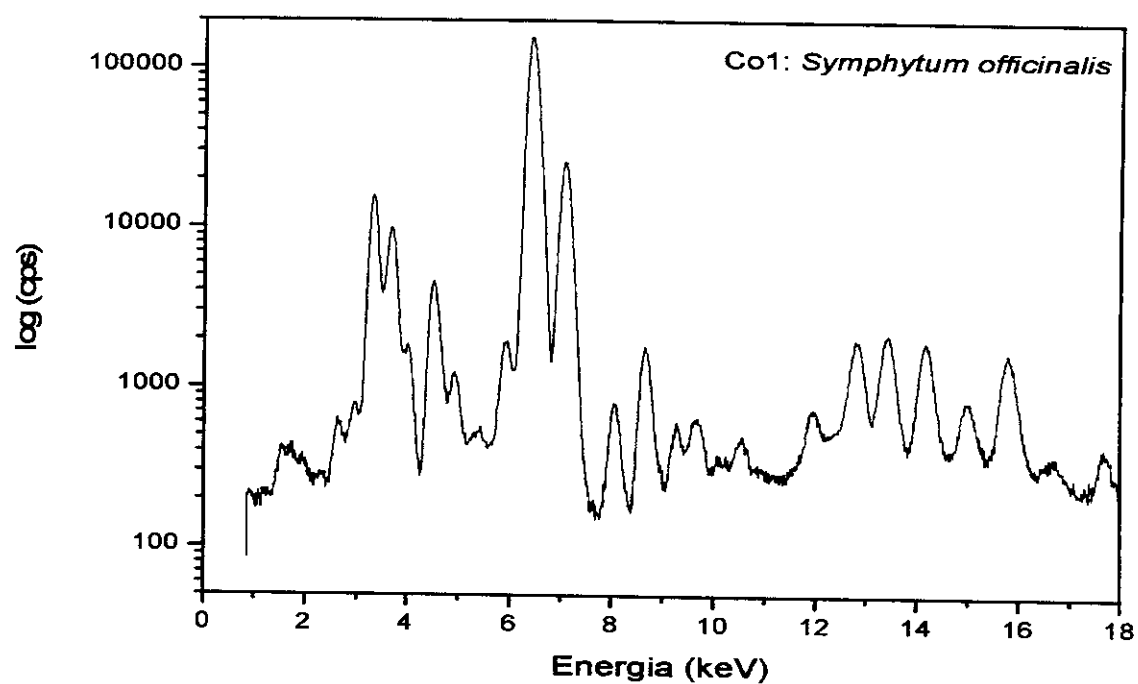


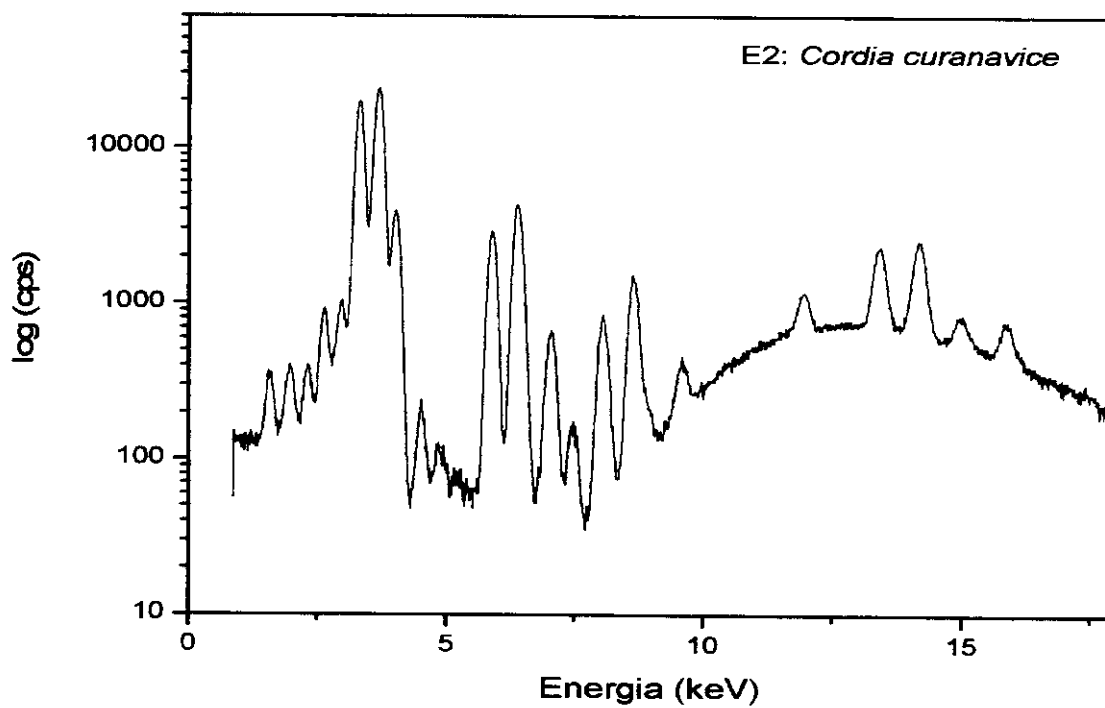
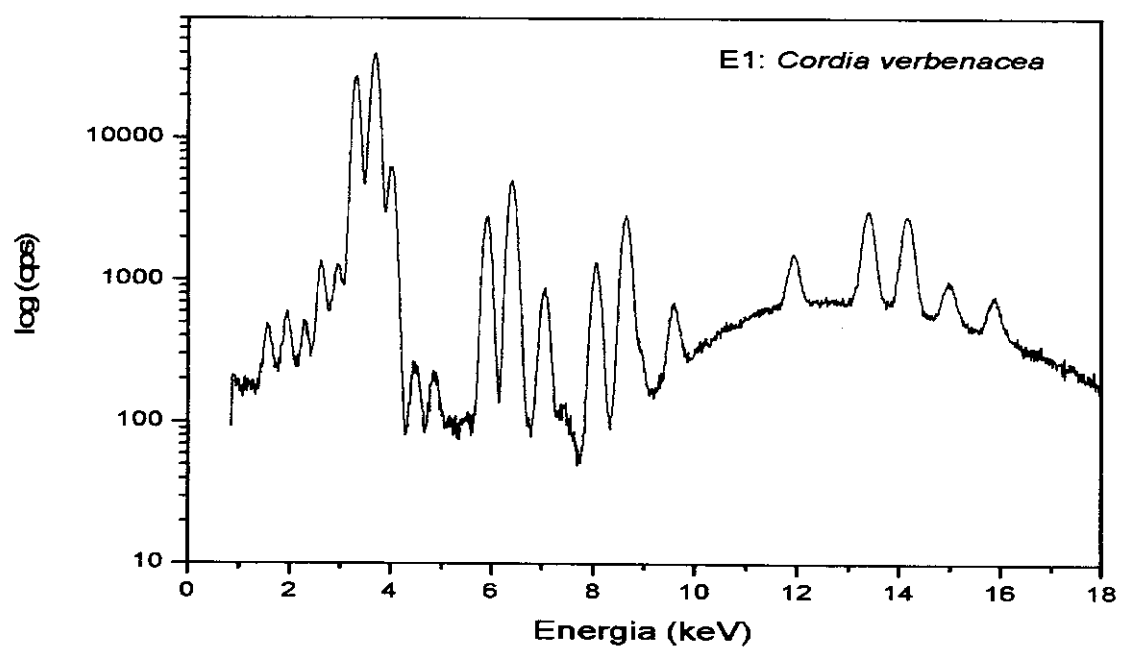


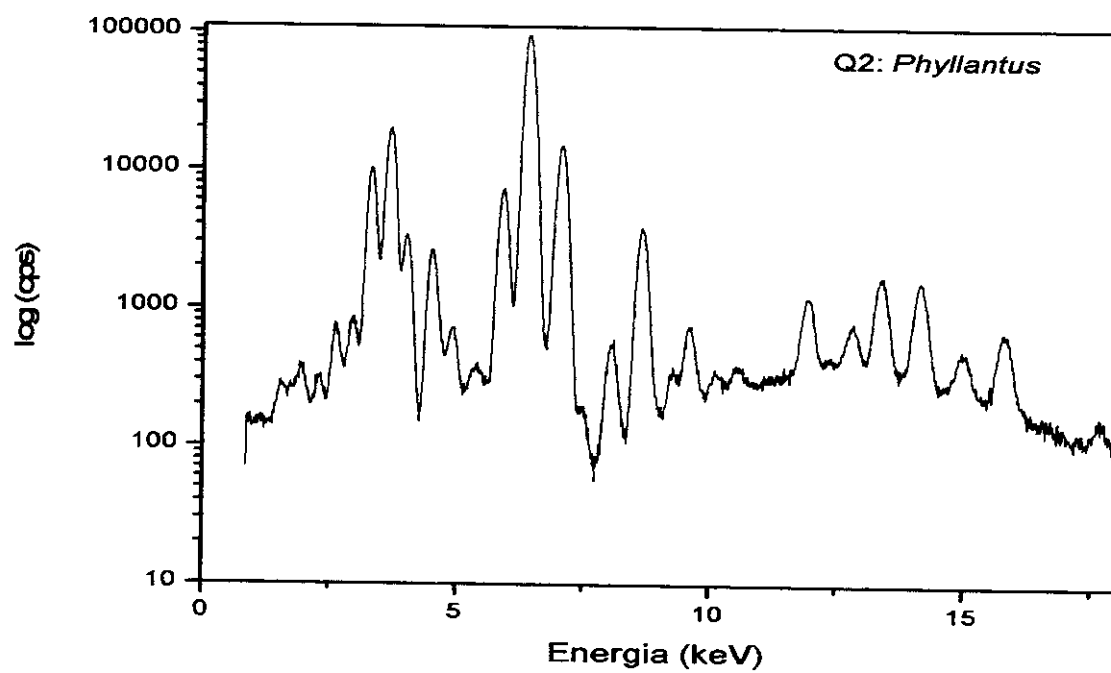
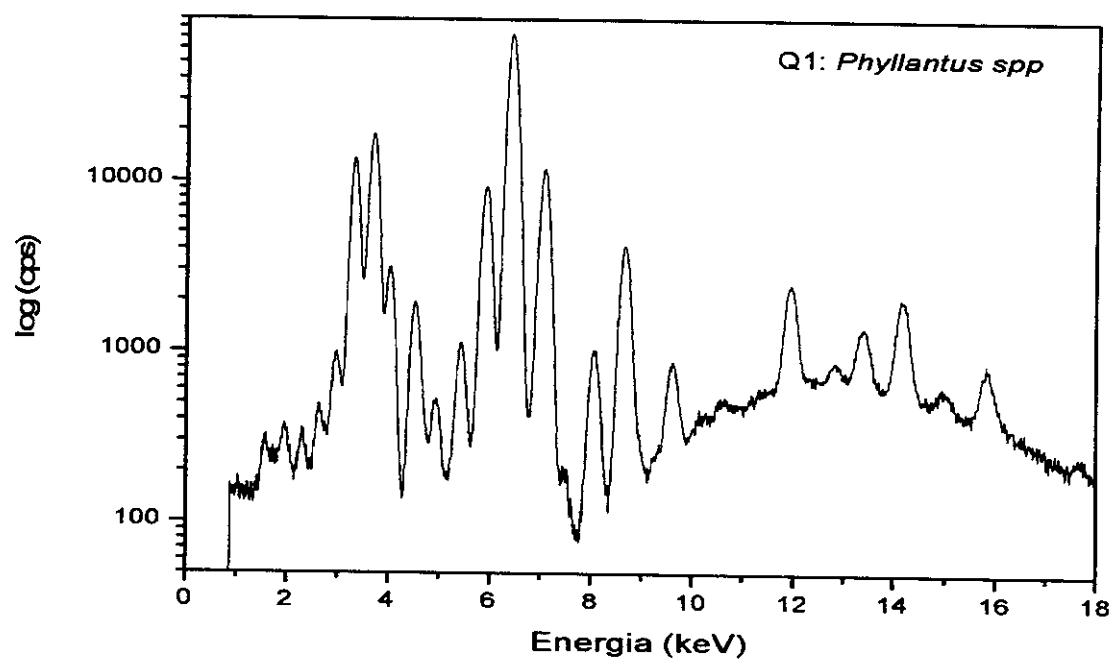


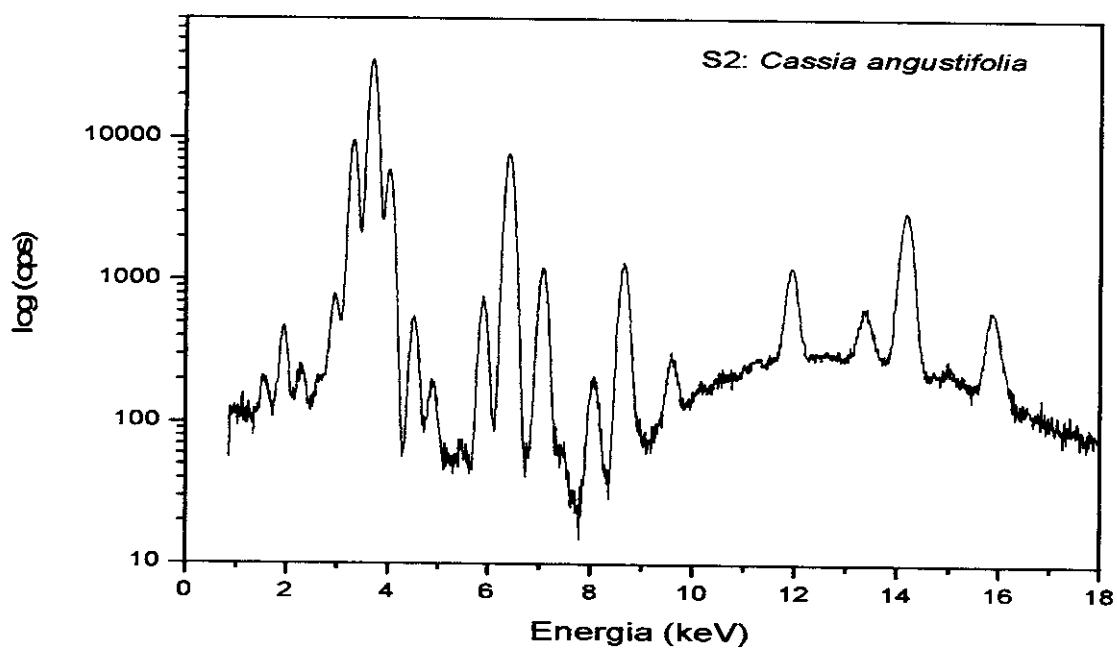
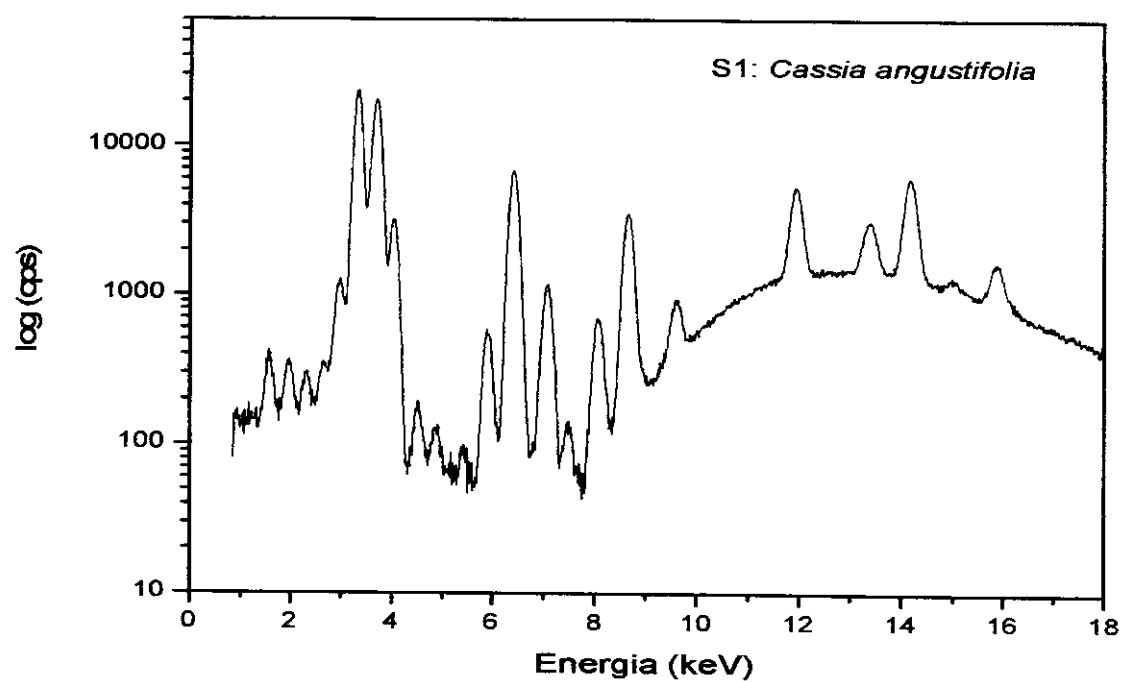


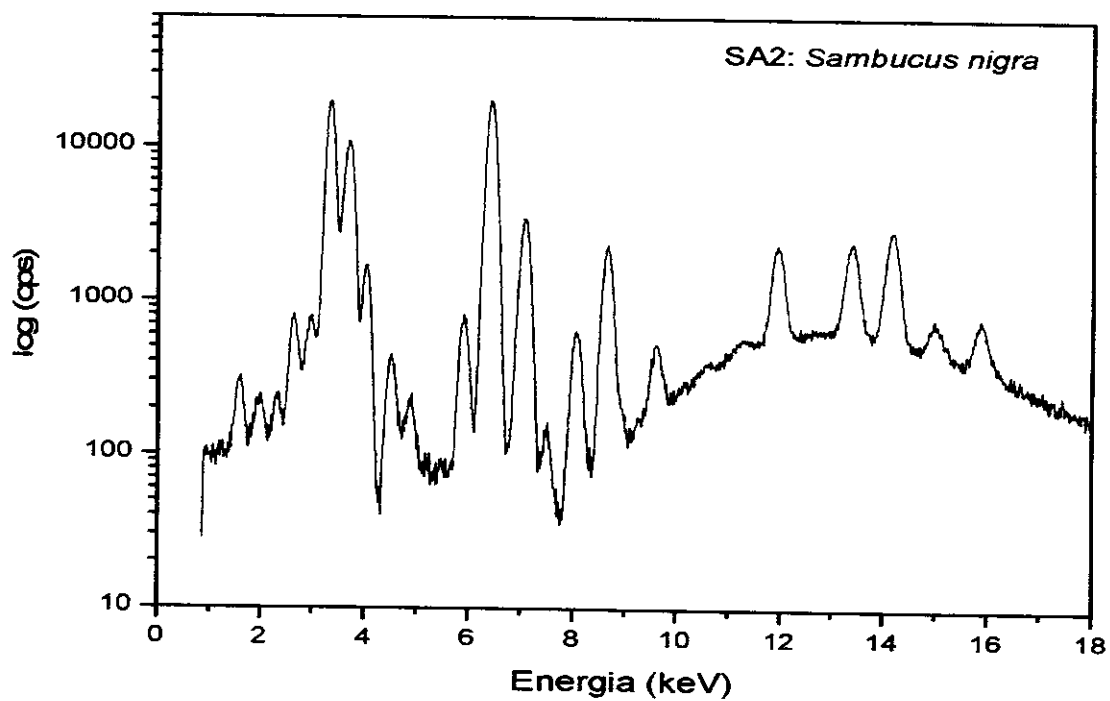
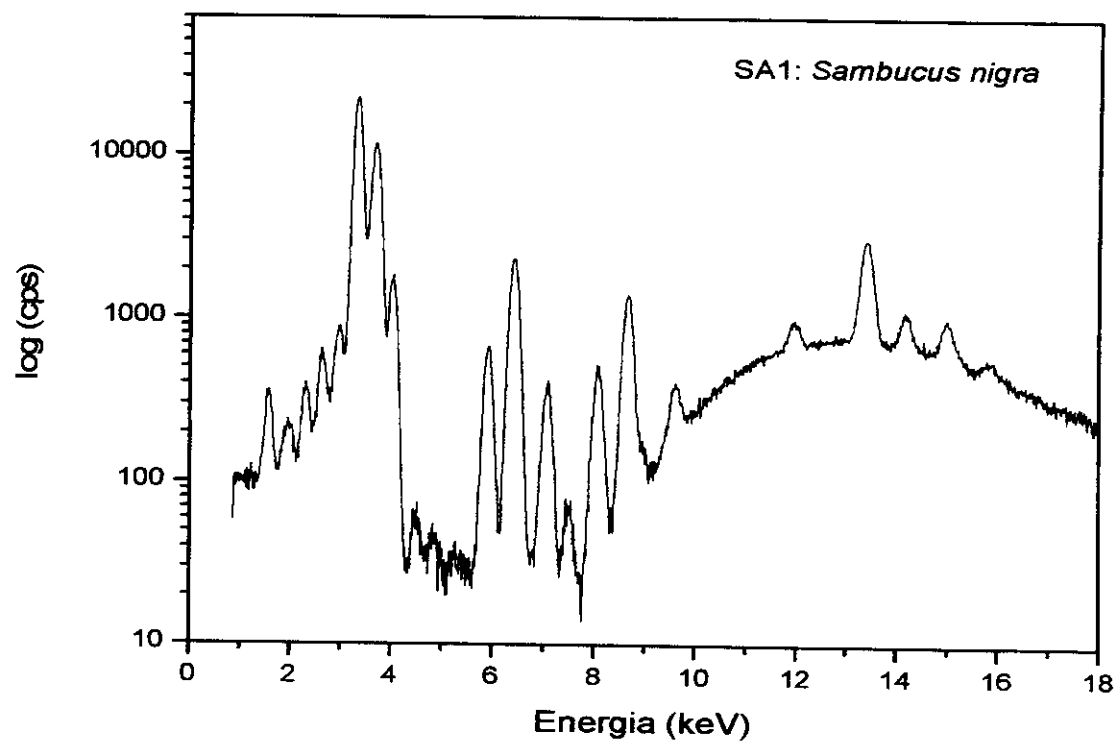












ANEXO II – Linhas de emissão de raios-X.

X-Ray Emission Lines

K-level and L-level emission lines in KeV

No.	Element	Ka1	Ka2	Kb1	La1	La2	Lb1
Lb2	Lg1						
3	Li	0.0543					
4	Be	0.1085					
5	B	0.1833					
6	C	0.277					
7	N	0.3924					
8	O	0.5249					
9	F	0.6768					
10	Ne	0.8486	0.8486				
11	Na	1.04098	1.04098	1.0711			
12	Mg	1.25360	1.25360	1.3022			
13	Al	1.48670	1.48627	1.55745			
14	Si	1.73998	1.73938	1.83594			
15	P	2.0137	2.0127	2.1391			
16	S	2.30784	2.30664	2.46404			
17	Cl	2.62239	2.62078	2.8156			
18	Ar	2.95770	2.95563	3.1905			
19	K	3.3138	3.3111	3.5896			
20	Ca	3.69168	3.68809	4.0127	0.3413	0.3413	0.3449
21	Sc	4.0906	4.0861	4.4605	0.3954	0.3954	0.3996
22	Ti	4.51084	4.50486	4.93181	0.4522	0.4522	0.4584
23	V	4.95220	4.94464	5.42729	0.5113	0.5113	0.5192
24	Cr	5.41472	5.405509	5.94671	0.5728	0.5728	0.5828
25	Mn	5.89875	5.88765	6.49045	0.6374	0.6374	0.6488
26	Fe	6.40384	6.39084	7.05798	0.7050	0.7050	0.7185
27	Co	6.93032	6.91530	7.64943	0.7762	0.7762	0.7914
28	Ni	7.47815	7.46089	8.26466	0.8515	0.8515	0.8688
29	Cu	8.04778	8.02783	8.90529	0.9297	0.9297	0.9498
30	Zn	8.63886	8.61578	9.5720	1.0117	1.0117	1.0347
31	Ga	9.25174	9.22482	10.2642	1.09792	1.09792	1.1248
32	Ge	9.88642	9.85532	10.9821	1.18800	1.18800	1.2185
33	As	10.54372	10.50799	11.7262	1.2820	1.2820	1.3170
34	Se	11.2224	11.1814	12.4959	1.37910	1.37910	1.41923
35	Br	11.9242	11.8776	13.2914	1.48043	1.48043	1.52590
36	Kr	12.649	12.598	14.112	1.5860	1.5860	1.6366
37	Rb	13.3953	13.3358	14.9613	1.69413	1.69256	1.75217
38	Sr	14.1650	14.0979	15.8357	1.80656	1.80474	1.87172
39	Y	14.9584	14.8829	16.7378	1.92256	1.92047	1.99584
40	Zr	15.7751	15.6909	17.6678	2.04236	2.0399	2.1244
2.2194	2.3027						
41	Nb	16.6151	16.5210	18.6225	2.16589	2.1630	2.2574
2.3670	2.4618						

42 Mo	17.47934	17.3743	19.6083	2.29316	2.28985	2.39481	
2.5183	2.6235						
43 Tc	18.3671	18.2508	20.619	2.4240	-	2.5368	-
-							
44 Ru	19.2792	19.1504	21.6568	2.55855	2.55431	2.68323	
2.8360	2.9645						
45 Rh	20.2161	20.0737	22.7236	2.69674	2.69205	2.83441	
3.0013	3.1438						
46 Pd	21.1771	21.0201	23.8187	2.83861	2.83325	2.99022	
3.17179	3.3287						
47 Ag	22.16292	21.9903	24.9424	2.98431	2.97821	3.15094	
3.34781	3.51959						
48 Cd	23.1736	22.9841	26.0955	3.13373	3.12691	3.31657	
3.52812	3.71686						
49 In	24.2097	24.0020	27.2759	3.28694	3.27929	3.48721	
3.71381	3.92081						
50 Sn	25.2713	25.0440	28.4860	3.44398	3.43542	3.66280	
3.90486	4.13112						
51 Sb	26.3591	26.1108	29.7256	3.60472	3.59532	3.84357	
4.10078	4.34779						
52 Te	27.4723	27.2017	30.9957	3.76933	3.7588	4.02958	
4.3017	4.5709						
53 I	28.6120	28.3172	32.2947	3.93765	3.92604	4.22072	
4.5075	4.8009						
54 Xe	29.779	29.458	33.624	4.1099	-	-	-
-							
55 Cs	30.9728	30.6251	34.9869	4.2865	4.2722	4.6198	
4.9359	5.2804						
56 Ba	32.1936	31.8171	36.3782	4.46626	4.45090	4.82753	
5.1565	5.5311						
57 La	33.4418	33.0341	37.8010	4.65097	4.63423	5.0421	
5.3835	5.7885						
58 Ce	34.7197	34.2789	39.2573	4.8402	4.8230	5.2622	
5.6134	6.052						
59 Pr	36.0263	35.5502	40.7482	5.0337	5.0135	5.4889	
5.850	6.3221						
60 Nd	37.3610	36.8474	42.2713	5.2304	5.2077	5.7216	
6.0894	6.6021						
61 Pm	38.7247	38.1712	43.826	5.4325	5.4078	5.961	
6.339	6.892						
62 Sm	40.1181	39.5224	45.413	5.6361	5.6090	6.2051	
6.586	7.178						
63 Eu	41.5422	40.9019	47.0379	5.8457	5.8166	6.4564	
6.8432	7.4803						
64 Gd	42.9962	42.3089	48.697	6.0572	6.0250	6.7132	
7.1028	7.7858						
65 Tb	44.4816	43.7441	50.382	6.2728	6.2380	6.978	
7.3667	8.102						
66 Dy	45.9984	45.2078	52.119	6.4952	6.4577	7.2477	
7.6357	8.4188						
67 Ho	47.5467	46.6997	53.877	6.7198	6.6795	7.5253	
7.911	8.747						
68 Er	49.1277	48.2211	55.681	6.9487	6.9050	7.8109	
8.1890	9.089						
69 Tm	50.7416	49.7726	57.517	7.1799	7.1331	8.101	
8.468	9.426						

70	Yb	52.3889	51.3540	59.37	7.4156	7.3673	8.4018	
8.7588		9.7801						
71	Lu	54.0698	52.9650	61.283	7.6555	7.6049	8.7090	
9.0489		10.1434						
72	Hf	55.7902	54.6114	63.234	7.8990	7.8446	9.0227	
9.3473		10.5158						
73	Ta	57.532	56.277	65.223	8.1461	8.0879	9.3431	
9.6518		10.8952						
74	W	59.31824	57.9817	67.2443	8.3976	8.3352	9.67235	
9.9615		11.2859						
75	Re	61.1403	59.7179	69.310	8.6525	8.5862	10.0100	
10.2752		11.6854						
76	Os	63.0005	61.4867	71.413	8.9117	8.8410	10.3553	
10.5985		12.0953						
77	Ir	64.8956	63.2867	73.5608	9.1751	9.0995	10.7083	
10.9203		12.5126						
78	Pt	66.832	65.112	75.748	9.4423	9.3618	11.0707	
11.2505		12.9420						
79	Au	68.8037	66.9895	77.984	9.7133	9.6280	11.4423	
11.5847		13.3817						
80	Hg	70.819	68.895	80.253	9.9888	9.8976	11.8226	
11.9241		13.8301						
81	Tl	72.8715	70.8319	82.576	10.2685	10.1728	12.2133	
12.2715		14.2915						
82	Pb	74.9694	72.8042	84.936	10.5515	10.4495	12.6137	
12.6226		14.7644						
83	Bi	77.1079	74.8148	87.343	10.8388	10.73091	13.0235	
12.9799		15.2477						
84	Po	79.290	76.862	89.80	11.1308	11.0158	13.447	
13.3404		15.744						
85	At	81.52	78.95	92.30	11.4268	11.3048	13.876	-
16.251								
86	Rn	83.78	81.07	94.87	11.7270	11.5979	14.316	-
16.770								
87	Fr	86.10	83.23	97.47	12.0313	11.8950	14.770	
14.45		17.303						
88	Ra	88.47	85.43	100.13	12.3397	12.1962	15.2358	
14.8414		17.849						
89	Ac	90.884	87.67	102.85	12.6520	12.5008	15.713	-
18.408								
90	Th	93.350	89.953	105.609	12.9687	12.8096	16.2022	
15.6237		18.9825						
91	Pa	95.868	92.287	108.427	13.2907	13.1222	16.702	
16.024		19.568						
92	U	98.439	94.665	111.300	13.6147	13.4388	17.2200	
16.4283		20.1671						
93	Np	-	-	-	13.9441	13.7597	17.7502	
16.8400		20.7848						
94	Pu	-	-	-	14.2786	14.0842	18.2937	
17.2553		21.4173						
95	Am	-	-	-	14.6172	14.4119	18.8520	
17.6765		22.0652						

Values are from J. A. Bearden, "X-Ray Wavelengths", *Review of Modern Physics*, (January 1967) pp. 86-99, unless otherwise noted.