

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE
CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM
FORMULAÇÕES MINERAIS E FITOTERÁPICAS
EMPREGANDO MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Carla Simone Sant'Ana

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE CONTAMINANTES
INORGÂNICOS EM FORMULAÇÕES MINERAIS E
FITOTERÁPICAS EMPREGANDO MÉTODOS
VOLTAMÉTRICOS**

por

Carla Simone Sant'Ana

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química.**

Orientador: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE CONTAMINANTES
INORGÂNICOS EM FORMULAÇÕES MINERAIS E FITOTERÁPICAS
EMPREGANDO MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS**

elaborada por
Carla Simone Sant'Ana

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Profa. Dra. Jacqueline Arguello da Silva (UFRGS)

Profa. Dra. Carine Viana Silva (UNICRUZ)

Santa Maria, 12 de julho de 2011.

*“Ninguém é dono da sua felicidade, por isso não entregue sua alegria,
sua paz, sua vida nas mãos de ninguém, absolutamente ninguém.*

*Somos livres, não pertencemos a ninguém e não podemos querer
ser donos dos desejos, da vontade ou dos sonhos de quem quer que seja.*

A razão da sua vida é você mesmo.

A tua paz interior é a tua meta de vida.

Pare de colocar sua felicidade cada dia mais distante de você...

*Não coloque objetivos longe demais de suas mãos,
abraçe os que estão ao seu alcance hoje.*

.....você é reflexo do que pensa diariamente.

*Com um sorriso no rosto as pessoas terão as melhores impressões de você,
e você estará afirmando para você mesmo, que está "pronto" para ser feliz.*

Trabalhe, trabalhe muito a seu favor.

Pare de esperar a felicidade sem esforços.

Pare de exigir das pessoas aquilo que nem você conquistou ainda.

Critique menos, trabalhe mais.

E, não se esqueça nunca de agradecer.

Agradeça tudo que está em sua vida nesse momento, inclusive a dor.

*Nossa compreensão do universo, ainda é muito pequena para julgar
o que quer que seja na nossa vida.*

*Por fim, acredite que não estaremos sozinhos em nossas caminhadas,
um instante sequer...*

...se nossos passos forem dados em busca de justiça e igualdade!!!

"A grandeza não consiste em receber honras, mas em merecê-las."

“Aristóteles”

Dedico este trabalho a minha mãe, Maria Lourdes Arnhold,
por seu apoio e incentivo durante estes anos.

Ao meu marido, Paulo Jose Sant'Ana,
pela compreensão, ajuda,
cumplicidade, grandiosa paciência
e principalmente pelo seu amor.

Ao meu filho amado, Lucas,
pela sua compreensão e carinho.
Sem vocês o caminho teria sido muito
mais difícil.

Obrigada de coração por tudo mesmo!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho, meus sinceros agradecimentos pela oportunidade, orientação, paciência e compreensão, e por todas as contribuições para a minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento e a Prof^a. Dr^a. Denise Bohrer do Nascimento pela amizade.

A todos os colegas e amigos do LACHEM, pela convivência, pelo carinho, pela ajuda, pelo apoio e os momentos de descontração vividos durante todo esse período.

Gostaria de agradecer em especial a minhas queridas amigas, companheiras nas horas boas e ruins, Daiane Dias, Mariele Martini, Tatiana Falcão, Ana Paula Moreira, Ananda Guarda, Luciana Gobo, Géssica Silveira, Fernanda Lima, Paula Hamerski e ao meu amigo Alexandre Schneider, pelos conselhos, ajuda e amizade sincera.

Ao meu marido, Paulo Sant'Ana, pelo amor incondicional, apoio e incentivo. Ao meu filho Lucas, pela compreensão diante da minha ausência e por amor que sempre me trouxe muita força.

A todos os funcionários, colegas e professores que colaboraram indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade oferecida de realizar o curso de mestrado.

À CAPES pela concessão da bolsa do mestrado.

“A Deus pela vida!”

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM FORMULAÇÕES MINERAIS E FITOTERÁPICAS EMPREGANDO MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS

AUTORA: CARLA SIMONE SANT'ANA
ORIENTADOR: LEANDRO MACHADO DE CARVALHO
Local e Data da Defesa: Santa Maria, 12 de julho de 2011.

Neste trabalho, a determinação voltamétrica seqüencial dos elementos Urânio, Vanádio, Antimônio, Cádmio, Chumbo, Zinco, Tálcio e Cromo foi estudada em diversos tipos de matrizes considerando que todos esses elementos possuem relevância do ponto de vista toxicológico. As determinações simultâneas e seqüenciais de metais por voltametria tem sido amplamente estudadas nos últimos anos, por oferecerem vantagens importantes, como a redução do tempo de análise e uso reduzido de reagentes.

Os metais U, V, Sb, Cd, Pb e Zn foram determinados por voltametria adsortiva de redissolução catódica (AdCSV) utilizando ácido clorânico como complexante em pH 2,3. Já o Cr foi determinado utilizando-se DTPA como complexante por voltametria adsortiva de redissolução catódica (AdCSV) em pH 6,2 e o Tl foi determinado por voltametria de redissolução anódica (ASV) utilizando EDTA como complexante em pH 4,6. Foram empregados métodos de digestão por via úmida nas amostras.

A metodologia foi empregada na determinação destes elementos como contaminantes em fertilizantes minerais, plantas medicinais e formulações fitoterápicas (industrializadas e manipuladas). Com a análise dos elementos propostos nas distintas matrizes, obtiveram-se as seguintes faixas de concentração destes contaminantes nas amostras: Fertilizantes - U de 32,3 a 429,7 mg/Kg; V de 3,2 a 870mg/Kg; Sb de 60,1 a 215,1 mg/Kg; Cd de 29,5 a 217,7 mg/Kg; Pb de 69,9 a 529,5 mg/Kg; Zn <15,4; Cr de 14,1 a 422,1 mg/Kg; Tl de 0,4 a 20,8 mg/Kg; Plantas Mediciniais – Pb de 32,8 a 143,0 mg/Kg; Cd de 90,8 a 107,6 mg/Kg; Cr de 11,6 a

20,5 mg/Kg; TI de 5,6 a 33,7 mg/Kg; Fitoterápicos – V de 98,0 a 1850,0 mg/Kg; Sb de 0,0 a 81,8 mg/Kg; Pb de 155,8 a 336,5 mg/Kg; Cd de 12,8 a 49,3 mg/Kg; Cr 11,2 a 19,9 mg/Kg e TI 19,4 a 332,9 mg/Kg.

Palavras-Chaves: metais, voltametria sequencial, matrizes minerais e fitoterápicos, AdCSV e ASV.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Postgraduate Program in Chemistry
Federal University of Santa Maria

SEQUENTIAL DETERMINATION OF INORGANIC CONTAMINANTS IN MINERAL AND PHYTOTHERAPEUTIC FORMULATIONS BY VOLTAMMETRIC METHODS

AUTHOR: CARLA SIMONE SANT'ANA
ADVISOR: LEANDRO MACHADO DE CARVALHO
Place and Date of Defense: Santa Maria, July 12, 2011

In this work, the voltammetric determination of the sequential elements Uranium, Vanadium, Antimony, Cadmium, Lead, Zinc, Chromium and Thallium have been studied in several arrays considering that all these elements are of some relevance from the toxicological point of view. The simultaneous and sequential determinations of metals by voltammetry has been widely studied in recent years due to the fact that they offer important advantages such as reducing analysis time and the decreased use of reagents.

The metals U, V, Sb, Cd, Pb and Zn were determined by adsorptive cathodic stripping voltammetry (AdCSV) using chloranilic acid as a complexing agent at pH 2.3. Chromium was determined using DTPA as a complexing agent by adsorptive cathodic stripping voltammetry (AdCSV) at pH 6.2 and Tl was determined by anodic stripping voltammetry (ASV) using EDTA as a complexing agent at pH 4.6. Digestion methods by humid means were used in the samples.

Methodology was used in the determining these elements as contaminants in fertilizers, medicinal plants and herbal formulations (both industrialized and manipulated). With the analysis of the proposed elements in different arrays, we obtained the following concentration ranges of these contaminants in the samples: Fertilizers - U 32.3 to 429.7 mg / kg, V 3.2 to 870mg/Kg; of Sb 60.1 to 215.1 mg / kg, Cd from 29.5 to 217.7 mg / kg, Pb from 69.9 to 529.5 mg / kg, Zn <15.4, Cr 14.1 to 422 , 1 mg / kg; Tl 0.4 to 20.8 mg / kg; Medicinal Plants - Pb from 32.8 to 143.0 mg / kg, Cd from 90.8 to 107.6 mg / kg; of Cr 11.6 to 20.5 mg / kg; Tl 5.6 to 33.7 mg / kg; Botanicals - V 98.0 to 1850.0 mg / kg; Sb 0.0 to 81.8 mg / kg, Pb from 155.8 to 336.5

mg / kg, Cd from 12.8 to 49.3 mg / kg, Cr 11.2 to 19.9 mg / kg and 19.4 to 332.9 mg, Tl mg/ Kg.

Key Words: metals, sequential voltammetry, minerals and herbal arrays, AdCSV and ASV.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Desenho representativo de uma célula de trabalho ou célula voltamétrica. 18
- Figura 2:** Estrutura molecular dos ligantes: A) Ácido Cloranílico (CA); B) Ácido dietilenotriamino-pentaacético (DTPA) e C) Ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA). 30
- Figura 3:** Voltamogramas de uma amostra de água, utilizando o método sequencial com adição do padrão. 35
- Figura 4:** Fluxograma do procedimento analítico do método simultâneo e seqüencial. 36
- Figura 5:** Voltamogramas de uma amostra de fertilizante sólido após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. 40
- Figura 6:** Distribuição dos elementos em relação ao percentual de fósforo das amostras de fertilizantes fosfatados **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7:** Voltamogramas de uma amostra de planta medicinal após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. 45
- Figura 8:** Voltamogramas de uma amostra de formulação fitoterápica após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros voltamétricos utilizados para a determinação sequencial e simultânea dos elementos.	29
Tabela 2: Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 1, da análise sequencial com CA.	31
Tabela 3: Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 2, da análise sequencial com DTPA.	32
Tabela 4: Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 3, da análise sequencial com EDTA.	33
Tabela 5: Constantes de Formação para EDTA e DTPA (NIST).	33
Tabela 6: Constantes de Formação para CA, EDTA e DTPA (NIST).	34
Tabela 7: Figuras de mérito para quantificação dos elementos envolvidos na análise voltamétrica sequencial e simultânea.	38
Tabela 8: Determinação dos elementos U, V, Sb, Pb, Cd, Zn, Cr, Tl na análise sequencial, em amostras reais de fertilizantes, formulações fitoterápicas e plantas medicinais e suas respectivas recuperações.	39
Tabela 9: Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de fertilizantes fosfatados.	41
Tabela 10: Limites de quantificação para as amostras de fertilizante sólido, comparados a Legislação do MAPA.	42
Tabela 11: Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de plantas medicinais.	44
Tabela 12: Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de formulações fitoterápicas.	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AdCSV	Voltametria Adsorativa de Redissolução Catódica
ASV	Voltametria de Redissolução Anódica
CA	cido Cloranílico
CSV	Voltametria de Redissolução Catódica
DME	Eletrodo Gotejante de Mercúrio
DP	Pulso Diferencial
DTPA	cido dietilenotriaminopentaactico
EDTA	cido etilenodiaminotetraacético
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
HMDE	Eletrodo de Gota de Mercúrio pendente
MME	Multi Mode Mercury Electrode
NIST	National Institute of Standards and Technology

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Características dos metais estudados	4
2.1.1 Urânio	5
2.1.2 Vanádio	6
2.1.3 Antimônio.....	7
2.1.4 Tálho	8
2.1.5 Zinco	9
2.1.6 Cromo	9
2.1.7 Cádmió	10
2.1.8 Chumbo	10
2.2 Características das amostras analisadas	11
2.2.1 Plantas medicinais e fitoterápicos	11
2.2.2 Fertilizantes	15
2.3 Análise voltamétrica	17
2.3.1 Métodos voltamétricos de redissolução	19
2.3.2 Voltametria de redissolução anódica (ASV)	20
2.3.3 Voltametria adsortiva de redissolução (AdSV)	20
2.3.4 Determinação voltamétrica sequencial	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 Instrumentação.....	23
3.2 Reagentes e soluções	23
3.3 Amostras analisadas	24
3.4 Procedimentos analíticos	25
3.4.1 Controle de contaminação externa e materiais de uso	25
3.4.2 Tratamento das amostras	25
3.4.3 Análise voltamétrica sequencial	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Otimização das condições experimentais.....	28
4.2 Análise Simultânea e Sequencial.....	29

4.3 Figuras de Mérito	37
4.4 Determinação sequencial dos elementos em amostras minerais e fitoterápicas	Erro! Indicador não definido.
4.4.1 Análise elementar em amostras de Fertilizantes Fosfatados.....	40
4.4.2 Análise elementar em amostras de Plantas Medicinais	44
Tabela 11: Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de plantas medicinais.	44
4.4.3 Análise elementar em amostras de Formulações Fitoterápicas	45
5 CONCLUSÃO	48
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

Os metais desempenham papéis importantes nos processos biológicos, atuando tanto como componentes essenciais como também elementos tóxicos (PIZZOL et al., 2011). No organismo humano os elementos-traço podem ser divididos em essenciais e não essenciais. Os primeiros são fundamentais para o desenvolvimento e a manutenção da vida, devido à sua participação em diversos processos bioquímicos. Sua deficiência ou ausência na dieta ocasiona patologias que podem ter seus sintomas minimizados ou até eliminados através de uma suplementação alimentar. Por outro lado, o excesso destes elementos pode causar efeitos tóxicos ao organismo (PARSONS et al., 2007). Normalmente a diferença entre a concentração considerada tóxica e essencial é muito pequena, considerando que um metal pode atuar na atividade biológica de outro aumentando ou diminuindo sua toxicidade. Os elementos não essenciais são aqueles que não participam do metabolismo humano e podem gerar sérios danos à saúde (VANDECASTEELE et al., 1993).

Várias definições de metais pesados podem ser encontradas na literatura; no entanto, há um consenso de que metais pesados sejam elementos químicos com densidade igual ou maior a 5 g/cm³ (MALAVOLTA, 1994). Considerando-se essa definição, dos 92 elementos químicos de ocorrência natural, 21 são não metais, 16 são metais leves e o restante são metais pesados, dos quais, apenas 17 apresentam algum significado biológico para as células: ferro (Fe), molibdênio (Mo) e manganês (Mn) são importantes elementos-traço com baixa toxicidade, enquanto zinco (Zn), níquel (Ni), cobre (Cu), vanádio (V), cobalto (Co), tungstênio (W) e cromo (Cr) são de moderada importância como elementos-traço, e apresentam toxicidade em concentrações pouco acima das fisiológicas. Por fim, arsênio (As), prata (Ag), antimônio (Sb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e urânio (U) devem ser considerados como elementos tóxicos (NIES, 1999).

A toxicidade de qualquer elemento dependerá de sua concentração, período e nível de exposição como também da forma química em que as espécies do elemento estão presentes no indivíduo. Estes elementos podem reagir com as

proteínas, DNA, RNA e outras substâncias, afetando os processos metabólicos, resultando em mudanças fisiológicas (PARSONS et al., 2007).

Insumos agrícolas, subprodutos usados com finalidade corretiva ou nutricional na agricultura são uma fonte de contaminação com metais pesados. Fertilizantes fosfatados contêm metais pesados da rocha que os originou ou dos ingredientes usados na industrialização do fertilizante. Metais pesados podem persistir no solo, por causa da sua baixa mobilidade, ou serem absorvidos pelas plantas e ingressarem na cadeia alimentar (CAMELO et al., 1990; ABDEL-HALLEM et al., 2001).

A absorção dos metais pelas plantas pode envolver os processos de interceptação radicular, difusão ou fluxo de massa, sendo que os dois últimos processos são mais importantes. Os metais pesados chegam ao xilema predominantemente via apoplástico. A capacidade de acumular ou excluir metais pesados por determinadas plantas baseia-se na sua predisposição genética, que determina seu potencial de absorção, favorecida pela disponibilidade, concentração e mobilidade destes no solo. Esta disponibilidade dos metais está diretamente relacionada ao pH do solo (AZEVEDO et al., 2005).

Em relação aos métodos analíticos mais populares para a análise elementar, a voltametria têm sido amplamente utilizada em análises de especiação química de metais por apresentar algumas vantagens, como baixo custo, simplicidade operacional, baixos limites de detecção, determinação de espécies de forma simultânea e seqüencial, e a possibilidade de análise em diferentes matrizes sem a necessidade de tratamento da amostra em alguns casos, como por exemplo, matrizes com alta salinidade (VAN DEN BERG et al., 1994).

Neste trabalho foram utilizadas, a voltametria adsortiva de redissolução catódica (AdCSV) e voltametria de redissolução anódica (ASV), para a determinação simultânea e sequencial dos metais em estudo na presença de complexantes adequados para os elementos urânio, vanádio, antimônio, cádmio, chumbo, zinco, tálio e cromo. Todos possuem relevância, seja do ponto de vista toxicológico, nutricional ou ambiental em diversos tipos de matrizes. As matrizes que estão sendo utilizadas como objetos de estudo são de origem mineral e fitoterápica. Os elementos foram determinados em amostras de fertilizantes fosfatados, formulações

fitoterápicas para emagrecimento e plantas medicinais. Métodos de digestão por via úmida das amostras foram empregados para a decomposição das amostras antes da análise voltamétrica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características dos metais estudados

No organismo humano, elementos essenciais são aqueles fundamentais para o desenvolvimento e a manutenção da vida, por participarem dos processos bioquímicos do corpo. Deficiência e ausência desses elementos na dieta podem gerar patologias relacionadas a carência dos mesmos; assim como o excesso destes, pode desencadear processos de intoxicação aguda e/ou crônica. Os elementos não essenciais são aqueles que não apresentam funções definidas no organismo e geralmente apresentam efeitos tóxicos. A toxicidade está relacionada com as quantidades ingeridas, grau e tempo de exposição e da capacidade de desintoxicação de cada indivíduo (TAVARES et al., 1992).

Os metais podem ser divididos do ponto de vista biológico como:

- Importantes elementos-traço com baixa toxicidade: ferro (Fe), molibdênio (Mo) e manganês (Mn).

- Moderada importância como elementos-traço, e apresentam toxicidade em concentrações pouco acima das fisiológicas: zinco (Zn), níquel (Ni), cobre (Cu), vanádio (V), cobalto (Co), tungstênio (W) e cromo (Cr).

- Elementos tóxicos: arsênio (As), prata (Ag), antimônio (Sb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e urânio (U) (NIES, 1999).

As principais fontes de poluição por metais pesados são provenientes dos efluentes industriais, da mineração e das lavouras (AGUIAR et al., 2002). A poluição aquática por metais pesados é considerada como uma das formas mais nocivas de poluição ambiental, uma vez que esses metais não são degradáveis e tendem a acumular-se nos organismos vivos, alterando a biota e causando a intoxicação e envenenamento dos seres vivos que fazem parte dessa cadeia alimentar (JARDIM, 1983). Outro ponto crítico em relação à contaminação por metais pesados advém da capacidade de retenção desses pelo solo e sua mobilidade nesse meio. Isso faz

com que esses metais consigam atingir lençóis freáticos, e possam ser absorvidos pelas plantas, podendo dessa forma, atingir a cadeia alimentar (NIES, 1999). Nos seres vivos, tais elementos reagem com ligantes presentes em membranas, o que muitas vezes, lhes conferem propriedades de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar, persistindo no ambiente e provocando distúrbios nos processos metabólicos (TAVARES et al., 1992).

Os elementos em estudo neste trabalho, U, V, Sb, Pb, Cd, Zn, Cr e Tl, possuem relevância, seja do ponto de vista toxicológico, nutricional ou ambiental em diversos tipos de matrizes, e algumas de suas características serão descritas a seguir.

2.1.1 Urânio

O urânio é o último elemento químico natural da tabela periódica. É o átomo com o núcleo mais pesado que existe naturalmente na Terra: contém 92 prótons e 135 a 148 nêutrons. Quando puro, é um sólido, metálico e radioativo, muito duro e denso, de aspecto cinza à branco prateado, muito semelhante a coloração do níquel (AVELAR et al., 2007).

Na água o íon uranila (UO_2^{2+}) forma compostos estáveis com fosfatos e carbonatos. Vários fatores, tais como o teor nas rochas, nos sedimentos ou solos, os efeitos climáticos e a presença de outros elementos químicos afetam a distribuição de urânio nas águas. A ingestão de urânio pelo homem ocorre através dos alimentos, ar e da água. No entanto, a água é considerada a fonte mais importante de ingestão de urânio (BONOTTO, 1994).

No Brasil não existe referência direta sobre a concentração de atividade recomendada de urânio em água potável. A portaria nº 36/GM do Ministério da Saúde, de 19 de janeiro de 1990 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1990) estabeleceu valores de referências de 0,1 Bq/L para radioatividade alfa total. Se os valores encontrados forem superiores ao citado, fica obrigatória a identificação dos radionuclídeos presentes e as medidas de suas respectivas concentrações.

Fisiologicamente o urânio encontra-se no estado estável (VI) com cátions bivalentes UO_2^{2+} (íon uranila). Em estudos realizados por meio de necropsia em seres humanos, foi verificada a retenção de urânio no corpo humano, e o local onde houve maior deposição de urânio foi nos ossos (FISENNE et al., 1986). O urânio deposita-se a partir da superfície do osso, redistribuindo-se lentamente em direção à medula óssea, isso se deve ao fato de existir uma grande similaridade entre os raios iônicos do Ca^{2+} e UO_2^{2+} , fato este que leva a uma competição desses íons no organismo humano, principalmente nos órgãos que absorvem Ca^{2+} , como os ossos e rins (TILL et al., 1983).

Antes do advento da energia nuclear, o urânio tinha um leque de aplicações muito reduzido. Era utilizado em fotografia e nas indústrias de cabedal (fabricação de peças de couro e sola) e de madeira. Os seus compostos usavam-se como corantes e mordentes (fixadores de cor) para a seda e a lã. No entanto, na atualidade a aplicação mais importante do urânio é a energética. Para este fim, utilizam-se apenas três isótopos do elemento (U-234, U-235 e U-238), com mecanismos de reação ligeiramente diferentes, embora o mais utilizado seja o U-235 (RIBEIRO et al., 2008).

2.1.2 Vanádio

O vanádio é um elemento traço essencial para plantas e animais, sendo estudado em diversas pesquisas em função de seu potencial de mimetizar os efeitos da insulina, auxiliando no controle e tratamento do diabetes e suas complicações. Por tratar-se de um micronutriente, as concentrações de V nos alimentos e seres vivos são baixas. No ambiente, o vanádio não se encontra na sua forma elementar, mas sim combinado com outros elementos, tais como oxigênio, sódio, enxofre ou cloreto. Os seus compostos existem em mais de cinquenta ligas metálicas e em associação com combustíveis fósseis, tais como petróleo bruto, óleos, carvão. Este se encontra também em diversos minerais, tal como vanadite, cartonite e patronite (ATSDR, 2009).

O vanádio envolve-se em vários processos geoquímicos que ocorrem na crosta terrestre. O ciclo biogeoquímico global do vanádio caracteriza-se pela liberação deste para a atmosfera, água e solo, proveniente de fontes naturais e antropogênicas. O transporte das partículas contendo vanádio para áreas distantes é efetuado através da água ou do ar, pela deposição seca e húmida e pelos processos de adsorção e complexação. Como todos os elementos-traço que se acumulam no solo, o vanádio migra no próprio solo e no sistema: rocha - água - solo - vegetação - animais – homem (SANDER et al., 1996).

O transporte e distribuição do vanádio na água e nos solos são diretamente influenciados pelo pH, potencial de oxidação-redução e presença de matéria particulada. Vanádio está presente em altas concentrações em combustíveis fósseis, e é trazido para o meio ambiente pela combustão dessas fontes, cerca de 100.000 toneladas por ano. Nas águas o vanádio dissolvido é normalmente presente como vanadato vanádio (V), uma vez que a solubilidade do vanádio (IV) é bastante baixa, fazendo com que estes compostos sejam acumulados em sedimentos (SANDER, 1999).

A toxicidade do vanádio depende do seu estado físico-químico; particularmente da sua valência e solubilidade. O vanádio tetravalente é 5 vezes mais tóxico que o vanádio trivalente. Os compostos do vanádio são pouco absorvidos no trato gastrointestinal. Outros efeitos foram descritos no sangue depois de exposição oral ou por inalação, no fígado, no desenvolvimento neurológico em ratos, entre outros órgãos (GONZALEZ et al., 2006).

2.1.3 Antimônio

O antimônio não tem nenhuma função biológica conhecida, e como arsênio, ele é tóxico. Antimônio está usualmente presente em ambiente aquoso em estados de oxidação (III) e (V), sendo a forma trivalente, a mais tóxica (FILELLA et al., 2002; SANDER, 1999). Ele está presente em concentrações menores que 1 mg Kg^{-1} em

todos os tecidos humanos, sendo que as maiores quantidades se encontram no pulmão, nos gânglios linfáticos e nos cabelos (WAGNER et al., 1996)

Antimônio é um metal prateado e quebradiço extraído de minérios. Os compostos menos tóxicos são encontrados em pigmentos de cosméticos (sulfeto de antimônio) e medicamentos (tartarato potássico de antimônio, antimoniato e meglumina). A ingestão de compostos de antimônio pode causar efeitos tóxicos no intestino, estômago, coração, pele, fígado e sistema nervoso de homens e animais, pois a ligação com os grupos sulfidril inibe o metabolismo de proteínas e carboidratos. A carcinogênese do antimônio ainda é incerta, pois alguns estudos demonstraram um aumento do risco de câncer pulmonar, porém esse crescimento pode ser devido à exposição concomitante dos trabalhadores ao arsênio (BOND et al., 1997). Outro importante meio de exposição e de intoxicação por antimônio ocorre pelo consumo de medicamentos utilizados no tratamento da leishmaniose. (WAGNER et al., 1996; BOND et al., 1997).

2.1.4 Tálcio

O tálcio não desempenha qualquer função biológica nos seres vivos. Encontra-se presente no corpo humano, normalmente em quantidades inferiores a 0,5 mg, sendo que a maioria deste elemento se encontra a nível dos tecidos, do sangue e dos ossos. É introduzido no organismo através da alimentação. Este elemento é cumulativo no corpo humano. Isso se deve ao fato do Tl^+ ter um raio iônico muito próximo do K^+ , que desempenha importantes funções biológicas, podendo substituí-lo, comprometendo, assim o funcionamento de alguns órgãos e sendo a principal causa da sua toxicidade. Este elemento é extremamente tóxico e existem também evidências de que é carcinogênico (SPANNO et al., 2005; SCHNEIDER, 2010). Enzimas têm uma afinidade pelo Tl^+ 10 vezes maior do que pelo íon K^+ , mas a medida exata é fortemente dependente do tipo de tecido corporal (HOEFLICH et al., 1983). A dose letal para o homem é estimada em 13 mg Tl_2SO_4 /Kg do corpo, ou cerca de 1g Tl_2SO_4 para um adulto. Em vegetais, Tl inibe a formação de clorofila e o brotamento de sementes (DHANESHWAR et al., 1980).

2.1.5 Zinco

O zinco é um cofator indispensável que compõe mais de 100 enzimas presentes nos mamíferos. Ele está envolvido nos processos de divisão celular, crescimento, cicatrização, regulação do metabolismo e do sistema imunológico. Sintomas de deficiência de zinco estão relacionados principalmente ao aumento da susceptibilidade a infecções, devido à menor ação das células T do sistema imunológico, que são responsáveis pela resposta biológica do organismo contra células infectadas, fungos, parasitas e tecidos estranhos (SAVORY et al., 1992; VANDECASTEELE et al., 1993). O zinco atua também no metabolismo de glicose. Após a insulina ser clivada forma-se um monômero que, no interior da célula, entra em contato com o zinco formando um cristal dimérico de zinco para ser armazenada e secretada (CHAUSMER, 1998). Em excesso no organismo, o Zn pode complexar-se com a albumina e os sintomas de envenenamento são vômito, náusea, desidratação, letargia e descoordenação muscular; podendo ainda causar hiperglicemia, além de afetar o intestino e o fígado (FAVARON, 2005).

2.1.6 Cromo

O cromo ocorre naturalmente em dois estados de oxidação, III e VI (BOUSSEMART et al., 1992). O Cr^{3+} é um microelemento importante para nutrição vegetal e animal, sendo fundamental para o funcionamento do organismo, atuando no metabolismo de lipídeos, proteínas e da glicose, a dose diária recomendada de Cr^{3+} para adultos é de 50 a 200 mg. (FAVARON, 2005; GARMATZ, 2007). O Cr^{6+} , ao contrário, é tóxico e carcinogênico para o corpo humano, causando câncer de pulmão, alergia de pele e, provavelmente, também asma e doenças renais. O efeito tóxico para o sistema biológico é atribuído à habilidade de Cr^{6+} de migrar através da membrana celular, aumentando, assim, a concentração intracelular de cromo (LI et al., 2001; SIRINAWIN et al., 1997). Após o Cr^{6+} entrar na célula ele é rapidamente reduzido Cr^{3+} , mas durante essa redução, radicais intermediários instáveis e reativos (Cr^{6+} , Cr^{5+} , hidroxil e sulfidril) e espécies reativas de oxigênio são formados, gerando danos ao DNA e por consequência o desenvolvimento de cânceres (SANDER et al., 2003; SAHAN et al., 2007).

2.1.7 Cádmi

Para o elemento cádmio, a principal via de absorção é a respiratória, sendo que cerca de 55% do cádmio depositado nos pulmões é absorvido. Já a absorção gastrointestinal é influenciada pela carência nutricional. O cádmio é distribuído pelo organismo geralmente ligado à albumina, acumulando-se principalmente no fígado e rins. Este elemento ainda acumula-se no pâncreas, pulmões, testículos e tireóide (ATSDR, 1999). A principal via de excreção do cádmio é a urinária, quando a absorção se faz por via respiratória e, quando a via de absorção é oral, a excreção é realizada pelas fezes. A meia vida biológica do cádmio no organismo é calculada entre 17 e 38 anos. Devido a essa longa meia vida biológica, a exposição crônica pode levar a lesões ósseas (devido à competição do cádmio com o cálcio), enfisema pulmonar, nefrite e grande potencial carcinogênico (GHONEIM et al., 2000; ATSDR, 1999). Na agricultura, uma fonte direta de contaminação pelo cádmio (Cd) é a utilização de fertilizantes fosfatados (TAVARES et al., 1992). O Cd é um elemento de vida biológica longa (10 a 30 anos), apresenta uma excreção lenta pelo organismo humano e é tóxico mesmo em concentrações muito pequenas (MARTÍNEZA et al., 2011).

2.1.8 Chumbo

O chumbo é considerado um dos maiores poluentes ambientais. Não se tem conhecimento da função fisiológica deste elemento no organismo humano. Quando ingerido, costuma ter efeito acumulativo. Em níveis baixos, a presença do Pb pode afetar a capacidade do organismo para absorver cálcio, magnésio, zinco e outros minerais (FAVARON, 2005; MATTIAS, 2006).

A principal via de absorção do chumbo é a respiratória. No pulmão, ele é absorvido sob a forma de fumos ou partículas finas que são fagocitadas. A absorção por via oral depende da solubilidade e do tamanho das partículas (NIES, 1999; TAVARES et al., 1992). O chumbo é distribuído pelo sangue, no interior das

hemácias e atravessa a barreira hemato encefálica. Acumula-se nos ossos (90%, com substituição do cálcio ósseo), dentes, fígado, pulmões, rins, cérebro e baço. A excreção ocorre principalmente pela urina e fezes. A vida média do chumbo no sangue varia de 25 a 36 dias, nos tecidos moles cerca de 40 dias e nos ossos cerca de 27 anos (WHO, 1977).

2.2 Características das amostras analisadas

2.2.1 Plantas medicinais e fitoterápicos

A Organização Mundial de Saúde (OMS), define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos (WHO, 1998). A diferença entre planta medicinal e fitoterápico reside na elaboração da planta para uma formulação específica, o que caracteriza um fitoterápico. Segundo a Secretaria de Vigilância Sanitária, fitoterápico é "todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário (VENDRUSCULO et al., 2005; MENDONÇA et al., 2003). Os fitoterápicos são caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos do seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade.

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (MARTINI, 2010; CARVALHO et al., 2009). No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AGRA et al., 2007).

Ao longo do tempo têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina

alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua ampla utilização por populações de países em desenvolvimento (VEIGA et al., 2005).

Atualmente, grande parte da comercialização de plantas medicinais é feita em farmácias e lojas de produtos naturais, onde preparações vegetais são comercializadas com rotulagem industrializada (CARLINE et al., 2006). Das disposições sobre a normatização do registro de medicamentos fitoterápicos, parâmetros de controle qualidade que atestem a segurança, eficácia e as normas de produção, se encontram na Resolução da diretoria colegiada (RDC) nº 14 de 2010 (BRASIL, 2010).

Os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. Os ervanários prometem saúde e vida longa, com base no argumento de que plantas usadas há milênios são seguras para a população (AGRA et al., 2007).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. A toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos, comparada com a dos medicamentos alopáticos e trivialmente desconsiderada, no entanto, a toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública (AGRA et al., 2007; WHO, 1998; VEIGA et al., 2005). Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxicidade, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente. As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (VEIGA et al., 2005).

Com relação aos fitoterápicos, existem pontos que merecem atenção especial, como a presença de substâncias adulterantes, diluentes, ou simplesmente

misturas com outros extratos vegetais, bem como a presença de metais pesados, comprometendo a qualidade dos fitoterápicos. Tais assuntos vêm sendo abordados em recentes publicações científicas, demonstrando uma crescente preocupação em torno destas questões (MARTINI, 2010; RABBE, 2010, CARVALHO et al., 2009).

A contaminação de plantas medicinais e formulações fitoterápicas com metais pode ter diversas origens, tais como acidental, proposital, contaminação do solo e durante a manufatura.

Um grande risco para a população, em geral, são os fitoterápicos importados de países asiáticos, uma vez que as formulações são bastante diferentes das preparadas pelos ocidentais, contendo metais pesados em concentrações que, muitas vezes, ultrapassam os valores seguros para consumo. Numerosos casos de envenenamento por metais pesados associados ao uso da Medicina Tradicional Chinesa (MTC) têm sido publicados nos últimos anos. O chumbo é um dos principais responsáveis por estes envenenamentos. Outros metais pesados, como mercúrio, arsênio, cádmio, cobre e tálio também têm sido encontrados em fitoterápicos (ERNST, 2002).

Neste trabalho, algumas plantas medicinais empregadas com frequência na medicina popular foram estudadas:

- *Persea americana*, popularmente conhecida como abacateiro, apresenta propriedades medicinais como antianêmica, antiinflamatória, antioxidante, digestiva, diurética, entre outras.
- *Adiantum capillus veneris* L, conhecida como avenca, apresenta propriedades medicinais como diurética, expectorante, adstringente, antibacteriana, antiinflamatória, antioxidante, entre outras.
- *Achyrocline satureioides*, conhecida como marcela, apresenta propriedades medicinais como adstringente, antiasmática, antiespasmódica e antiinflamatória.
- *Peumus boldus*, conhecido como boldo, apresenta propriedades medicinais como estomáquicas, diuréticas e hepáticas.

- *Baccharis trimera*, conhecida como carqueja, apresenta propriedades medicinais como antianêmica, antiasmática, antibiótica, antidiarréica, antidiabética, antidispéptica, antigripal, anti-hidrópica, antiinflamatória, anti-reumática, entre outras (LABORATÓRIO PLANTAMED).

As formulações fitoterápicas analisadas neste trabalho possuem como principal característica, componentes ativos que auxiliam na redução de peso. Os fitoterápicos analisados foram os seguintes:

- Fibrothin: é um fitoterápico composto por quitosana, que é uma fibra 100% natural, obtida a partir de carapaças de crustáceos, que apresenta uma alta capacidade de se ligar a gorduras, podendo se ligar de 8 a 10 vezes o seu peso em gorduras. Desta forma, pode atuar de forma significativa como auxiliar na perda de peso (LABORATÓRIO CATARINESE).

- Caralluma: é um fitoterápico feito a partir da planta medicinal *Caralluma fimbriata*, originada na Índia e usada como supressora do apetite por muitos anos. A *Caralluma fimbriata*, foi retirada de circulação por normas da ANVISA (RE) nº 5.915, DE 20 DE DEZEMBRO DE 2010 (BRASIL, 2010).

- Pholia magra: é um fitoterápico extraído da planta *Cordia ecalyculata*, possui vários princípios ativos em maior concentração, que atuam como substâncias anorexígenas no tratamento da obesidade.

- Composto emagrecedor: é um fitoterápico composto das plantas *Citrus aurantium* (obtido da laranja amarga, seus compostos aceleram o metabolismo, promovendo uma maior queima de calorias e, conseqüentemente, dos estoques de gordura), chá verde (extraído da planta *Camellia sinensis*, além de prevenir diversos tipos de câncer, diminuir o colesterol, proteger os pulmões e os neurônios e retardar o envelhecimento, a erva faz o corpo queimar 5% a mais de calorias) e faseolamina (é uma substância extraída da *Phaseolus vulgaris*, o feijão branco. Faseolamina é uma glicoproteína inibidora da amilase, inibe a absorção do amido).

- Imagressim: é um fitoterápico composto por quitina desacetinada, que provém da quitosana descrita anteriormente, este é utilizado da mesma forma e sob

mesmo mecanismo para a redução de peso que os produtos compostos por quitosana (LABORATÓRIO PHARMATIVA).

2.2.2 Fertilizantes

Fertilizante é definido como sendo toda substância mineral ou orgânica, natural ou sintética, fornecedora de um ou mais nutrientes para as plantas. Podem ser classificados de várias formas, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entre eles estão os fertilizantes minerais fosfatados, produto formado por um ou mais macronutrientes (Nitrogênio, Fósforo, Potássio), os quais são objeto de estudo neste trabalho conforme DECRETO Nº 4.954, DE 14 DE JANEIRO DE 2004 (BRASIL, 2004).

O fosfato é um componente vital para o desenvolvimento vegetal, assim como para todos os seres vivos. Em plantas, o P é necessário na fotossíntese, respiração e reprodução (CAMELO et al., 1990). O aproveitamento do P pelas plantas é considerado baixo, já que apenas 10% da aplicação desse nutriente como fertilizante é absorvido pelas plantas, diferentemente do que acontece com N e K, que apresentam relações mais estreitas entre aplicações nas adubações e extração pelas culturas, principalmente em produtividades elevadas. Essa diferença de comportamento tem sido atribuída à fixação de P pelos solos, que seria mais destacada em solos tropicais, devido a elevados teores de óxidos de ferro e alumínio, auxiliando no processo de formação do P não biodisponível, fixando-o no solo (ABEL-HALEEM et al., 2001; RAMALHO et al., 1999).

Fertilizantes fosfatados contêm metais pesados oriundos da rocha que os originou ou dos ingredientes usados em sua industrialização, um dos exemplos de metais pesados encontrados em fertilizantes decorrente da composição da rocha fosfática é o urânio. Metais pesados podem persistir no solo, devido a sua baixa mobilidade, ou serem absorvidos pelas plantas e ingressarem na cadeia alimentar, gerando uma preocupação maior em torno das plantas empregadas diretamente na alimentação humana, como hortaliças e grãos (CAMELO et al., 1990; ABDEL-HALEEM et al., 2001; ALCARDE et al., 2003).

Diversos depósitos de fosfato em todo o mundo apresentam quantidades significativas de urânio (FAO, 2004). As atividades antropogênicas, como a mineração e a agropecuária, aumentam a quantidade de contaminantes expostos sobre o meio ambiente (MANGINI et al., 1979; ATSDR, 1999). A população em geral que não trabalha em atividades nucleares também está exposta ao urânio, uma vez que grande parte dos vegetais cultivados extensivamente é produzida em solos tratados com fertilizantes fosfatados que possuem urânio em sua constituição. Plantas subaéreas como a batata (*Solanum tuberosum*) e a mandioca (*Manihot esculenta*) captam urânio através de suas raízes e o armazenam em seu caule; no caule dessas plantas podem ser encontradas concentrações de urânio mais elevadas que as do solo em que foram cultivadas. A água potável também é veículo para a entrada desse elemento no organismo humano (FAO, 2004; ATSDR, 1999). Em 1979 pesquisadores alemães apresentaram evidências do aumento da concentração de urânio em rios de zonas agrícolas onde havia um elevado consumo de fertilizantes fosfatados. Ficou demonstrado que o urânio presente nos fosfatos é carregado para o rio desde as camadas superiores do solo (Mangini et al., 1979; AVELAR et al., 2007). Animais criados em regiões de solos fertilizados ou que recebem suplementação de fósforo por meio de fosfato também estão expostos ao urânio (ATSDR, 1999). O limite máximo de ingestão diária 48 µg de urânio para um indivíduo de 80 kg de massa corpórea (ATSDR, 1999).

A alteração do teor natural de metais pesados nos solos pela aplicação de fertilizantes tende a ser observada após décadas. Entretanto, é necessário avaliar o potencial de risco do uso de fertilizantes além de outras fontes de metais pesados, tais quais pulverizações com agroquímicos como sais de Zn, arsenatos de Cu e Pb, irrigação com água proveniente de rios que recebem grande carga poluidora, uso de lodo de esgoto, uso de composto de lixo urbano e esterco animal (MCBRIDE et al., 2001; ALCARDE et al., 2003).

Segundo dados do MAPA, as vendas de fertilizantes alcançam 13,6 milhões de toneladas em 2010, o resultado representa um crescimento de 2,4% sobre o registrado em 2009. Os estados que mais se destacaram nas vendas foram Mato Grosso (2,6 milhões de toneladas), São Paulo (1,8 milhão de toneladas) e Paraná (1,8 milhões de toneladas). A região Centro-Oeste foi responsável por 4,4 milhões de toneladas (MAPA, 2011).

A produção de fertilizantes, de janeiro a agosto de 2010, foi de 6,04 milhões de toneladas, contra 5,3 milhões de toneladas, em igual período de 2009, o que representa crescimento de 13,8%. Já as importações passaram de 6,3 milhões de toneladas, no ano passado, para 8,9 milhões de toneladas neste ano, aumento de 41,6%.

2.3 Análise voltamétrica

A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente vs. potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma cela eletroquímica constituída de pelo menos dois eletrodos, sendo um deles um eletrodo de trabalho (microeletrodo) e um eletrodo de referência (eletrodo de superfície relativamente grande). O potencial aplicado a um eletrodo é o parâmetro de controle e é variado de modo a produzir uma reação redox sobre o eletrodo. A corrente, por outro lado, é resultante da transferência de elétrons que ocorre durante a redução ou a oxidação de espécies eletroativas; sobre a superfície do eletrodo (THOMAS e HENZE, 2001).

Como a área dos dois eletrodos é diferente, o microeletrodo se polarizará, isto é, assumirá o potencial aplicado a ele. O eletrodo de referência, por possuir uma área grande, não se polarizará, mantendo o seu potencial constante. O microeletrodo é geralmente feito de um material inerte, como Au, Pt, Hg e C. Quando o microeletrodo é constituído de um eletrodo gotejante de mercúrio, a técnica é chamada de polarografia (HENZE, 2001).

A corrente gerada no processo de oxidação (perda de elétrons) ou redução (ganho de elétrons) ocorre sobre a superfície do eletrodo é denominada de corrente faradáica. Esta corrente é proporcional à concentração das espécies eletroativas em solução. A corrente de redução (corrente catódica) é, por convenção, assinalada com um sinal positivo, enquanto que a corrente de oxidação (corrente anódica) com um sinal negativo. Os primeiros estudos voltamétricos foram feitos por Heyrovsky e Kucera em 1922 usando um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de

trabalho e como eletrodo de referência um eletrodo de calomelano saturado. Portanto, a primeira técnica voltamétrica desenvolvida foi a polarografia (WANG, 2000).

Na voltametria as análises são realizadas em uma célula voltamétrica, constituída de três eletrodos imersos em uma solução contendo o analito e o eletrólito suporte (Figura 1). Um dos três eletrodos é o microeletrodo ou eletrodo de trabalho, cujo potencial varia linearmente com o tempo, o segundo é um eletrodo de referência cujo potencial permanece constante durante o experimento e o terceiro é um contra-eletrodo, que geralmente é de platina, o qual conduz a eletricidade da fonte de sinal através da solução para o microeletrodo. Quando uma diferença de potencial é aplicada inicia-se o processo eletrolítico, em que os íons eletroativos na vizinhança do eletrodo são reduzidos, gerando um gradiente de concentração, provocando uma difusão dos íons até o eletrodo de trabalho. A fonte de sinal é um gerador de voltagem de varredura linear similar ao circuito integrado (SANDER et al., 2003; HENZE, 2001).

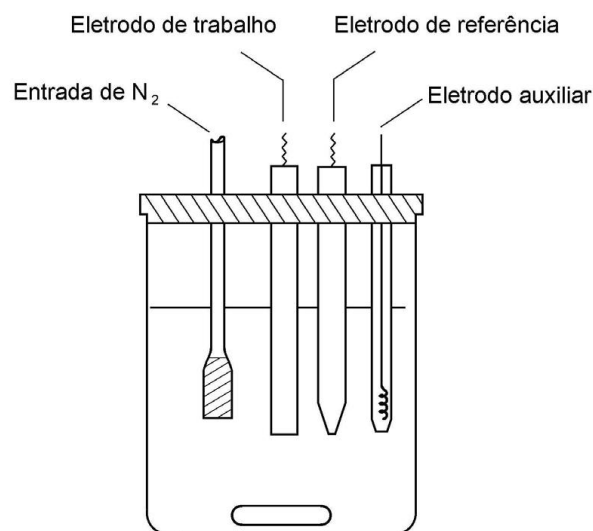


Figura 1- Desenho representativo de uma célula de trabalho ou célula voltamétrica.

Entre as várias técnicas voltamétricas disponíveis, aquelas que apresentam melhor sensibilidade são as que utilizam processos de pré-concentração eletroquímica da substância a ser determinada, de maneira que a corrente faradaica

possa aumentar, suplantando a de fundo, obtendo-se limites de detecção inferiores a 10^{-7} - 10^{-8} mol L⁻¹ (HENZE, 2001). Neste trabalho foram utilizadas as técnicas voltamétricas de redissolução anódica (ASV) e adsortiva de redissolução catódica (AdCSV), ambas utilizam processos de pré-concentração.

2.3.1 Métodos voltamétricos de redissolução

Os métodos de voltametria de redissolução (Stripping voltammetry) são as técnicas eletroquímicas mais capacitadas para análise de traços e análise de especiação. As excepcionais altas sensibilidade e seletividade se baseiam na prévia pré-concentração do analito anteriormente a sua determinação (THOMAS e HENZE, 2001). A pré-concentração e a determinação ocorrem no mesmo eletrodo e sem troca de recipiente contendo a solução, dessa forma o surgimento de erros sistemáticos seguidos de contaminação ou fuga dos analitos é bem menor (SCHNEIDER, 2010).

O termo redissolução significa que, durante a determinação, o produto de pré-concentração é redissolvido na solução inicial a partir do eletrodo de trabalho. A voltametria de redissolução pode ser voltametria de redissolução anódica (ASV), de redissolução catódica (CSV) ou ainda, voltametria adsortiva de redissolução (AdSV). A pré-concentração é realizada sob um potencial constante (potencial de pré-concentração ou de deposição) em um eletrodo estacionário (eletrodo de trabalho) e ocorre em um intervalo de tempo controlado (tempo de pré-concentração ou de deposição). O analito é separado eletroliticamente como metal, como liga pouco solúvel metal-mercúrio ou adsortivamente como complexo metal-ligante. A dissolução das espécies depositadas no eletrodo de trabalho (etapa de determinação) compreende um passo de redução ou oxidação (HENZE, 2001; WANG, 2000).

2.3.2 Voltametria de redissolução anódica (ASV)

Através de voltametria de redissolução anódica, podem ser determinados todos os metais que, por formação de amálgama são solúveis em mercúrio. O transporte do analito à superfície do eletrodo acontece por difusão e é sustentado por convecção quando a solução é agitada durante a pré-concentração. Com isto, a corrente de eletrólise, não é dependente somente de relações de difusão, mas também das condições hidrodinâmicas. Com velocidade de varredura e número de rotações constantes, a concentração do analito no amálgama é proporcional ao tempo de pré-concentração e à concentração do analito na solução da amostra. O tempo de pré-concentração é escolhido de acordo com a concentração do analito na solução da amostra e deve garantir o máximo de linearidade do sinal sobre o intervalo de concentração. A ASV compreende a redissolução anódica do analito acumulado, ou seja, ocorre a oxidação dos metais para a solução, originando um pico de corrente, cuja intensidade é dependente da concentração do metal no amálgama. (HENZE e NEEB, 1986).

2.3.3 Voltametria adsortiva de redissolução (AdSV)

Na voltametria adsortiva de redissolução (AdCSV), a etapa de deposição é feita pela adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo. O ligante orgânico é adicionado à solução contendo o íon metálico a ser analisado e o complexo formado (metal-ligante) será acumulado na superfície do eletrodo. Dessa maneira a etapa de deposição não depende da solubilidade do metal no mercúrio, como no caso da voltametria de redissolução convencional, mas sim da adsorção do complexo formado, possibilitando a determinação de espécies pouco solúveis no mercúrio.

Na AdCSV também há a possibilidade do ligante sofrer redução ou oxidação no processo de redissolução do complexo adsorvido, se o ligante usado for uma espécie eletroativa. Assim, o seu sinal também poderá ser usado para a

determinação do metal (HENZE, 2001). Em AdCSV, a deposição é feita eletroliticamente aplicando-se o potencial de deposição durante um determinado tempo sob agitação. O tempo de deposição é escolhido em função da espécie eletroativa durante o qual a espécie de interesse será adsorvida sobre a superfície do eletrodo. A agitação faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa junto à superfície do eletrodo igual à do seio da solução. Essa agitação deve ser feita à velocidade constante e controlada com precisão (THOMAS e HENZE, 2001).

2.3.4 Determinação voltamétrica sequencial

Técnicas voltamétricas geralmente não são caras, são sensíveis e seletivas, e desde que os eletrólitos dos analitos em estudos não interferem um no outro, ou também não haja interferência mútua entre os analitos, estas técnicas podem ser usadas para determinações simultâneas e sequenciais. As determinações sequenciais são de grande interesse devido ao menor volume utilizado da amostra analisada, pela redução do tempo total de análise e pela redução de custos, isto se comparado aos métodos individuais (SCHNEIDER, 2010; SANDER, 1999).

A possibilidade de determinação simultânea e sequencial por voltametria para sistemas reversíveis são amplas, e vem sendo recentemente estudadas e cada vez mais empregadas. Encontram-se na literatura trabalhos como de LOCATELLI (2006), onde é realizada a determinação voltamétrica sequencial de Pd (II), Pt (II), Rh (III) e Pb (II) em águas superficiais. Outros trabalhos também são descritos como: a determinação sequencial de Zn (II), Cr (VI), Cu (II), Sb (III), Sn (II), Pb (II), Fe (III), Mn (II) e Mo (VI) em alimentos (MELUCCI, et al., 2007); a determinação simultânea de Mo (VI), U (VI), V (V) e Sb (III) por AdSV (SANDER, 1999); determinação simultânea de Tl e Pb em níveis de traços por ASV (DHANESHWAN et al., 1980); determinação simultânea de Cd, Pb, e Cu em amostras salinas por ASV (CARVALHO et al., 2007) e determinação sequencial de Cr, Tl, Cd, Pb, Cu e Sb em concentrado polieletrólítico para hemodiálise (SCHNEIDER, 2010).

A determinação sequencial proposta partiu da idéia inicial de se desenvolver um método capaz de determinar urânio e outros metais em amostras como fertilizantes fosfatados, devido aos problemas citados envolvendo os fertilizantes fosfatados e urânio. Dessa forma se optou em utilizar como complexante inicial o Ácido Cloranílico (CA - 2,5-dicloro-3,6-diidroxipbenzoquinona), já que este se mostrou sensível e seletivo para a determinação de urânio e outros metais simultaneamente como descrito por SANDER (1999). Vantagens do uso de complexos com CA foram publicados em diversos estudos (WAGNER et al., 1996; SANDER et al., 1995). Após a realização de testes e otimização do processo se obteve a determinação simultânea dos elementos U, V, Sb, Pb, Cd e Zn, complexados com CA.

Já a determinação de Cr por AdCSV, complexado com DTPA (ácido dietilenotriamino-pentaacético) é um método consagrado e amplamente utilizado na literatura (SANDER et al., 2003; SCHOLZ et al., 1990; SANDER et al., 2002; KOROLCZUK et al., 1999; GOLIMOWSKI et al., 1985).

O Tálcio conforme descrito por SPANO, et al., 2005, forma complexo com EDTA (Ácido etilenodiaminotetraacético), e pode ser determinado por voltametria de redissolução anódica (ASV). Este também é um método amplamente utilizado na literatura (SHETTY et al., 2005; KASSIM et al., 2011; DHANESHWAR et al., 1980; HOEFLICH et al., 1983).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

Os voltamogramas foram obtidos utilizando-se um potenciostato 693 VA Processor em combinação com um Stand 694 VA Stand (Metrohm), que contém um eletrodo de mercúrio (MME), operando no modo HDME. Foi utilizado como eletrodo auxiliar um fio de platina e um eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹. As medidas voltamétricas foram realizadas em uma célula voltamétrica padrão.

Toda a água utilizada no preparo das soluções e lavagem das células voltamétricas, passou por um processo de destilação, seguido de deionização e, após, purificação em um sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹) (Millipore, Bedford, MA, USA).

A massa dos reagentes sólidos foi determinada utilizando uma balança analítica Sartorius (Goettingen, Alemanha) com 0,1 mg de precisão.

As medidas do pH das soluções dos eletrólitos de trabalho foram realizadas em pHmetro digital (Digimed DM 20, São Paulo, Brasil) usando eletrodo de vidro combinado. Para a calibração do equipamento utilizaram-se tampões de calibração de pH 4,01 e pH 7,00 (Digimed), a 25 ± 1°C..

3.2 Reagentes e soluções

Todos as soluções utilizadas foram de grau analítico e preparados com água ultra-pura, obtida pelo sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹) (Millipore, Bedford, MA, USA).

As soluções estoque dos metais U, V, Pb, Cd, Zn, Cr e Tl, foram obtidas com os padrões certificados NIST (National Institute of Standards and Technology, USA)

em uma concentração de 1000 mg L^{-1} e diluídas periodicamente conforme a necessidade. Apenas a solução estoque de Antimônio foi preparada a partir do sal tricloreto de antimônio (VETEC p.a.) nas quantidades apropriadas para se obter uma concentração de 1000 mg L^{-1} de Sb.

Os complexantes e eletrólitos de suporte foram preparados com água ultrapura (Milli-Q) e com reagentes de grau analítico. Para os ajustes de pH necessários em cada etapa das análises sequencial e simultânea, foram utilizadas soluções diluídas de HNO_3 5% (v/v) e NaOH 1% e 10% (v/v) em água-ultrapura.

A solução de ácido clorânico $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada semanalmente pela dissolução em balão volumétrico de 50 mL, de 1,045 g do reagente. A solução do eletrólito de suporte KNO_3 1M foi preparada a partir do sal nitrato de potássio, onde dissolveu-se em água 10,11g do sal em balão volumétrico de 100mL. Para a determinação de Cr, o complexante e eletrólito de suporte DTPA 0,05 M + NaNO_3 2,5 M + CHCOONa 0,2 M, foi preparado com a dissolução em água de 1,9667 g, 21,25 g, 1,6406 g, respectivamente, em um balão de 100 mL. Para a determinação de Tl, a solução de EDTA 0,1M foi preparada com a dissolução em água de 0,93g de $\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em balão volumétrico de 25 mL. A solução tampão acetato de amônio, pH 4,6, foi preparada com a dissolução de 18,5 mL de hidróxido de amônio e 27,75 mL de ácido acético em balão volumétrico de 250 mL.

3.3 Amostras analisadas

As amostras analisadas de fertilizantes fosfatados sólidos foram produzidas pelas empresas, Fertilizantes Multifétil, Santa Maria, RS, Brasil e Dimicron Química do Brasil Ltda., Cruz Alta, RS, Brasil, e essas foram escolhidas aleatoriamente de um grupo de amostras enviadas pelas respectivas empresas para o Laboratório de Análises Químicas-LACHEM (UFSM).

Os fitoterápicos analisados foram: Pholia magra 250 mg/cápsula, Botanical Farmácia de Manipulação, Londrina/PR; Fibrothin – Quitosana 350mg/cápsula, Laboratório Catarinense S.A.; Imagressim – Quitina desacetilada 500mg/cápsula,

Vitamed, Caxias/RS; Caralluma fimbriata 500mg/cápsula, Seiva da Natureza- Farm. de Manipul., Florianópolis/SC; Composto Emagrecedor, 250mg/cápsula (*Citrus aurantium*, faseolamina e chá verde), Essencial Farmácia de Manipulação, Porto Alegre/RS.

As plantas medicinais *Persea americana*, *Baccharis trimera*, *Adiantum Cappilus veneris*, *Peumus boldus*, *Achyrocline satureoides*, foram adquiridas no comércio local.

3.4 Procedimentos analíticos

3.4.1 Controle de contaminação externa e materiais de uso

As células voltamétricas de medida foram mantidas em solução descontaminante de HNO₃ 10 % (v/v), e lavadas abundantemente com água ultra pura antes do uso.

Todos os materiais plásticos utilizados como balões volumétricos, recipientes de soluções e amostras, eram submetidos a uma descontaminação prévia com uma solução alcoólica 50% (v/v) com HNO₃ 10% (v/v), por aproximadamente 24 horas, e em seguida eram abundantemente lavados com água ultra-pura. A vidraria também era submetida a uma descontaminação, com uma solução ácida de HNO₃ 1% (v/v) em água, por aproximadamente 24 horas e lavada com água ultra-pura antes de seu uso.

3.4.2 Tratamento das amostras

As amostras analisadas (plantas medicinais, formulações fitoterápicas e fertilizantes) foram devidamente homogeneizadas antes da determinação de suas

massas. As amostras das plantas analisadas estavam sob forma de pó desidratado. Para a determinação da massa nas amostra dos fitoterápico, preparou-se um *pool* com 10 cápsulas. Determinou-se a massa das amostras em 1g para fertilizantes e 0,5g para plantas medicinais e formulações fitoterápicas.

Em seguida, as amostras foram digeridas para serem posteriormente analisadas. Utilizou-se a digestão ácida ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) para a preparação das amostras, onde seguiu-se o procedimento que consta na United States Environmental Protection Agency (EPA), Norma 3050B que consiste do nos seguintes passos: coloca-se as massas das amostras em recipientes apropriados para a digestão ácida (frascos Kjeldahl) e adiciona-se 10 mL de ácido nítrico (HNO_3 concentrado). O sistema é aquecido ($95 \pm 5^\circ\text{C}$) e mantido até que todos os vapores nitrosos (marrom) tenham saído. Em seguida as amostras são resfriadas e adiciona-se de 1 a 3 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 30%). O sistema novamente é aquecido ($100 \pm 5^\circ\text{C}$) e o aquecimento é interrompido quando o desprendimento de gás visivelmente cessa. As amostras são diluídas a um volume final de 50 mL e colocadas em frascos de polipropileno.

3.4.3 Análise voltamétrica sequencial

Em uma célula voltamétrica devidamente descontaminada foram pipetados 10 mL de água ultra-pura e 100 μL da amostra digerida em meio ácido. Adicionou-se, então, 1,0 mL do eletrólito suporte KNO_3 1M e 100 μL do complexante ácido cloranílico $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e ajustou-se o pH com HNO_3 e/ou NaOH até pH 2,3, para a determinação dos elementos U, V, Sb, Pb, Cd, Zn na etapa 1 da análise sequencial. Na etapa 2 para a determinação de Cr foi adicionado à célula voltamétrica 1,5 mL do complexante ($\text{DTPA } 0,1 \text{ mol L}^{-1} + \text{NaNO}_3 \text{ } 5,0 \text{ mol L}^{-1} + \text{CH}_3\text{COONa } 0,4 \text{ mol L}^{-1}$), e, ajustou-se o pH para 6,2 com $\text{NaOH } 10\%$. Para a determinação de TI na etapa 3 da análise sequencial foi adicionado à célula 200 μL do complexante EDTA 0,1 M e 1mL do tampão acetato amônio pH 4,6, ajustando-se o pH para 4,2 com HNO_3 5%. Em cada etapa foi utilizado o método de adição-padrão, que é usado para a quantificação das espécies em questão, as adições (na

célula) feitas para cada elemento foram: Etapa 1- U $10 \mu\text{g L}^{-1}$, V $60 \mu\text{g L}^{-1}$, Sb $60 \mu\text{g L}^{-1}$, Pb $60 \mu\text{g L}^{-1}$, Cd $60 \mu\text{g L}^{-1}$, Zn $100 \mu\text{g L}^{-1}$; Etapa 2 – Cr $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e Etapa 3 – Tl $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Os métodos voltamétricos utilizados foram a voltametria adsortiva de redissolução catódica (AdCSV), para os elementos U, V, Sb, Pb, Cd, Zn e Cr, e a voltametria de redissolução anódica (ASV) para o elemento Tl.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Otimização das condições experimentais

Para a determinação simultânea de U, V, Pb, Cd, Sb e Zn utilizou-se como complexante o ácido cloranílico e eletrólito suporte solução de nitrato de potássio, em pH 2,3, condições empregados em trabalhos anteriores para a determinação de U, V, Sb, Mo (SANDER, 1999). A partir da reprodução deste trabalho realizado por SANDER (1999), iniciou-se uma investigação acerca da possibilidade de se determinar outros elementos relevantes nessas mesmas condições experimentais. Como resultado obteve-se um acréscimo de três elementos: Pb, Cd e Zn, nessa determinação simultânea, e observou-se que o molibdênio age como interferente para na determinação de Pb e Cd, apresentando um pico de redução que varia de -0,55 a 0,60 V, encobrindo os sinais de Pb e Cd que apresentam seus picos de redução em -0,55 V e -0,55 V respectivamente. Dessa forma optou-se pela determinação dos elementos Pb e Cd, considerando que estes estão presentes na maioria das amostras utilizadas neste trabalho; no entanto, a análise sequencial proposta não é adequada para matrizes que tenham em sua composição molibdênio. No entanto, este elemento aparece como nutriente em amostras de formulações específicas de algumas formulações de fertilizantes.

A otimização das condições do método, foram realizadas variando-se os potenciais de pré-concentração, tempo de pré-concentração e amplitude de pulso para a determinação de todos os analitos de forma suficientemente sensível nas amostras propostas. O potencial e as condições experimentais otimizadas estão descritos na Tabela 1. Após a otimização destes parâmetros, foram realizados vários testes com diferentes tipos de complexantes que pudessem ser introduzidos na análise sequencial, como vermelho de alizarina e dimetilgloxima, permitindo a determinação de outros elementos, sem que os metais e reagentes utilizados na etapa inicial, se caracterizassem como interferentes.

Tabela 1- Parâmetros voltamétricos otimizados para a determinação sequencial e simultânea dos elementos.

Elemento	Tdep (s)	Edep (mV)	Epulso(mV)	V (mV/s)	Epico (mV)
U	30	+50	-50	13,33	- 50
V	30	+50	-50	13,33	- 100
Sb	30	+50	-50	13,33	- 280
Pb	30	+50	-50	13,33	- 355
Cd	30	+50	-50	13,33	- 550
Zn	30	+50	-50	13,33	- 975
Cr	30	-1000	-50	20,00	- 1250
TI	180	-800	50	20,00	- 430

A partir desses testes obteve-se resultados satisfatórios para a determinação sequencial de Cr e TI com a adição de DTPA e EDTA, respectivamente, cujos métodos são amplamente utilizados e descritos na literatura.

4.2 Análise Simultânea e Sequencial

Na etapa inicial da análise sequencial, onde são determinados U, V, Sb, Pb, Cd e Zn simultaneamente por AdCSV, foi utilizado CA como complexante, que possui uma estrutura composta por átomos doadores de elétrons- p ligantes, que são responsáveis pela formação dos complexos com os metais. Sua estrutura pode ser observada na Figura 2 A.

Os possíveis mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 1 da análise sequencial com o Acido Clorânico são descritos abaixo na Tabela 2 (HENZE, 2001), onde se observa a formação do complexo entre os metais e o CA na solução, seguida da adsorção desse complexo na gota de mercúrio sob ação de

um potencial de deposição, onde ocorre a subsequente redução do metal em seu potencial de pico característico, sendo possível sua determinação.

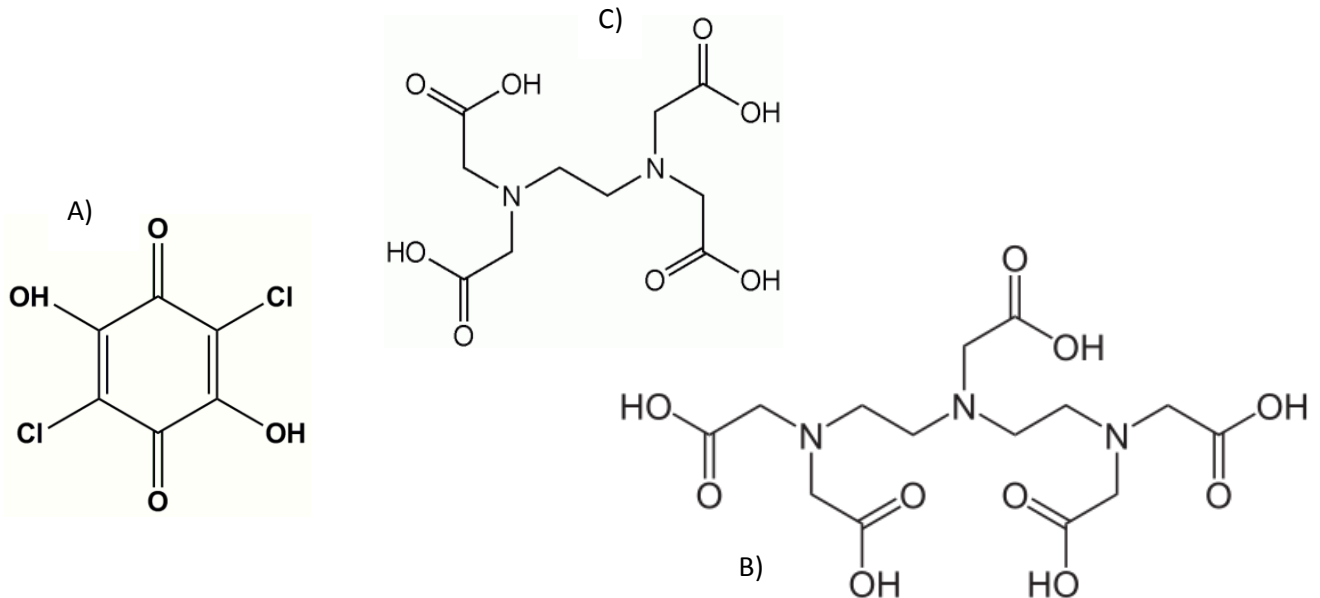


Figura 2- Estrutura molecular dos ligantes: A) Ácido Cloranílico (CA); B) Ácido dietilenotriamino-pentaacético(DTPA) e C) Àcido etilenodiaminotetraacético (EDTA).

Para a determinação de Cr por AdCSV, utilizou-se o complexante DTPA em pH 6,2. A estrutura do DTPA é composta por átomos doadores de elétrons - p ligantes, como pode ser visto na Figura 2 B. O mecanismo de reação entre os dois estados de oxidação eletroquimicamente ativos de Cr(VI) e Cr(III), e o ligante DTPA, ocorrem simultaneamente no eletrodo de mercúrio como descrito abaixo na tabela 3, para a etapa 2 da análise sequencial. A re-oxidação catalítica de Cr(II) a Cr(III), pela ação de íons nitrato na etapa de redissolução do complexo Cr(III) - DTPA, confere um aumento de sensibilidade ao método voltamétrico (GOLIMOWSKI et al., 1985).

Para a determinação do TI por ASV, utilizou-se EDTA como complexante em pH 4,6. O EDTA é um ácido que atua como ligante hexadentado, ou seja, pode complexar o íon metálico através de seis posições de coordenação, como pode ser observado na Figura 2 C.

Tabela 2- Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 1, da análise sequencial com CA.

Reação no eletrodo/solução	Potencial
U (VI)	
$U(VI) + CA \rightleftharpoons U(VI)-CA$	
$U(VI)-CA + Hg \rightleftharpoons U(VI)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$U(VI)-CA \text{ ads (Hg)} + 3e \rightleftharpoons U(III) + CA + Hg$	E= -0,05 V
V (V)	
$V(V) + CA \rightleftharpoons V(V)-CA$	
$V(V)-CA + Hg \rightleftharpoons V(V)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$V(V)-CA \text{ ads (Hg)} + 2e \rightleftharpoons V(III) + CA + Hg$	E= -0,10 V
Sb(III)	
$Sb(III) + CA \rightleftharpoons Sb(III)-CA$	
$Sb(III)-CA + Hg \rightleftharpoons Sb(III)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$Sb(III)-CA \text{ ads (Hg)} + 3e \rightleftharpoons Sb(0) + CA + Hg$	E= -0,20 V
Pb(II)	
$Pb(II) + CA \rightleftharpoons Pb(II)-CA$	
$Pb(II)-CA + Hg \rightleftharpoons Pb(II)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$Pb(II)-CA \text{ ads (Hg)} + 2e \rightleftharpoons Pb(0) + CA + Hg$	E= -0,35 V
Cd(II)	
$Cd(II) + CA \rightleftharpoons Cd(II)-CA$	
$Cd(II)-CA + Hg \rightleftharpoons Cd(II)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$Cd(II)-CA \text{ ads (Hg)} + 2e \rightleftharpoons Cd(0) + CA + Hg$	E= -0,55 V
Zn(II)	
$Zn(II) + CA \rightleftharpoons Zn(II)-CA$	
$Zn(II)-CA + Hg \rightleftharpoons Zn(II)-CA \text{ ads (Hg)}$	E= 0,05 V
$Zn(II)-CA \text{ ads (Hg)} + 2e \rightleftharpoons Zn(0) + CA + Hg$	E= -0,97 V

Tabela 3- Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 2, da análise sequencial com DTPA.

Reação no eletrodo/solução	Potencial
$\text{Cr(VI)} + \text{CA} \rightleftharpoons \text{Cr(VI)-CA}$	Etapa 1
$\text{Cr(VI)-CA} + 3\text{e}^- + \text{Hg} \rightleftharpoons \text{Cr(III)} (\text{Hg}) + \text{CA}$	
$\text{Cr(III)-} (\text{Hg}) + \text{DTPA} \rightleftharpoons \text{Cr(III) -DTPA ads (Hg)}$	E= -1,00 V
$\text{Cr(III) -DTPA ads (Hg)} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cr(II)} + \text{DTPA}$	E= -1,25 V
$\text{Cr(II)} + \text{NO}_3^- \rightarrow \text{Cr(III)} + \text{e}^-$	
$\text{Cr(III)} + \text{DTPA} \rightleftharpoons \text{Cr(III)-DTPA}$	
$\text{Cr(III)-DTPA} + \text{Hg} \rightleftharpoons \text{Cr(III) -DTPA ads (Hg)}$	E= -1,00 V
$\text{Cr(III) -DTPA ads (Hg)} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Cr(II)} + \text{DTPA}$	E= -1,25 V

O possível mecanismo de reação que ocorre entre o Tálcio e o EDTA no eletrodo de mercúrio está descrito na tabela 4, para a etapa 3 da análise sequencial (HENZE, 2001), onde se observa inicialmente o TI ligado aos complexantes da etapa 1 e 2 e posterior ligação e formação de complexo com o EDTA que é adicionado nessa etapa. Em seguida observa-se a redução do TI (III) para TI (0) quando adsorvido na gota de mercúrio sob ação de um potencial, que posteriormente é oxidada a TI (I) ao retornar para a solução, sendo dessa forma possível sua determinação. No caso do TI, devido ao potencial de deposição aplicado -0,80V, tanto as espécies de TI (I) como as de TI (III) são reduzidas a TI (0) e devolvidas a solução como TI (I) (SCHNEIDER, 2010).

Uma vez que as espécies que poderiam interferir na determinação de tálcio (cádmio e chumbo) estão mascaradas através da complexação em solução pelo DTPA anteriormente adicionado para a determinação de cromo, pode-se, então, determinar tálcio de forma seletiva.

Tabela 4- Mecanismos de reação que ocorrem com os metais na etapa 3, da análise sequencial com EDTA.

Reação no eletrodo/solução	Potencial
$Tl(III)-CA + DTPA \rightleftharpoons Tl(III)-DTPA + CA$	Etapa 1 e 2
$Tl(III)-DTPA + EDTA \rightleftharpoons Tl(III)-EDTA + DTPA$	Etapa 3
$Tl(III)-EDTA + Hg \rightleftharpoons Tl(0) - (Hg) + EDTA$	$E = -0,80 V$
$Tl(0) - (Hg) \rightleftharpoons Tl(I) + Hg + e$	$E = -0,430 V$

A ordem de adição dos complexantes para a medida sequencial está relacionada as suas constantes de formação com os elementos em questão. Para os complexantes EDTA e DTPA foram descritos na literatura suas constantes para os complexos dos metais em estudo. No entanto, para o complexante Ácido Cloranílico tais constantes não foram ainda descritas na literatura. Na tabela abaixo estão relacionadas as constantes de formação dos metais em estudo com os complexantes EDTA e DTPA.

Tabela 5- Constantes de Formação para EDTA e DTPA (NIST).

Metais	DTPA (log Kf) 25°C	EDTA (log Kf) 25°C
V^{+2}	16,31	12,70
U^{+4}	28,88	25,80
Sb^{+3}	9,82	12,46
Pb^{+2}	18,8	18,00
Cd^{+2}	19,00	16,50
Zn^{+2}	18,20	16,50
Cr^{+3}	15,36	13,60
Tl^{+1}	5,97	6,41

Analisando-se os dados da tabela 5, pode-se observar que no caso do tálio, sua constante de formação com o EDTA é maior que sua constante com o DTPA, e

para Cd e Pb são menores que para DTPA. Dessa forma, Cd e Pb se mantêm complexados ao DTPA resultante da etapa 2 da análise sequencial, não interferindo na determinação do TI.

Como dito anteriormente as constantes de formação do Ácido Cloranílico são pouco descritas na literatura, e sendo assim não se pode afirmar se suas constantes com os elementos da determinação simultânea em questão são maiores ou menores que suas constantes com DTPA e EDTA, tendo em vista que a medida voltamétrica proposta se inicia por ele. No entanto, foram encontrados valores descritos na base de dados do NIST, para as constantes de formação do ácido cloranílico relacionadas a outros metais que estão descritos na tabela 6.

Tabela 6- Constantes de Formação para CA, EDTA e DTPA (NIST).

Metais	CA (log Kf)	DTPA (log Kf)	EDTA (log Kf)
Fe ⁺³	5,8	27,8	25,10
Ni ⁺²	4,3	20,1	18,4
Zr ⁺⁴	5,76	36,9	32,8
Hf ⁺⁴	3,73	35,4	33,7
Ge ⁺⁴	6,53	-	4,8

Analizando-se os dados da tabela 6, pode-se observar que as constantes de formação dos metais com o CA são menores para a maioria dos cátions, sejam eles divalentes, trivalentes ou tetravalentes, em relação ao DTPA E EDTA. Sendo assim pode-se esperar que esse perfil se mantenha para os elementos em estudo neste trabalho, justificando e creditando a sequência proposta segundo as constantes de formação. No entanto, optou-se em realizar alguns testes experimentais, para se observar como a análise sequencial proposta responderia diante de uma inversão na adição dos complexantes, iniciando-se uma sequência a partir do Cr-DTPA, TI-EDTA e demais elementos com CA, bem como a sequencial TI-EDTA, Cr-DTPA e demais elementos com CA. Como esperado, os resultados experimentais demonstraram que com a inversão dos complexantes na análise sequencial dos 8 elementos em questão não é possível. Isso se deve ao fato anteriormente citado sobre as

constantes de formação dos complexantes utilizados, sendo que as constantes para DTPA e EDTA são maiores que as do CA. Sendo assim, os metais da etapa 1 e que são determinados pelo AC não são liberados pelos complexantes DTPA e EDTA devido a elevada estabilidade existentes entre os metais e esses complexantes. Na Figura 3, estão os voltamogramas da análise sequencial em amostra de água, onde se pode observar os picos de cada elemento proposto em seus potenciais de redução e oxidação característicos, sem sobreposição ou interferência entre eles.

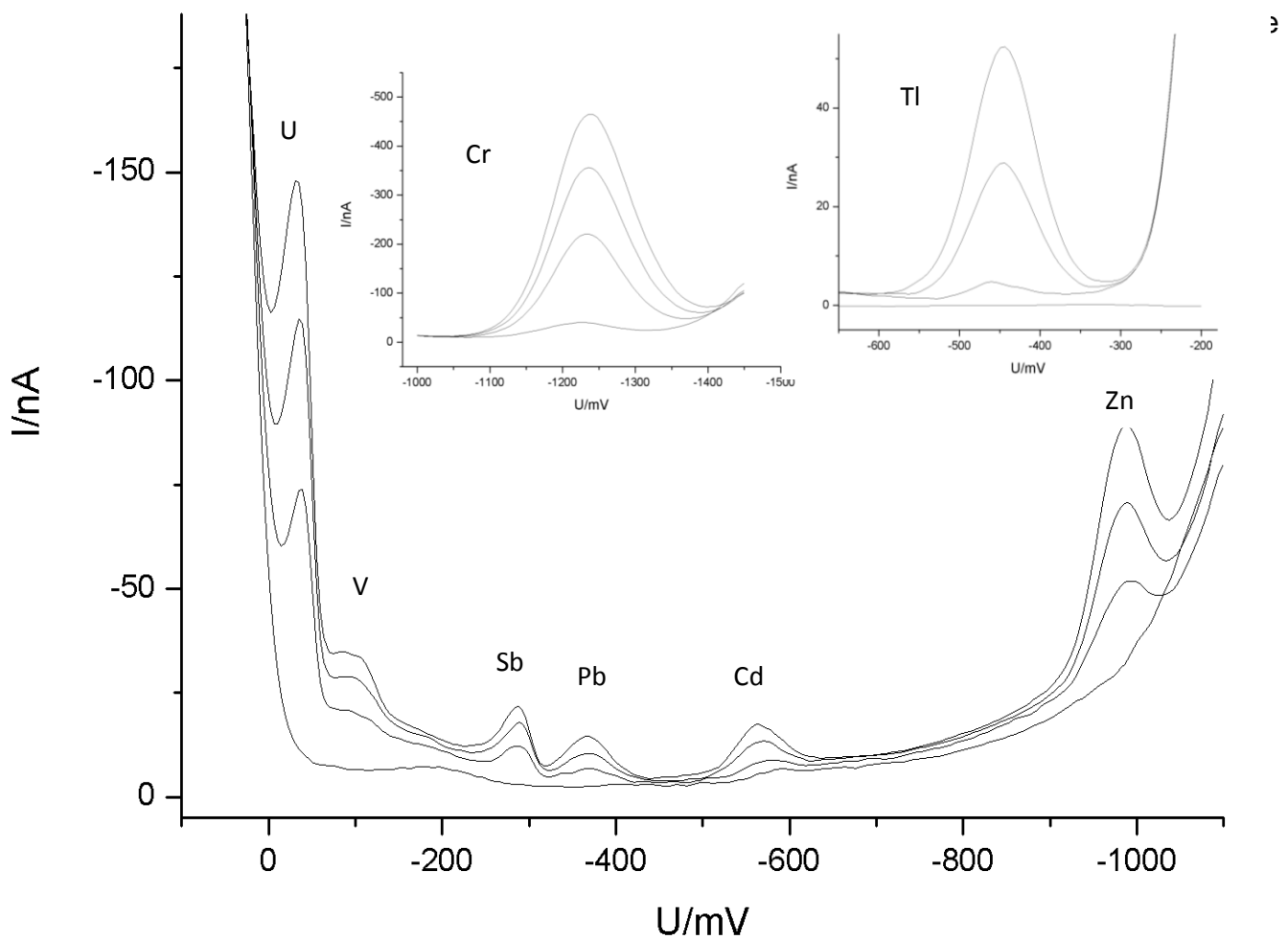


Figura 3- Voltamogramas de uma amostra de água, utilizando o método sequencial com adição do padrão. Determinação de U, V, Sb, Pb, Cd e Zn por AdCSV, CA 1×10^{-4} mol L $^{-1}$, KNO $_3$ 0,1 mol L $^{-1}$, pH 2,3 ; Determinação de Cr por AdCSV, DTPA 0,01 mol L $^{-1}$, pH 6,2; Determinação de Tl por ASV, EDTA 2×10^{-3} mol L $^{-1}$, pH 4,6 . Adição-padrão (3x): U 10 μ g L $^{-1}$, V 60 μ g L $^{-1}$, Sb 60 μ g L $^{-1}$, Pb 60 μ g L $^{-1}$, Cd 60 μ g L $^{-1}$, Zn 100 μ g L $^{-1}$, Cr 5 μ g L $^{-1}$ e Tl 10 μ g L $^{-1}$.

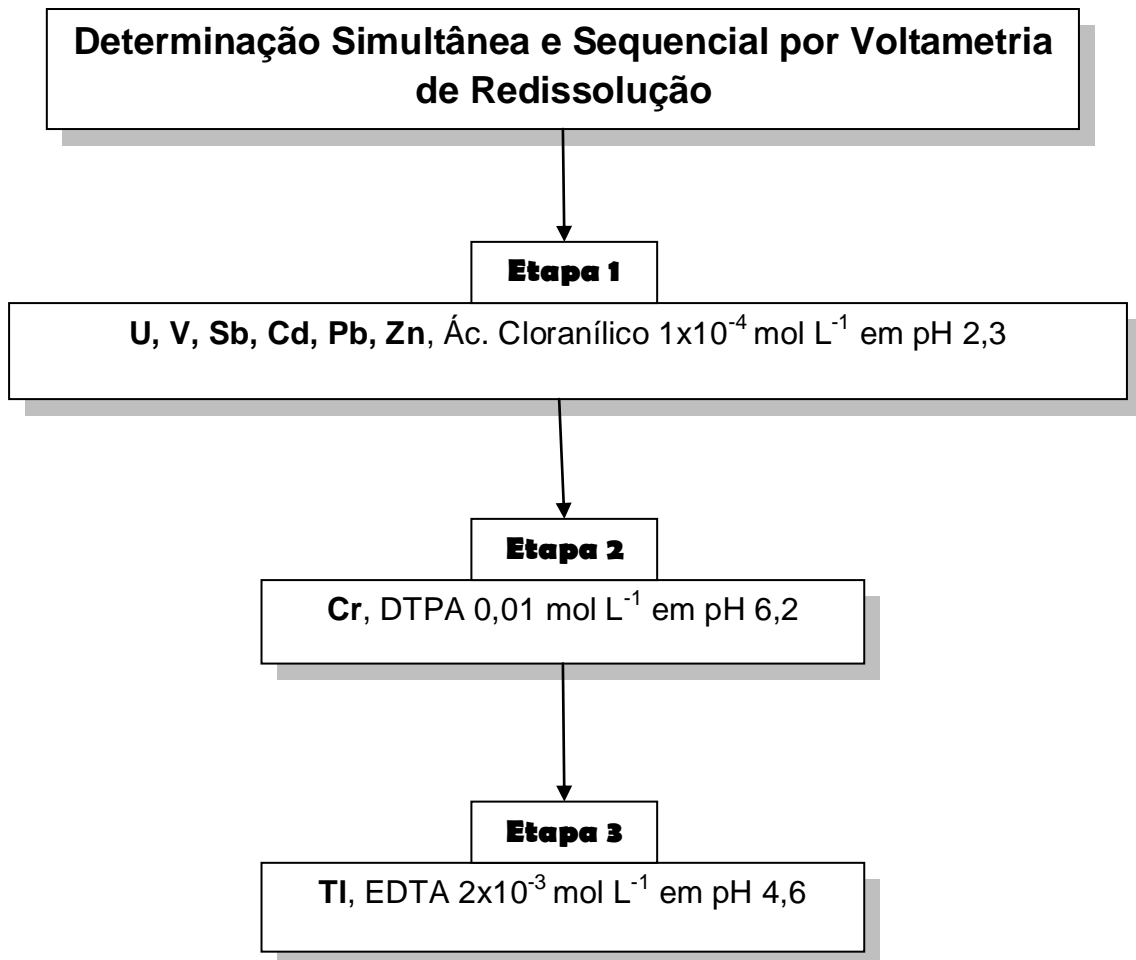


Figura 3: Fluxograma do procedimento analítico do método simultâneo e seqüencial.

As amostras utilizadas foram submetidas à digestão ácida ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) com o objetivo de prepará-las para a análise, modificando seu estado físico de sólido para líquido, destruindo toda a matéria orgânica que compõem a amostra. Sendo assim, o que se determinada após a digestão ácida é a concentração total dos elementos metálicos presentes nas amostras.

4.3 Figuras de Mérito

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. O LD pode ser expresso como:

$$LD = 3 \times S / b$$

onde S é o desvio padrão absoluto, estimado pelo desvio padrão do branco ($n = 7$), e b é o coeficiente angular (inclinação) da curva analítica.

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (IN METRO, 2007). O LQ pode ser expresso como:

$$LQ = 10 \times S / b$$

onde S é o desvio padrão absoluto, estimado pelo desvio padrão do branco ($n = 7$), e b é o coeficiente angular (inclinação) da curva analítica. Desta forma, o LD e o LQ foram determinados para cada analito em sequencia, nas misturas que surgem após cada etapa.

A faixa linear de trabalho, ou a linearidade do método, corresponde à capacidade do método de fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação. Calculou-se também o coeficiente de determinação (R^2). Este parâmetro (R^2) permitiu estimar a qualidade das curvas obtidas, onde valores mais próximos de 1, indicam menor dispersão do conjunto de resultados experimentais e menor incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

A Tabela 7 demonstra as faixas lineares de trabalho para os analitos em estudos, LD, LQ e seus coeficientes de determinação (R^2) (IN METRO, 2007).

Os ensaios de recuperação foram realizados inicialmente para testar a aplicabilidade do método e comprovar a exatidão do mesmo na determinação dos elementos nas amostras de fertilizantes, plantas e formulações fitoterápicas após a digestão ácida. Para isso, foram feitas adições de padrão em concentrações

conhecidas de cada elemento na amostra, antes da digestão, sendo feita a determinação de cada elemento, pelo método da adição do padrão, nas condições otimizadas descritas nos capítulos anteriores. Na tabela 8 encontram-se os valores das determinações dos elementos U, V, Sb, Pb, Cd, Zn, Cr, TI na análise sequencial, em amostras reais de fertilizantes, formulações fitoterápicas e plantas medicinais e suas respectivas recuperações. O intervalo aceitável de recuperação para análise de traços é normalmente de 80% a 120%, sendo que todos os valores de recuperação obtidos para as amostras em estudo ficaram dentro do intervalo permitido, observando-se recuperações de 81% a 119%. Pode-se observar também, que as recuperações para alguns elementos como Pb, Zn e Cr na amostra de fitoterápico apresentou valores menores em torno de 84%, se comparados com as amostras de fertilizante e planta medicinal, sendo que provavelmente esses valores sejam decorrentes de uma possível interferência causada pela matriz.

Tabela 7- Figuras de mérito para quantificação dos elementos envolvidos na análise voltamétrica sequencial e simultânea.

Analito	Faixa linear de determinação/ $\mu\text{g L}^{-1}$	R^2	LD / $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ / $\mu\text{g L}^{-1}$
U	5 -70	0,990	0,25	0,83
V	30 -280	0,990	4,91	16,39
Sb	30 -280	0,999	3,26	10,87
Pb	30 -1.180	0,990	8,85	19,51
Cd	30 -2.080	0,990	4,70	15,69
Zn	80 -15.800	0,990	4,46	14,89
Cr	2 -205	0,990	0,12	0,40
TI	5 -30	0,999	0,89	2,99

A faixa linear para os analitos em estudo ficaram dentro do esperado e para cada método desenvolvido. Os LD e LQ ficaram abaixo dos limites estabelecidos pela legislação para as amostras analisadas, com exceção do Cd, e o coeficiente de determinação para todos os analitos ficou entre 0,990 e 0,999, permitindo se estimar a boa qualidade das curvas obtidas.

Tabela 8- Determinação dos elementos U, V, Sb, Pb, Cd, Zn, Cr, Tl na análise sequencial, em amostras reais de fertilizantes, formulações fitoterápicas e plantas medicinais e seus valores dos ensaios de recuperação (n =3).

Metais	Amostras (mg/Kg)											
	Fertilizante				Formulação Fitoterápica (Imagressim)				Planta Medicinal (Carqueja)			
	Enc.	Adic.	Det.	Rec.	Enc.	Adic.	Det.	Rec.	Enc.	Adic.	Det.	Rec.
U	430,0	50,0	485,0	101,0%	0,0	100,0	101,0	101,0%	0,0	100,0	100,0	100,0%
V	870,0	300,0	1101,0	94,0%	642,0	600,0	1336,0	108,0%	0,0	600,0	714,0	119,0%
Sb	215,0	300,0	571,0	111,0%	82,0	600,0	821,0	120,0%	0,0	600,0	636,0	106,0%
Pb	0,0	300,0	292,0	97,0%	156,0	600,0	634,0	84,0%	0,0	600,0	593,0	99,0%
Cd	363,0	300,0	634,0	96,0%	309,0	600,0	908,0	100,0%	394,0	600,0	1051,0	106,0%
Zn	0,0	500,0	567,0	113,0%	0,0	1000,0	815,0	81,0%	0,0	1000,0	1193,0	119,0%
Cr	121,0	25,0	144,0	99,0%	16,0	50,0	58,0	87,0%	37,0	50,0	85,0	97,0%
Tl	8,0	50,0	56,0	96,0%	34,0	100,0	127,0	94,0%	21,0	100,0	139,0	115,0%

Enc.: valor encontrado na amostra Adic.: valor adicionado do metal na amostra antes da digestão Rec.: valor recuperado do metal após digestão e análise voltamétrica

4.4.1 Análise elementar em amostras de Fertilizantes Fosfatados

Foram analisadas 10 amostras de fertilizantes fosfatados com diferentes percentuais de fósforo em sua composição, com alíquotas de 1 g de cada amostra.

Pode-se observar nas Figura 6, os voltamogramas da análise sequencial em amostra de fertilizante fosfatado, após digestão ácida, onde se pode observar os picos dos potenciais de redução característicos para U, V, Sb, Pb, Cd, Zn e Cr e de oxidação para TI, sem sobreposição ou interferência entre eles. Os resultados das análises estão descritos na tabela 9.

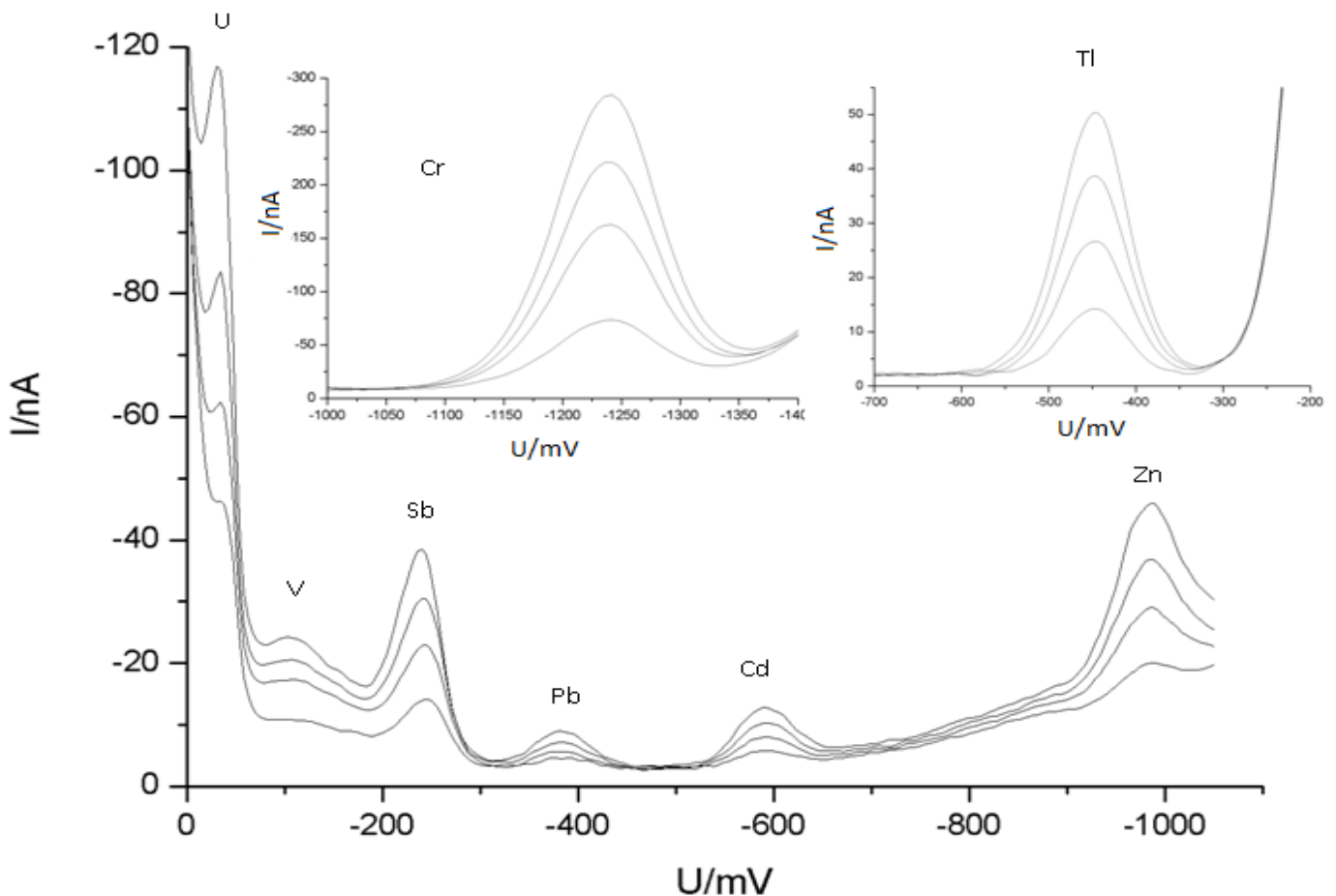


Figura 5- Voltamogramas de uma amostra de fertilizante sólido após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. Determinação de U, V, Sb, Pb, Cd e Zn por AdCSV, CA 1×10^{-4} mol L⁻¹, KNO₃ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,3 ; Determinação de Cr por AdCSV, DTPA 0,01 mol L⁻¹, pH 6,2; Determinação de TI por ASV, EDTA 2×10^{-3} mol L⁻¹, pH 4,6 . Adição-padrão (3x): U 10 µg L⁻¹, V 60 µg L⁻¹, Sb 60 µg L⁻¹, Pb 60 µg L⁻¹, Cd 60 µg L⁻¹, Zn 100 µg L⁻¹, Cr 5 µg L⁻¹ e TI 10 µg L⁻¹.

Tabela 9- Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de fertilizantes fosfatados após digestão ácida.

Fertilizantes Fosfatados	U mg/Kg	V mg/Kg	Sb mg/Kg	Cd mg/Kg	Pb mg/Kg	Zn mg/Kg	Cr mg/Kg	TI mg/Kg
1	429,7	870,0	215,1	-	215,1	-	112,7	4,0
2	175,6	12,3	60,1	142,9	529,5	-	32,3	0,4
3	393,6	26,8	-	89,8	300,3	-	422,1	-
4	243,9	-	-	217,7	69,9	-	24,8	13,9
5	42,7	4,5	-	73,2	122,6	-	22,2	15,6
6	165,8	3,2	-	29,5	138,7	-	60,0	20,8
7	32,3	5,8	-	105,1	-	-	14,1	5,1
8	43,3	4,1	-	91,5	80,2	-	40,5	5,7
9	46,8	5,8	-	97,5	174,7	-	23,4	6,2
10	128,0	143,35	-	127,0	164,2	-	10,0	8,7

Pode-se observar na Tabela 9, que para todas as amostras existe a presença significativa de urânio. Embora ainda não haja na legislação brasileira parâmetros de controle deste metal pesado, sabe-se que seu efeito é cumulativo no solo e em seres vivos. Diante do uso crescente de fertilizantes torna-se um problema eminente do ponto de vista toxicológico e ambiental. Para V, Sb e TI, a legislação brasileira também não prevê limites máximos, sendo que apenas para os metais pesados Cd, Pb, e Cr, estes limites são estabelecidos.

Compete ao MAPA, a regulamentação da legislação referente aos limites mínimos exigidos de micro ou macronutrientes presentes na composição dos fertilizantes em geral, como também os limites máximos permitidos de metais tóxicos e/ou contaminantes nessas formulações minerais.

A Tabela 10 mostra os limites de quantificação (mg kg^{-1}) calculados para as amostras de fertilizantes sólidos, juntamente com os valores mínimos exigidos para os nutrientes e os valores máximos permitidos para os contaminantes nas

formulações de fertilizantes sólido, segundo o MAPA, onde os limites máximos para contaminantes estão relacionados a sua formulação em relação ao % de P_2O_5 .

Tendo como base a legislação vigente do MAPA, o método proposto neste trabalho pode ser aplicado tanto para a determinação de micronutrientes quanto de macronutrientes para as formulações minerais de fertilizantes fosfatados, uma vez que os limites quantificáveis destes nutrientes nas amostras estão em concentrações inferiores aos valores mínimos exigidos pelo MAPA, com exceção do Cd que o limite de detecção ficou pouco acima do limite permitido.

Tabela 10- Limites de quantificação para as amostras de fertilizante sólido, comparados a Legislação do MAPA, Decreto nº 4.954/ 2004 (MAPA, 2004).

Micronutriente	LQ (mg kg-1)	Mínimo (mg kg-1)
Zn	74,45	1.000
Contaminantes	LQ (mg kg-1)	Máximo (mg kg-1)
U	4,15	-
V	81,95	-
Sb	54,35	-
Pb	97,5	1.000,0
Cd	78,45	57,0
Cr	2,00	4,00*
TI	14,95	-

* Valor admitido em mg/Kg por ponto percentual de % P_2O_5 .

Considerando que as amostras de fertilizantes analisadas possuem diferentes percentuais % de fosfato, e muitos dos metais pesados presentes nos fertilizantes provém da rocha fosfática que é a matéria prima utilizada para sua produção, fez-se

uma correlação entre os valores encontrados nas amostras de alguns metais em função do percentual de fosfato da amostra. Esse gráfico pode ser visto na Figura 6.

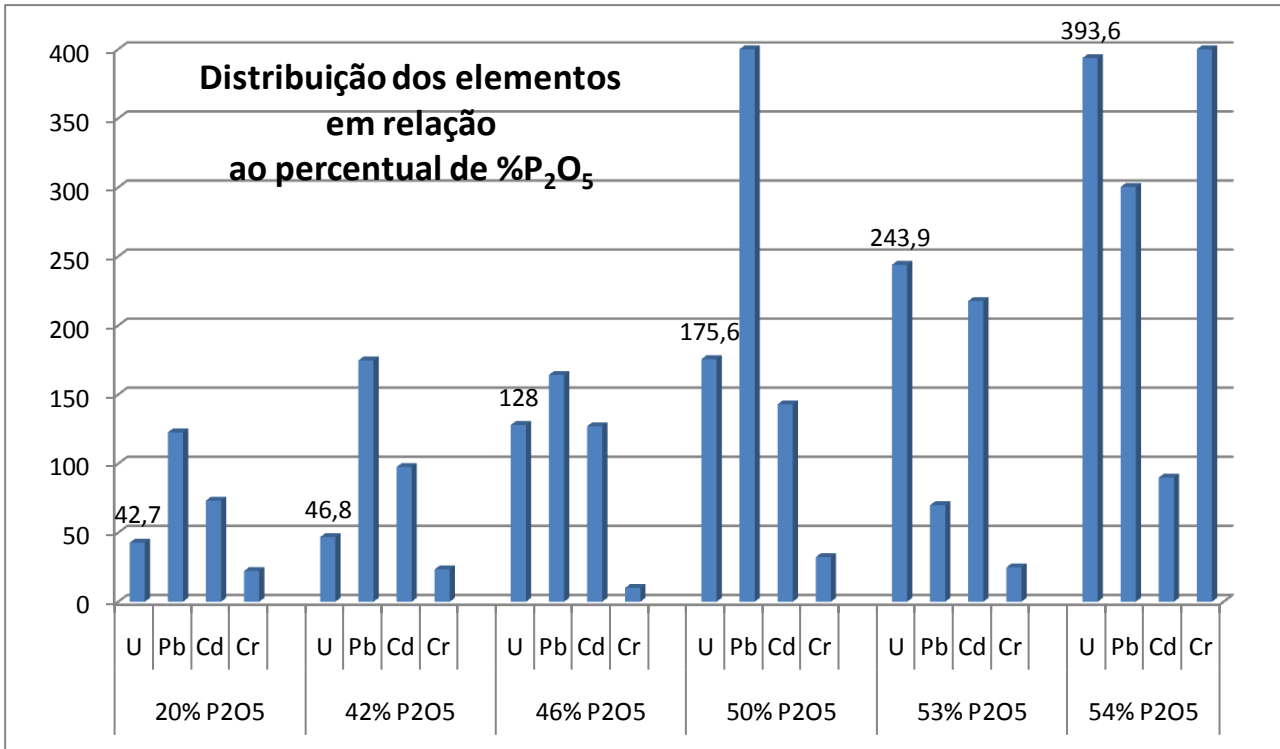


Figura 4- Distribuição dos elementos em relação ao percentual de fósforo das amostras de fertilizantes fosfatados

Pode-se observar na Figura 6, que existe uma relação entre o aumento do percentual % de P₂O₅ e a presença dos metais, na maioria dos casos. Para o U, essa relação é visível, com o aumento do percentual % de P₂O₅ se tem um aumento na concentração desse elemento na amostra. Para os outros metais essa relação não é proporcional em todos os casos, mas pode se afirmar que o percentual de fosfato tem influência direta na incidência de metais pesados no produto final.

4.4.2 Análise elementar em amostras de Plantas Medicinais

Foram analisadas 5 amostras de plantas medicinais distintas, onde 0,5 g de cada amostra que foram submetidas a digestão ácida. O resultado das análises estão descritos na tabela 11.

Tabela 11- Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de plantas medicinais.

Plantas Medicinais	U mg/Kg	V mg/Kg	Sb mg/Kg	Pb mg/Kg	Cd mg/Kg	Zn mg/Kg	Cr mg/Kg	Tl mg/Kg
<i>Baccharis trimera</i>	-	-	-	-	98,3	-	20,5	5,6
<i>Persea americana</i>	-	-	-	143,0	-	-	11,6	6,9
<i>Adiantum Cappilus veneris</i>	-	-	-	48,1	107,6	-	16,0	33,7
<i>Peumus boldus</i>	-	-	-	63,4	90,8	-	13,1	13,5
<i>Achyrocline saturooides</i>	-	-	-	32,8	-	-	17,7	25,5

Observa-se na Tabela 11, a presença de alguns metais pesados em concentrações significativas, no entanto, a legislação brasileira não prevê limites máximos e nem controle de contaminantes inorgânicos em plantas medicinais. Essa contaminação, pode ter origem na absorção dos metais pesados presentes no solo pelas plantas, ou ainda por contaminação pela forma de manipulação e condicionamento das mesmas. De qualquer forma o fato de se observar quantidades elevadas de metais como Pb, Cd, Cr e Tl em plantas medicinais de uso frequente pela população, nos remete a uma situação de risco de intoxicação lenta e crônica, já que estes metais não participam do metabolismo humano e podem ser gradativamente acumulados no organismo, causando diversas patologias.

Pode-se observar na Figura 7, os voltamogramas da análise sequencial em amostra de planta medicinal, após digestão ácida, onde se pode observar os picos dos potenciais de redução característicos para U, V, Sb, Pb, Cd, Zn e Cr e de oxidação para Tl, sem sobreposição ou interferência entre eles.

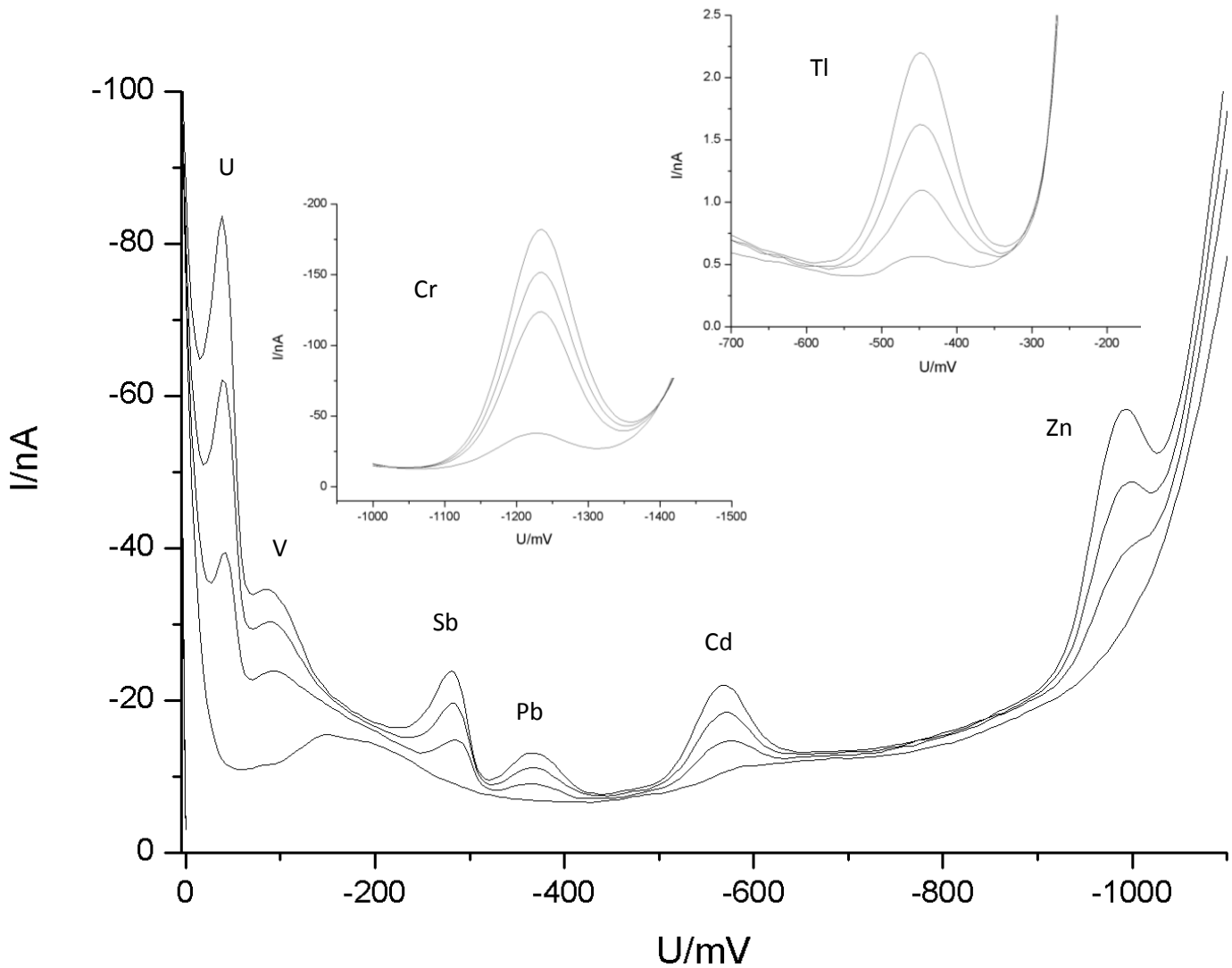


Figura 5- Voltamogramas de uma amostra de planta medicinal após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. Determinação de U, V, Sb, Pb, Cd e Zn por AdCSV, $CA\ 1 \times 10^{-4}\ mol\ L^{-1}$, $KNO_3\ 0,1\ mol\ L^{-1}$, pH 2,3 ; Determinação de Cr por AdCSV, $DTPA\ 0,01\ mol\ L^{-1}$, pH 6,2; Determinação de Tl por ASV, $EDTA\ 2 \times 10^{-3}\ mol\ L^{-1}$, pH 4,6 . Adição-padrão (3x): U $10\ \mu g\ L^{-1}$, V $60\ \mu g\ L^{-1}$, Sb $60\ \mu g\ L^{-1}$, Pb $60\ \mu g\ L^{-1}$, Cd $60\ \mu g\ L^{-1}$, Zn $100\ \mu g\ L^{-1}$, Cr $5\ \mu g\ L^{-1}$ e Tl $10\ \mu g\ L^{-1}$.

4.4.3 Análise elementar em amostras de Formulações Fitoterápicas

Foram analisadas 5 amostras de diferentes formulações fitoterápicas. Foram usados 0,5 g do *pool* de cada amostra para serem submetidos à digestão ácida. O resultado das análises estão descritos na Tabela 12.

Tabela 12- Valores encontrados para os metais em estudo em amostras de formulações fitoterápicas.

Fitoterápicos	U mg/Kg	V mg/K	Sb mg/Kg	Pb mg/Kg	Cd mg/Kg	Zn mg/Kg	Cr mg/Kg	Tl mg/Kg
Imagressim	-	642,4	81,8	155,8	12,8	-	-	19,4
Pholia magra	-	1850,0	-	206,3	-	-	19,9	51,0
Fibrothin	-	98,0	-	336,5	-	-	12,6	332,9
Caralluma fimbriata	-	342,0	-	184,0	49,3	-	15,9	23,4
Composto	-	-	-	-	-	-	-	-
Emagrecedor	-	621,0	-	208,0	-	-	11,2	30,6

Os dados observados na Tabela 12 em relação a presença e quantidade de metais pesados é preocupante, pois se observa valores altos de V, Pb, Cr e Tl se comparados com os valores de ingestão máxima diária (IMD), onde o IMD para V é de 1,8 mg/dia, Pb 75 ug/dia, Cr 35 ug/dia e Tl 800 mg/dia para indivíduo adulto (ATSDR, 1992, 2007, 2008, 2009). As possíveis fontes dessa contaminação podem ser em parte, pela absorção das plantas ou presença desses metais nos crustáceos (de onde é obtida a quitosana), pela contaminação desses produtos no momento da manipulação e preparação, ou ainda pelas condições de armazenamento. No entanto, o fato de que esses metais serão introduzidos via oral no organismo humano, e que o uso dos mesmos normalmente se dá por um longo período, já que são indicados para controle da obesidade, se faz urgente a elaboração de uma legislação que contemple o controle e níveis máximos de metais pesados em medicamentos manipulados, bem como, um programa de farmacovigilância de fitoterápicos entre os profissionais de saúde. A presença desses metais pesados no organismo como dito anteriormente é cumulativa representando um grande risco a saúde humana.

Na Figura 8, estão os voltamogramas da análise sequencial em amostra de formulações fitoterápicas, após digestão ácida, onde se pode observar os picos dos potenciais de redução característicos para U, V, Sb, Pb, Cd, Zn e Cr e de oxidação para Tl, sem sobreposição ou interferência entre eles.

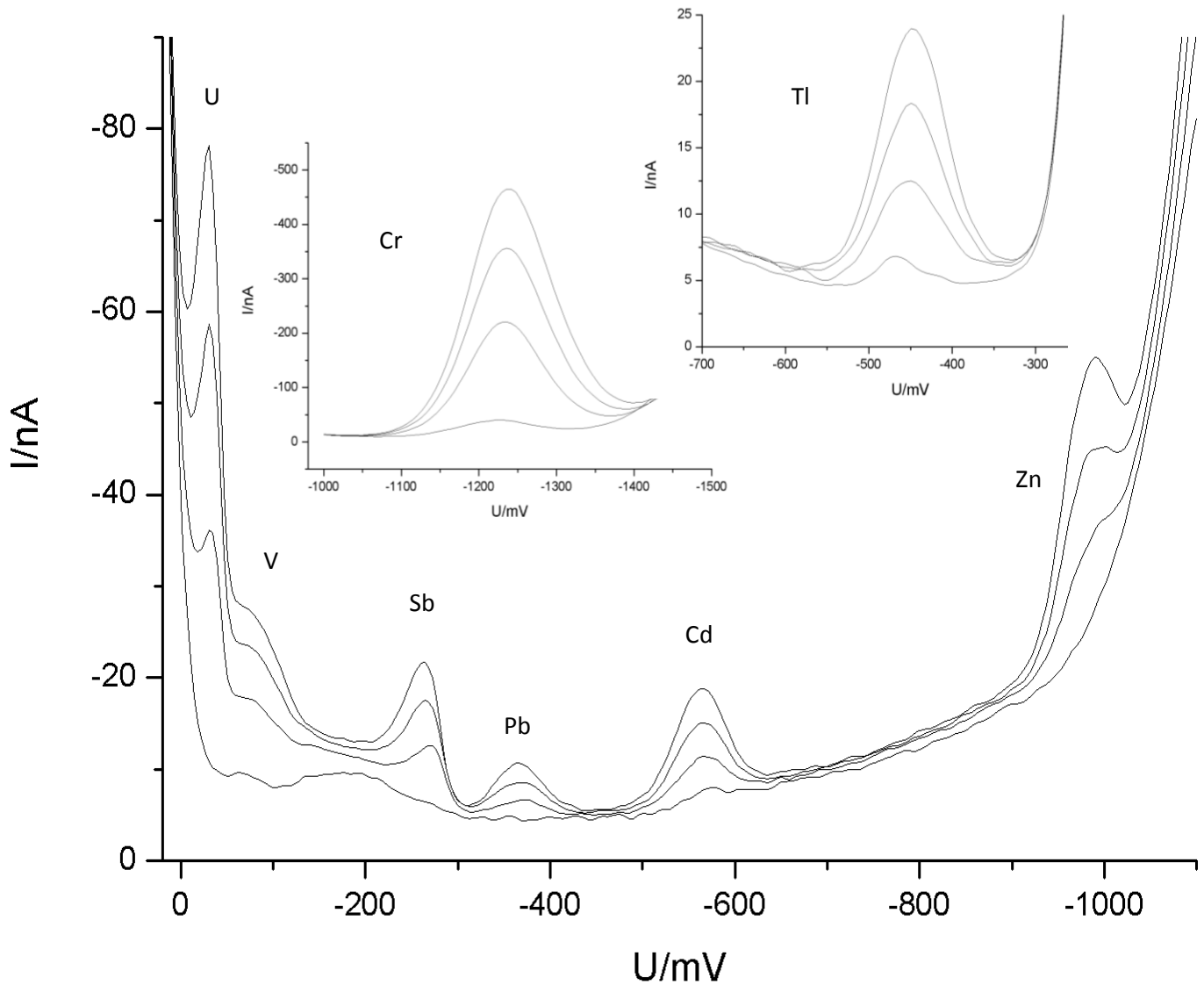


Figura 6- Voltamogramas de uma amostra de formulação fitoterápica após digestão ácida, utilizando o método sequencial com adição do padrão. Determinação de U, V, Sb, Pb, Cd e Zn por AdCSV, CA 1×10^{-4} mol L⁻¹, KNO₃ 0,1 mol L⁻¹, pH 2,3 ; Determinação de Cr por AdCSV, DTPA 0,01 mol L⁻¹, pH 6,2; Determinação de TI por ASV, EDTA 2×10^{-3} mol L⁻¹, pH 4,6 . Adição-padrão (3x): U 10 µg L⁻¹, V 60 µg L⁻¹, Sb 60 µg L⁻¹, Pb 60 µg L⁻¹, Cd 60 µg L⁻¹, Zn 100 µg L⁻¹, Cr 5 µg L⁻¹ e TI 10 µg L⁻¹.

5 CONCLUSÃO

A proposta inicial deste trabalho foi desenvolver uma metodologia analítica capaz de determinar urânio e outros metais sequencialmente a partir do complexante CA, bem como verificar a relação existente entre a sequencia dos complexos formados com seus ligantes e suas constantes de estabilidade. Isso tudo buscando uma forma analiticamente eficaz para determinação multielementar em amostras complexas, como fertilizantes fosfatados e fitoterápicos em limites abaixo dos previstos pela legislação.

Considerando as propostas citadas, o objetivo do desenvolvimento da metodologia analítica foi alcançado, onde se obteve a determinação sequencial de 8 elementos incluindo Urânio, a partir do CA, com adições de DTPA e EDTA nas etapas seguintes. Acerca das constantes de formação, embora não se tenha encontrado registros na literatura sobre as constantes para CA e os metais em questão, pode-se deduzir através das constantes encontradas para outros elementos um perfil que se pressupõem ser mantido para os metais em estudo neste trabalho, sendo assim, a sequencia de adição dos complexantes na análise sequencial proposta é justificada e creditada segundo as constantes de formação.

A aplicação do método sequencial em amostras reais de fertilizantes fosfatados, formulações fitoterápicas e plantas medicinais se mostrou eficiente, apresentando faixas de contaminação para fertilizantes de 7,7 a 60,9 mg/Kg de U; 85,4 a 214,3 mg/Kg de V; 12,8 a 28,1 mg/Kg de Cd; 78,8 a 116,10 mg/Kg de Zn; 1,3 a 3,8 mg/Kg de Cr e 0,4 a 3,8 mg/Kg de Tl. Para as amostras de fitoterápicos as faixas de contaminação são de 98 a 1.850 mg/Kg de V; 81,8 mg/Kg de Sb; 155,8 a 336,5 mg/Kg de Pb; 12,8 a 49,3 mg/Kg de Cd; 11,2 a 19,9 mg/Kg de Cr e 19,4 a 332,9 mg/Kg de Tl. Para as plantas medicinais os valores são de 48,1 a 143 mg/Kg de Pb; 90,8 a 107,6 mg/Kg de Cd; 11,6 a 20,5 de mg/Kg Cr e 5,6 a 33,7 mg/Kg de Tl. Os ensaios de recuperação dos elementos nas amostras estudadas resultaram nos seguintes valores para U de 94 a 110%, V de 85 a 120%, Sb de 106 a 120%, Pb de 80 a 96%, Cd de 85 a 99%, Zn de 81 a 101%, Cr de 83 a 95% e Tl de 92 a 118%.

Analisando-se os resultados obtidos nas análises das amostras, pode-se observar que a preocupação crescente em torno da exposição cada vez maior do solo, águas, plantas e seres vivos por metais pesados é fundamentada pelos valores encontrados. Cada vez estamos mais expostos a esse tipo de contaminação, independente de sua origem, já que estamos no pico da cadeia alimentar e toda a contaminação presente no solo, águas, peixes, animais e alimentos, acabam chegando até nós, sendo a causa direta ou indireta de várias patologias nos seres humanos. Diante desse fato se faz necessário, uma legislação que seja de fato aplicada, com fiscalização e penalização pela parte dos órgãos competentes, não apenas em alimentos ou medicamentos acabados, mas em todos os pontos críticos onde possa haver contaminação por parte de metais pesados, como solo, insumos, água de rios entre outros, já que tudo na natureza esta interligado, e fatos isolados acabam atingindo o todo.

Dessa forma, o método analítico proposto, se mostrou eficiente, de baixo custo e capaz de determinar 7 metais pesados considerados contaminantes e 1 micronutriente, em amostras minerais e fitoterápicas, podendo ser testado e aplicado a outros tipos de amostras.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HALEEM, et al., 2001. Heavy metals and rare earth elements in phosphate fertilizer components using instrumental neutron activation analysis. **Applied Radiation and Isotopes**, v.55, p.569-573, 2001.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.17, n.1, p.114-140, 2007.

AGUIAR, M .R. M. P.; NOVAES, A. C. Remoção de Metais Pesados de Efluentes Industriais por Aluminossilicatos, **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p.1145-1154, 2002.

ALCARDE, J.C.; RODELLA, A. A. Qualidade e legislação de fertilizantes e corretivos. **Tópicos em Ciência do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.3, p.291-334, 2003.

ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**; Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acessado em: junho de 2011.

ATSDR – Cd, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Cadmium**. U.S. Department of Health and Human Services Atlanta, 2008.

<Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/TP.asp?id=48&tid=15>>. Acessado em junho de 2011.

ATSDR – U, Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. **Toxicological profile for uranium**, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 1999.

Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=440&tid=77>>. Acessado em: junho de 2011.

ATSDR – V, Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. **Toxicological profile for vanadium**, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 2009.

Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=276&tid=50>>. Acessado em: junho de 2011

ATSDR – Pb, Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. **Toxicological profile for lead**, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 2007.

Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/TP.asp?id=96&tid=22>>

Acessado em: junho de 2011

ATSDR – Cr, Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. **Toxicological Profile for Chromium**, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 2008.

Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/TP.asp?id=62&tid=17>>

Acessado em: junho de 2011

ATSDR – Tl, Agency for Toxic Substances and Disease Registry of United States. **Toxicological Profile for Thallium**, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 1992.

Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=309&tid=49>>

Acessado em: junho de 2011

AVELAR A. C.; FERREIRA W. M.; MENEZES M. A. B. C. Contribuição dos fertilizantes agrícolas para a dispersão de urânio no meio ambiente, **Rev. Saúde e Meio Amb.**, v. 8, n. 2, 2007

AZEVEDO, R. A.; LEA, P. J.; Preface: Toxic metals in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.17, n.1, 2005.

BOND, A. M.; KRATSIK, S.; NEWMAN, O. M. G., Determination of Antimony(III) and Antimony(V) in Copper Plant Electrolyte by Anodic Stripping Voltammetry **Electroanalysis**, v. 9, p. 681, 1997.

BONOTTO, D.M. Utilização de modelo isotópico de urânio no estudo de aquíferos do Morro do Ferro, Poços de Caldas, MG., **Rev. Geociências**, 24(1):52-59, 1994.

BOUSSEMART, M; VAN DEN BERG, C. M. G.; GHADDAF, M. The determination of the chromium speciation in sea water using catalytic cathodic stripping voltammetry **Anal. Chim. Acta**, v. 262, p. 103, 1992.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 4.954 de 14 de janeiro de 2004 que dispõe sobre as normas gerais sobre registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura. Diário Oficial da União, 14/01/2004.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Notícias: Venda de fertilizantes chega a 8,5 milhões de toneladas, publicado em 28/06/2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada. RDC nº 14 de 31 de março de 2010 que dispõe sobre registro de medicamento fitoterápico. Diário Oficial da União, 15.04.2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada. RE nº 5.915 de 20 de dezembro de 2010 que dispõe sobre suspensão da *Caralluma fimbriata*. Diário Oficial da União, 21.12.2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 36/GM de 19 de janeiro de 1990 que dispõe sobre as Normas de potabilidade da água destinada ao consumo humano.

BRETT, C. M. A.; FILIPE, O. M. S.; NEVES, C.S. Determination of Chromium(VI) by Batch Injection Analysis and Adsorptive Stripping Voltammetry. **Anal. Lett.**, v. 36, p. 955, 2003.

CAMELO, L.G.L.; MIGUEZ, S.R.; MARBÁN, L. Heavy metals input with phosphate fertilizers used in Argentina. *The Science of the Total Environment*, v.204, p.245-250, 1990.

CARLINI E.A. et al. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. **Rev. Bras. Farmacogn**, n. 16, p. 690-695, 2006.

CARVALHO, L.M. et al. Simultaneous Determination of Cadmium, Lead, Copper, and Thallium in Highly Saline Samples by Anodic Stripping Voltammetry (ASV) Using Mercury-Film and Bismuth-Film Electrodes. **Electroanalysis**, v. 19, p. 1719, 2007.

CARVALHO, L. M. et al. Determinação simultânea de cátions empregando eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato em equipamento construído em laboratório. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2203-2208, 2009.

CATARINENSE, Laboratório Catarinense SA, <http://www.labcat.com.br>. Acessado em junho de 2011.

CHAUSMER, A. B., Zinc, Insulin and Diabetes, **Journal of the American College of Nutrition**, v. 17, p.109-115, 1998.

DHANESHWAR, R. G.; ZARAPKAR, L. R., Simultaneous Determination of Thallium and Lead at Trace Levels by Anodic-stripping Voltammetry. **Analyst**, v. 105, p. 386, 1980.

ERNST, E., Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines, **Trends Pharmacol. Scien.**,v. 23, p.136-139, 2002.

EPA, United States Environmental Protection Agency, **Norma EPA 3052 e 3050B**; Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3050b.pdf>> Acessado em: junho 2011.

FAO – Food and Agriculture Organization. **Use of phosphate rocks for sustainable agriculture**. Roma, 148p., 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5053e/y5053e00.htm>>, Acesso em: junho de 2011.

FAVARON, R. **Desenvolvimento de métodos voltamétricos para a determinação de zinco, cobre, chumbo, níquel, estanho e cromo em águas de efluentes industriais de galvanoplastia**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2005.

FEIST, B.; MIKULA, B.; PYTLAKOWSKA, K.; PUZIO, B.; BUHL, F. Determination of heavy metals by ICP-OES and F-AAS after preconcentration with 2,2'-bipyridyl and erythrosine. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, p. 1122-1129, 2008.

FILELLA, M., BELZILE, N., CHEN. Y. –W., Antimony in the environment: a review focused on natural waters I. Occurrence, **Earth-Science Reviews**, v. 57, p. 125, 2002.

FISENNE, I. M.; WELFFORD, G. A.; Natural U Concentrations in Soft Tissues and Bone of New York City Residents. **Health Phys.**, v.50, p. 739-746, 1986.

GARMATZ, J. C. **Determinação de metais como contaminantes em formulações de eritropoetina empregando métodos voltamétricos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2007.

GHONEIM, M. M.; HASSANEIN, A. M.; HAMMAM, E., Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Sb, Bi, Se, Zn, Mn, Ni, Co and Fe in water by differential pulse stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 367, p. 378, 2000.

GOLIMOWSKI, J., VALENTA, P., NÜRNBERG, H. W. Trace determination of chromium in various water types by adsorption differential pulse voltammetry. **Fresenius Z Anal Chem.**, v. 322, p. 315, 1985.

GOMEZ, M. R. et al. Determination of heavy metals for the quality control in argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1060-1064, 2007.

GONZALES-VILLALVA, A.; FORTOUL, T. I.; AVILA-COSTA, M. R. Thrombocytosis induced in mice after subacute and subchronic V₂O₅ inhalation. **Toxicology and Industrial Health**, v. 22, p. 113-116, 2006.

HENZE, G. **Polarographie und Voltammetrie – Grundlagen und analytische Praxis**. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 2001.

HENZE, G.; NEEB, R. **Elektrochemische Analytik**, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1986.

HOEFLICH, L. K.; GALE, R. J.; GOOD, M. L. Differential pulse polarography and differential pulse anodic stripping voltammetry for determination of trace levels of thallium. **Anal. Chem.**, v. 55, p. 1591, 1983.

IN METRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**; DOQ-CGCRE-08, Revisão 02 – Junho, 2007.

JARDIM, W. F. Metais pesados: um dano irreparável. **Rev. Bras. Tecnol.** v.14, p. 41-45, 1983.

KASSIM A. et al., A Novel Ion – selective Polymeric Membrane Sensor for Determining Thallium(I) With High Selectivity- **Mater. Sci. Eng.** v.17, 2011

KOROLCZUK, M., GRABARCZYK, M. Voltammetric determination of Cr(VI) in a flow system in the presence of diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) following its deposition in the metallic state. **Anal. Chim. Acta**, v. 387, p. 97, 1999.

LI, Y.; XUE, H. Determination of Cr(III) and Cr(VI) species in natural waters by catalytic cathodic stripping voltammetry. **Ana. Chim. Acta**, v. 448, p. 121, 2001.

LOCATELLI, C. Simultaneous square wave stripping voltammetric determination of platinum group metals (PGMs) and lead at trace and ultratrace concentration level Application to surface water. **Anal.Chim. Acta**, v. 557, p. 70, 2006

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu Impacto Ambiental: Micronutrientes e Metais Pesados, Mitos, Mistificação e Fatos**. Produ. Química; São Paulo, 1994

MANGINI A. et al., Evidence for a higher natural uranium content in world rivers. **Nature**, v.278, p.337-339, 1979.

MARTÍNEZA E. J., et al., Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain, **Food Chemistry**, v. 3, p.1257-1262, 2011.

MARTINI, M. **Desenvolvimento de metodologia para a determinação de fármacos sintéticos em formulações fitoterápicas emagrecedoras empregando eletroforese capilar**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2010

MATTIAS, J. L. **Metais pesados em solos sob aplicação de dejetos líquidos de suínos em duas microbacias hidrográficas de Santa Catarina**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2006.

McBRIDE, M.B.; SPIERS, G. Trace elements content of selected fertilizers and dairy manures as determined by ICP- MS. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.32, p.139-156, 2001.

MELUCCI, D.; LOCATELLI, C. Sequential voltammetric determination of trace metals in meals. **Microchem. J.**, v. 85, p. 321, 2007.

MENDONÇA-FILHO R. F. W.; MENEZES F. S. Estudo da utilização de plantas medicinais pela população da Ilha Grande-RJ. **Rev. Bras. Farmacogn.**, n.13, p. 55-58, 2003.

NIES, D.H. **Microbial heavy-metal resistance**. Appl Microbiol Biotechnol, v. 51, p. 730-750, 1999.

NIST - The National Institute of Standards and Technology. Standard Reference Database 46, **Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes: Version 8.0**, National Institute of Standards and Technology.

PARSONS, P. J.; BARBOSA, F. *Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine*, **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, p. 992-1003, 2007.

PHARMATIVA, **Drogaria e manipulação**; Disponível em: <<http://www.pharmativa.com.br>>. Acessado em: julho de 2011.

PIZZOL, M.; CHRISTENSEN, P.; SCHMIDT, J.; THOMSEN, M. Eco-toxicological impact of "metals" on the aquatic and terrestrial ecosystem: A comparison between eight different methodologies for Life Cycle Impact Assessment (LCIA). **Journal of Cleaner Production**, v. 19, p. 687-698, 2011.

PLANTAMED, Plantas, ervas medicinais e fitoterápicos; Disponível em: <<http://www.plantamed.com.br>>. Acessado em junho 2011

RAABE, A. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de cátions inorgânicos em formulações minerais e fitoquímicas empregando eletroforese capilar com detecção condutométrica**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2010.

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Acúmulo de metais pesados em solos cultivados com cana-de-açúcar pelo uso contínuo de adubação fosfatada e água de irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, p.971-979, 1999.

RIBEIRO, V. A. L; AFONSO, J. C. ; WILDHAGEN, G. R. S.; CUNHA, J. W. S. D.; Extração líquido-líquido de urânio(VI) do colofanito de itataia (Santa Quitéria, Ceará) por extratantes orgânicos em presença de ácido fosfórico. **Quím. Nova [online]**., v.31, n.8, p. 2159-2164, 2008.

SAHAN, Y.; BASOGLU, F.; GÜCER, S. ICP-MS analysis of a series of metals (Namely: Mg, Cr, Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey. **Food Chemistry**, v. 105, p. 395-399, 2007.

SANDER, S. Simultaneous adsorptive stripping voltammetric determination of molybdenum(VI), uranium(VI), vanadium(V), and antimony(III). **Anal. Chim. Acta**, v. 394, p. 81, 1999.

SANDER, S.; NAVRÁTIL, T.; NOVOTNÝ, L. Study of the Complexation, Adsorption and Electrode Reaction Mechanisms of Chromium(VI) and (III) with DTPA under Adsorptive Stripping Voltammetric Conditions. **Electroanalysis**, v. 15, n. 19, p. 1513, 2003.

SANDER, S., HENZE, G., Adsorptive stripping voltammetric determination of vanadium as chloranilic acid complex. **Fresenius' Anal. I Chem. Acta**, v. 356, p. 259-262, 1996.

SANDER, S. et al. Electrosorption of Chromium diethylenetriaminepentaacetic Acido in Mercury Electrode under Voltammetric Conditions, **Electroanalysis**, v. 14, p. 1133, 2002.

SANDER, S.; WAGNER, W.; HENZE, G. Direct determination of uranium traces by adsorptive stripping voltammetry. **Anal. Chim. Acta.** , v. 305, p. 154, 1995.

SAVORY, J.; WILLS, M. Trace Minerals: essential nutrients or toxins. **Clin. Chem.;** v.38(8), p.1565-1573, 1992.

SCHOLZ, F et al. The catalytic adsorptive stripping voltammetric determination of chromium with DTPA and nitrate. **Fresen. J. Anal. Chem.**, v. 338, p. 627, 1990.

SCHNEIDER, A. B. **Determinação sequencial de cromo, tálio, cádmio, chumbo, cobre e antimônio em concentrado polieletrólítico para hemodiálise por voltametria de redissolução através de um gradiente de pH.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2010.

SPANO, N., et al., Anodic stripping voltammetric determination of traces and ultratraces of thallium at a graphite microelectrode: Method development and application to environmental Waters. **Anal. Chim. Acta**, v. 553, 30, p. 201-207, 2005.

SHETTY P.; SHETTY A. N.; Sodium dithionite as a selective demasking agent for the complexometric determination of thallium, **J. Serb. Chem. Soc.**, v. 70 (11), p. 1357-1362, 2005.

SHINZATO, M. C. Remoção de metais pesados em solução por zeólitas naturais: revisão crítica. **Revista do Instituto Geológico**, São Paulo, v. 27-28 (1/2), p. 65-78, 2007.

SIRINAWIN, W.; WESTERLUND, S. Analysis and storage of samples for chromium determination in seawater. **Anal. Chim. Acta**, v. 356, p. 35, 1997.
TAVARES, T. M, CARVALHO, F.M., Avaliação de Exposição de Populações Humanas a Metais Pesados no Ambiente: Exemplos do Recôncavo Baiano – **Química Nova**, 15 (2), 1992.

THOMAS, F. G.; HENZE, G. **Introduction to Voltammetric Analysis – Theory and Practice**. Csiro Publishing Collingwood VIC, Austrália, 2001.

TILL, J. E.; MEYER, H. R., **Radiological assessment: a testbook on enviromental dose analysis** . NUREG/CR – 3332. ORNL – 598. Washington, 1983.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, C. B. **Modern methods for trace element determination**, John Wiley & Sons, West Sussex, 1993 .

VAN DEN BERG, C.M.G.; ACHTERBERG, E.P. In-line ultraviolet-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. **Anal. Chim. Acta.**, v. 291, p. 213, 1994.

VEIGA JR. V. F; MACIEL M. A. M; PINTO A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Quim Nova**, v. 28, p.519-528, 2005.

VENDRUSCOLO G. S, RATES S. M. K.; MENTZ L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.15, p. 361-372, 2005.

WAGNER, W.; SANDER, S., HENZE, G. Trace analysis of antimony (III) and antimony (V) by adsorptive stripping voltammetry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 354, p. 11, 1996.

WANG J. **Analytical Electrochemistry**, 2 ed., Wiley-VCH: New York, p.45, 2000.

WHO, World Health Organization, **Lead**. Environmental Health Criteria 3. Geneva, WHO, 1977.

WHO, World Health Organization. **Regulatory Situation of Herbal Medicines: Worldwide**, Review. Geneva, WHO, 1998.