

DETERMINAÇÃO DE METAIS EM AMOSTRAS DE PLANTAS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE DE PLASMA INDUZIDO

José Henrique Buchmann; Jorge Eduardo de Souza Sarkis; Cláudio Rodrigues

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN
Travessa R, 400 – CEP 05508-900
São Paulo – SP – Brasil

RESUMO

Nos últimos anos tem sido amplamente discutida a utilização de monitores ambientais na determinação de inserções antropogênicas de metais no meio ambiente como uma forma alternativa às medidas diretas das emissões no ecossistema. O presente trabalho tem por objetivo a determinação de vários elementos químicos presentes em amostras de agulhas de pinheiro utilizando a técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma induzido (HR-ICP-MS). O método do padrão interno foi adotado para compensar as interferências não espectrais dos diversos elementos da matriz presentes nas soluções das amostras. O elemento químico bismuto (Bi) foi escolhido para atuar como padrão interno. Com a finalidade de determinar a exatidão do método, amostras certificadas de agulhas de pinheiro (*National Bureau of Standards Standard Reference Material 1575*) foram analisadas.

Palavras Chave: ICP-MS, plantas.

I. INTRODUÇÃO

A determinação de elementos na forma de traços em plantas sempre foi considerada um atividade de grande importância. O resultado da análise de sua concentração é um parâmetro capaz de indicar deficiências na composição do solo relacionadas diretamente com a sua produtividade [1]. Na medicina, com o aumento do índice de aceitação da medicina alternativa por parte da população ocidental, tornou-se necessária a determinação dos valores nutricionais de novos medicamentos, agora fabricados a base de ervas medicinais [2].

Na área nuclear, os riscos da proliferação nuclear voltaram novamente a ser assunto de interesse em função, principalmente, da Guerra de Golfo ocorrida em 1991 [3]. Inspeções realizadas logo a seguir, no Iraque, fizeram uso de técnicas de medidas e amostragens não tradicionais e, principalmente, não rotineiras no âmbito dos organismos de fiscalização internacionais: a monitorização ambiental destinada a identificar atividades nucleares não declaradas [4], [5].

Em geral, as amostras de vegetação escolhidas para fornecer este tipo de informação são selecionadas em função de sua capacidade de reter a assinatura de interesse.

Devido a sua morfologia, as agulhas de pinheiro americano (*pinnus ellioti*) apresentam-se como uma excelente opção para atuar como monitores ambientais desta natureza [6].

Desde a sua entrada no mercado, no início de 1980, a espectrometria de massas com fonte de plasma induzido (ICP-MS) tornou-se cada vez mais usada na análise de elementos a nível de traços. Apesar desta técnica estar sujeita às interferências espectrais (interferência isobárica), a sua versatilidade na análise elementar, seus baixos limites de detecção, sua alta sensibilidade e, principalmente, sua capacidade de executar análises isotópicas, confere ao ICP-MS uma posição privilegiada no conjunto de técnicas analíticas aplicadas à área ambiental. A incorporação de novos avanços tecnológicos ao ICP-MS concebido na década de 80 resultou num equipamento de desempenho ainda melhor: o ICP-MS de alta resolução (HR-ICP-MS).

Este trabalho descreve os experimentos relativos ao estabelecimento de um método destinado a fornecer a concentração de metais, em agulhas de pinheiro, relacionados diretamente com o ciclo do combustível nuclear (Th e U). Paralelamente, foi avaliado o comportamento de outros metais (Cr, Ni, Co, Cu, La, Ce e

Sm) que, de alguma forma, estão presentes nos desenvolvimentos relativos à área nuclear.

Os procedimentos de coleta e o de tratamento das amostras de agulhas de pinheiro americano destinadas a serem analisadas diretamente em um HR-ICP-MS, foram estabelecidos. Dois métodos de abertura da amostra foram avaliados: a calcinação com posterior digestão ácida e a digestão ácida da amostra sob a irradiação de microondas. O método analítico utilizado nas soluções oriundas de ambos os processos de abertura contou com o estabelecimento de uma curva de calibração externa e com a adição de padrões internos às soluções com a finalidade de compensar os efeitos provocados pela matriz. São fornecidos os dados relativos à sensibilidade e limites de detecção do método bem como de sua reprodutibilidade. Ao final, amostras de pinheiros oriundas de 3 locais distintos foram analisadas.

II. EXPERIMENTAL

Instrumentação. O trabalho foi desenvolvido com um HR-ICP-MS modelo Element da Finnigan Mat (Bremen, Alemanha). A introdução das soluções de amostras no equipamento foi feita com o auxílio de um sistema automático de introdução de amostras líquidas (Gilson 222, Villiers Le Bel, França) capaz de operar com cinco bandejas destinadas, cada uma delas, a 36 tubos de ensaio de 16 mm por 101 mm com uma capacidade nominal de 12 ml de amostra. Foram utilizados tubos de centrifuga confeccionados de polipropileno. O encaminhamento da amostra ao nebulizador do equipamento, bem como para a estação de lavagem do sistema automático de introdução de amostras, foi realizado com o auxílio de uma bomba peristáltica de quatro estágios (Perimax 1274, Petec GmbH, Erding, Alemanha). As condições operacionais do HR-ICP-MS estão resumidas na Tab. 1.

Os dados foram gerados, no equipamento, de uma forma seqüencial, na qual o resultado obtido para cada isótopo representa a média de 10 medidas repetidas, cada uma delas, 6 vezes, totalizando 60 medidas para cada um dos isótopos pesquisados. Após o término da análise, o sistema automático de introdução de amostras foi programado para mover seu amostrador em direção à posição de lavagem. Somente após 60 s de lavagem é que o amostrador movia-se para a amostra seguinte. A aquisição dos dados teve início decorridos outros 60 s, de forma a permitir que a solução da amostra pudesse atingir o nebulizador e tivesse tempo suficiente para a estabilização do sinal obtido.

Reagentes. As soluções padrões foram preparadas, em base volumétrica, a partir de soluções de padrões elementares (Spex Industries, Edison, NJ, USA) a 1000 µg/ml. A água utilizada nas diluições, com uma condutividade de 18 MΩ cm, foi produzida a partir de um sistema purificador de água (Milli Q, Millipore, Molsheim, França). Para a preparação das amostras, utilizou-se ácido

nítrico a 65 %, de grau analítico supra-puro (SUPRAPUR, Merk, Darmstad, Alemanha). Os elementos pesquisados neste trabalho são encontrados no ácido nítrico a nível de frações de pg/ml, conforme certificado fornecido pelo fabricante.

TABELA 1. Condições operacionais do HR-ICP-MS

Parâmetro	Valor
Resolução	Baixa
Gás de Refrigeração	15 litros / minuto
Gás Auxiliar	1 litro / minuto
Gás de Transporte	0,98 litros / minuto
Potência do Plasma	1300 W
Fluxo de amostra	0.5 ml / minuto
Nebulizador	Concêntrico

Preparação das Amostras. Todas as amostras foram submetidas ao mesmo processo de coleta. As agulhas de pinheiro de uma mesma amostra foram coletadas em um único dia, utilizando-se luvas de polietileno descartáveis. Todas elas foram destacadas sem que sua haste fizesse parte da amostra. No laboratório, as agulhas foram depositadas em um recipiente e secas por um período de 12 horas em uma estufa, à temperatura de 110 °C. As amostras resultaram da composição de diversas agulhas de cada pinheiro, totalizando cerca de 10 g de material seco, acondicionado em sacos de polietileno. Posteriormente, foram trituradas, homogeneizadas e subdivididas pela técnica de quartejamento.

Digestão Ácida. Uma alíquota representativa da amostra seca, com cerca de 3 gramas, foi cuidadosamente pesada em um cadinho de platina e calcinada por 8 horas, a 500 °C. A temperatura de calcinação foi gradualmente elevada de 100 a 500 °C, em intervalos de 1 hora. O recipiente foi resfriado e aproximadamente 0,1 gramas foram transferidos para um béquer de 50 ml, no qual foram adicionados 5 ml de ácido nítrico 8N. A solução foi evaporada até restar cerca de 2 ml no recipiente. As amostras foram, finalmente, transferidas para um balão volumétrico e diluídas a 10 ml, com água. Para a utilização desta solução no HR-ICP-MS, foi efetuada uma diluição com HNO₃ a 2% até uma concentração de 500 µg de cinza/ml.

Digestão Ácida sob Microondas. Cerca de 0,5 gramas de agulhas de pinheiro secas foram pesadas e cuidadosamente

transferidas para dentro de tubos de fluorcarbono equipados com tampa e válvula de alívio de pressão, pertencentes a um forno de microondas (MDS 2000, CEM Corporation, Matthews, NC, USA). A seguir, foram adicionados 15 ml de ácido nítrico concentrado. Os tubos foram fechados e colocados em um carrossel que foi, posteriormente, instalado no interior de um forno de microondas com potência nominal de 630 W, para irradiação por um período de 45 minutos. Ao término do ciclo de irradiação, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, transferidas para um balão volumétrico e diluídas a 25 ml, com água. Junto com as amostras, um tubo contendo apenas o ácido nítrico concentrado foi irradiado e considerado como a solução de branco das amostras. Posteriormente, estas soluções foram novamente diluídas com água antes de ser introduzidas no equipamento, até a concentração final de 5500 µg de material seco/ml.

O padrão de agulhas de pinheiro utilizado “*National Bureau of Standards Standard Reference Material 1575*” (NIST SRM 1575) foi submetido a ambos os processos de abertura. Todas as soluções de branco foram processadas paralelamente com as amostras. Para a limpeza do material e instrumento, foi utilizada uma solução de HNO₃ a 5 %.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seleção dos Isótopos Medidos. Os elementos pesquisados possuíam desde um isótopo (Co, Th), até 5 isótopos (Ni, Sm). Nos elementos com mais de um isótopo, a seleção do isótopo a ser medido recaiu sobre o mais abundante ou naquele mais abundante que não apresentasse interferência isobárica, conforme pode ser visto na Tab. 2.

Calibração. Foi escolhido o método de calibração externa para a realização das medidas no HR-ICP-MS. Para a obtenção das curvas de calibração, foram utilizadas cinco soluções multi-elementares nas concentrações de 0,2, 0,5, 1,0, 8,0 e 10 µg/ml, todas elas preparadas (em meio nítrico a 2 %), a partir dos padrões elementares. Os gráficos de calibração obtidos foram todos de ótima qualidade, apresentando sempre o coeficiente de correlação $R^2 > 0,999$.

Padrão Interno. As interferências da matriz são oriundas de materiais presentes na amostra capazes de diminuir a intensidade do sinal medido. Este efeito pode ser atenuado através da diluição das amostras. Contudo, este procedimento apresenta o inconveniente de aumentar a incerteza da medida, uma vez que a intensidade do sinal diminui proporcionalmente. Para a correção dos efeitos provocados pela matriz, adotou-se a técnica de adição de padrão interno às soluções a serem analisadas. Um padrão interno deve atender aos seguintes requisitos: seu conteúdo nas amostras deve ser desprezível, deve se comportar de forma similar ao elemento a ser analisado e apresentar, preferencialmente, apenas um isótopo. De uma forma

geral, estas qualidades podem ser sumarizadas no fato do padrão interno utilizado possuir uma massa atômica o mais próxima possível do elemento a ser analisado [7]. Dentre as várias opções disponíveis (¹¹⁵In, ¹⁵⁹Tr, ¹⁶⁵Ho, ¹⁹³Ir, ²⁰⁵Tl e ²⁰⁹Bi) optou-se pela utilização do ¹¹⁵In como padrão interno nas análises dos elementos de massas atômicas baixas (Cr, Co, Ni, Cu, La, Ce, Sm) e pelo ²⁰⁹Bi na correção dos elementos de massas atômicas elevadas (Th, e U). Os padrões internos estavam presentes em todas as soluções analisadas, na concentração de 1 µg/ml.

TABELA 2. Sensibilidades e limites de detecção do equipamento, observados durante as medidas, para os elementos pesquisados (com base na solução a 10 µg / l)

Elemento	Isótopo		Limite de Detecção ^b (pg ml ⁻¹)	Sensibilidade x 10 ⁴ (cps/ng ml ⁻¹)
	Íon	P ^a (%)		
Cromo	⁵³ Cr ⁺	9,51	70	0,3
Cobalto	⁵⁹ Co ⁺	100	3	3
Níquel	⁶⁰ Ni ⁺	26,23	60	0,7
Cobre	⁶³ Cu ⁺	69,17	4	1,6
Lantânio	¹³⁹ La ⁺	99,91	0,3	11
Cério	¹⁴⁰ Ce ⁺	88,48	0,4	9
Samário	¹⁴⁹ Sm ⁺	13,83	1,5	6
Tório	²³² Th ⁺	100	0,6	14
Urânio	²³⁸ U ⁺	99,27	0,7	17

a. Porcentagem atômica (átomos %) [9].

b. Limites de detecção calculados ao nível de confiabilidade de 98 %.

Limites de Detecção e Sensibilidade. O limite de detecção foi calculado como sendo igual a 3 vezes o desvio padrão (σ) de dez leituras da solução de branco, referidos a uma solução padrão multi-elementar de concentração equivalente a 10 µg/l [8]. Os limites de detecção são função tanto da qualidade do branco como da sensibilidades de detecção do equipamento em relação às diversas massas analíticas pesquisadas. Valores médios de sensibilidades e dos limites de detecção do equipamento, durante o período no qual foram realizadas as medidas, encontram-se na Tab. 3.

Precisão e Exatidão. A precisão e exatidão do método, obtidas durante o período de medidas, pode ser avaliada através do resultado da análise do padrão NIST SRM 1575.

TABELA 3. Análise elementar do padrão NIST SRM 1575.

Elemento	Digestão Ácida		Digestão sob Microondas		Ref. [10] (mg/kg)	Ref. [8] (mg/kg)	Valor Certificado ^c (mg/kg)
	Concentração ^a (mg/kg)	DPR ^b (%)	Concentração (mg/kg)	DPR (%)			
Cromo	2,4	7	2,4	3	2,4	2,4	2,6 ± 0,5 ^d
Cobalto	0,105	5	0,103	2	0,132	0,0788	(0,1) ^e
Níquel	2,3	2	2,4	2	2,2	3,04	(3,5)
Cobre	2,8	6	2,6	2	3,9	2,83	3 ± 0,3
Lantânio	0,12	5	0,17	4	0,14	ND ^f	(0,2)
Cério	0,20	3	0,28	3	ND	0,19	(0,4)
Samário	0,05	3	0,03	6	ND	ND	ND
Tório	0,022	4	0,041	3	0,034	ND	0,037±0,003
Urânio	0,020	5	0,015	3	0,015	ND	0,020±0,004

a. Conteúdo do elemento em relação ao peso seco, para n = 3 replicatas.

b. Desvio padrão relativo percentual, obtido para 10 aquisições.

c. NIST, valores certificados com nível de significância de $\alpha = 0,05$.

d. Valores de referência, não certificados.

e. Média ± desvio padrão.

f. ND = não determinado.

O padrão foi submetido aos dois processos de digestão. Os resultados, para cada elemento, relativos a cada um dos processos, encontram-se na Tab. 3.

Ensaio de Recuperação. Um ensaio de recuperação foi realizado em amostras submetidas a cada um dos dois processos de digestão investigados. Foram adicionados, fazendo-se uso das soluções padrões elementares, cerca de 1,0 mg/kg de cada elemento pesquisado nas amostras submetidas à ação de microondas (amostras do tipo A) e 0,6 mg/kg de cada elemento nas amostras calcinadas (amostras do tipo B). A recuperação média, de todos os elementos pesquisados, situou-se de maneira relativamente uniforme em torno de 90 %, como pode ser observado na Fig. 1.

Resultados analíticos. Para verificar a aplicabilidade do método avaliado, foram analisadas 3 amostras de agulhas de pinheiros de diferentes locais. Os resultados mostrados na Tab. 4, juntamente com uma expectativa do conteúdo médio a ser encontrado em plantas, revelam uma grande diversidade na concentração dos metais pesquisados nas amostras. O valor do desvio padrão relativo percentual oscilou entre 2 e 8%.

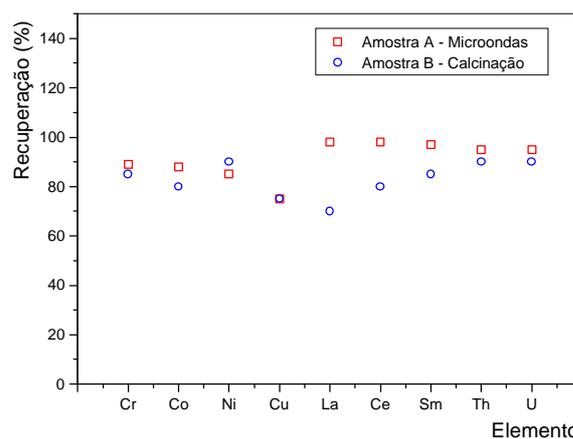


Figura 1. Recuperação de 1,0 mg/kg de cada elemento adicionado à amostra A e de 0,6 mg/kg adicionado à amostra B.

TABELA 4. Análise elementar das amostras de agulhas de pinheiro utilizando-se o método da calcinação.

Elemento	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Ref. [11]
	Concentração ^a (mg/kg)	DPR ^b (%)	Concentração (mg/kg)	DPR (%)	Concentração (mg/kg)	DPR (%)	Concentração ^c (mg/kg)
Cromo	0,6	5	0,2	7	0,3	8	0,2-1,0
Cobalto	0,07	3	0,05	3	0,04	4	0,02-0,5
Níquel	0,6	2	0,5	2	0,4	3	0,4-4,0
Cobre	2,7	6	2,3	7	2,5	6	2-20
Lantânio	0,16	5	0,17	5	0,09	6	0,15-0,25
Cério	0,27	7	0,73	6	0,16	7	0,25-0,55
Samário	0,014	4	0,039	4	0,013	4	0,02-0,04
Tório	0,042	5	0,015	6	0,020	3	0,03-1,3
Urânio	0,072	4	0,055	5	0,012	7	0,005-0,06

a. Conteúdo do elemento em relação ao peso seco, para n = 3 replicatas.

b. Desvio padrão relativo percentual, obtido para 10 aquisições.

c. Conteúdo do elemento em relação ao peso seco, valores médios.

IV. CONCLUSÕES

Dois métodos destinados à análise de metais (principalmente o urânio e o tório) presentes a nível de traços em amostras de agulhas de pinheiros utilizando um HR-ICP-MS, foram avaliados.

O método que utiliza a digestão da amostra com o auxílio de radiação de microondas apresentou um desvio padrão sensivelmente menor do que aquele via calcinação. O motivo está associado com a qualidade da solubilização da matriz, que ocorre de forma mais efetiva nas amostras tratadas pelo primeiro método.

Um ensaio de recuperação, realizado em ambos os métodos, foi bastante satisfatório. Os elementos adicionados sobre a matriz, antes da digestão, tiveram uma recuperação praticamente uniforme de cerca de 90%.

O resultado final das concentrações dos elementos pesquisados encontrados no padrão NIST SRM 1575, obtidos através dos dois métodos utilizados, apresentaram resultados similares sendo que nenhuma diferença significativa entre eles, foi observada.

Os métodos apresentados demonstram ser, em função de sua simplicidade e rapidez de execução, bastante promissores para a determinação dos metais pesquisados em matrizes vegetais e, principalmente, para o urânio e tório, uma vez que apresentaram baixos valores para os limites de detecção ($\leq 0,7$ pg/ml) associados a uma boa precisão (DPR ≤ 3 %).

REFERÊNCIAS

- [1] Carrión, N.; Benzo, Z. A.; Moreno, B.; Fernández A.; Eljuri, E. J. e Flores, D., **Determination of Copper, Chromium, Iron and Lead in Pine Needles by Electrothermal Atomisation Atomic Absorption Spectrometry With Slurry Sample Introduction**, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, vol. 3, p. 479-483, 1988.
- [2] Thompson, J. ; Ward, N. I., **The elemental composition of herbal remedies: analysis by ICP-MS and FAAS**, Journal of Micronutrient Analysis, vol. 6, p. 85-86, 1989.
- [3] Ølgaard, P. L., **The Risk of Nuclear Weapons Proliferation**, Technical University of Denmark, January 1994.
- [4] Donohue, D. L. ; Zaisler, R., **Behind the scenes: scientific analysis of samples from nuclear inspections in Iraq**, IAEA Bulletin, vol. 1, p. 25, 1992.
- [5] Donohue, D. L. ; Zaisler, R., **Analytical chemistry in the aftermath of the Gulf War**, Analytical Chemistry, vol. 65, p. 359-368, 1993.

[6] Kuhn, E.; Hooper, R.; Donohue, D. L., **Application of environmental monitoring to IAEA safeguards**, In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL IMPACT OF RADIOACTIVE RELEASES, Vienna. *Proceedings...* Vienna: IAEA, p. 35-43, May 1995.

[7] Igarashi, Y. ; Kawamura, H. ; Shiraishi, K., **Determination of Thorium and Uranium in Biological samples by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Using Internal Standardization**. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, vol. 4, p. 571-576, October, 1989.

[8] Date, A. R. ; Gray, A. L. **Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry**. Blackie, London, p. 24, 200, 1989.

[9] Benedict, M. ; Pigford, T. H. ; Levi, H. W. **Nuclear Chemical Engineering**, 2nd. ed., Mc Graw-Hill Book Company, N. Y., p. 940 - 978, 1981.

[10] Gladney, E., **Elemental concentrations in NBS biological and environmental Standard Reference Materials**, Analytica Chimica Acta, vol. 118, p. 385-396, 1980.

[11] Market, B., **Element concentration cadasters in ecosystems**, Progress Report, 25th General Assembly of IUBS in Paris, 1994.

ABSTRACT

In The last years, the use of environmental monitoring to determine antropogenic metal insertions in the environment has been widely discussed as an alternative method to the direct measurement of these emissions to the ecosystem. This paper describes the determination of several chemical elements present in pine needles samples using the High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (HR-ICP-MS). The method of internal standardization was used to compensate the non-spectral interferences of the different elements present in the sample solution matrix. The chemical element bismuth (Bi) was chosen to act as an internal standard. In order to determine the accuracy of the proposed method, certified samples of pine needles (National Bureau of Standards Standard Reference Material 1575) were analyzed.