

ELEMENTOS MINERAIS EM ALGAS MARINHAS PELA TÉCNICA DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Maria José A. Armelin *, Ieda I.L.Cunha * Edison José de Paula **, Ricardo T.L.Pereira ***

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Caixa Postal 11049
05422-970, São Paulo, Brasil

**Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, USP
Caixa Postal 11461, SP São Paulo, Brasil

***Instituto de Pesca, Ubatuba, SP

RESUMO

Apresenta-se um procedimento de análise para elementos minerais em algas, *Kappaphycus alvarezzi* (Doty) Doty ex.Silva (Rhodophyta, Gigartinales), cultivada em Ubatuba, SP, por meio da técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental, para determinar as concentrações dos elementos (Cr, Co, Eu, Hg, Sc e Th a nível de $\mu\text{g kg}^{-1}$; Br, Ca, Fe, Mg, Mn, Zn a nível de $\mu\text{g g}^{-1}$ e K e Na a nível de mg g^{-1}). Os resultados obtidos colocam em perspectiva aspectos da fisiologia e maricultura de diferentes linhagens da espécie e seu uso como bioindicador.

Palavras Chave: alga, elementos essenciais e tóxicos, bioindicador, análise por ativação com nêutrons.

I. INTRODUÇÃO

As algas marinhas apresentam grande capacidade para absorção de elementos minerais, sendo frequentemente usadas como biomonitores. *Kappaphycus alvarezzi*, (Doty) Doty ex. Silva (Rhodophyta, Gigartinales), espécie de alga vermelha cultivada comercialmente, em larga escala, particularmente nas Filipinas, Indonésia e Tanzânia, tem sido considerada importante no controle da poluição por metais pesados[1,2]. A espécie está sendo cultivada experimentalmente na Região de Ubatuba, SP, desde setembro de 1995, dentro de um programa visando seu cultivo comercial no Brasil, para produção de carragenanas[3]. Na região, a espécie adaptou-se muito bem a um sistema de cultivo flutuante, onde apresenta taxas de crescimento exponenciais e previsíveis ao longo do ano[4]. Esta característica reforça sua qualidade como biomonitor, considerando-se que seu histórico de crescimento assim como tempo de permanência no mar podem ser conhecidos.

Neste trabalho, apresenta-se um procedimento de análise para os elementos Br, Ca, Co, Cr, Eu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Na, Sc, Th e Zn. por meio da técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) em

amostras de duas linhagens da espécie objetivando avaliar seu potencial como indicador.

A AANI é um método particularmente atrativo para análise desses materiais, visto que envolve um mínimo de manipulação da amostra, sendo por esse motivo, menos susceptível a erros. Este método tem sido aplicado para análise de materiais biológicos durante os últimos anos, por vários pesquisadores [5-8].

A exatidão dos padrões dos elementos considerados foi confirmada por meio das determinações de Br, Ca, Cr, Hg, K, Mg, Mn, Na no NIST 1566a Oyster Tissue; Fe e Zn no NIES-CRM-10C Rice Flour e, Co, Eu, Sc e Th no IAEA - Soil-7. A precisão das análises foi avaliada por meio das cinco determinações réplicas de cada elemento, em cada amostra.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Preparação da amostra. As amostras de algas marinhas da espécie *Kappaphycus alvarezzi*, foram colhidas em março de 1997, após um mês de cultivo no mar em Ubatuba, SP. Foram analisadas duas amostras de tetrasporófitos, provenientes de um único clone, propagado vegetativamente em diferentes períodos (clone A= a partir

de junho/96 e clone B= a partir de setembro /96) e, uma amostra de linhagem derivada de tetrásporos a partir do clone original. As amostras foram secas à temperatura ambiente e em seguida a 60° C, até peso constante. Após a secagem foram fragmentadas manualmente. Pesaram-se várias porções da ordem de 400 mg, dentro de envelopes de polietileno, para irradiação. O polietileno foi previamente tratado com HNO₃ P.A. 1:5 para eliminação de possíveis impurezas.

Preparação de padrões. Os padrões foram preparados a partir de soluções obtidas pela dissolução dos elementos ou de seus compostos espectroscopicamente puros. Alíquotas de 25, 50 ou 100µL, dependendo da concentração dessas soluções, foram transferidas por meio de micropipetas, para papéis de filtro Whatman nº 41, de aproximadamente 1cm² de área. Depois de seco, sob ação de raios infravermelho, o papel de filtro foi transferido para envelopes de polietileno, previamente tratados.

Os padrões preparados apresentavam as seguintes massas: Br (10,63µg); Ca (1734,5µg); Co (0,98µg); Cr (2,4µg); Eu (2,2µg); Fe (205µg); Hg (1,077µg); K (395µg); Mg (550µg); Mn (4,49µg); Na (67,44µg); Sc (14,21µg); Th (5,69µg) e Zn (24,3µg). Os padrões foram rearranjados em quatro grupos cada um contendo os seguintes elementos: grupo 1.) Mg; grupo 2.) K, Mn; grupo 3.) Br, Ca; grupo 4.) Co, Cr, Eu, Fe, Hg, Sc, Th, Zn.

Irradiação e medida da radiação gama. Dois tipos de irradiação foram feitas no reator IEA-R1, sob um fluxo de nêutrons térmicos que variou de 10¹¹ a 10¹³ n cm⁻² s⁻¹.

No primeiro tipo de irradiação, amostras e padrões (grupo 1 e 2) foram irradiados junto em recipientes de nylon, por um período de 2 minutos e, depois de um tempo

de decaimento de 2 minutos, mediu-se o ²⁷Mg, enquanto que os radionuclídeos ⁴²K, ⁵⁶Mn, ²⁴Na foram medidos depois de 90 minutos. No segundo tipo de irradiação, amostras e padrões (grupo 3 e 4) foram irradiados juntos dentro de recipientes de alumínio, por um período de 8 h. As contagens foram feitas depois de 4 dias de decaimento para detectar ⁸²Br e ⁴⁷Ca e depois de, no mínimo, 10 dias para detectar ⁶⁰Co, ⁵¹Cr, ¹⁵²Eu, ⁵⁹Fe, ²⁰³Hg, ⁴⁶Sc, ²³³Pa e ⁶⁵Zn.

O equipamento usado para as medidas da radiação gama foi um detector de Ge hiperpuro da EG & ORTEC, modelo 20195, com resolução de 1,95keV para o fotopico de 1332keV do ⁶⁰Co, acoplado a um sistema eletrônico constituído de BUFFER-918A de 8000 canais, marca EG&ORTEC, amplificador, fonte de alta tensão e microcomputador, que analisa os dados armazenados na memória do multicanal, através de um programa em linguagem "Turbo Basic".

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de análise aqui descrito foi empregado nos materiais de referência do NIST, NIES e IAEA. Os resultados mostraram que os erros relativos estiveram abaixo de 9% para os três materiais de referência, ressaltando a eficiência deste método de análise para os elementos em estudo. As concentrações dos minerais presentes nas três amostras de algas são apresentadas na TABELA 1. Esses resultados representam para cada elemento a média de cinco determinações com seus respectivos desvios padrões.

TABELA 1. Concentrações de elementos minerais em amostras de *Kappaphycus alvarezii* cultivadas em Ubatuba, SP.

Elemento (Energia, keV)	Unidade	Concentração (Média + DP)		
		A	B	C
Br (786)	mg kg ⁻¹	1130 ± 28	1298 ± 67	1665 ± 29
Ca (1296)	mg kg ⁻¹	2661 ± 409	2009 ± 168	2602 ± 429
Fe (1098)	mg kg ⁻¹	175 ± 55	86 ± 25	68 ± 15
Mg (1013)	mg kg ⁻¹	1427 ± 211	1528 ± 443	1387 ± 161
Mn (846)	mg kg ⁻¹	16 ± 5	12 ± 1	7 ± 1
Zn (1115)	mg kg ⁻¹	25 ± 3	25 ± 3	20 ± 1
K (1525)	mg g ⁻¹	261 ± 21	252 ± 32	208 ± 19
Na (1368)	mg g ⁻¹	30 ± 2	32 ± 4	37 ± 8
Co (1332)	µg kg ⁻¹	321 ± 36	346 ± 16	448 ± 34
Cr (320)	µg kg ⁻¹	195 ± 56	102 ± 18	126 ± 36
Eu (1408)	µg kg ⁻¹	10 ± 3	6 ± 1	4 ± 1
Hg (203)	µg kg ⁻¹	92 ± 22	95 ± 36	115 ± 18
Sc (889)	µg kg ⁻¹	46 ± 11	33 ± 9	23 ± 4
Th (312)	µg kg ⁻¹	45 ± 15	29 ± 13	25 ± 5

Concentração expressa em mg ou µg kg⁻¹ de alga seca em estufa a 60°C.

Média e desvio padrão, N=5.
A e B = clones de tetrásporófitos,
C = linhagem derivada de tetrásporos.

De um maneira geral, os resultados obtidos para os principais elementos foram consistentes com os dados apresentados para a mesma espécie cultivada nas Filipinas[2]. Verifica-se na tabela que a concentração de todos os elementos foram muito semelhantes nas duas amostras de tetrásporófitos (A= propagado a partir de junho/96) e (B= propagado a partir de setembro/96). Esta semelhança é esperada considerando-se que as duas amostras são derivadas de um único clone, o que reforça a eficiência do método.

Os teores de K dessas amostras, entretanto, são superiores aos verificados para as Filipinas e para a linhagem derivada de tetrásporos (C). Estas diferenças sugerem variações fisiológicas relacionadas ao ambiente e linhagem.

Para a maioria dos elementos, a precisão do método para análise das algas foi satisfatória, ficando abaixo de 20%. Os elementos que apresentaram uma menor precisão (Th, Hg, Cr) além de estarem em baixíssima concentração, podem estar distribuídos heterogeneamente entre as subamostras usadas para análise, visto que as amostras não foram moídas, até apresentarem uma mesma granulometria.

Dos elementos determinados nas algas somente o Hg é considerado como elemento tóxico, tanto para os humanos como para os animais. Como exemplo, o nível máximo de Hg tolerável para a ração do gado leiteiro, segundo a literatura [9], é 2 mg kg⁻¹ de ração e o valor determinado nas amostras de alga, pelo AANI foi menor, da ordem de 110 µg kg⁻¹, o que significa que este método é viável para a monitoração do nível de mercúrio nessas algas.

IV. CONCLUSÃO

O método de AANI pode ser aplicado com segurança quando se utilizar a alga da espécie *Kappaphycus alvarezzi* como um bioindicador do nível de Hg no ambiente marinho. Permite conhecer a distribuição de elementos minerais em diferentes linhagens das espécies, parâmetro importante para que se possa prever a viabilidade da implantação de sua maricultura.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro recebido do CNPq e à CNEN.

REFERÊNCIAS

[1] Trono Jr., G.C. *Euclima and Kappaphycus*:

- taxonomy and cultivation. In Seaweed cultivation and marine ranching** (Ohno, M. & Critchley, A.T. eds). Kanagawa, Japan International Cooperation Agency, p.75-88, 1993.
- [2] Doty, M. S. **The production and use of *Euclima***. In: **Case studies of seven commercial seaweed resources** (Doty, M.S., Caddy, J.F. & Santelices, B. eds) FAO Fish. Tech Pap. 281, FAO, Rome, pp.123-161, 1987.
- [3] de Paula, E. J. **Cultivation of the carrageenophytes *Euclima* and *Kappaphycus* in Brazil**. In: Marine Ranch (Marine farm) System Training Course (1987-1996), (Ohno, M.ed.) Japan International Cooperation Agency, Jica, Kochi University, Kochi Prefecture, Japan, p.38-40, 1996.
- [4] de Paula, E.J.; Ohno, R.T. **Growth studies on *Kappaphycus alvarezzi*** (Doty) Doty ex P. Silva (Rhodophyta, Solieriaceae) **in waters of São Paulo State, Brazil**. XVI International Seaweed Symposium, Cebu City, Philippines, April, 12-17, 1998. Abstract, Programs & Directory, p.42,1998.
- [5] Al Jabori, S. M.; Shihab, K.M.; Jalil, M.; Saad, A.; Mohsin, A. **Multielement determination in rice and wheat by instrumental neutron activation analysis**, Biol Trace Elem.Res, vol.26/27, p 637-645, 1990.
- [6] Chung, Y.S.; Chung, Y.J.; Cho, K.H.; Lee, J.H. **Determination of trace and toxic elements in Korea rice CRM by INAA, ICP and AAS**, J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles, vol. 215(1), p 129-134, 1997.
- [7] Rajurkar, N.S.; Damame, M.M. **Elemental analysis of some herbal plants used in the treatment of cardiovascular diseases by INAA and AAS**, J.Radioanal. Nucl. Chem., Articles, vol.219(1), p. 77-80, 1997.
- [8] Armelin, M.J.; Maihara, V.A.; Vasconcellos; M.B.; Fávoro, D.I.T.; Nascimento, V.F. **Application of neutron activation analysis to estimate the distribution of inorganic elements among five varieties of Brazilian corn**, J.Radioanal. Nucl. Chem., Letters, vol.164(4), p.265-274, 1992.
- [9] National Research Council **Nutrient requirements of dairy cattle**, National Academy Press Washington, D.C., 1998.

ABSTRACT

An analysis procedure of mineral elements in alga (*Kappaphycus alvarezzi*) by using the instrumental neutron activation analysis technique is presented in order to determine the concentration of the following elements: (Cr,

Co, Eu, Hg, Sc and Th at the level of $\mu\text{g kg}^{-1}$ Br, Ca, Fe, Mg, Zn at the level of $\mu\text{g g}^{-1}$; and K and Na at the level of mg g^{-1}). The results play in perspective: the application of the specie as bioindicator, as well as the aspects of the physiology and mariculture of different lineages and regions.