

DETERMINAÇÃO DE Cu E Zn EM MACROALGA ORIUNDA DA ANTÁRTICA POR ICP OES E ICP-MS APÓS DIFERENTES PROCEDIMENTOS DE PREPARO DE AMOSTRAS

LIZÂNGELA ROSA FERREIRA¹; NATANAEL RODRIGO XAVIER PIRES¹; VANIZE CALDEIRA DA COSTA¹; ROCHELE SOGARI PICOLOTO²; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA¹; MÁRCIA FOSTER MESKO¹

¹*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas*

²*Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria
lizangelaferreira@yahoo.com.br; marcia.mesko@pq.cnpq.br*

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a Antártica vem sendo utilizada como objeto investigativo de fenômenos de mudanças locais e globais ocasionados por atividades antropogênicas, embora ainda seja considerada um continente primitivo, com posição geográfica isolada dos demais continentes (FARÍAS et al., 2002).

As macroalgas podem ser consideradas uma ferramenta de emprego crescente no monitoramento de contaminações ambientais por metais tóxicos. Sua ampla utilização se deve à capacidade destas espécies em acumular metais traços até níveis muitas vezes superiores aos das amostras de água onde se encontram (STENGEL et al., 2004; DABY, 2006). Muitos fatores ambientais podem influenciar no acúmulo de metais pelas algas, como a atividade celular, o tempo de exposição, pH, salinidade, matéria orgânica e temperatura. Além disso, as diferenças estruturais entre espécies influenciam na sua capacidade de absorção (RUNCIE; RIDDLE, 2004).

Embora alguns metais, como o cobre e o zinco, sejam considerados essenciais para o metabolismo dos organismos vivos, quando presentes em níveis mais elevados podem tornar-se tóxicos. O Cu é reconhecidamente um componente essencial de várias enzimas, além de atuar no transporte de elétrons na fotossíntese e na cadeia respiratória. Entretanto, em níveis elevados na forma de Cu⁺², este metal torna-se tóxico, levando a produção de espécies reativas de oxigênio. Com relação ao Zn, o qual é um micronutriente essencial que atua como cofator em várias enzimas e proteínas, seu excesso pode ocasionar distúrbios no metabolismo de energia ou aumento no stress oxidativo (BAUMANN; MORRISON; STENGEL, 2009).

A determinação de metais em macroalgas por meio das técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) tem sido relatadas na literatura (FARÍAS et al., 2002; ROCHA et al., 2009). Entretanto, estas técnicas de determinação multielementar, apesar de apresentarem alta sensibilidade e baixo limite de detecção, requerem a completa dissolução da amostra para evitar possíveis interferências da matriz da amostra na etapa de determinação (MOREDA-PIÑEIRO et al., 2007). Assim, o desenvolvimento de procedimentos de preparo de amostras adequados à técnica de determinação, é de grande relevância para garantir a qualidade dos resultados de determinada análise (KRUG; NÓBREGA, 2010).

A técnica de preparo de amostras usualmente empregada visando a determinação de metais em amostras biológicas, é a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em sistemas fechados (MWAD). Esta técnica tem

se mostrado bastante eficiente e segura, além de apresentar outras vantagens se comparada às decomposições por via úmida com aquecimento por convecção, como por exemplo, a redução dos riscos de contaminações externas, redução da quantidade de reagentes e redução no tempo de reação (FLORES et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2010). Outra técnica que vem sendo utilizada para a decomposição de amostras orgânicas é a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), a qual associa as vantagens da MWAD com as técnicas de combustão. A MIC apresenta algumas características, tais como mínima contaminação e consumo de reagentes, pequeno tempo de decomposição, baixos teores de carbono residual, e possibilidade de refluxo (FLORES et al., 2004).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo a avaliação de técnicas de preparo de amostras para a determinação de Cu e Zn em macroalga oriunda da Antártica, por ICP OES e ICP-MS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras da espécie de macroalga *Desmarestia anceps* (Montagne) pertencente ao grupo das algas pardas (Phaeophyta), utilizadas neste trabalho, foram coletadas em janeiro de 2012, na localidade de Demay, na Ilha do Rei George (Antártica). Inicialmente, as amostras foram lavadas com água destilada para remover sais e pequenos invertebrados, liofilizadas (LIOTOP[®], modelo L101) e armazenadas em saco de polietileno.

Para a decomposição da amostra por MWAD, foram pesadas cerca de 500 mg de amostra previamente cominuída em moinho criogênico (Spex Certi Prep[®], modelo 6750), à qual foram adicionados 6 ml de HNO₃ concentrado bidestilado. O procedimento de decomposição foi realizado em um forno de micro-ondas (Multiwave 3000[®], Anton Paar), equipado com frascos de quartzo, sob temperatura e pressão máximas de 280 °C e 80 bar, respectivamente. O programa de irradiação envolveu cinco etapas: uma rampa de aquecimento de 10 min, permanência de irradiação a 400 W por 10 min, uma nova rampa de aquecimento com 10 min de duração, permanência de irradiação a 1000 W por 10 min, finalizando com 20 min de resfriamento.

Massas de 500 mg de amostra já cominuída, também foram submetidas à decomposição por MWAD em um forno de micro-ondas (Berghof[®], Speedwave), equipado com frascos de TFM (politetrafluoretileno quimicamente modificado), sendo adicionadas de 5 ml de HNO₃ concentrado e 1 ml de HF 40% (v/v). O programa de decomposição envolveu cinco etapas: uma rampa de aquecimento de 5 min, permanência a 170 °C e pressão de 35 bar por 10 min, uma nova rampa de aquecimento de 5 min, permanência a 200 °C por 15 min e mesma pressão, finalizando com 20 min de resfriamento a 50 °C.

Para o procedimento por MIC as amostras previamente cominuídas foram preparadas na forma de comprimidos com 400 mg. Posteriormente, as mesmas foram decompostas em um forno de micro-ondas (Multiwave 3000[®], Anton Paar), equipado com suportes para amostra e frascos de quartzo (80 bar e 280 °C). Como iniciador de combustão foi utilizado 50 µl de solução de NH₄NO₃ 6 mol l⁻¹, e como solução absorvedora 6 ml de HNO₃ 6 mol l⁻¹ bidestilado, sendo o sistema pressurizado com 20 bar de O₂.

As determinações de Cu e Zn foram feitas em um ICP-MS (PerkinElmer, modelo Elan DRC II) e em um ICP OES (PerkinElmer, modelo Optima 4300 DV). Os equipamentos foram calibrados através de curvas de calibração externa, bem como

com curvas de adição de analito, nas faixas de 0,025 a 10,0 $\mu\text{g l}^{-1}$ para o ICP-MS e 1 $\mu\text{g l}^{-1}$ a 100,0 $\mu\text{g l}^{-1}$ para o ICP OES.

Dois dos métodos de preparo de amostras empregados tiveram sua exatidão avaliada pela decomposição de um material de referência certificado (CRM), o NIST 1515 (*Apple leaves*), enquanto o outro procedimento teve sua exatidão avaliada por comparação com os demais procedimentos, e pela realização de ensaios de recuperação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As concentrações de Cu e Zn para a amostra de macroalga e para o CRM analisado estão apresentadas na Tabela 1 e 2.

Tabela 1 - Determinação de Cu e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) por ICP-MS em *Desmarestia anceps* (n=3)

Elemento	MIC	ICP-MS	
		MWAD (HNO_3)	MWAD ($\text{HNO}_3 + \text{HF}$)
Amostra	Cu	3,92 \pm 0,20	5,16 \pm 0,81
	Zn	23,33 \pm 1,96	24,58 \pm 3,96

Tabela 2 - Determinação de Cu e Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$) por ICP OES em *Desmarestia anceps* (n=3)

Elemento	MIC	ICP OES	
		MWAD (HNO_3)	MWAD ($\text{HNO}_3 + \text{HF}$)
Amostra	Cu	3,61 \pm 0,27	5,86 \pm 0,70
	Zn	20,07 \pm 0,78	26,06 \pm 3,26
CRM NIST 1515*	Cu	5,48 \pm 0,14	5,70 \pm 0,22
	Zn	12,2 \pm 0,13	12,3 \pm 0,23

*Valor certificado para Cu no NIST 1515 = 5,64 \pm 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$ e para Zn = 12,5 \pm 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$

Os valores encontrados para Cu e Zn foram concordantes acima de 97% com o valor certificado utilizado, o que demonstra que a solução absorvedora de HNO_3 6 mol l^{-1} utilizada na MIC foi apropriada para absorver os analitos em estudo. Fato semelhante pode ser observado quando se utilizou na decomposição por via úmida o HNO_3 como agente oxidante da matéria orgânica, onde os valores encontrados para Cu e Zn foram concordantes acima de 96% com o valor certificado o que demonstra que a digestão ácida foi eficiente para disponibilizar os analitos em questão em solução. Além disso, comparando os resultados obtidos pelos métodos avaliados constatou-se que não houve diferença significativa entre estes (ANOVA $P < 0,05$).

Cabe ressaltar que para avaliar a possível interferência do Na^+ presente na amostra, foi realizada curva de adição de analito, a fim de eliminar a interferência relacionada às etapas de nebulização, transporte e efeitos energéticos no plasma, que ocorre devido à maior energia de ionização do Na^+ quando comparada a energia de ionização do Cu e Zn.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que ambos os métodos de preparo, via úmida e combustão, foram eficientes para a decomposição da amostra para posterior determinação no ICP-MS e ICP OES.

Além disso, as informações obtidas neste estudo preliminar sustentam a hipótese sobre a capacidade seletiva das macroalgas em acumular metais traços.

Também cabe destacar, que o fato da espécie *Desmarestia anceps* apresentar essa capacidade e estar amplamente disponível a torna um bioindicador ambiental para estudos futuros de metais tóxicos.

Quando se faz menção ao Cu e o Zn, elementos considerados essenciais para o metabolismo das algas existem transportadores específicos para estes metais o que facilitam o seu acúmulo nestas espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUMANN, H. A.; MORRISON, L.; STENGEL, D. B. Metal accumulation and toxicity measured by PAM - Chlorophyll fluorescence in seven species of marine macroalgae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v.72, p.1063-1075, 2009.
- DABY, D. Coastal pollution and potential biomonitors of metals in Mauritius. **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v.174, p.63-91, 2006.
- FARIAS, S.; ARISNABARRETA, S. P.; VODOPIVEZ, C.; SMICHOWSKI P. Levels of essential and potentially toxic trace metals in Antarctic macro algae. **Spectrochimica Acta Part B**, Oxford, v.57, p.2133-2140, 2002.
- FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G. Microwave-assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination. **Analytical Chemistry**, Washington, v.76, p.3526-3529, 2004.
- FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; BARIN, J. S.; ARRUDA, M. A. Z. Decomposição de materiais orgânicos por via úmida. In: KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª Ed. rev., Piracicaba: CENA/USP, 2010. Cap. 7, p.252-275.
- KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. A Sequência Analítica. In: KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª Ed. rev., Piracicaba: CENA/USP, 2010. Cap. 1, p.1-12.
- MOREDA-PIÑEIRO, J.; ALONSO-RODRÍGUEZ, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Development of a new sample pre-treatment procedure based on pressurized liquid extraction for the determination of metals in edible seaweed. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.598, p.95-102, 2007.
- NOGUEIRA, A. R. A.; MORAES, D. P.; FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; KNAPP, G.; NÓBREGA, J. A.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F. Decomposições assistidas por radiação micro-ondas. In: KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª Ed. rev., Piracicaba: CENA/USP, 2010. Cap. 8, p.276-325.
- ROCHA, S. R.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J.; GÓMEZ-JUARISTI, M.; MARÍN M. T. L. Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.22 p.330-336, 2009.
- RUNCIE, J. W.; RIDDLE, M. J. Metal concentrations in macroalgae from East Antarctica. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v.49, p.1114-1119, 2004.
- STENGEL, D. B.; MACKEN, A.; MORRISON, L.; MORLEY, N. Zinc concentrations in marine macroalgae and a lichen from western Ireland in relation to phylogenetic grouping, habitat and morphology. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v.48, p.902-909, 2004.