

Determinação de metais por ICP-MS e ICP OES em diferentes matrizes ambientais

Aluno: Pedro Henrique Magacho de Paula

Orientador: Adriana Gioda

Introdução

Os metais estão presentes em praticamente todo o meio ambiente. Alguns podem ser classificados como essenciais para os ecossistemas em geral, ex. cálcio, potássio, sódio, magnésio, ferro, zinco, cobre, estanho, vanádio, cromo, manganês, molibdênio, cobalto e níquel. No entanto, a presença desses metais associadas às partículas presentes no ar contribui para a contaminação dos ecossistemas aquáticos e terrestres [1].

A absorção de metais pelos seres vivos pode se dar pela água, alimentos ou partículas (material particulado - MP) presentes no ar. O material particulado pode ter origem de diversas fontes, principalmente a queima de combustível fóssil pelos veículos automotores. Essas partículas têm sido uma das maiores causadoras de efeitos adversos à saúde entre os poluentes presentes no ar, pois são compostas por uma mistura complexa de componentes químicos, como os metais [2]. O papel das plantas como bio-acumuladores de elementos tem sido estudado para acompanhar a contaminação de diversos tipos de ambientes e tem algumas vantagens em relação aos filtros, como o menor custo e a possibilidade de estudo direto do impacto do material particulado atmosférico em organismos vivos [3-6].

A capacidade bioacumuladora dos metais-traço por parte das plantas epífitas está bem estabelecida, a ponto de as mesmas serem apresentadas como instrumentos de monitoramento da contaminação atmosférica [7]. A Erva de Passarinho, *Struthanthus flexicaulis*, é uma hemiepífita classificada junto às hemiparasitas vasculares, geralmente de árvores frutíferas, ornamentais e florestais, muito comuns nos centros urbanos. Essas plantas prendem-se à árvore (hóspede) através de haustórios, que usam para retirar a água e os macronutrientes minerais do hóspede, mantendo, no entanto, independência fotossintética [8]. A parasita recebeu esse nome porque se espalha com a ajuda dos passarinhos, que ingerem as sementes e as eliminam junto com as fezes [9]; esse fato demonstra sua importância ecológica. A erva de passarinho é típica do Estado do Rio de Janeiro e é utilizada na medicina fitoterápica, sendo indicada para afecções respiratórias, bronquite, doenças do útero, dor no peito, hemoptise, hemorragia, pleurisia e pneumonia, devido à sua atividade antibiótica [10, 11]. Se por um lado, a atividade antibiótica existente na erva de passarinho a recomenda como droga medicinal natural, por outro lado sua capacidade de absorção de elementos de forma geral não tem sido discutida. A exposição da erva de passarinho a tais ambientes pode ser prejudicial se ingerida, tanto pela fauna, como pela população local na manufatura dos seus extratos. Além do seu possível emprego como bioindicador da contaminação atmosférica de ambientes urbanos e rurais, o conhecimento dos níveis naturais de metais traço nesta planta é importante para que os produtos de origem fitoterápica não venham a causar doenças pela toxidez relacionada a diversos elementos químicos.

As técnicas multielementares como ICP OES (espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente) e ICP-MS (espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente) são bastante usadas para a determinação de poluentes, como metais, em estudo de poluição atmosférica [12].

Objetivos

Determinar a concentração de metais por ICP-MS e ICP OES em diferentes amostras ambientais (material particulado, águas, plantas) visando identificar possíveis efeitos à saúde e ao meio ambiente.

Métodos

Coleta das amostras

Foram coletadas amostras de erva de passarinho e material particulado fino (PM_{2.5}) no Bairro de Fonseca, em Niterói (Figura 1). Este é o segundo maior bairro de Niterói e possui cerca de 58.000 habitantes. O bairro funciona como o principal elo entre a estrada RJ-124 e RJ-106 à capital do Estado, Rio de Janeiro. Apesar de bastante arborizado, é também muito poluído, por estar próximo a locais com forte atividade industrial (Refinaria de Duque de Caxias, fundições) e possuir grande fluxo veicular.

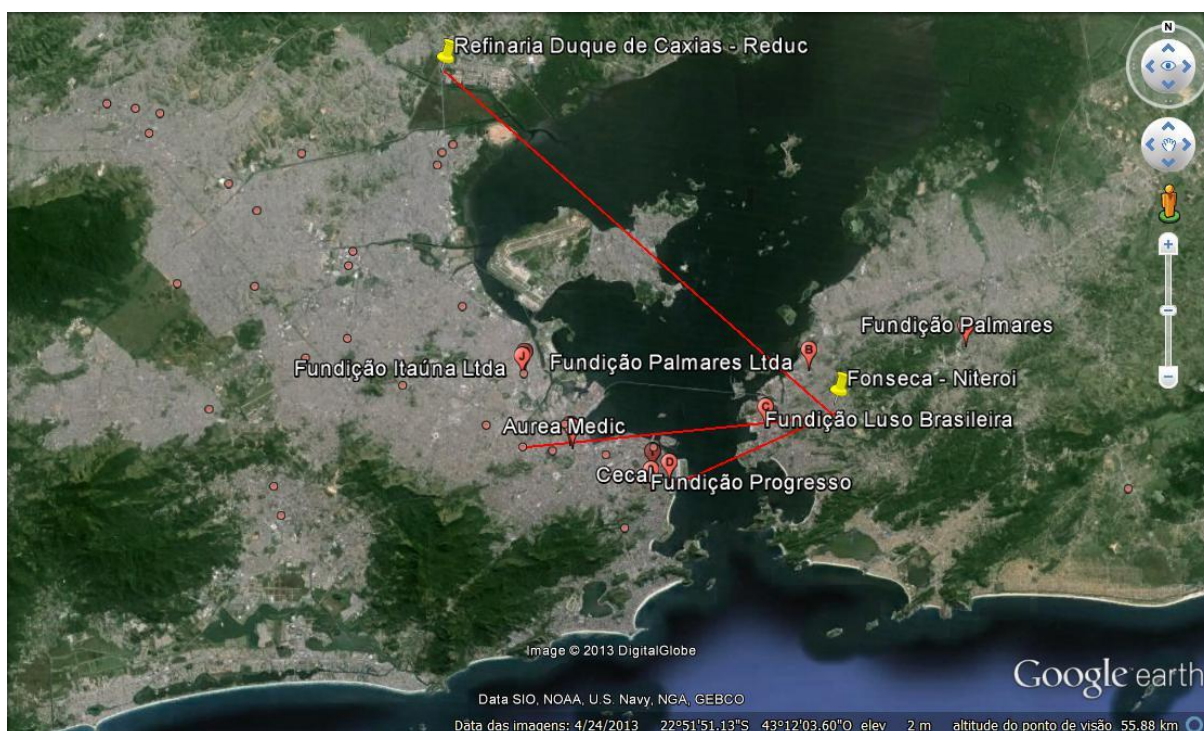


Figura 1 – Fonseca - Niterói, Reduc e algumas fundições próximas.

A coleta da erva de passarinho é relativamente fácil e não prejudica o ambiente em que vive, nem sua existência. A dificuldade na coleta está no fato de que os ramos se emaranham e são fortemente enraizados. Além disso, existem árvores onde as colônias se localizam numa altura impossível de ser atingida. Porém mesmo árvores mais baixas são hospedeiras desta epífita, de modo que o trabalho de coleta pode ser levado a cabo. Convém mencionar, que dependendo da localização e da árvore atingida pela erva de passarinho, suas folhas apresentavam-se menores e mais estreitas, ou maiores e mais largas. As menores e mais estreitas parecem ter preferência por locais mais altos e iluminados. As mais largas por locais mais baixos e sombreados.

Testes de abertura

Foram realizados testes com amostras certificadas de plantas (Apple e tomato leaves) e de material particulado (SRM) no intuito de encontrar a melhor forma de abertura de amostra

para assim ter melhores resultados. O teste consistia em analisar amostras certificadas de plantas e filtros para quantificar o quanto estava sendo extraído.

Pré-tratamento das amostras

Após a classificação de campo, as folhas das amostras da planta foram destacadas. Procurou-se selecionar as folhas mais verdes, porém as folhas estavam cobertas de poeira preta e praga branca. No entanto, seguiu-se ainda a seleção pelas folhas mais limpas. As folhas foram colocadas em tubos Falcon de 50 mL, e pesadas. As massas variaram em torno de 3 a 4 g, conforme o tamanho das folhas. Foram feitas triplicatas de cada amostra coletada. No tubo colocou-se 30 mL de água ultra pura (sistema MilliQ, Millipore, 18 Ω) e deixou-se as amostras em mesa agitadora com rotação de 180 rpm, por 30 minutos. Descartou-se os 30 mL iniciais e adicionou-se 20 mL de água ultra pura. Em seguida, as lavagens foram colocadas num mesmo recipiente e guardadas para serem analisadas. As amostras de plantas foram congeladas e liofilizadas.

Dissolução química das amostras de plantas

Cada alíquota de amostra liofilizada foi macerada com um pistilo em um gral, ambos de porcelana. Foi pesada 0,2 g como massa seca e posta em tubos Falcon de 50 mL. Cada amostra foi dissolvida em 3,0 mL de ácido nítrico concentrado e aquecimento por 4 horas a 90 °C. O extrato resultante foi centrifugado por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado e colocado em tubos Falcon de 15 mL e o volume foi completado com água ultra pura.

Dissolução química das amostras de filtros

Os filtros contendo material particulado (PM2.5) foram cortados em pedaços de 3 cm x 3 cm com bastante cuidado e, posteriormente, pesados. Para cada análise foram feitos 3 brancos de filtros. Foram adicionados 3,0 mL de ácido em cada amostra de filtro e posteriormente, aquecidos em chapa a 90 °C por 2 horas [13]. Após abertura, os extratos foram avolumados, centrifugados, diluídos e analisados.

Caracterização elementar

Todas as amostras foram diluídas em 50 vezes e 100 vezes com água ultra pura. Foram realizadas caracterizações multielementares das amostras, por espectroscopia de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), empregando o espectrômetro modelo DRC II da Perkin Elmer; e por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), com o espectrômetro Optima 4300 da Perkin Elmer. A validação da metodologia foi feita a partir da análise de amostras certificadas de plantas, tais como *tomato leaves* (NIST SRM 1547) e *apple leaves* (NIST SRM 1515). Foram feitas duplicatas de amostras certificadas, pesando 0,2 g de cada amostra e adicionou-se 3,0 mL de ácido nítrico bidestilado, assim como nas amostras de plantas estudadas.

Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

Nas determinações realizadas, utilizou-se o ICP-MS modelo DRC II (PerkinElmer-Sciex, EUA). Não houve problemas nas determinações, uma vez que não se utilizou o dispositivo para eliminação de interferências, a célula de reação dinâmica (DRC) que este último modelo possui, e as condições experimentais foram mantidas iguais, como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1- Condições de análise do ICP-MS.

Parâmetro	Valor
Potência RF	1300 W
Plasma	15 L min ⁻¹
Auxiliar	1,2 L min ⁻¹
Vazão de Ar nebulizador	0,42 L min ⁻¹
Leituras por replicatas	2
Replicatas	3
<i>Dwell time</i>	50 ms
Operação do detector	<i>Dual mode</i>
Isótopos utilizados para quantificação	⁵¹ V, ⁶⁰ Ni
Padrão interno	¹⁰³ Rh ⁺

As soluções de calibração foram preparadas com utilizando soluções estoque Perkin Elmer 29 (Al, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, Se, Cd e Pb), PerkinElmer 12 (Mo, Nb, P, S, Ta, Ti), Perkin Elmer 17 (La, Y), Merck IV (Al, Ba, Ce, Cd, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Ni, Pb, Na, Sr, Zn) e padrões individuais de Sb e Ti, todos com 1000 µg L⁻¹ de concentração. As concentrações da curva de calibração variaram de 50 µg L⁻¹ a 100 µg L⁻¹, e o padrão interno de calibração foi uma solução de concentração 400 µg L⁻¹ de Rh a 1% de HNO₃. As soluções de calibração receberam 100 µL de HNO₃, a fim de evitar a precipitação dos padrões, uma vez que a matriz da curva é aquosa.

Os elementos, massas atômicas, coeficientes de determinação (R²), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Parâmetros analíticos para a técnica de ICP-MS: Elemento, R², LD e LQ.

Elemento	R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Cr	0.999752	0,00120	0,00400
Co	0.999850	0,00008	0,000029
Cu	0.999907	0,00054	0,00181
Cd	0.999948	0,000018	0,00006
Pb	0.999233	0,000053	0,00017
Ni	0.999765	0,000237	0,00079
Zn	0.999908	0,001066	0,00355
Sr	0.999683	0,000085	0,00025
Ga	0.999487	0,000999	0,00333
Mo	0.999956	0,0002	0,010
Mn	0.999716	0,00025	0,00085
Hg	0.999853	0,00004	0,0012
As	0.999970	0,00015	0,0045
Se	0.999806	0,00013	0,00044
Y	0.999091	0,0001	0,004
La	0.999739	0,0001	0,004

A calibração realizada foi do tipo externa, e o modelo estatístico adotado na regressão linear pelo método dos mínimos quadrados foi do tipo $y = ax$. Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as equações (1 e 2), respectivamente. Na equação 1, “s” representa o desvio padrão amostral de 10 leituras do branco da curva de calibração (água ultrapura acidificada com HNO_3), e “a” representa o coeficiente angular da equação da reta.

$$\text{LD} = (3 \times s)/a \quad (1)$$

$$\text{LQ} = 3,3 \times \text{LD} \quad (2)$$

Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

O equipamento utilizado neste trabalho foi o ICP OES modelo Optima DV 4300 (Perkin Elmer, EUA), que permite a observação do plasma no modo de configuração axial e radial, proporcionando o modo de observação mais sensível para cada elemento. Na tabela 3 é possível observar as condições operacionais do instrumento.

Tabela 3- Condições de análise do ICP OES.

Parâmetro	Valor
Potência RF	1500 W
Fluxo de Argônio do Plasma	15,0 L min ⁻¹
Fluxo de Argônio do Plasma	1,2 L min ⁻¹
Fluxo de Argônio de Nebulização	0,42 L min ⁻¹

As soluções de calibração foram preparadas utilizando padrões com concentrações de 1000 mg L⁻¹, com exceção do analitos, Na (2000 mg L⁻¹), S (1335 mg L⁻¹) e P (1304 mg L⁻¹). Os padrões monoelementares (Titrisol® - Merck, Germany) permitiram o preparo de curva de calibração para Al, Ca, K, Na P, S, Ti e V. O padrão multielmentar Certipur Multielement Standard IV, Merck permitiu o preparo de curva de calibração para Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn.

Os elementos, coeficientes de determinação (R^2), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros analíticos para a técnica de ICP OES: Elemento, R^2 , LD e LQ.

Elemento	R^2	LD (mg L⁻¹)	LQ (mg L⁻¹)
Al	0,999972	0,00904	0,02986
Ba	0,999963	0,00012	0,00041
C	0,999712	0,11987	0,39559
Ca	0,999983	0,00542	0,01789
Fe	0,999869	0,00056	0,00185
K	0,999985	0,03887	0,12827
Li	0,999957	0,00719	0,02374
Mg	0,999947	0,00011	0,00036
Na	0,999962	0,01470	0,04853
P	0,999913	0,04110	0,13563
S	0,999985	0,03568	0,11776
Ti	0,999927	0,00029	0,00097
V	0,999900	0,00016	0,00053

A calibração realizada foi do tipo externa, e o modelo estatístico adotado na regressão linear pelo método dos mínimos quadrados foi do tipo $y = ax$. Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as equações (1 e 2), respectivamente. Na equação 1, “s” representa o desvio padrão amostral de 10 leituras do branco da curva de calibração (água ultrapura acidificada com HNO_3), e “a” representa o coeficiente angular da equação da reta.

$$\text{LD} = (3 \times s)/a \quad (1)$$

$$\text{LQ} = 3,3 \times \text{LD} \quad (2)$$

Tratamento dos dados

A avaliação das concentrações dos elementos químicos medidos foi baseada no fator de enriquecimento (FE). Trata-se de uma medida do grau antropogênico na emissão de determinados elementos baseado na composição fixa de uma determinada fonte. O indicador do grau antropogênico é quando o FE ultrapassa o valor 10. Usou-se o ferro como medida de referência, já que o mesmo é um importante marcador de solo.

Os dados obtidos para as diferentes amostras de erva de passarinho foram comparados com a composição química do material particulado (PM2.5) coletado no mesmo ambiente, o que permitirá avaliar a possibilidade do uso da erva de passarinho como bioindicador da poluição atmosférica por metais.

Resultados

O teste inicialmente realizado teve por objetivo avaliar o quanto estava sendo extraído das plantas pelo método de extração ácida/aquecimento proposto. Os resultados estão apresentados nas tabelas 5, 6 e 7 abaixo.

Tabela 5 – Porcentagem de extração de material certificado (SRM).

Elemento	Concentração PM2.5 (mg Kg ⁻¹)	Certificado SRM (mg Kg ⁻¹)	Extração (%)
As	112,94	115,50	97,78
Cd	67,94	73,30	92,69
Co	10,22	17,93	57,00
Cu	493,73	610,00	80,94
Mn	482,94	790,00	61,13
Na	2519,47	4240,00	59,42
Ni	35,00	81,10	43,16
Sr	134,39	215,00	62,51
V	74,71	127,00	58,83
Zn	3892,98	4800,00	81,10

Tabela 6 – Porcentagem de extração de material certificado (Apple Leaves).

Elemento	Concentração (mg Kg ⁻¹)	Certificado Apple Leaves (mg Kg ⁻¹)	Extração (%)
Ba	45,24	49	92,32
Cd	0,01	0,013	87,18
Co	0,10	0,09	105,56
Cu	5,52	5,64	97,85
La	21,14	20	105,70
Mn	36,84	54,00	68,23
Na	46,02	24,40	188,60
Ni	0,46	0,91	50,99
Sr	17,37	25,00	69,49
Zn	12,4	12,50	99,47

Tabela 7 – Porcentagem de extração de material certificado (Tomato Leaves).

Elemento	Concentração (mg/Kg)	Certificado Tomato Leaves (mg/Kg)	Extração (%)
As	0,17	0,112	149,70
Ba	54,84	63	87,04
Cd	1,48	1,52	97,19
Co	0,52	0,57	91,64
Cr	1,70	1,99	85,18
Cu	4,47	4,7	95,12
Fe	286,90	368	77,96
La	2,27	2,3	98,57
Mn	253,83	246	103,18
Mo	0,35	0,46	75,22
Na	138,68	136	101,97
Ni	1,97	1,59	123,63
Sr	93,97	85	110,55
Zn	31,03	30,9	100,42

A partir dos resultados das tabelas 5, 6 e 7, foi possível observar que o método usado garantiu boa extração de metais e, portanto, a metodologia apresentada é adequada aos objetivos propostos.

As concentrações de metais em águas de lavagem foram muito baixas (> 1%) quando comparadas com material particulado e plantas, como pode ser observado na figura 2. Assim, o procedimento de análise de água de lavagem foi suspenso.

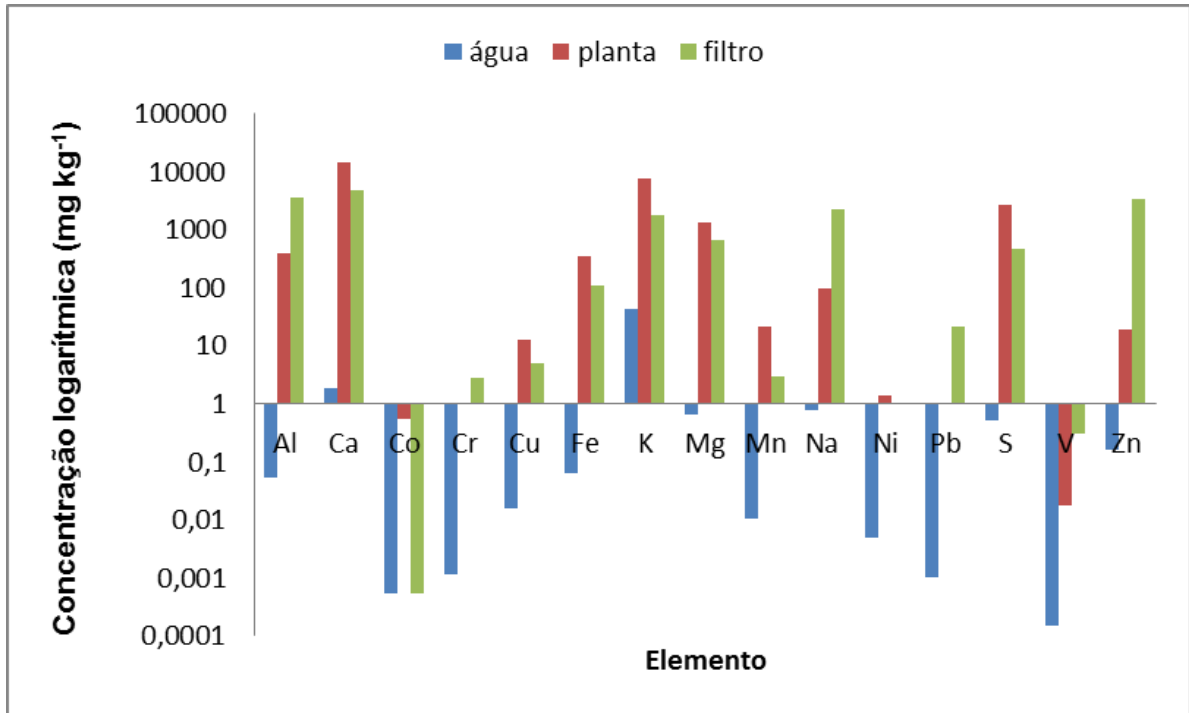


Figura 2 – Concentrações (mg kg⁻¹), em escala logarítmica, dos elementos determinados nas amostras de plantas, filtros e águas de lavagem coletadas em Fonseca em agosto de 2012.

As concentrações de metais em plantas e filtros apresentaram perfis parecidos, principalmente em elementos fundamentais para as planta, como Al, Ca, K, Na, como sugerem as figuras 3, 4 e 5.

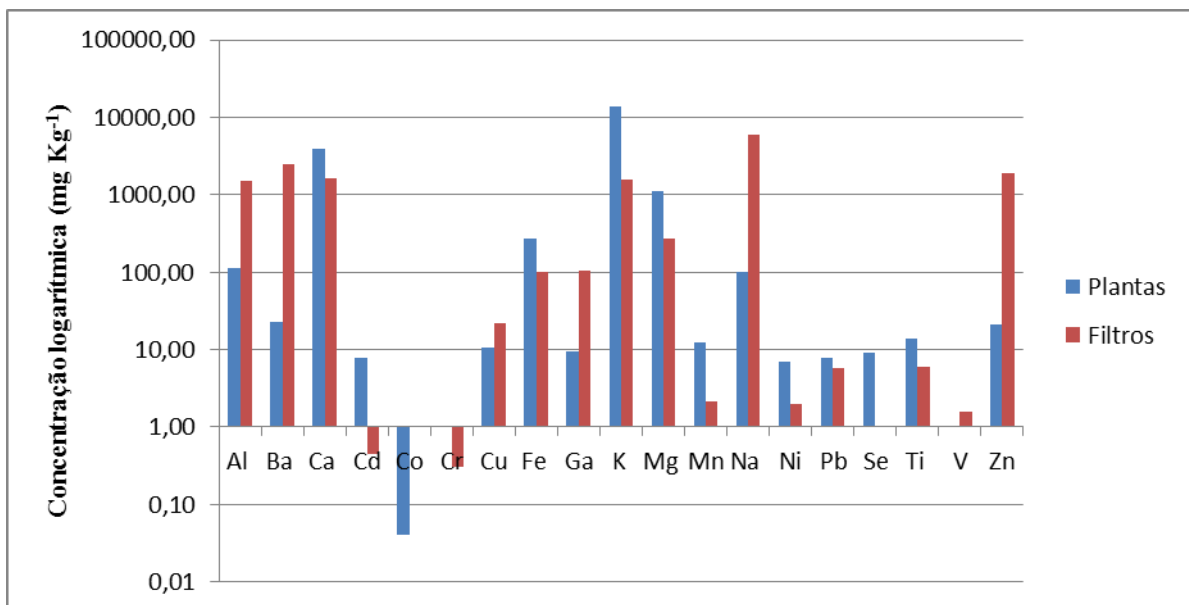


Figura 3 – Concentrações (mg kg⁻¹), em escala logarítmica, dos elementos determinados nas amostras coletadas em Fonseca em fevereiro de 2012.

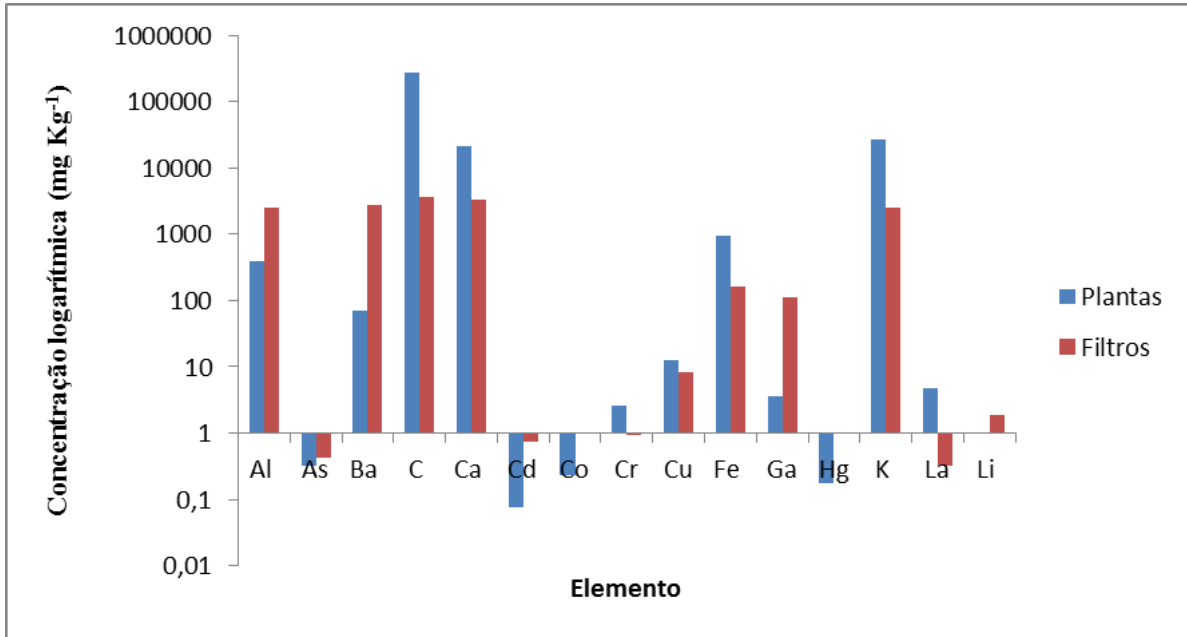


Figura 4 – Concentrações (mg kg⁻¹), em escala logarítmica, dos elementos determinados nas amostras de plantas e filtros coletadas em Fonseca em junho de 2013.

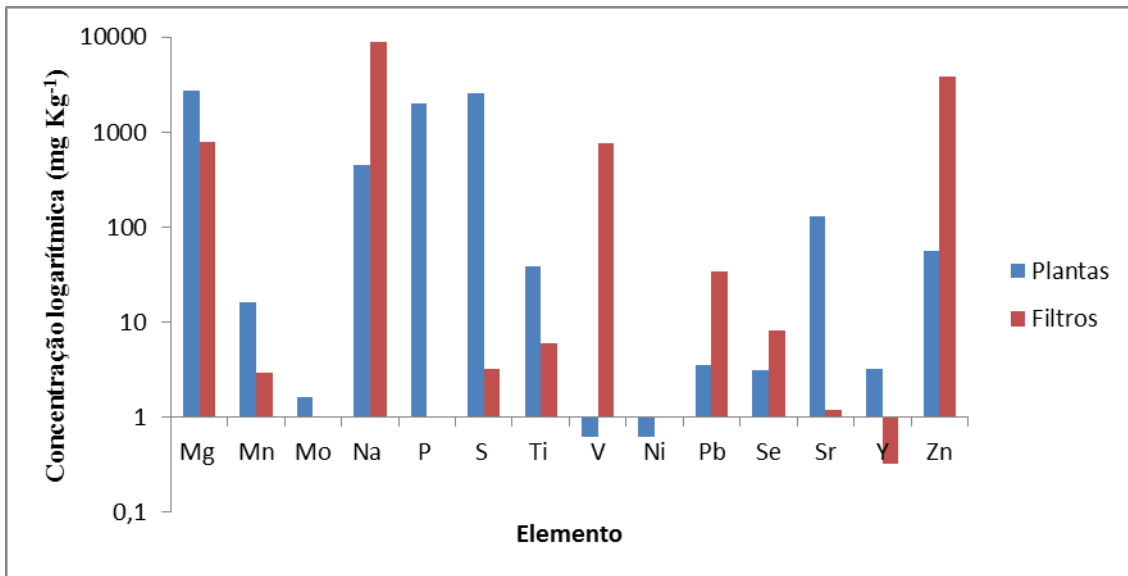


Figura 5 – Concentrações (mg kg⁻¹), em escala logarítmica, dos elementos determinados nas amostras coletadas em Fonseca em junho de 2013.

A concentração de material particulado nos filtros de Fonseca foi de $6,20 \pm 3,53 \mu m^{-3}$. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) estas concentrações estão abaixo do limite diário de $25 \mu m^{-3}$.

As tabelas 8 e 9 abaixo mostram os resultados do fator de enriquecimento (FE) para as plantas e filtros nos anos de 2012 e 2013.

Tabela 8 e 9 – Valores do fator de enriquecimento (FE) para plantas e filtros de Fonseca nos anos de 2012 e 2013.

Elemento	FE Planta	FE Filtro
Al	0,3	10,8
As	10,3	83,6
Ba	9,4	2320,6
Ca	29,9	28,1
Cd	29,6	1764,5
Co	0,5	0,0
Cr	1,5	3,4
Cu	12,0	49,7
Fe	1,0	1,0
Ga	10,8	2094,8
K	74,8	42,4
La	6,9	2,9
Li	0,0	33,7

Elemento	FE Planta	FE Filtro
Mg	6,8	11,8
Mn	1,0	1,1
Mo	79,3	0,0
Na	1,1	132,5
Ni	1375,5	0,0
Pb	161,9	149,4
S	0,1	766,4
Sr	0,6	33,2
Ti	0,0	0,5
V	62,4	3,5
Y	5,7	3,5
Zn	20,0	8181,0

Pode-se notar valores de FE acima de 10 nas plantas para alguns elementos como V e Mo, e nos filtros, Al, Mg, Na, S, Sr. Em ambos, os elementos As, Ca, Cd, Cu, Ga, K, Pb, Zn, e portanto todos os elementos referidos possuem origem antropogênica.

O Al, Ca, Ga, K, Mg, Pb e o Zn podem ser associados à siderurgia, produção de ligas metálicas, construções civis e fundições, como a Refinaria de Duque de Caxias e também fundições que podem ser encontradas na figura 1.

O Cd e V podem ser associados à queima de combustíveis fósseis; Cu pode ser associado a atividades de fundições.

Conclusões

Através dos resultados apresentados foi possível verificar uma tendência de bioacumulação pela espécie *Struthanthus flexicaulis* de metais nutritivos como K, Ca, Na e contaminantes como Pb, Cd e Cu, uma vez que estes foram possuem FE maior que 10 tanto nos filtros quanto nas plantas.

Neste sentido, esse trabalho é um estudo preliminar para avaliação do uso da erva de passarinho como bioindicador de poluição atmosférica na região de estudo.

Referências

- 1 - Lovett, G.M., Tear, T.H., Evers, D.C., Findlay, S.E.G., Cosby B.J., Dunscomb, J.K., Driscoll, C.T., and Weathers K.C. **Effects of Air Pollution on Ecosystems and Biological Diversity in the Eastern United States**. The Year in Ecology and Conservation Biology, 2009: Ann. N.Y. Acad. Sci. 1162: 99–135
- 2 - Zibret G. and Rokavec D. Household dust and street sediment as an indicator of recent heavy metals in atmospheric emissions: a case study on a previously heavily contaminated area. **Environ Earth Sci** (2010) 61:443–453
- 3 - Al-Masri, M.S., Al-Kharfan, K., Al-Shamali, K. Speciation of Pb, Cu and Zn determined by sequential extraction for identification of air pollution sources in Syria. **Atmospheric Environment**, 40, 2006, p.753–761.
- 4 - Fischerová, Z., Tlustos, P., Száková, S., Sichorova, K. A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace elements. **Environmental Pollution**, 2006, p.1-8.
- 5 - Mrak, T., Slejkovec, Z. and Jeran, Z. **Extraction of arsenic compounds from lichens**. Talanta, (2006) 69, 251–258.
- 6- He, Z.L., Yang, X.E., Stoffella, P.J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, (2005) 19, 125–140.
- 7 - Arruda, R. S. **Especificidade de hospedeiros por *Strutanthus aff. polianthus* (Loranthaceae) em uma área de cerrado, Uberlândia, Minas Gerais**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, M.G., 2004.
- 8 - Dettke, G.A. e Milaneze-Gutierrez, M.A. Estudo anatômico dos órgãos vegetativos da hemiparasita *Phoradendron mucronatum* (DC.) Krug & Urb. (Viscaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 534-536, jul. 2007.
- 9 - De Cicco, L.H.S. Saúde Animal_ Gaturamo-Bandeira. Disponível em: <http://www.saudeanimal.com.br/gaturamo_bandeira_print.htm> Acessado em: 11 jul. 2013.
- 10 - Leitão, F., Fonseca-Kruel, V.S., Silva, I.M., Reinert, F. Urban ethnobotany in Petrópolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil). **Revista Brasileira de Farmacognosia; Brazilian Journal of Pharmacognosy**, (2009) 19(1B), 333-342.
- 11 - Araújo, E.C., Oliveira, R.A.G., Coriolano, A.T. Uso de plantas medicinais pelos pacientes com câncer de hospitais da rede pública de saúde em João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde, Londrina**, (jun.2007) 8, nº2, 44-52.
- 12 - Smichowski, P., Marrero, J., Gómez, D. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of trace element in PM_{2,5} airborne particulate matter collected in an industrial area of Argentina. **Microchemical Journal**, 80, 2005, p.9– 17.
- 13 - A. Gioda, B.S. Amaral, I.L. Monteiro, T.D. Saint'Pierre, Chemical composition, sources, solubility and transport of aerosol trace elements in a tropical region, **J. Environ. Monit.** 13 (2011) 2134–2142