

## DIGESTÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS EM SISTEMA PRESSURIZADO COM O<sub>2</sub> : NOVO MÉTODO PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cd E Pb POR ICP-MS EM ALGAS

MARCELO GUERREIRO CRIZEL<sup>1</sup>; LETÍCIA SEVERO FAGUNDES PEREIRA<sup>2</sup>;  
LIZÂNGELA ROSA FERREIRA<sup>1</sup>; NATANAEL RODRIGO XAVIER PIRES<sup>1</sup>;  
DIOGO LA ROSA NOVO<sup>1</sup>; MÁRCIA FOSTER MESKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.  
necocrizel2008@hotmail.com; marciamesko@yahoo.com.br  
<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS.

### 1. INTRODUÇÃO

Embora a Antártica ainda seja considerada um continente primitivo, de acordo com o Programa Antártico Brasileiro, a determinação de elementos tóxicos em espécies marinhas, particularmente nesta região, é de grande importância para avaliar de forma segura as eventuais fontes de poluição. Além disso, existe ainda uma grande carência de informações acerca dos níveis de concentração de Cd e Pb em macroalgas oriundas desta região, necessárias para uma avaliação segura de possível contaminação antropogênica (BARGAGLI, 2008).

Contudo, para fazer esta avaliação é necessária a utilização de métodos eficientes para a decomposição de amostras e com sensibilidade adequada. Neste sentido, sistemas fechados de decomposição de amostras assistidos por radiação micro-ondas (MW-AD), com uso de ácidos concentrados, associados à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), vem sendo usados (BRITO, 2012). Entretanto, considerando o número relativamente elevado de amostras a serem analisadas, há um crescente interesse no desenvolvimento de métodos que utilizem menor quantidade de reagentes e que gerem menor quantidade de resíduos.

Uma das alternativas promissoras refere-se à decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas utilizando ácidos diluídos. Todavia, para que ocorra a decomposição efetiva da matéria orgânica, neste sistema a decomposição deve ser feita com o auxílio de oxigênio para promover a regeneração do ácido e aumentar a eficiência da decomposição das amostras. Esta estratégia permite uma decomposição eficiente com mínimo volume de ácidos e outros reagentes concentrados (FLORIAN, 2001).

Considerando que a decomposição assistida micro-ondas em sistema pressurizado com O<sub>2</sub> (MW-O<sub>2</sub>-AD) não foi aplicada até o momento para espécies marinhas, este trabalho tem por objetivo propor um método de decomposição para macroalgas, oriundas da região Antártica, utilizando o sistema MW-O<sub>2</sub>-AD para a subsequente determinação de Cd e Pb por ICP-MS.

### 2. METODOLOGIA

Macroalgas *Desmarestia anceps* (Montagne), pertencentes ao grupo das algas pardas (Phaeophyta) foram coletadas em janeiro de 2012, na localidade de Demay, na Ilha do Rei George (Antártica). Inicialmente, estas macroalgas foram lavadas com água destilada para remover sais e pequenos invertebrados, liofilizadas em liofilizador (LIOTOP<sup>®</sup>, modelo L101) e cominuídas em moinho criogênico (Spex CertiPrep, modelo 6750).

Para a decomposição das macroalgas por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas sob pressão de oxigênio (MW-O<sub>2</sub>-AD) foi utilizado um forno de micro-ondas (Multiwave 3000<sup>®</sup>, Anton Paar) com sistema fechado, equipado com frascos de quartzo, sob temperatura e pressão máximas de 280 °C e 80 bar, respectivamente. Foram utilizadas amostras de 0,5 g, as quais foram transferidas para frascos de quartzo, onde foram adicionados 6 ml de HNO<sub>3</sub> nas concentrações de 0,5, 1, 2, 3 e 7 mol l<sup>-1</sup>. Para cada uma das soluções de HNO<sub>3</sub> foi avaliada a decomposição com a pressurização dos frascos de reação com 1, 5 ou 10 bar de O<sub>2</sub> como reagente auxiliar e o programa de aquecimento utilizado envolveu as seguintes etapas: *i*) rampa de aquecimento de 5 min, até 1000 W; *ii*) 1000 W por 10 min e *iii*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). A escolha das concentrações das soluções de HNO<sub>3</sub> e das pressões de O<sub>2</sub> foram realizadas de acordo com trabalhos recentes descritos por alguns autores (BIZZI et al., 2010).

Para avaliar os resultados obtidos pelo método proposto (MW-O<sub>2</sub>-AD), utilizou-se um método de referência a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD). Para este procedimento, foram utilizadas 0,5 g de amostras, as quais foram transferidas para frascos de quartzo, onde foram adicionados 6 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado (65%). Posteriormente, os frascos foram fechados e levados a cavidade do mesmo forno micro-ondas descrito acima. O programa de irradiação envolveu as seguintes etapas: *i*) rampa de aquecimento de 10 min, até 1000W; *ii*) 1000W por 15 min e *iii*) 0W por 20 min (etapa de resfriamento).

As melhores condições de concentração de HNO<sub>3</sub> e de pressão de O<sub>2</sub> foram utilizadas para a decomposição dos CRMs BCR 060 (*Aquatic plant*) e NIST 1515 (*Apple leaves*) contendo valores de metais certificados, a fim de avaliar a exatidão do procedimento proposto.

Os digeridos resultantes dos procedimentos de preparo de amostras por MW-AD e MW-O<sub>2</sub>-AD, com as diferentes concentrações de HNO<sub>3</sub>, foram analisadas por ICP-MS (PerkinElmer, modelo Elan DRC II). Além disso, estes digeridos foram analisados por ICP OES (PerkinElmer, Optima 4300 DV), após purgar com Argônio (Ar) por 2 min, para eliminar o CO<sub>2</sub> dissolvido, a fim de determinar o teor de C residual. A curva de calibração de C foi preparada a partir de solução concentrada de ácido cítrico, em presença de Ítrio (Y) como padrão interno.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A decomposição de 0,5 g de macroalga com soluções de HNO<sub>3</sub> de diferentes concentrações está diretamente vinculada a concentração do reagente auxiliar (O<sub>2</sub>) utilizada no procedimento de decomposição. Desta forma, para as concentrações de HNO<sub>3</sub> 0,5 e 1 mol l<sup>-1</sup>, mesmo realizando a pressurização do sistema com O<sub>2</sub> nas pressões de 1, 5 e 10 bar de O<sub>2</sub>, as soluções resultantes apresentaram coloração marrom escuro e resíduos sólidos suspensos, provavelmente devido ao fato de que a quantidade de ácido não foi capaz de oxidar completamente a matéria orgânica. Em função disso, estas concentrações não foram analisadas por ICP-MS. Por sua vez, quando foi utilizado HNO<sub>3</sub> diluído 2, 3 e 7 mol l<sup>-1</sup> com a pressurização do frasco reacional com 1, 5 e 10 bar de O<sub>2</sub> verificou-se uma boa decomposição da matéria orgânica, cujos digeridos apresentaram aspecto límpido, sem presença de material particulado suspenso. A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos após as decomposições por MW-O<sub>2</sub>-AD, em diferentes concentrações de HNO<sub>3</sub>.

**Tabela 1.** Determinação de metais na alga *Desmarestia anceps* por ICP-MS após decomposição com  $\text{HNO}_3$  2, 3 e 7 mol  $\text{l}^{-1}$  sob diferentes pressões de  $\text{O}_2$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n=3$ ).

Analito	2 mol $\text{l}^{-1}$		
	1bar	5 bar	10 bar
Cd	$0,90 \pm 0,03$	$0,61 \pm 0,02$	$0,62 \pm 0,02$
Pb	$0,57 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,05$	$0,39 \pm 0,06$
3 mol $\text{l}^{-1}$			
Cd	$0,65 \pm 0,04$	$0,64 \pm 0,01$	$0,67 \pm 0,01$
Pb	$0,360 \pm 0,002$	$0,42 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,04$
7 mol $\text{l}^{-1}$			
Cd	$0,42 \pm 0,01$	$0,630 \pm 0,004$	$0,61 \pm 0,02$
Pb	$0,28 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,04$

De acordo com a Tabela 1, com exceção da pressão de 1 bar, os resultados obtidos para Cd e Pb nas concentrações de 2, 3 e 7 mol  $\text{l}^{-1}$  foram muito próximos para ambos os analitos, ao comparar-se as diferentes pressões de  $\text{O}_2$ . Ainda em relação a pressão de 1 bar de  $\text{O}_2$ , verificou-se que os resultados para Cd e Pb diminuíram à medida que a concentração da solução ácida aumentou, provavelmente isto seja justificado pela maior eficiência na decomposição da matéria orgânica.

Embora a melhor faixa de variação para os desvios padrões relativos (RSDs) tenha sido para a maior concentração de  $\text{HNO}_3$  (3 a 15% para 2 mol  $\text{l}^{-1}$ ; 0,05 a 10% para 3 mol  $\text{l}^{-1}$ ; 3 a 7% para 7 mol  $\text{l}^{-1}$ ), os resultados obtidos a partir da concentração de  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{l}^{-1}$  e 5 bar de  $\text{O}_2$  não apresentaram diferença significativa (ANOVA, 95% de confiança) com os resultados obtidos pelo método de referência MW-AD ( $0,58 \pm 0,02$ , para Cd e  $0,43 \pm 0,02$ , para Pb). Ademais, com estas condições os RCCs nos digeridos foram menores quando comparados com as decomposições com  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{l}^{-1}$  e pressões de 5 e 10 bar de  $\text{O}_2$ . Sendo assim, para avaliar a exatidão do método proposto foram decompostos CRMs usando solução de  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{l}^{-1}$  e 5 bar de  $\text{O}_2$  e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Determinação de metais em materiais de referência certificados BCR 060 (*Aquatic plant*) e NIST 1515 (*Apple leaves*) por ICP-MS, após decomposição com  $\text{HNO}_3$  3 mol  $\text{l}^{-1}$  e pressão de 5 bar de  $\text{O}_2$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ,  $n=3$ ).

Analito	BCR 060 ( <i>Aquatic plant</i> )		NIST 1515 ( <i>Apple leaves</i> )	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
Cd	$2,20 \pm 0,10$	$2,20 \pm 0,05$	$0,013 \pm 0,002$	$0,012 \pm 0,001$
Pb	$63,8 \pm 3,2$	$64,6 \pm 0,6$	$0,470 \pm 0,024$	$0,442 \pm 0,001$

Como pode ser observado na Tabela 2, Os valores obtidos para Cd e Pb nos CRMs demonstraram concordâncias satisfatórias, tanto com os valores certificados no CRM BCR 060 (entre 97 e 103%, respectivamente), quanto com os valores certificados no CRM NIST 1515 (92 e 105%), o que evidencia que o método apresentou boa exatidão. Além disso, foi possível obter RSDs menores que 8%, o que comprova que o método proposto também apresentou precisão adequada para a determinação de Cd e Pb em macroalga.

O método proposto foi utilizado para a analisar outras algas (*Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens* e *Pyropia endiviifolia*) onde as concentrações de Cd e Pb variaram de 0,31 e 3,49  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 0,10 e 0,32  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Cabe destacar que, os LODs ( $3\sigma$ ,  $n=10$ ) foram 0,002 e 0,003  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente, mostrando-se adequado para a determinação de Cd e Pb nas amostras analisadas. Os LODs para o método de referência foram 0,001 e 0,019  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente.

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que a decomposição por MW-O<sub>2</sub>-AD em sistema fechado foi eficiente para a decomposição das algas para posterior determinação de Cd e Pb por ICP-MS. Além disso, o método proposto é uma alternativa promissora para a decomposição de algas utilizando pequenas quantidades de reagentes e assim gerando menor quantidade de resíduos.

Por fim, é importante enfatizar que o método desenvolvido pode ser utilizado para a decomposição de diferentes algas para posterior determinação de metais, e que as algas avaliadas neste trabalho podem ser empregadas como bioindicador da contaminação ambiental da Antártica, servindo para monitorar a qualidade ambiental desta região.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARGAGLI, R. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 400, p. 212-226, 2008.

BIZZI C. A.; FLORES, E. M. M.; PICOLATO, R. S.; BARIN, J. S.; NÓBREGA, J. A. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Analytical Methods**, v. 2, p. 734-738, 2010.

BRITO, G. B.; SOUZA, T. L.; BRESSY, F. C. ; MOURA, C. W. N.; KORN, M. G. A. Levels and spatial distribution of trace elements in macroalgae species from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2238-2244, 2012.

FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-Temperature, Microwave-Assisted UV Digestion: A Promising Sample Preparation Technique for Trace Element Analysis. **Analytical Chemistry**, v.73, p.1515–1520, 2001.