

## QUALIDADE ANALÍTICA DA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS POR ATIVAÇÃO NEUTRÔNICA INSTRUMENTAL EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Elvis Joacir De França<sup>1</sup>, Elisabete A. De Nadai Fernandes<sup>1</sup>, Márcio Arruda Bacchi<sup>1</sup>, Mitiko Saiki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear, São Paulo, Brasil

**Resumo:** A análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) detém alto nível metrológico com exatidão na determinação de elementos químicos em amostras ambientais, o que favorece a comparabilidade de resultados. No contexto do Programa BIOTA/FAPESP, folhas de espécies arbóreas vêm sendo avaliadas para a biomonitoração da Mata Atlântica. Dentre as árvores estudadas, folhas de *Marlierea tomentosa* (família Myrtaceae) apresentaram as menores concentrações de elementos químicos. Assim, esta amostra foi selecionada para a verificação da qualidade analítica da determinação em condições menos favoráveis quanto à concentração de elementos químicos.

Teste de homogeneidade da amostra para elementos químicos de interesse foi delineado a partir de subamostras retiradas aleatoriamente. Para a estimativa de repetitividade analítica, dez porções independentes foram analisadas. Materiais de referência certificados foram empregados na avaliação da exatidão dos resultados obtidos.

A amostra apresentou homogeneidade (em nível de 95% de confiança) para Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb, Sc, Se, Sr e Zn. A repetitividade analítica foi estimada em 2% para Br, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb e Sr, elementos cujos graus de não-homogeneidade foram considerados desprezíveis. Os resultados de composição química dos materiais de referência estavam em concordância com os valores certificados.

**Palavras chave:** Homogeneidade, repetitividade, elementos químicos

### 1. INTRODUÇÃO

A análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) constitui-se numa técnica de alto nível metrológico com exatidão na determinação de elementos químicos em amostras ambientais, favorecendo a comparabilidade de resultados [1-2]. Além disso, prescinde de tratamento químico de amostras, responsável por grande parte da incerteza analítica, e possui aplicabilidade comprovada em estudos que envolvem matrizes biológicas complexas [3-6].

As técnicas analíticas multielementares são importantes ferramentas para a avaliação de ecossistemas naturais, principalmente pelo fato de possibilitar a caracterização detalhada dos compartimentos estudados com relação à composição de elementos químicos.

O estabelecimento de padrões ambientais de referência para estudos de impactos ambientais é um dos principais objetivos do Programa BIOTA (Instituto Virtual para o Uso Sustentável da Biodiversidade do Estado de São Paulo) da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Neste contexto, diversos projetos vêm sendo desenvolvidos, incluindo o projeto “Diversidade, Dinâmica e Conservação em Florestas do Estado de São Paulo: 40 ha de Parcelas Permanentes” que visa a caracterização ambiental detalhada de trechos (Parcelas permanentes de 10 ha) das unidades de conservação representativas dos principais tipos vegetacionais do Estado. Entre elas, o Parque Estadual Carlos Botelho (PECB) se reveste de grande importância na preservação da Mata Atlântica, que é considerado um dos mais importantes centros de biodiversidade do mundo [7].

Para a identificação de possíveis impactos antrópicos, uma das pesquisas associadas está desenvolvendo a biomonitoração de elementos químicos na Parcela Permanente do PECB [5-6]. A biomonitoração vem sendo realizada a partir da determinação de elementos químicos por INAA em folhas das espécies arbóreas mais abundantes. Para essas análises realizadas no Laboratório de Radioisótopos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (LRi/CENA/USP) foram incluídos materiais de referência certificados com finalidade de controle de qualidade.

Tendo em vista a importância de produzir resultados confiáveis para a definição de padrões ambientais e as dificuldades envolvidas no aumento do número de repetições das amostras analisadas, foi delineado um experimento para avaliar a qualidade analítica atingida com os procedimentos adotados. Dentre as amostras de folhas analisadas, escolheu-se a de *Marlierea tomentosa* por apresentar as menores concentrações

elementares, possibilitando a avaliação na condição mais desfavorável encontrada. Com isso, teste de homogeneidade e avaliação da repetitividade analítica da determinação de elementos químicos por INAA foram realizados e os principais resultados foram compilados neste trabalho.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o teste de homogeneidade, foram retiradas cinco subamostras de cerca de 1 g cada da amostra (100 g) de folhas de *Marlierea tomentosa*, seguida da retirada de três porções analíticas de 300 mg de cada subamostra (Figura 1), que foram transferidas para cápsulas de polietileno, específicas para INAA. A avaliação da repetitividade foi realizada a partir da determinação de elementos químicos em 10 porções analíticas retiradas aleatoriamente da amostra (Figura 1).

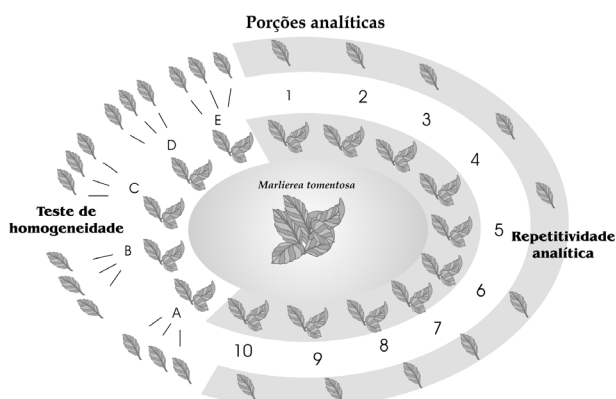


Figura 1. Delineamento experimental para o teste de homogeneidade e a avaliação de repetitividade analítica.

A avaliação da exatidão do procedimento analítico ocorreu pela inclusão de porções analíticas dos materiais de referência certificados SRM 1515 Apple Leaves, SRM 1547 Peach Leaves, produzidos pelo National Institute of Standards and Technology, e BCR-414 Trace Elements in Plankton, produzido pelo Community Bureau of Reference (BCR) e especialmente utilizado na determinação de Se.

Fragmentos de 10 mg de liga de Ni-Cr com concentração conhecida de elementos monitores e homogeneidade comprovada [8] foram intercalados entre as cápsulas para a monitorização do fluxo de nêutrons térmicos incidente durante a irradiação. Em cada série, cápsulas vazias foram irradiadas de modo a detectar elementos químicos interferentes. Tipicamente, Br, Cr, Na e Zn são encontrados nas cápsulas em concentrações variáveis de 0,2 a 2,5 mg g<sup>-1</sup>. A presença destes contaminantes pode afetar consideravelmente os resultados de acordo com a concentração nas amostras analisadas e correção torna-se necessária.

As irradiações sob um fluxo de nêutrons da ordem de 10<sup>13</sup> cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> foram realizadas no reator nuclear de pesquisa IEA-R1m do Instituto de Pesquisas

Energéticas e Nucleares (IPEN), Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), em São Paulo, com duração de 8 horas.

A radioatividade induzida foi detectada no LRI/CENA/USP por espectrometria gama de alta resolução, utilizando detectores de germânio hiperpuro. Após a deconvolução dos espectros de radiação gama, foram calculadas as concentrações dos elementos por método k<sub>0</sub> [2], utilizando o programa de computador Quantu [9].

Correções para expressão dos resultados em base seca foram feitas a partir do teor médio de duas determinações de umidade, realizadas em porções de 1 g das amostras tomadas na ocasião da pesagem. A determinação do teor de água das amostras foi feita em estufa a 85°C durante 4 horas seguindo-se da colocação em dessecadores por 2 horas para atingir equilíbrio térmico. Para os materiais de referência certificados, a determinação seguiu as recomendações constantes nos respectivos certificados.

Os elementos químicos Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb, Sc, Se, Sr e Zn puderam ter a homogeneidade estudada. Foram utilizados conceitos de avaliação de homogeneidade intra-amostra empregados na certificação de materiais de referência [10], bem como cálculos do grau de não-homogeneidade (DNH) da concentração de elementos químicos [11]. O grau de não-homogeneidade pode ser obtido a partir da subtração quadrática dos desvios padrões observados das incertezas analíticas calculadas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de composição química elementar obtidos para os materiais de referência certificados (Tabela 1) permitem avaliar a qualidade do procedimento analítico para a determinação de Ba, Br, Ca, Ce, Co, Fe, K, Rb, Sc, Sm, Sr e Zn. Na determinação de Se, os resultados do material BCR-414 estavam em concordância com os valores de referência (Tabela 2).

Tabela 1. Concentração (mg kg<sup>-1</sup>) de elementos químicos dos materiais de referência certificados

Elemento	Apple Leaves		Peach Leaves	
	Valor obtido (n=6)	Valor referência	Valor obtido (n=5)	Valor referência
Ba	44,5 ± 0,5	49 ± 2	111 ± 3	124 ± 4
Br	1,9 ± 0,1	1,8	11,7 ± 0,5	11
Ca*	15,8 ± 0,5	15,26 ± 0,15	16,0 ± 0,4	15,6 ± 0,2
Ce	3,8 ± 0,1	3	11,6 ± 0,2	10
Co	0,104 ± 0,012	0,09	0,074 ± 0,002	0,07
Fe	80 ± 2	83 ± 5	223 ± 4	218 ± 14
K*	16,2 ± 0,4	16,1 ± 0,2	24,3 ± 0,5	24,3 ± 0,3
Rb	10,5 ± 0,4	10,2 ± 1,5	20,7 ± 0,5	19,7 ± 1,2
Sc**	30,0 ± 0,6	30	44,5 ± 0,7	40
Sm	3,0 ± 0,3	3	1,14 ± 0,01	1
Sr	29,5 ± 0,9	25 ± 2	61 ± 3	53 ± 4
Zn	12,2 ± 0,6	12,5 ± 0,3	18,3 ± 0,4	17,9 ± 0,4

\* valores em g kg<sup>-1</sup>

\*\* valores em µg kg<sup>-1</sup>

Tabela 2. Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de elementos químicos do material de referência certificado BCR-414

Elemento	Valor obtido (n=4)	Valor certificado
As	7,3 $\pm$ 0,3	6,82 $\pm$ 0,28
Se	1,77 $\pm$ 0,07	1,75 $\pm$ 0,1
Zn	114 $\pm$ 2	112 $\pm$ 3
Br	59 $\pm$ 2	nd
Ca	65600 $\pm$ 1750	nd
Co	1,47 $\pm$ 0,03	nd
Cs	0,29 $\pm$ 0,01	nd
Fe	1970 $\pm$ 33	nd
K	8100 $\pm$ 280	nd
Na	8730 $\pm$ 270	nd
Rb	11,5 $\pm$ 0,3	nd
Sc	0,57 $\pm$ 0,01	nd
Sr	270 $\pm$ 9	nd

nd = valor de concentração não disponível no certificado de análise do material de referência certificado

Os principais resultados do teste de homogeneidade estão sumarizados na Tabela 3, que contém os parâmetros de estatística descritiva necessários à avaliação da homogeneidade e repetitividade analítica. Com a aplicação do teste de Shapiro-Wilk para as concentrações residuais dos elementos químicos foi avaliada a distribuição dos dados, sendo evidenciada a normalidade. A análise de variância permite afirmar que não há indícios de diferença entre as subamostras em nível de 95% de confiança.

Tomando-se Se como exemplo, o desvio padrão observado ( $\text{STD}_{\text{obs}}$ ) foi 7,8% para uma incerteza média individual ( $U_{\text{média}}$ ) esperada de 6,1%. Deste modo, cerca de 4,8% pode ser atribuído ao grau de não homogeneidade (DNH) de acordo com os cálculos propostos por Kucera et al. (1995). O desvio padrão entre subamostras foi 6,1%, enquanto o desvio padrão médio da medida ( $\text{STD}_{\text{mm}}$ ) foi calculado em 5,7%, utilizando os valores da concentração de selênio obtidos das replicatas das subamostras analisadas.

Tabela 3. Resultados do teste de homogeneidade para a amostra de *Marlierea tomentosa*. Repetitividade analítica estimada a partir de 10 observações para os elementos com homogeneidade demonstrada

Elemento	Média $\text{mg kg}^{-1}$	$\text{STD}_{\text{obs}}$ % <sup>1</sup>	$U_{\text{média}}$ % <sup>2</sup>	DNH % <sup>3</sup>	$\text{STD}_{\text{mm}}$ % <sup>4</sup>	Repetitividade % <sup>5</sup>
Br	8,55	1,2	1,5	-	1,3	1,3
Ca	3853	6,0	5,0	3,3	5,4	-
Co	0,50	1,1	1,7	-	1,0	0,9
Cs	0,16	1,9	2,0	-	1,0	1,9
Fe	73,7	1,9	2,3	-	1,9	2,2
K	8601	1,0	2,0	-	1,1	1,6
Na	341	0,7	2,9	-	0,7	1,3
Rb	28,7	1,1	1,5	-	1,0	1,4
Sc	0,013	2,6	1,9	1,9	2,7	-
Se						
Sr	62,4	2,4	2,4	-	2,2	1,9
Zn	15,7	6,6	2,6	6,0	6,2	-

<sup>1</sup> desvio padrão observado

<sup>2</sup> incerteza média

<sup>3</sup> grau de não-homogeneidade (Kucera et al., 1995)

<sup>4</sup> desvio padrão médio da medida

<sup>5</sup> estimada a partir de resultados de 10 porções da amostra analisadas independentemente

Semelhantemente ao Se, os elementos Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb, Sc, Sr e Zn estão homogeneamente distribuídos na amostra (Tabela 3). A maior variabilidade de Zn pode estar relacionada com sua presença nas cápsulas de polietileno empregadas para a irradiação das amostras (1,4 a 1,7  $\text{mg g}^{-1}$  para esta série de irradiação). Embora tenha havido correção de branco, as concentrações diferenciadas de Zn nas cápsulas podem ter contribuído para a dispersão apresentada (6,6%) ser maior do que o valor esperado (2,6%).

A repetitividade analítica foi calculada a partir dos resultados de 10 porções analíticas independentes (Figura 2). Os valores encontrados para os elementos com distribuição homogênea (Br, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb e Sr) ficaram em geral abaixo de 2%, demonstrando que o procedimento analítico adotado tem a capacidade de gerar resultados precisos.

As incertezas individuais calculadas pelo programa Quantu [11] foram estimadas adequadamente. No entanto, podem ser consideradas conservadoras para Br, Co, Fe, K, Na e Rb cujas incertezas são cerca de 20 a 50% maiores que os respectivos desvios padrões observados ( $\text{DP}_{\text{obs}}$ ), sendo que esses contribuem grandemente para a estimativa da incerteza (Figura 3).

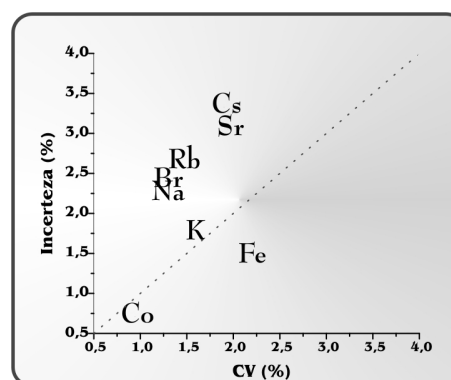


Figura 3. Gráfico de dispersão entre as incertezas médias individuais e os coeficientes de variação obtidos

#### 4. CONCLUSÃO

A qualidade analítica da determinação de elementos químicos em folhas foi avaliada por ativação neutrônica instrumental. O teste de homogeneidade mostrou-se adequado e possibilitou estimar a repetitividade analítica da determinação de Br, Co, Cs, Fe, K, Na, Rb e Sr.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio concedido (Processo número 03/01075-2).

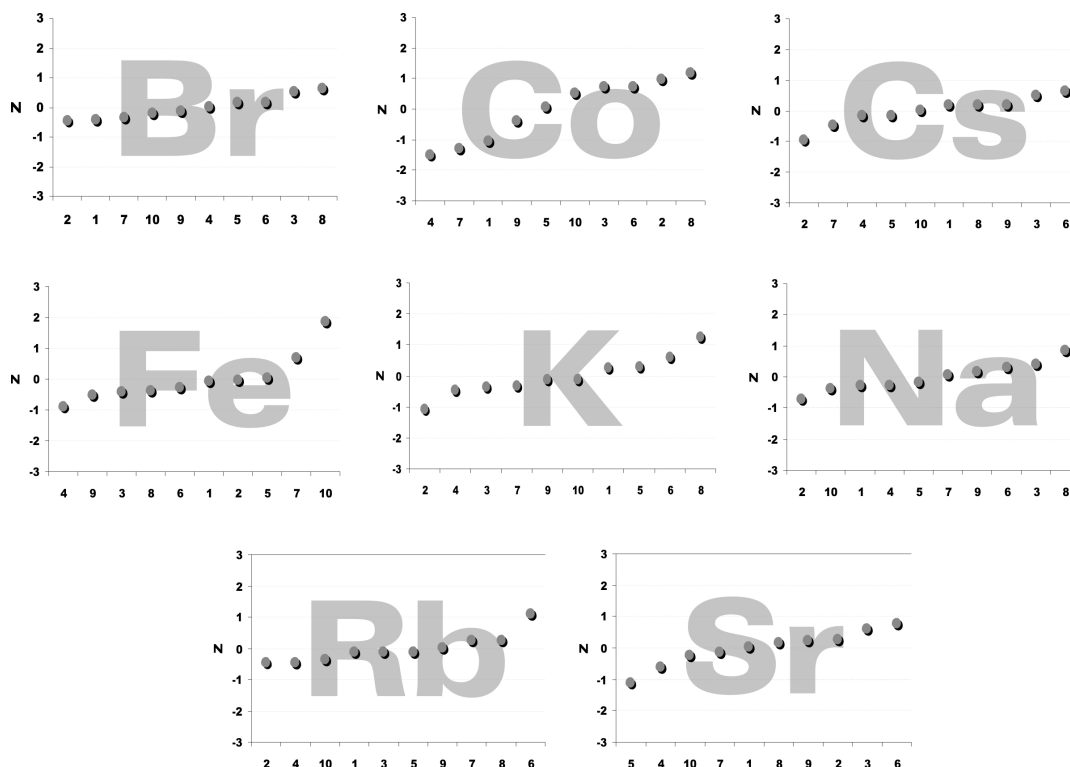


Figura 2. Repetitividade analítica da determinação de elementos químicos em folhas de *Marlierea tomentosa* avaliada a partir dos valores de z calculados ( $z = [\text{valor}_{\text{observado}} - \text{valor}_{\text{referência}}] / \text{desvio}$ ).

## REFERÊNCIAS

- [1] P. Bode, E. A. N. Fernandes, R. R. Greenberg, "Metrology for chemical measurements and the position of INAA", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.245, n.1, pp.109-114, 2000.
- [2] M. A. Bacchi, E. A. N. Fernandes, H. Oliveira, "A Brazilian experience on  $k_0$  standardized neutron activation analysis", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.245, n.1, pp.217-222, 2000.
- [3] D. M. B. Coccaro, M. Saiki, M. B. A. Vasconcellos, M. P. Marcelli, "Evaluation of trace elements in different species of lichens by neutron activation analysis", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.244, n.1, pp.141-145, 2000.
- [4] J. Furukawa, T. Kataoka, T. M. Nakanishi, "A study of nutrient recycling in a plant – soil system using NAA", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.244, n.2, pp.283-287, 2000.
- [5] E. J. França, E. A. De Nadai Fernandes, M. A. Bacchi, "Biodiversity conservation in the Atlantic Forest: inorganic chemical investigation of native trees", *Environmental Monitoring and Assessment*, pp.1-9, 2004. (in print)
- [6] E. J. França, E. A. De Nadai Fernandes, M. A. Bacchi, "Native trees as biomonitors of chemical elements in the biodiversity conservation of the Atlantic Forest", *Journal of Atmospheric Chemistry*, pp.1-14, 2004.
- [7] N. Myers, R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, C. A. B., Da Fonseca, J. Kent, "Biodiversity hotspots for conservation priorities", *Nature*, v.403, pp.853-858, 2000.
- [8] E. J. França, E. A. De Nadai Fernandes, M. A. Bacchi, "Ni-Cr alloy as neutron flux monitor: composition and homogeneity assessment by NAA", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.257, n.1, pp.113-115, 2003.
- [9] M. A. Bacchi, E.A. N. Fernandes, "Quantu – design and development of a software package dedicated to  $k_0$ -standardized", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, v.257, n.2, pp. 577-582, 2003.
- [10] A.M.H. Van Der Veen, T. Linsinger, J. Pauwels, "Uncertainty calculations in the certification of reference materials. 2. Homogeneity study", *Accreditation Quality Assurance*, v.6, pp.26- , 2001.
- [11] J. Kucera, P. Mader, D. Miholová, J. Cibulka, J. Faltejsek, D. Kordík, "Preparation of the Bovine Kidney and Bovine Muscle reference materials and the certification of element contents from interlaboratory comparisons", *Fresenius's Journal of Analytical Chemistry*, v.352, pp.66-72, 1995.

**Elvis Joacir De França:** Engenheiro Agrônomo, Laboratório de Radioisótopos, Caixa Postal 96, 13400-970, Piracicaba, Brasil, tel. 19 34294658, fax 19 34294654, ejfranca@cena.usp.br

**Elisabete A. De Nadai Fernandes:** Professora Doutora, Laboratório de Radioisótopos, Caixa Postal 96, 13400-970, Piracicaba, Brasil, tel. 19 34294658, fax 19 34294654, lis@cena.usp.br

**Márcio A. Bacchi:** Doutor, Laboratório de Radioisótopos, Caixa Postal 96, 13400-970, Piracicaba, Brasil, tel. 19 34294658, fax 19 34294654, mabacchi@cena.usp.br

**Mitiko Saiki:** Professora Doutora, Divisão de Radioquímica, Laboratório de Radioisótopos, 05508-900, Piracicaba, Brasil, telefax 11 38169086, mitiko@curiango.ipen.br