

DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO EM PLANTAS POR GERAÇÃO DE HIDRETO E ABSORÇÃO ATÔMICA

Jolanta Nieniewska

Instituto de Problemas Fundamentais de Química, Universidade de Varsóvia

Adilson José Curtius

Departamento de Química da PUC/RJ

(Cópia Revisada Recebida em 9/6/86)

ABSTRACT

DETERMINATION OF ARSENIUM IN PLANTS BY HYDRIDE GENERATION AND ATOMIC ABSORPTION

A sensitive, fast and simple analytical procedure for the determination of As in plant by hydride generation is described. Plants are decomposed by a wet oxidation procedure with a mixture of nitric and sulphuric acids. The resultant acidic sample solution is made to react with sodium borohydride and the liberated arsine is swept into a flame heated silica tube. The influence of different parameters was studied.

The characteristic mass and detection limit were 10 ng and 40 ng respectively.

1. INTRODUÇÃO

O arsênio é largamente distribuído na biosfera, sendo conhecido como um veneno acumulativo e carcinogênico. A base bioquímica para o efeito tóxico do arsênio na forma inorgânica provavelmente consiste na inibição pelo arsenito de um grande número de sistemas enzimáticos. Por outro lado, há evidências de que o arsênio em baixas concentrações, em nível de ppb, é um elemento essencial para as funções biológicas normais. Uma revisão dos efeitos do arsênio em animais pode ser encontrada no livro de Underwood¹.

Sendo as concentrações críticas para os efeitos essenciais ou tóxicos relativamente baixas, há necessidade de se dispor de métodos analíticos altamente sensíveis e precisos para a determinação de arsênio em amostras biológicas. Este elemento também é freqüentemente determinado em amostras de outras naturezas: hídricas, geológicas, industriais, etc.

A determinação de arsênio pela sua importância e dificuldade, tem atraído a atenção de muitos químicos analíticos. A reação de Marsh, descrita há 150 anos atrás², ainda é utilizada em métodos instrumentais modernos. Nela, radicais de hidrogênio reagem com arsênio produzindo a arsina. Uma revisão dos métodos instrumentais até 1981 foi realizada por Brooks et al³, segundo os quais a absorção é a técnica mais utilizada.

A introdução da técnica de absorção atômica não ofereceu de início um método adequado para o arsênio. As lâmpadas de cátodo ôco, usadas como fontes de radiação, não são suficientemente intensas e na linha mais sensível, 193,7nm, ocorre forte absorção pelos componentes da chama ar-acetileno. A chama de argônio – hidrogênio, mais transparente, foi proposta⁴, mas nela, por causa da temperatura mais baixa, ocorre a dissociação incompleta dos sais e absorção molecular. Holak⁵ gerou a arsina pela reação de Marsh, introduzindo-a depois em uma chama para ser atomizada. Ao mesmo tempo começaram a ser usadas as lâmpadas de descarga sem eletrodos, mais intensas, possibilitando uma sensibilidade até cinco vezes maior. Desde então, numerosos desenvolvimentos, na geração, transporte e atomização da arsina foram relatados. Estes estudos não se limitaram ao arsênio, estendendo-se aos elementos capazes de formar hidretos que incluem, bismuto, germânio, chumbo, antimônio, selênio e telúrio. Recentemente, foi publicada uma revisão sobre a técnica de hidretos em espectroscopia atômica⁶. Mais de 400 publicações, até hoje, foram escritas sobre o assunto. Um desenvolvimento importante foi o uso para a atomização do hidreto de um tubo de quartzo posicionado sobre a chama ou aquecido eletricamente⁷, ao invés da introdução direta do mesmo na chama. Tipicamente, temperaturas em torno de 1000°C são utilizadas. O forno de grafite também foi utilizado para atomizar o hidreto⁸ e um atomizador feito de papel de grafite aquecido eletricamente a temperaturas superiores a 2000°C também foi sugerido⁹.

O zinco metálico em meio ácido diluído foi no início o redutor mais utilizado. Hoje o borohidreto de sódio, recomendado em 1974 por Thompson e Thomerson¹⁰ é o redutor mais freqüentemente utilizado. Este reagente leva a uma formação muito rápida do hidreto de diversos elementos. O hidreto também pode ser condensado e coletado em um tubo em U, na temperatura do nitrogênio líquido e posteriormente revolatizado e transportado para o atomizador⁵.

O procedimento mais corrente consiste em se colocar a solução da amostra em ácido clorídrico diluído num frasco de reação, adicionar a solução do redutor e transportar o hidreto formado com fluxo de gás inerte para uma célula

de quartzo aquecida. Sistemas contínuos e automatizados também são empregados. Pode-se assim distinguir três etapas: geração da arsina, transferência da arsina para o atomizador e atomização da arsina. As principais vantagens desta técnica são: alta sensibilidade, excelente limite de detecção e acuracidade proporcionados pela separação do arsênio do resto da matriz. Apesar desta separação, no entanto, interferências tem sido relatadas.

O tubo de quartzo deve ser pré-condicionado por aplicações repetidas da solução de referência mais concentrada até que um sinal constante seja obtido. Welz e Melcher¹¹ sugeriram o aquecimento da célula por 24h a 1000°C ou lavagem com ácido clorídrico durante aproximadamente 15 min.

As interferências na fase líquida, isto é, na geração do hidreto podem ser causadas por variações na velocidade de geração do hidreto e/ou por uma diminuição na fração do elemento que é reduzido e liberado da solução. Em geral, apenas os elementos que podem ser reduzidos pelo tetraborohidreto de sódio interferem com a geração de hidretos. Smith¹² estudou o efeito de 48 elementos, encontrando a interferência de seis metais: cobre, prata, ouro, platina, ródio, rutênio, níquel e cobalto. Tendo em vista que o redutor é usado em excesso e que apenas uma pequena porcentagem é consumida para gerar o hidreto, um aumento na concentração do redutor não resolve o problema. De acordo com Welz e Melcher¹³, a razão desta interferência não está na competição pelo redutor, mas na redução a metal do ion interferente que na forma finamente dispersada adsorve o hidreto gasoso, podendo, numa etapa posterior, formar compostos como o arsenito do metal. Com concentrações ótimas do ácido e do redutor, isto é, um aumento na concentração de ácido clorídrico de 0,5 a 5 mol l⁻¹ e uma redução na concentração do redutor de 3 para 0,5% (m/v), os mesmos autores^{14,15} conseguiram ampliar o intervalo de concentração do potencial interferente sem ocorrer interferência. Possivelmente, nestas condições o interferente é reduzido em uma menor extensão.

O número de oxidação do arsênio também é importante na geração da arsina e nas interferências. A conversão do arsênio (III) à arsina é mais rápida do que a redução e conversão do arsênio (V)¹⁶, o que pode possibilitar a determinação seletiva deste elemento¹⁷. A maioria dos autores prefere reduzir o arsênio ao estado trivalente antes da determinação, o que não apenas aumenta a sensibilidade, como também, de acordo com Welz e Melcher¹⁸, reduz as interferências. Estes autores explicam a redução de interferência pela evolução mais rápida da arsina e uma precipitação menos completa do interferente durante o intervalo de tempo em que o hidreto é formado. Ainda estes autores, em outra publicação¹⁹, verificam que o ferro (III) reduz a interferência do níquel, pela redução preferencial do ferro (III) a ferro (II) o que inibe a precipitação do níquel.

Obviamente as interferências da matriz no transporte e atomização só podem ser produzidas por matrizes capazes de formar hidretos. Dedina e Rubeska²⁰ e Welz e Melcher¹¹, usando sistemas experimentais diferentes, propuseram um mecanismo para a atomização.



Os radicais podem ser gerados na chama em processos de combustão ou pelo oxigênio residual no gás de arraste ou na solução da amostra, ou ainda pela reação do hidrogênio com grupos SiOH na superfície de quartzo aquecido. Welz e Melcher¹¹ explicam a interferência de outros elementos que formam hidretos pelo consumo dos radicais.

Em experimentos recentes, Welz e Schubert – Jacobs²¹, observaram que os radicais provavelmente são formados num volume restrito perto do centro do tubo. Ao passarem pela nuvem de radicais os hidretos são atomizados e os átomos de arsênio, no caso, decaem no caminho em direção às extremidades do tubo de quartzo ou mesmo fora do tubo dependendo do fluxo do gás, sendo ainda desconhecidas as espécies resultantes do decaimento. Dois tipos de interferência foram portanto propostos por estes autores: o que afeta a concentração de radicais de hidrogênio e o que influencia a velocidade de decaimento. Dedina²² observou interferências causadas por um aumento da velocidade de decaimento do elemento na superfície do tubo de quartzo. Dittrich et al⁹, usando o tubo de papel de grafite, atribui a interferência do antimônio, que foi o interferente estudado, à formação de moléculas diatômicas, As. Sb, que se dissociam a 2000°C.

Tendo em vista ser a aplicação do arsênio em agricultura uma das principais fontes de poluição pelo mesmo, foi estudado, neste trabalho um método de determinação deste elemento em plantas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

APARELHAGEM

Dois instrumentos Varian Techtron, Modelos AA-5 e AA-6 foram utilizados. Como fonte da linha a 193,7 nm foi empregada uma lâmpada de descarga sem eletrodos. Os parâmetros instrumentais foram semelhantes aos recomendados pelos fabricantes (8 W; 7,5 mA; fenda de 0,5 nm). Um tubo cilíndrico de quartzo com as extremidades abertas, de 15 cm de comprimento e 1,2 cm de diâmetro interno, tendo um tubo de entrada de 4 nm de diâmetro colocado no meio da célula, foi aquecido sobre uma chama ar-acetileno. Para a geração de hidreto foi utilizado um vaso de reação de cerca de 100 ml.

REAGENTES

Todos os reagentes usados foram de grau analítico. A solução-estoque de calibração de As, 1000 mg. l⁻¹, foi preparada por diluição de uma ampola Titrisol. As soluções de calibração foram preparadas diariamente por diluição da solução-estoque, com a solução apropriada. A solução de borohidreto de sódio 1,5% (m/v) em solução de hidróxido de sódio 0,5% (m/v), também foi preparada diariamente. A água usada foi deionizada.

PROCEDIMENTO

Pesam-se de 1 a 2 g de amostra seca, finamente pulverizada, em um erlenmeyer de 250 ml e adicionam-se 20 ml de

ácido nítrico concentrado e 10 ml de ácido sulfúrico 15 N. Rapidamente evapora-se a suspensão em uma chapa aquecida até sair fumaças incipientes de trióxido de enxofre, agitando-se o frasco quando necessário. Adicionam-se cuidadosamente gotas de ácido nítrico concentrado para completar a oxidação. Quando a solução não mais escurecer após a adição do ácido, a mesma é aquecida por mais alguns minutos, sem permitir uma perda excessiva do ácido. A solução fria, é diluída a 25 ml com água e transferida para um balão volumétrico de 50 ml, sendo o volume completado com água. A solução é diluída apropriadamente com ácido sulfúrico 3 N de modo a se obter uma concentração menor do que $100 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ de As. Duas soluções – branco são preparadas da mesma maneira.

Um volume de 20 ml da amostra acidificada é introduzida no vaso de reação sob um fluxo de argônio para retirar o ar do sistema, mantido a $1,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$. Após a remoção do ar, injeta-se 5 ml da solução diluída do borohidreto de sódio. A solução é agitada para facilitar a evolução do hidreto.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos dos parâmetros, como concentração de ácido, concentração do redutor e velocidade de sua injeção, fluxo de argônio, volume da solução e efeito da agitação, na sensibilidade do método, foram estudados. Também foram verificadas as condições de digestão de plantas.

O efeito de ácido clorídrico, sulfúrico e nítrico em diferentes concentrações, 0,25 a 3,5 N, na geração da arsina foi testado, usando-se soluções contendo 500 ng de As. As concentrações tiveram muito pouco efeito no intervalo estudado, permanecendo a absorção quase constante. No entanto, a natureza do ácido produziu em grande efeito, sendo a sensibilidade maior em ácido clorídrico, conforme é mostrado na Figura 1. O intervalo ótimo de concentração para todos os ácidos ficou entre 1 e 3 N. Para concentrações menores a geração de arsina era incompleta e o aparecimento do sinal era atrasado. Neste trabalho foi utilizado o ácido sulfúrico diluído, que é o meio resultante da dissolução da amostra. Para efeito de comparação o efeito dos outros dois ácidos foram estudados, já que são freqüentemente utilizados nos procedimentos de dissolução de amostras.

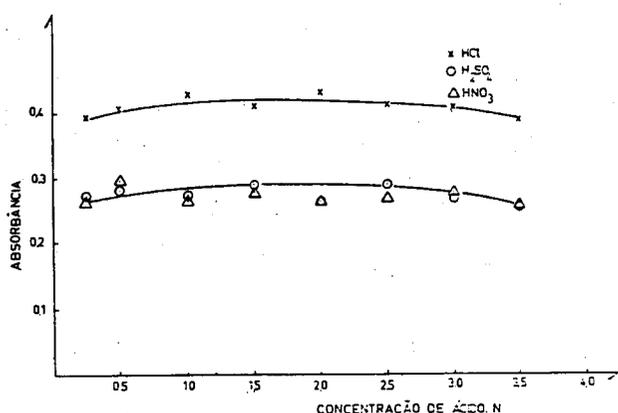


Fig. 1. Efeito de ácidos na absorbância do As (500 ng), em altura de pico.

O efeito de diferentes concentrações do borohidreto de sódio na sensibilidade foi verificado, injetando-se um volume constante de diferentes concentrações do redutor, no intervalo de 0,5 a 2,5% (m/v), a uma solução de ácido sulfúrico 3 N, contendo 500 ng de As. De acordo com a Figura 2, a melhor altura de pico foi encontrada quando se injetou o redutor na concentração de 1,5% (m/v).

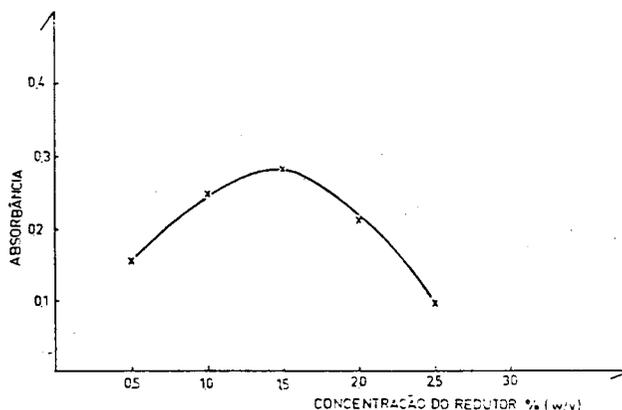


Fig. 2. Efeito da concentração do redutor (500 ng As em H₂SO₄ 3 N) na absorbância do As, em altura de pico.

O efeito do fluxo de argônio foi estudado em solução de ácido sulfúrico 3 N, contendo 500 ng de As no intervalo de 0,5 a 2,5 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Como esperado, a absorbância aumenta quando o fluxo diminui, Figura 3. Sinais relativamente constantes foram obtidos entre 1,0 e 1,5 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Fluxos menores do que $1,0 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ produziram picos distorcidos, enquanto que fluxos maiores do que $1,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ diminuíram a sensibilidade por causa dos efeitos combinados de diluição e menor tempo de residência.

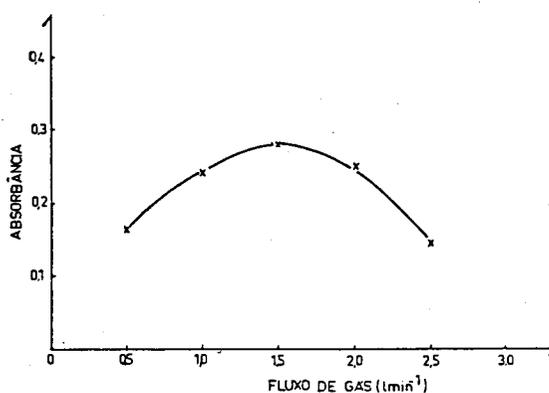


Fig. 3. Efeito do fluxo de argônio (500 ng As em H₂SO₄ 3 N) na absorbância do As, em altura de pico.

O efeito do volume de solução é mostrado na Figura 4. Foi estabelecido que a melhor reprodutibilidade para o tamanho do vaso de reação empregado é obtido para amostras com volume igual a $20 \pm 0,5 \text{ ml}$. Nestas experiências também se utilizou soluções ácidas contendo 500 ng de As.

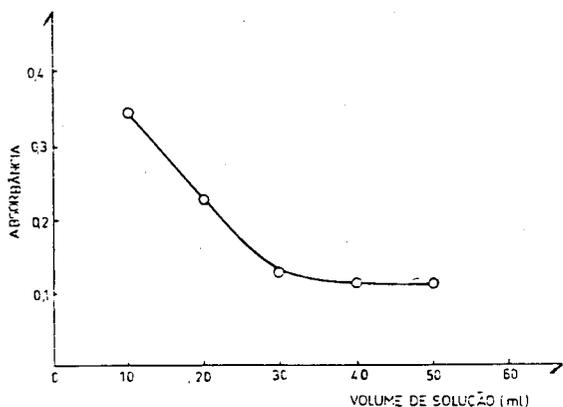


Fig. 4. Efeito do volume da solução (500 ng As em H_2SO_4 3 N) na absorvância do As, em altura de pico.

A agitação no vaso de reação desempenha um importante papel na sensibilidade. A solução foi agitada vigorosamente no vaso de reação com um agitador magnético. Sem agitação a sensibilidade era menor e o pico ficava distorcido.

As condições para a digestão das amostras devem ser cuidadosamente escolhidas, considerando-se que os halogenetos de As (III) são altamente voláteis e podem ser perdidos durante a decomposição, a menos que as condições oxidantes sejam mantidas durante todo o tempo. O procedimento foi principalmente baseado em Thompson e Thoresby²³. É um método simples que satisfaz o critério de condições oxidantes. A digestão leva cerca de 5 h, mas pouca supervisão é necessária.

Para verificar possíveis perdas de arsênio durante a dissolução, três curvas de calibração no intervalo de 0 a 600 ng de arsênio foram obtidas: (1) Soluções-padrão de As (III) em ácido sulfúrico 3 N; (2) As (III) adicionado a solução resultante da dissolução de uma amostra de planta com concentração de arsênio abaixo do limite de detecção e (3) As (III) adicionado à mesma planta antes da dissolução. As três curvas mostraram linearidade no intervalo de concentrações estudado. A regressão linear produziu as equações, respectivamente

- I. $A = 0,006 + 0,005 m$, ($R = 0,9989$)
 II. $A = 0,004 + 0,005 m$, ($R = 0,9996$)
 III. $A = -0,0005 + 0,005 m$, ($R = 0,9998$)

onde "A" é a absorvância e "m" é a massa de arsênio em ng. As intercepções no eixo das absorvâncias são desprezíveis, dentro da precisão experimental e, portanto, as curvas cortam a origem como era esperado, já que as absorvâncias das soluções – branco foram subtraídas das absorvâncias das soluções – padrão. A mesma inclinação foi obtida para as três curvas. Conclui-se que não há perdas significativas de arsênio no procedimento de dissolução da amostra e que os componentes da matriz resultante da dissolução da planta não interferem no sinal de arsênio.

Utilizando-se o procedimento descrito, determinaram-se a massa característica (equivalente a uma absorvância de 0,0044) e o limite de detecção (massa equivalente a duas

vezes o desvio – padrão de uma série de leituras da solução – branco), obtendo-se os valores de 10 ng e 40 ng respectivamente.

Cinco amostras de planta com e sem adição de arsênio foram analisadas. As recuperações do As (III) adicionado foram de 80 a 90%, com uma média de 87%. A concentração encontrada para o material de referência Tomato Leaves, NBS nº 1573, foi de $0,26 \pm 0,02$ ppm enquanto que o valor certificado é $0,27 \pm 0,05$. Entre os interferentes, cobre, cobalto e níquel, presentes no Tomato Leaves poderiam levar a resultados incorretos. No entanto, a concordância entre o valor encontrado e o certificado mostra a ausência de interferência. Estes metais se encontram na planta em concentrações-traço (0,1 a 3,5 ppm) e o procedimento da dissolução leva a concentrações pelo menos 25 vezes ainda menores nas soluções a serem medidas.

Conclui-se que a determinação de arsênio pelo método proposto é rápida e livre de interferência. O limite de detecção e a massa característica são adequadas para a determinação de arsênio em uma grande variedade de amostras.

REFERÊNCIAS

- E.J. Underwood, "Trace Elements in Human and Animal Nutrition", Academic Press, N.Y., (1977).
- J. Marsh, *Edinburgh New Phil. J.*, **21**, 229, (1836).
- R.R. Brooks, D.E. Ryan e H. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **131**, 1, (1981).
- H.L. Kahn e J.E. Schalli, *At. Absorpt. Newsl.*, **7**, 5, (1968).
- W. Holak, *Anal. Chem.*, **41**, 1712, (1969).
- T. Nakahara, *Progr. Anal. Atom. Spectrosc.*, **6**, 163, (1983).
- R.C. Chu, G.P. Barron e P.A.W. Baumgarner, *Anal. Chem.*, **44**, 1476, (1972).
- E.J. Knudson e G.D. Christian, *Anal. Lett.*, **6**, 1039, (1973).
- K. Dittrich, R. Mandry e Ch. Udelnow, e A. Udelnow, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **323**, 793, (1986).
- K.C. Thompson e D.R. Thomerson, *Analyst*, **99**, 595, (1974).
- B. Welz e M. Melcher, *Analyst*, **108**, 213, (1983).
- A.E. Smith, *Analyst*, **100**, 300, (1975).
- B. Welz e M. Melcher, *Analyst*, **109**, 569, (1984).
- B. Welz, *Chemistry in Britain*, **22**, 130, (1986).
- B. Welz e M. Schubert-Jacobs, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **1**, 23, (1986).
- R. Kasserman e K. Theuser, *At. Absorpt. Newsl.*, **15**, 6, (1976).
- J. Aggett e A.C. Aspell, *Analyst*, **101**, 341, (1976).
- B. Welz e M. Melcher, *Analyst*, **109**, 573, (1984).
- B. Welz e M. Melcher, *Analyst*, **109**, 577, (1984).
- J. Dedina e L. Rubeska, *Spectrochim. Acta, Part B*, **35**, 119, (1980).
- B. Welz e M. Schubert-Jacobs, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, em impressão, (1986).
- J. Dedina, *Anal. Chem.*, **54**, 2097, (1982).
- A.J. Thompson e P.A. Thoresby, *Analyst*, **102**, 9, (1977).