

ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS DA PLANTA *TRADESCANTIA PALLIDA* PARA USO NA MONITORAÇÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS

André K. Tavaraya*, Mitiko Saiki*, Nairo M. Sumita**, Paulo H. N. Saldiva**

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Av. Lineu Prestes 2.242
05508-000 Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brasil

**Faculdade de Medicina da USP
Av. Dr. Arnaldo, 455
01246-903, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Neste trabalho o método instrumental de análise por ativação com nêutrons foi aplicado na análise da planta *Tradescantia pallida* com o objetivo de verificar a possibilidade de seu uso na bimonitoração de poluentes atmosféricos. A exatidão e precisão dos resultados foram avaliadas por meio da análise dos materiais certificados de referência: Apple Leaves 1515 e Spinach Leaves 1570a ambos provenientes do National Institute of Standards and Technology.

Keywords: neutron activation analysis, *Tradescantia pallida*, biomonitoring, environmental pollution

I. INTRODUÇÃO

A poluição do meio ambiente, decorrente do desenvolvimento tecnológico e industrial, é uma das mais sérias preocupações das entidades ligadas aos problemas do bem estar e da saúde das populações.

Consequentemente, para avaliar a qualidade do meio ambiente, diversos tipos de matrizes têm sido analisados quanto ao teor dos constituintes inorgânicos.

Dentre os trabalhos em que se utilizam plantas como indicadores da poluição ambiental tem se o trabalho de Freitas [1] que analisou amostras da planta *Inula viscosa* e a do líquen epífítico *Parmelia sulcata* para monitorar a poluição em uma estação portuguesa geradora de energia elétrica pela queima do carvão.

Schulz e colaboradores [2] estudaram a poluição dos componentes orgânicos e inorgânicos por meio da análise da casca da árvore *Pinus sylvestris*, a qual mostrou ser um biomonitor adequado para o sulfato, cálcio e metais pesados.

Hryniewicz e colaboradores [3], por meio da análise de líquens epífíticos estudaram a poluição de chumbo e bromo gerados pelas indústrias de metais pesados e pela circulação de veículos. Lupsina e colaboradores [4] analisaram mercúrio e metilmercúrio em líquens coletados em regiões poluídas e não poluídas da Slovenia. Lima e colaboradores [5] utilizaram o coentro *Coriandrum sativum* e o *Sphagnum sp* como bioacumuladores de arsênio provenientes das emissões industriais do polo petroquímico de Camaçari, Bahia.

No presente trabalho, dentre uma grande variedade de plantas existentes no nosso ecossistema, a *Tradescantia pallida* foi escolhida para seu estudo e posterior uso na monitoração ambiental de componentes inorgânicos. A escolha desta espécie se deve a sua facilidade no cultivo e propagação, mesmo em regiões com altos níveis de poluição. Além disso, os efeitos prejudiciais da poluição ambiental causados à *T. pallida* têm sido evidenciados pelos ensaios de micronúcleos [6,7]. Quando os núcleos das moléculas de DNA desta planta são expostos a altos níveis de poluição, eles se quebram em micronúcleos, indicando a possibilidade de seu uso como um indicador da poluição ambiental.

O objetivo deste trabalho foi aplicar o método de análise por ativação com nêutrons na análise de folhas de *T. pallida* para um estudo comparativo entre os elementos acumulados por esta espécie, cultivada em pontos de diferentes níveis de poluição.

Foram também analisados os materiais de referência Apple Leaves 1515 e Spinach Leaves 1570a, ambos provenientes do National Institute of Standards and Technology (NIST), para avaliar a exatidão e precisão dos resultados.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Coleta e Tratamento de Amostras de *T. pallida*. A *T. pallida* (Rose) Hunt c.v Purpurea, conhecida como setecresea, é uma planta da família das Comelináceas, originária do México, com folhas estreitas e alongadas de cor violácea. Foram coletadas folhas desta planta cultivada

em solo argiloso e exposta na cidade de São Paulo em regiões de diferentes níveis de poluição, a saber: Caucaia do Norte (considerada região limpa), Jabaquara e Cidade Universitária (USP). As folhas adultas foram coletadas a partir do terceiro nó da extremidade do ramo e colocadas em embalagens de papel.

No laboratório foi realizada uma limpeza prévia das amostras esfregando cada uma das folhas com um chumaço de algodão embebido de água destilada, seguida de imersão de um minuto também em água destilada. Os ensaios preliminares realizados para estudar o efeito desta limpeza [8] indicaram que este tratamento prévio das amostras é necessário para a remoção da contaminação externa proveniente do solo e da deposição de materiais particulados.

Para obter as amostras na forma de pó seco as folhas limpas foram submetidas a um congelamento seguido de secagem por liofilização para posterior moagem em almofariz de ágata. A porcentagem de perda de peso na secagem por liofilização foi de cerca de 94,5%.

Preparação dos Padrões Sintéticos dos Elementos.

Foram inicialmente preparadas soluções-padrão dos elementos de interesse dissolvendo-se óxidos, sais ou a forma metálica dos elementos, utilizando-se os reagentes apropriados. A partir dessas soluções, foram preparadas soluções mais diluídas contendo um ou mais elementos e estas soluções foram guardadas em frascos de polietileno na geladeira.

Os padrões sintéticos dos elementos foram preparados pipetando-se alíquotas de 50 µL das soluções-padrão diluídas sobre tiras de papel de filtro Wathman nº 42, as quais foram secadas num dessecador à temperatura ambiente. Estas tiras de papel foram dobradas e colocadas em invólucros de plástico, confeccionados com folhas de polietileno previamente lavadas com HNO₃ p. a. da Merck diluído e água milliQ. Os invólucros foram selados com o auxílio de um ferro elétrico para solda e folha de celofane.

As massas dos elementos nos padrões sintéticos variaram de 60,06 ng a 1005,2 µg.

Procedimento para Análise por Ativação. Foram pesados cerca de 100 mg de cada amostra em invólucro de plástico, o qual foi selado com o auxílio de um ferro elétrico para solda e folha de celofane. Posteriormente os invólucros de plástico contendo as amostras e os padrões sintéticos foram envolvidos em folha de alumínio. Para irradiação estas amostras e padrões foram envolvidos juntos por uma folha de papel alumínio e irradiados num dispositivo também de alumínio, denominados de “coelho”, por 16 horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de 10¹² n cm⁻² s⁻¹ do reator nuclear de pesquisas IEA-R1.

Após adequados tempos de decaimento, as amostras e os padrões foram fixados em suportes de aço inoxidável para medida da radioatividade. Esta medida foi feita utilizando-se um espectrômetro para raios gama constituído de um detector de Ge hiperpuro, modelo GX 2020 da Canberra, acoplado a um processador integrado de sinais modelo 1510, um analisador multicanal System 100,

também da Canberra, e a um microcomputador. Os espectros gama foram processados utilizando-se o programa VERSAO2, que fornece a energia dos raios gama e as taxas de contagens. A identificação dos radioisótopos foi feita pelas energias dos raios gama emitidos e pelas meias-vidas. Foram calculadas as concentrações dos elementos pelo método comparativo de ativação com nêutrons utilizando-se o programa ESPECTRO, que utiliza a seguinte relação[9]:

$$C_a = \{ A_a \cdot m_p \cdot e^{[0,693 \cdot (t_a - t_p) / t_{1/2}] } \} / A_p \cdot M_a \quad (1)$$

onde os índices *a* e *p* se referem à amostra e padrão, respectivamente.

A = taxa de contagem

m_p = massa do elemento no padrão

M_a = massa total da amostra

t_{1/2} = meia-vida do radioisótopo

t = tempo de decaimento do radioisótopo

C_a = concentração do elemento na amostra

Análise dos Materiais de Referência Certificados. Para expressar os resultados destas análises na base seca do material de referência, foram feitas determinações das porcentagens de perda de peso na secagem. A secagem foi realizada pesando-se cerca de 250 mg de cada um dos materiais de referência em pesa filtros, que em seguida foram colocados em uma estufa a 85° C. Após o período de 10 horas na estufa, o material de referência foi retirado e pesado novamente. Os valores de perda de peso obtidos foram 3,95% para Apple Leaves e 6,40 % para Spinach Leaves.

Para análise destes materiais, pesaram-se cerca de 150 mg de cada um dos materiais, e as condições experimentais foram as mesmas da análise de plantas. Foram realizadas quatro determinações para cada material, sendo que as amostras do material de referência foram irradiadas juntamente com as amostras de plantas, no decorrer das análises.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na TABELA 1 estão as médias aritméticas dos resultados obtidos nos materiais de referência, juntamente com os valores dos certificados para comparação. Os resultados obtidos apresentam, em geral, uma boa concordância com os valores certificados, com erros relativos inferiores a 10,4 %.

O resultado mais discrepante foi obtido para o elemento sódio, com porcentagens de erros relativos de 16,8 e 20,8 % para os materiais Apple Leaves e Spinach Leaves, respectivamente. Para o Na foram obtidos valores superiores aos dos certificados, devido a interferência do Mg que forma também o ²⁴Na irradiação longa por meio da

TABELA 1. Médias das Concentrações de Elementos nos Materiais de Referência Apples Leaves 1515 e Spinach Leaves 1570a. Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$, a menos que esteja indicado.

Elementos	Apple Leaves		Spinach Leaves	
	Este Trabalho	Valor Certificado [10]	Este Trabalho	Valor Certificado [11]
Br	$1,7 \pm 0,2^a$	(1,8) ^b	$30,1 \pm 0,1$	-
Ca, %	$1,4 \pm 0,2$	$1,529 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,1$	$1,527 \pm 0,041$
Ce	$3,5 \pm 0,2$	(3)	470 ± 26	-
Co	$0,093 \pm 0,003$	(0,090)	370 ± 10	390 ± 50
Cr	$0,7 \pm 0,1$	(0,3)	$1,60 \pm 0,03$	-
K, %	$1,5 \pm 0,1$	$1,61 \pm 0,02$	$2,6 \pm 0,10$	$2,903 \pm 0,052$
La	$19,8 \pm 0,6$	(20)	175 ± 15	-
Na	$28,5 \pm 0,1$	$24,4 \pm 1,2$	14400 ± 700	18180 ± 430
Rb	$8,9 \pm 0,3$	$10,2 \pm 1,5$	12 ± 1	(13)
Sc	$0,029 \pm 0,002$	(0,030)	$0,053 \pm 0,005$	(0,055)
Sm	$2,8 \pm 0,2$	(3)	27 ± 2	-
Th	$0,027 \pm 0,001$	(0,03)	$0,050 \pm 0,003$	$0,048 \pm 0,003$
Zn	14 ± 1	$12,5 \pm 0,3$	77 ± 4	82 ± 3

a - Média aritmética e desvio padrão de pelo menos quatro determinações.

b - Números entre parênteses são dados informativos.

reação nuclear $^{24}\text{Mg}(n,p)^{24}\text{Na}$. Os materiais de referência analisados contêm quantidades relativamente altas de Mg: 0,27 % e 0,89 % nos materiais Apple Leaves [10] e Spinach Leaves [11], respectivamente. Para evitar esta interferência, uma alternativa para análise de Na nestes materiais seria por meio de irradiações curtas.

Com relação à precisão, pode se afirmar que os resultados obtidos nos materiais de referência apresentam uma boa reprodutibilidade, com percentagens de desvios padrões variando de 0,3 a 14,3%.

Na TABELA 2 são apresentados os resultados obtidos nas análises de amostras de *T. pallida* coletadas em Caucaia do Norte (considerada região limpa, de controle) Jabaquara e Cidade Universitária. Aplicando teste t [12] ao nível de significância de 5%, foi feita a comparação entre os resultados obtidos para estes três pontos de amostragem. Este teste mostrou que não há diferença significativa entre as amostras da Caucaia do Norte e Cidade Universitária com relação aos elementos Br, Ca, K, Sb, Sc, Th e Zn, porém as da Cidade Universitária apresentaram os teores de Ce, Co, Cr, Fe, Hf e Rb mais elevados que as de Caucaia do Norte. Entre as três amostras, a de Jabaquara apresentou concentrações mais elevadas para a maioria dos elementos a saber, Ce, Co, Cr, Fe, Hf, La, Sb, Sc, Sm, Th e Zn.

Conforme esperado, a amostra de *T. pallida* da Caucaia do Norte apresentou concentrações mais baixas para a maioria dos elementos. Portanto, os resultados obtidos neste ensaio preliminar indica a viabilidade do uso da *T. pallida* na avaliação de elementos da poluição ambiental. Para evitar o efeito da composição do solo na concentração dos elementos acumulados, poder-se-ia utilizar a planta cultivada em vasos contendo solo de mesma composição.

AGRADECIMENTOS

À AIEA, FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- [1] FREITAS, M. C., **Heavy Metals in *Parmelia sulcata* Collected in the Neighborhood of a Coal-fired Power Station**, Biological Trace Element Research, vol. 43-46, p. 207-212, 1994.
- [2] SCHULZ, H., POPP, P., HUHN, G., STÄRK, H. J., SCHÜRMAN, G., **Biomonitoring of Airborne Inorganic and Organic Pollutants by Means of Pine Tree Barks**, In: Biomonitoring of Atmospheric Pollution (With Emphasis on Trace Elements) – BioMAP, September 21-24, 1997, Lisbon, Portugal, Proceedings Lisbon, IAEA-TECDOC-1152, p. 149-158, 2000.
- [3] HRYNKIEWICZ, A. Z., SZYMCZYK, S., KAJFOSZ, J., **PIXE and NRA Environmental Studies by Means of Lichen Indicators**, Nuclear Instrumental & Methods, vol. 168, p. 517-521, 1980.

TABELA 2 Concentrações de Elementos nas Amostras de *T. pallida* Coletadas em Regiões com Diferentes Níveis de Poluição.

Elementos	Caucaia do Norte		Jabaquara		Cidade Universitária	
	$x \pm s^a$	sr ^b , %	$x \pm s$	sr, %	$x \pm s$	sr, %
Br, $\mu\text{g g}^{-1}$	40 \pm 3	7,5	57 \pm 2	3,5	37 \pm 1	2,7
Ca, %	3,3 \pm 0,3	9,1	3,7 \pm 0,3	8,1	3,8 \pm 0,1	2,6
Ce, ng g^{-1}	364 \pm 16	4,4	754 \pm 12	1,6	583 \pm 14	2,4
Co, ng g^{-1}	48 \pm 3	6,3	90 \pm 2	2,2	83 \pm 1	1,2
Cr, ng g^{-1}	219 \pm 20	9,1	488 \pm 5	1,0	202 \pm 7	3,5
Fe, ng g^{-1}	100 \pm 10	10,0	323 \pm 16	5,0	117 \pm 2	1,7
Hf, ng g^{-1}	23 \pm 3	13,0	104 \pm 4	3,8	66 \pm 4	6,1
K, %	4,3 \pm 0,3	7,0	3,5 \pm 0,2	5,7	2,2 \pm 0,1	4,5
La, ng g^{-1}	142 \pm 13	9,2	379 \pm 9	2,4	253 \pm 6	2,4
Na, $\mu\text{g g}^{-1}$	2088 \pm 236	11,3	157 \pm 6	3,8	31 \pm 4	12,9
Rb, $\mu\text{g g}^{-1}$	40 \pm 2	5,0	46 \pm 6	13,0	22,1 \pm 0,7	3,2
Sb, ng g^{-1}	29 \pm 3	10,3	90 \pm 3	3,3	34,0 \pm 00	1,2
Sc, ng g^{-1}	13,6 \pm 0,4	2,9	49 \pm 2	4,1	8,1 \pm 0,5	6,2
Sm, ng g^{-1}	5,7 \pm 0,6	10,5	29,0 \pm 0,3	1,0	16 \pm 1	6,3
Th, $\mu\text{g g}^{-1}$	20 \pm 2	10,0	90 \pm 1	1,1	23 \pm 1	4,3
Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	56 \pm 4	7,1	193 \pm 6	3,1	63 \pm 4	6,3

a x = média aritmética; s = desvio padrão individual; b. sr = desvio padrão relativo

[4] LUPSINA, V., HORVAT, M., JERAN, Z., STEGNAR, P., **Investigation of Mercury Speciation in Lichens**, *Analyst*, vol. 117, p. 673-674, 1992

[5] LIMA, J. S., CARVALHO FILHO, D. M., COUTO, E., SANTANA, D. L., SOUZA, H. C., **Comparação entre o Coentro e o *Sphagnum sp* como Bioacumuladores de Arsênio no Polo Petroquímico de Camaçari – BA**, *Revista Brasileira de Ecologia*, vol. 1, p. 91-94, 1997.

[6] STEINKELLNER, H., MUN-SIK, K., HELMA, S., MA, T. H., HORAK, O., KUNDI, M., KNASMULLER, S., **Genotoxic Effects of Heavy Metals: Comparative Investigation with Plant Bioassays, Environmental and Molecular Mutagenesis**, vol. 31, p. 183-191, 1998.

[7] BATALHA, J. R. F., GUIMARÃES, E. T., LOBO, D. J. A., LICHTENFELS, A. J. F. C., DEUR, T., CARVALHO, H. A., ALVES, E. S., DOMINGOS, M., RODRIGUES, G. S., SALDIVA, P. H. N., **Exploring the Clastogenic Effects of air Pollutants in São Paulo (Brazil) Using the *Tradescantia* Micronuclei Assay**, *Mutation Research Fundamentals and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 426, p. 229-232, 1999.

[8] TAVARAYA, A. K., SAIKI, M., SALDIVA, P. H. N., SUMITA, N. M., **Estudo sobre a Limpeza da Planta *Tradescantia pallida* para Análise Multielementar**, 9º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, 5-7 de novembro de 2001, São Paulo, CD ROM do 9º SICUSP, 2001.

[9] De SOETE, D., GILBELS, R., HOSTE, J., **Neutron Activation Analysis**, Wiley- Interscience, New York, p. 140, 1972.

[10] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, **Certificate of Analysis Standard Reference Material 1515 Apple Leaves**, 1993.

[11] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, **Certificate of Analysis Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves**, 1996.

[12] VIEIRA, S., **Introdução à Bioestatística**, Campus, Rio de Janeiro, 3ª. Ed. 1980.

ABSTRACT

In this work, instrumental neutron activation analysis was applied in the analysis of *Tradescantia pallida* plant from different sites, in order to evaluate the possibility of using this species in the atmospheric pollutant biomonitoring.

The accuracy and the precision of the analytical results were evaluated by analyzing certified reference materials NIST 1515 Apple Leaves and NIST 1570a Spinach Leaves.