



Universidade de Brasília

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica

**Desenvolvimento e validação de método para
determinação de isótopos estáveis de metais em
matrizes geológicas visando aplicações geoquímicas e
paleoambientais**

Suzana de Souza Guedes

Orientadora: Valéria Regina Bellotto

Brasília, 2018

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a)

Suzana Souza Guedes, matrícula nº **17/0096467**, intitulada “***Desenvolvimento e validação de método para determinação de isótopos estáveis de metais em matrizes geológicas visando aplicações geoquímicas e paleoambientais***”, apresentada no (a) Auditório Lauro Morhy do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 19 de novembro de 2018.

Prof.^a Dra. Valéria Regina Bellotto
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Roberto Ventura Santos
Membro Titular (IG / UnB)

Pof^a Dra. Lilian Rodrigues Braga
Membro Titular (UNIP)

Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 19 de novembro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, expresso minha eterna gratidão por tudo que passamos juntos.

Agradecimentos

Meu retorno à vida acadêmica para realizar o doutorado foi um período de muita superação e grande aprendizado. Ao término deste período, são muitos a quem preciso agradecer.

Agradeço especialmente a minha orientadora, professora Valéria Bellotto, por todo conhecimento transmitido ao longo desses anos. Inteligente, perspicaz, comprometida, me deu todo suporte necessário para que eu conseguisse atingir meus objetivos. Obrigada pelas palavras de incentivo e pelos ensinamentos. Fizeram-me uma pessoa melhor.

Aos professores Roberto Ventura Santos, Fernando Fabríz Sodré, Jez Willian Batista Braga, Lilian Rodrigues Braga, por serem exemplos que me inspiram e que de alguma forma fizeram parte dessa conquista. Obrigada por comporem a banca examinadora.

Obrigado aos Laboratórios de Geocronologia e ao AQQUA pelo espaço físico para desenvolvimento do trabalho. Em especial aos professores Elton Luiz Dantas e Roberto Ventura Santos e aos técnicos Jeane Chaves, Bárbara Alcântara Lima, Erico Natal Pedro Zacchi e Karin Voll, pela ajuda nas análises e nos procedimentos experimentais.

Agradecimentos ao Projeto Clim-Amazon e União Européia pelo apoio financeiro (FP7) e a CAPES pela bolsa a mim concedida.

Um super obrigada a todos os amigos da Geocrono e do AQQUA, pela amizade, pelo apoio, pelas trocas de experiências e pelos favores prestados. Com vocês tudo ficou mais leve. Obrigada Jackeline e Damiana pela maior aproximação e por todo incentivo recebido.

Agradecer imensamente a minha família, por todo incentivo, amor e paciência. Vocês são meu porto seguro, meu amor maior.

Obrigada meus amigos, pelo apoio recebido, pela ajuda no trabalho, pelos momentos de descontração e alegria.

Agradecer a Deus, por ser a fonte de energia que me move.

RESUMO

Estudos recentes revelaram que isótopos de metais de transição como Cu, Zn e Mo podem ser usados como traçadores biogeoquímicos de mudanças globais. O Cu e o Mo são elementos participantes das reações de oxidação e redução e suas assinaturas isotópicas em sedimentos marinhos e de água doce são fortes indicadores da taxa de oxigenação e dos estados redox das águas no momento da deposição. O Zn apesar de não ser um elemento sensível às condições redox tem sua assinatura isotópica intimamente relacionada à atividade biológica e esta, por sua vez, está diretamente associada às condições de oxigenação das águas. Portanto, uma estratégia multi-proxy, isto é, o uso combinado destas três assinaturas isotópicas de metais em amostras geológicas pode fornecer uma interpretação mais consistente e segura sobre as condições do ambiente e da evolução paleo-ambiental. Aqui, foi desenvolvido um método simples e rápido para a purificação simultânea de Cu, Zn e Mo e para as medições precisas e exatas das suas composições isotópicas em amostras geológicas, usando espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplado e sistema multicoletor (MC-ICPMS). O método envolve o uso de uma única coluna cromatográfica preenchida com a resina de troca aniônica AG-MP-1 para remoção da matriz complexa e posterior purificação desses três elementos. O procedimento de *sample-standard-bracketing* (SSB) combinado com a adição de padrão interno foi usado para correção do viés de massa instrumental e obtenção de medidas precisas das razões isotópicas de Cu, Zn e Mo. O método foi aplicado em diferentes materiais geológicos, incluindo materiais de referência certificados (para concentrações totais de metais) como granodiorito (GSP 2-USGS), calcário (JLS-1, Japão) e sedimentos do Rio Buffalo (NIST SRM - 8704), bem como amostras de sedimentos fluviais da Bacia Amazônica. As precisões médias, com 95% de confiança, para essas amostras foram: 0,08 ‰ para $\delta^{65/63}\text{Cu}$; 0,05 ‰ para $\delta^{66/67}\text{Zn}$ e 0,04 ‰ para $\delta^{98/95}\text{Mo}$. A principal vantagem é que o método proposto é simples e rápido, e realiza a recuperação quantitativa de elementos de diferentes massas atômicas e em concentrações muito baixas, principalmente para Mo. Além disso, as otimizações facilitaram a calibração e correção do viés de massa instrumental, levando a resultados consistentes com métodos monoelementares atualmente publicados. A comparação das composições isotópicas de Cu e Mo obtidas para o granodiorito com relação aos dados reportados na literatura, demonstra que o método mais simples e multielementar desenvolvido neste estudo pode ser utilizado adequadamente, dentro dos limites de precisão exigidos, como uma ferramenta multi-proxy em geoquímica isotópica.

Palavras-chave: isótopos de Zn, Cu e Mo, MC-ICPMS, cromatografia de troca iônica, material geológico

ABSTRACT

Recent studies revealed that isotopes of transition metals such as Cu, Zn and Mo can be used as biogeochemical tracers of global change. Cu and Mo are redox-sensitive elements and their isotopic signature in marine and freshwater sediments are strong proxy for oxygen level and redox state of waters at the time of sediment deposition. Zn are not redox-sensitive, but its isotopic signature is closely related to biological activity and this, in turn, is directly associated with the oxygenation conditions of waters. Therefore, a multi-proxy strategy, that is, the combined use of these three metals isotopic signatures in geological samples can provide a more consistent and secure interpretation about a paleo-redox environmental condition and evolution. Here, a simple and quick method for simultaneous purification of Cu, Zn and Mo and accurate and precise measurement of their isotopic composition in geological samples using multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) has been developed. The method involves the use of a single chromatographic column filled with the anion exchange resin AG-MP-1 for complex matrix removal and further purification of these three elements. The external standard-sample-standard bracketing (SSB) procedure combined to internal standard addition was used for accurate mass bias correction and precise Cu, Zn and Mo isotopic ratio measurements. The method was applied to different geological materials, including certified reference materials (for total metal concentrations) as granodiorite (GSP 2-USGS) , limestone (JLS-1, Japan) and Buffalo River Sediments (NIST SRM - 8704), as well as river sediments samples from Amazon River Basin. The mean precision (2s) for these samples was: 0.08 ‰ for $\delta^{65/63}\text{Cu}$; 0.05 ‰ for $\delta^{66/67}\text{Zn}$ and 0.04 ‰ for $\delta^{98/95}\text{Mo}$. The main advantage is that the proposed method is simple and rapid, and carries out the quantitative recovery of elements of different atomic masses and at very low concentration ranges, mainly for Mo. In addition, optimizations made the calibration and correction of instrumental mass bias easier, leading to consistent results with other methods that are currently published. The comparison of isotopic compositions of Cu and Mo obtained for granodiorite with respect to data reported in the literature demonstrate that the simpler and multi-element method developed in this study can be properly used within the required limits of accuracy as a multi-proxy tool in isotope geochemistry.

Keywords: Zn, Cu and Mo isotopes; MC-ICPMS; anion-exchange chromatography, geological materials

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. Objetivo geral	17
2.1. Objetivos específicos	17
3. Revisão Bibliográfica	18
3.1. Isótopos estáveis e o fracionamento isotópico	18
3.2. Determinação do fracionamento isotópico	21
3.3. Fracionamento isotópico dos metais e suas aplicações	24
4. Técnica de separação e purificação dos metais em colunas cromatográficas.....	41
4.1. Cromatografia de troca iônica	42
5. Técnica instrumental de determinação das razões isotópicas	48
5.1. MC-ICPMS	48
5.2. Fontes de incerteza nas medições em MC-ICPMS.....	52
5.3. Métodos de correção das medições em MC-ICPMS	55
5.4. Métodos de validação para as medições das razões isotópicas dos metais	60
6. Materiais e métodos.....	65
6.1. Materiais e reagentes.....	65
6.2. Roteiros de lavagens dos materiais	66
6.2.a. Materiais e vidrarias	66
6.2.b. Vasos de teflon	67
6.2.c) Preparo das Amostras (sintéticas e reais)	67
6.2.c.1. Soluções padrões monoelementares	67
6.2.c.2. Amostra sintética.....	67
6.3. Amostras reais.....	68
6.3.a. Materiais certificados	68
6.3.b. Sedimentos fluviais da bacia Amazônica	68
6.4. Montagem das colunas cromatográficas	72

6.5. Definição da resina para cromatografia de troca iônica	73
6.6. Definição dos parâmetros experimentais para cromatografia de troca iônica	74
6.7. Determinação da concentração total dos metais – Avaliação da recuperação quantitativa dos elementos após eluição em coluna.....	75
6.8. Avaliação de ocorrência de fracionamento isotópico no processo de separação e purificação nas colunas cromatográficas	77
6.9. Determinação das razões isotópicas por MC-ICPMS	77
6.9.1. Parâmetros e configurações do instrumento	77
6.9.2. Análises, correções de interferência e calibração por <i>SSB</i>	79
6.9.3. Procedimento de cálculo nas correções do viés de massa por <i>SSB</i>	79
6.10. Análise de ocorrência ou não de fracionamento isotópico instrumental	82
7. Resultados e Discussão	83
7.1. Definição da resina para cromatografia de troca iônica	83
7.2. Definição dos parâmetros experimentais para cromatografia de troca iônica	84
7.3. Definição do método de separação para Cu, Zn e Mo	90
7.4. Análise da ocorrência ou não de fracionamento isotópico no processo de separação e purificação na coluna cromatográfica	92
7.5. Aplicação do método de separação para amostras reais	93
7.6. Determinações das razões isotópicas dos metais em MC-ICPMS	95
7.7. Análise de ocorrência ou não de fracionamento isotópico instrumental.....	97
7.8. Figuras de mérito e validação.....	98
7.9. Aplicações geológicas.....	103
7.10. Perspectivas futuras	105
8. Conclusão.....	106
9. Referências bibliográficas	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fracionamento isotópico do Mo em amostras naturais. Fonte: McManus et al. (2002); Siebert et al. (2003); Barling et al. (2001); Arnold et al. (2004); Archer e Vance (2008).....	39
Figura 2. Fracionamento isotópico do Cu em ambientes naturais. Fontes: Marechal et al. (1999), Zhu et al. (2002); Larson et al. (2003); Erlich et al. (2004), Albarède (2004)..	40
Figura 3. Fracionamento isotópico do Zn em amostras naturais. Fontes: Marèchal et al. (1999), Hoefs (2009); Sirvry (2007), Anbar e Rouxel (2012).....	40
Figura 4. Divinilbenzeno com substituição parcial do grupamento amônio por íons cloreto. Fonte: Petit (2009).....	43
Figura 5. Esquema básico do MC-ICPMS que possui configuração denominada de geometria Nier-Johnson. Fonte: Ferreira, 2012 adaptado de Yang (2009).....	51
Figura 6. Laboratório de Geocronologia do Instituto de Geociências da Universidade de Brasília com o MC-ICPMS –Neptune Finnigan.....	51
Figura 7. Fotografia ilustrando os pontos de coleta dos sedimentos	69
Figura 8. Etapas da abertura dos tubos contendo as amostras de sedimentos.	70
Figura 9 . Fotografias ilustrando as sequências analíticas de preparação das amostras. (a) Etapa de liofilização da amostra (b) Peneiragem via úmida (c) Etapa de secagem após a peneiragem via úmida (d) Amostra macerada contendo apenas as partículas finas.....	71
Figura 10. Superfície de Resposta para os efeitos: concentração do ácido clorídrico (HCl) e tamanho da coluna para a recuperação percentual do Cu.....	88
Figura 11. Superfície de Resposta para os efeitos: (a) concentração do ácido clorídrico e tamanho da coluna e (b) tamanho da coluna e eluente para o Fe na recuperação percentual do Zn	89
Figura 12. Superfície de Resposta para os efeitos: (a) tamanho da coluna e eluente para o Fe e (b) concentração do ácido clorídrico e tamanho da coluna na recuperação percentual do Zn	90
Figura 13. Reprodutibilidade das medições de $\delta^{65}/^{63}\text{Cu}$ (ERM-AE-633) para três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,07 ‰ (2s, n = 10).	99
Figura 14. Reprodutibilidade das medições de $\delta^{66}/^{64}\text{Zn}$ (IRMM-653) para três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,09 ‰ (2s, n = 38)	100
Figura 15. Reprodutibilidade das medidas de $\delta^{98}\text{Mo}$ (Alfa Aesar JMC) para as três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,02 ‰ (2s, n = 16)	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais interferentes para o Cu e o Zn em medições isotópicas em MC-ICPMS. Adaptado de Chapman et al. (2006).....	45
Tabela 2. Principais interferentes para o Mo em medições isotópicas em MC-ICP-MS. Adaptado de Malinovsky et al (2005).....	47
Tabela 3. Concentração dos metais nas amostras investigadas	66
Tabela 4. Variáveis de efeito e os níveis estipulados para os Planejamentos Fatoriais no processo de separação cromatográfica	75
Tabela 5. Limite de detecção, quantificação, coeficiente de determinação e sensibilidade das curvas analíticas obtidas por MP-AES	76
Tabela 6. Condições operacionais do ICP-MS.....	76
Tabela 7. Posições dos isótopos nos coletores de Faraday para as medidas das razões isotópicas dos metais e as condições operacionais do instrumento MC-ICPMS NEPTUNE	78
Tabela 8. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento cobre	83
Tabela 9. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento zinco	83
Tabela 10. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento molibdênio.....	83
Tabela 11. Resposta em termos de porcentagem das recuperações dos metais Cu, Zn e Mo em colunas cromatográficas empregando-se a amostra sintética	85
Tabela 12. ANOVA para a porcentagem de extração dos metais Cu, Zn e Mo obtida no processo de separação cromatográfica.....	86
Tabela 13. Análise de Variância (ANOVA). Coeficientes da regressão dos modelos quadráticos para as respostas das taxas de recuperações dos metais em colunas de separações cromatográficas	87
Tabela 14. Método de separação para os elementos Cu, Zn e Mo (e Fe) por cromatografia de troca aniônica.....	91
Tabela 15. Método de separação para os elementos Cu, Zn e Mo (e Fe) por cromatografia de troca aniônica.....	93

Tabela 16. Recuperação do Cu, Zn e Mo após a eluição na coluna cromatográfica (n=3)	94
Tabela 17. Valores e precisões do δ para Cu e Zn nas amostras selecionadas.....	95
Tabela 18. Valores e precisões do δ para o Mo nas amostras selecionadas.....	96
Tabela 19. Precisões alcançadas por diferentes métodos e grupos de trabalho.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AQQUA – Grupo de automação, quimiometria e química ambiental

ICP-MS – Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado

ISO GUM – Guia para expressão das incertezas das medidas (do inglês, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement)

MP-AES – Espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro ondas

MC-ICPMS – Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado e sistema multicoletor

MRS – Método de Superfície de Resposta

MRC – Material de Referência Certificado

MIF – Fracionamento independente de massa

TIMS- Técnica de ionização térmica

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

1. Introdução

Os isótopos estáveis não tradicionais, compostos essencialmente pelos metais, representam um novo conjunto de elementos que tem merecido a atenção em estudos geoquímicos, por se mostrarem eficientes nas indicações das mudanças ambientais. As composições isotópicas de metais de transição em amostras naturais biológicas ou geológicas podem ser utilizadas como rastreadores biogeoquímicos relacionados à mudança climática, reconstrução de paleoambientes e evolução biológica, entre outros (Marèchal et al., 1999; Zhu et al., 2000; Barling et al., 2001; Duan et al., 2010; Bigalke et al., 2010).

O Cu, o Zn e o Mo se destacam nesses estudos porque são micronutrientes essenciais, participantes de diferentes ciclos biogeoquímicos, portanto, as suas disponibilidades, especialmente em sistemas aquáticos, são afetadas por mudanças nas taxas de oxigenação do ambiente. Sendo assim, as reações redox envolvendo a participação dos isótopos desses metais oferecem assinaturas isotópicas únicas preservadas nos registros geológicos, que permitem a distinção entre os ambientes óxicos, subóxicos ou anóxicos (Anbar e Rouxel, 2007).

Em condições redutoras o Mo é facilmente removido da água do oceano e o seu isótopo mais pesado se concentra nos sedimentos. Já para o Cu, nessas mesmas condições vai prevalecer o isótopo mais leve no sedimento, principalmente devido à transformação de Cu (II) em Cu (I) pela ação de bactérias anaeróbicas (Anbar e Rouxel, 2012; Albarède, 2004).

O zinco, apesar do seu estado divalente permanente, tem o seu comportamento marcado devido a uma captura preferencial dos isótopos leves em processos biológicos. Conseqüentemente, o maior enriquecimento dos isótopos pesados de zinco pelos fatores abióticos (água, rochas, sedimentos) sugere ambientes sob condições óxicas (Marèchal et al., 1999; Marèchal e Albarède, 2002 e Hoefs, 2009).

Assim, esses três metais juntos são pares complementares porque são opostos geoquímicos, ou seja, nas mesmas condições ambientais apresentam comportamentos diferentes e respostas em termos de fracionamento

complementares. Tornando-se uma estratégia multi-proxy para uma avaliação mais precisa e consistente da evolução paleoambiental.

Contudo, a maioria dos estudos emprega a razão isotópica de apenas um ou dois metais de transição. Sendo a separação química destes metais um dos maiores obstáculos, já que as matrizes são complexas e as amostras apresentam uma grande variação de concentração entre os elementos. Em geral, o Fe está presente na concentração de porcentagem, enquanto Cu e Zn estão na ordem de dezenas de $\mu\text{g g}^{-1}$ e Mo em concentrações muito mais baixas, às vezes inferiores a um $\mu\text{g g}^{-1}$.

Além disso, para que se entendam os princípios implícitos dos valores das razões isotópicas são necessárias medidas exatas e precisas (Brand, 2004), que só foram alcançadas com o desenvolvimento da espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e sistema multicoletor (MC-ICPMS) (Marèchal et al, 1999; Marèchal e Albarède, 2002; Archer e Vance, 2004; Brand, 2004).

Adequada e vantajosa, a técnica do MC-ICPMS requer simplicidade da amostra e uma rigorosa correção para o fracionamento isotópico instrumental. A primeira etapa consiste na purificação, na qual os elementos de interesse precisam estar livres de interferentes químicos capazes de diminuir a seletividade da medição. A forma mais comum de separação e purificação dos analitos na amostra e a consequente minimização dos efeitos de matriz são pelo método de cromatografia de troca iônica (Marèchal et al, 1999, Archer e Vance, 2004, Chapman et al, 2006; Petit, 2009, dentre outros).

Especialmente para as amostras naturais de matrizes complexas, os trabalhos publicados mostram que a utilização de uma única coluna de troca iônica é insuficiente para a separação desses elementos, com a pureza exigida para análise isotópica, sendo necessária uma segunda coluna de troca iônica e/ou uma coluna de pré ou pós-concentração (Borrok et al., 2008).

A separação de Mo é geralmente prejudicada pela sua baixa concentração em amostras naturais. Na maioria dos estudos (Anbar et al., 2001; Siebert et al., 2001; Wieser e De Laeter, 2003; Malinovsky et al., 2005; Pietruszka e Reznik, 2008; Migeon et al., 2015) são empregadas até três etapas de separação, incluindo o uso de pelo menos duas resinas diferentes: uma resina aniônica (AG1-X8) para eliminar elementos concomitantes; e uma

resina catiônica (Chelex-100 e AG-50W) para reter principalmente Fe e Zr, dois importantes elementos interferentes nas medições MC-ICPMS. Esses procedimentos complexos podem levar ao fracionamento isotópico.

O estudo aqui apresentado descreve um método simples, rápido e de menor custo para a purificação simultânea de Cu, Zn e Mo e uma medição precisa e exata da sua composição isotópica em diferentes amostras geológicas usando MC-ICPMS. O método envolve o uso de uma única coluna cromatográfica preenchida com a resina de troca aniônica (AG-MP-1) para remoção da matriz e posterior purificação destes três metais. O estudo também apresenta uma estratégia efetiva para corrigir o viés de massa, usando o *Sample-Standard-Bracketing* (SSB), com o mesmo nível de precisão obtida por *double spike* (método mais complexo e caro), empregado na maioria dos trabalhos publicados.

A pesquisa contribui para os avanços de estudos relacionados à geoquímica isotópica de metais de transição e suas aplicações como ferramentas multi-proxies locais e globais em estudos paleoambientais, biogeoquímicos, arqueológicos e de mudanças climáticas, entre outros.

Este trabalho está dividido em diferentes seções. A primeira consiste nessa introdução e nos objetivos. A segunda seção apresenta a revisão bibliográfica abordando o significado de fracionamento isotópico, os processos de separação e purificação desses metais por cromatografia de troca iônica, a técnica de determinação das razões isotópicas em MC-ICPMS, as principais fontes de incerteza, as formas de correção e de validação para os metais de interesse na pesquisa. As demais seções apresentam os materiais e os métodos, os resultados experimentais, as discussões e a conclusão.

2. Objetivo geral

O principal objetivo desse trabalho é desenvolver e validar uma metodologia para determinação simultânea das razões isotópicas dos metais Cu, Zn e Mo em amostras ambientais, a partir da combinação e aprimoramento dos métodos monoelementares descritos na literatura. Pretende-se, também, aplicar o método desenvolvido em diferentes amostras geológicas.

2.1. Objetivos específicos

- Desenvolver um método para separar e purificar simultaneamente Cu, Zn e Mo, atingindo recuperações acima de 90%.
- Desenvolver os métodos instrumentais ICP-MS (Quadrupolo) e MP-AES para determinação da concentração total dos metais nas amostras utilizadas.
- Desenvolver o método para determinação das razões isotópicas dos metais por MC-ICPMS.
- Aplicar e validar o método desenvolvido por meio de amostras reais.
- Produzir um método que facilite as análises de rotina a partir da otimização dos processos (separação, purificação e a determinação dos isótopos).
- Obtenção de um método de separação e de purificação com caráter multielementar.
- Aplicação do método desenvolvido em sedimentos de dois rios da Bacia Amazônica, investigando se há identidade isotópica entre eles.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Isótopos estáveis e o fracionamento isotópico

Em 1931, Harold Clayton Urey constatou a existência de uma espécie isotópica de hidrogênio que possuía aproximadamente o dobro da massa atômica original, ao qual foi denominado de deutério. Posterior a essa descoberta, outros elementos como o oxigênio, carbono, nitrogênio também demonstraram ter isótopos de ocorrência natural. Atualmente os isótopos são usados na obtenção de informações acerca dos processos biogeoquímicos nos diferentes ambientes geológicos (Carneiro et al., 2005). Nesse contexto, Brand (2004) destaca que o reconhecimento de isótopos trouxe uma nova ordem na tabela periódica alterada pela irregularidade entre os pesos atômicos e as propriedades químicas dos elementos.

Segundo Hoefs (2009), a utilização do termo “isótopo estável” é relativo e dependente do limite de detecção do decaimento radioativo do elemento (tempo de meia-vida $> 10^9$ anos). No intervalo de números atômicos de 1 (H) a 83 (Bi), têm-se somente 21 elementos que possuem apenas um isótopo estável, enquanto todos os outros elementos são misturas de dois ou mais isótopos. Aqueles elementos de massas atômicas maiores que 40u são denominados de isótopos estáveis não tradicionais.

Diferentemente dos isótopos radioativos que apresentam um crescimento contínuo das suas composições devido ao processo de desintegração, os isótopos estáveis não passam por instabilidades nucleares, fazendo com que, a princípio, as abundâncias dos mesmos permaneçam fixas ao longo dos anos. Além disso, as propriedades físico-químicas dos isótopos estáveis são idênticas, em decorrência da semelhança na quantidade e na disposição dos elétrons. Porém, as alterações no número de massa podem gerar pequenas diferenças no comportamento desses átomos, provocando separações entre eles durante as reações químicas ou nos processos físicos (Àlegre, 2008). Conforme Johnson et al. (2004), esse processo de discriminação é chamado de fracionamento isotópico.

Hoefs (2009) utiliza o termo fracionamento isotópico para todas as situações em que haja alterações na distribuição dos isótopos entre diferentes

substâncias, fases físicas de uma mesma substância ou mesmo entre moléculas individuais.

Para a maioria dos elementos, o fracionamento isotópico está relacionado à diferença de massa existente entre os isótopos estáveis, as fortes ligações covalentes e aos múltiplos estados de oxidação (O'Neil, 1986). Observa-se um maior fracionamento para os elementos leves e para os isótopos que possuem maior distinção de massa entre eles. Contudo, controlado pela temperatura e pela massa do elemento, há um decréscimo no fracionamento à medida que a temperatura aumenta, (Hoefs, 2009).

De uma forma geral, o que se observa é que a molécula constituída do isótopo mais pesado se torna mais lenta, com menor capacidade de difusão, menor pressão de vapor e menor velocidade de reação. Em contrapartida, a molécula contendo o isótopo mais leve reage mais rapidamente e evapora mais facilmente, tornando-se mais abundantes na natureza (Àlegre, 2008; Ferreira, 2008).

Portanto, em uma reação química, os isótopos de maior massa tendem a estar concentrados nos compostos químicos mais estáveis, formando ligações mais rígidas. Enquanto que as moléculas que carregam os isótopos leves, em geral, serão mais rápidas, mais fáceis de serem quebradas e normalmente concentradas nos produtos (Ferreira, 2008).

Anber e Rouxel (2012) e Hoefs (2009) explicam o fracionamento isotópico como um fenômeno decorrente das diferenças de energia do ponto zero (EPZ). Pois mesmo a temperatura atingindo o zero absoluto, a molécula possui uma energia do ponto-zero numa frequência vibratória que depende da massa.

Considerando uma molécula diatômica AB, o valor da energia do ponto zero é definido como:

$$EPZ = \frac{1}{2} h \nu, \text{ (equação 1)}$$

onde ν é a frequência vibracional e h é a constante de Planck.

Para um oscilador harmônico:

$$u = \frac{1}{2} \pi k/\mu \text{ (equação 2)}$$

na qual, K = constante de força μ = massa reduzida.

Sendo o valor de μ definido por:

$$\mu = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B} \text{ (equação 3)}$$

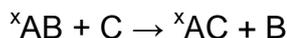
a frequência (ν) e a EPZ irão variar em função das massas.

A energia de ponto zero será diferente entre as moléculas de mesma fórmula química, mas com diferentes espécies isotópicas. A molécula composta pelo isótopo pesado terá energia menor que a molécula do isótopo leve devido a uma menor frequência vibratória (Hoefs, 2009; Anbar e Rouxel, 2012).

Anbar e Rouxel (2012) descrevem os mecanismos de troca a partir de suposição de dois isótopos de A, ^xA e ^yA , onde $x > y$. Portanto, ^xAB estão mais fortemente ligados em relação a ^yAB , dificultando o rompimento da união entre esses átomos. Portanto o ^yAB vai reagir mais rapidamente que o ^xAB dando origem ao fracionamento de massa decorrente de efeito cinético.

Ferreira (2008) refere-se a efeitos isotópicos cinéticos quando o fracionamento for consequência da diferença de velocidade entre os isótopos, devido as suas massas atômicas. Nos processos biológicos os organismos utilizam preferencialmente as espécies isotópicas mais leves devido à menor energia exigida para quebra das ligações, resultando em um fracionamento significativo entre o substrato (mais pesado) e o produto (mais leve).

Outro mecanismo de fracionamento refere-se à participação dos isótopos nas reações de equilíbrio. Nas representações:



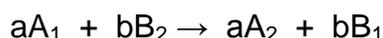
as duas reações são diferentes entre si gerando duas constantes de equilíbrio distintas. Neste caso o fracionamento ocorre a partir das diferenças nas velocidades de reação entre as espécies moleculares participantes das reações químicas.

Àlegre (2008) destaca que nem todos os fracionamentos correspondem à diferença de massa entre os isótopos. Para esse fenômeno, as explicações

ainda são complexas, mas considera-se nesse caso, que o parâmetro decisivo para ocorrência do fracionamento seja a simetria molecular. Esse mecanismo é chamado de fracionamento independente de massa (MIF) ou efeito de simetria molecular. O MIF foi observado na formação do ozônio atmosférico, na qual foi demonstrada que não existe fracionamento isotópico entre o ozônio de massa 54 ($^{18}\text{O}^{18}\text{O}^{18}\text{O}$) e o de massa 48 ($^{16}\text{O}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$). Em contrapartida ocorre um enriquecimento das moléculas assimétricas, como por exemplo, a $^{16}\text{O}^{17}\text{O}^{18}\text{O}$. Conforme Àlegre (2008), esse efeito é importante, mas bastante específico, portanto, observado apenas para determinados processos.

3.2. Determinação do fracionamento isotópico

O fracionamento isotópico é tratado como um caso especial de equilíbrio químico, que pode ser descrito como:



onde os índices 1 e 2 representam os isótopos leves e os pesados, respectivamente. A constante de equilíbrio é expressa por:

$$K = \frac{\left(\frac{A_2}{A_1}\right)^a}{\left(\frac{B_2}{B_1}\right)^b} \text{ (equação 4)}$$

Reescrevendo a equação em termos de termodinâmica estatística tem-se:

$$K = \left[\frac{Q(A_2)}{Q(A_1)}\right]^a \cdot \left[\frac{Q(B_1)}{Q(B_2)}\right]^b \text{ (equação 5)}$$

As funções Q são denominadas funções de partição da molécula e são tais que, para uma dada espécie química, podemos escrever:

$$\frac{Q_2}{Q_1} = \frac{\sigma_1}{\sigma_2} \left(\frac{M_2}{M_1}\right)^{3/2} \frac{\sum \exp\left(\frac{-E_{2i}}{kT}\right)}{\sum \exp\left(\frac{-E_{1i}}{kT}\right)} \frac{I_1}{I_2} \text{ (equação 6)}$$

Nesta equação: σ_1 e σ_2 correspondem as simetrias moleculares de 1 e 2. E_{2i} e E_{1i} são as energias rotacional ou vibracional das diferentes moléculas.

M_1 e M_2 referem-se as suas massas, e I_1 e I_2 os seus momentos de inércia. Quanto maior for a proporção M_2/M_1 maior será o fracionamento entre as espécies de isótopos. Em termos de $\ln K$, como para qualquer constante de equilíbrio, pode-se colocar na forma $a' + b' / T + c' / T^2$. Com isso, se a temperatura (T) aumenta, o valor de K tende a 1. Em temperaturas muito elevadas o fracionamento isótopo tende a zero. Se nós definirmos o fator de fracionamento isotópico como α e associarmos a razão, teremos $(A_2/A_1) / (B_2/B_1) = \alpha_{A-B}$. O α e o K estão relacionados pela equação $\alpha = K^{1/n}$, onde n é o número de átomos trocados.

Nas reações em que ocorre a permuta de isótopos, a constante de equilíbrio é frequentemente substituída pelo fator de fracionamento (α). Esse fator de fracionamento é definido pela razão entre dois isótopos quaisquer de um composto químico (A) dividida pela proporção correspondente desses isótopos para outro composto químico (B). A razão entre dois compostos A e B é representada por:

$$\alpha_{A-B} = \frac{R_A}{R_B} \quad (\text{equação 7})$$

De acordo com Gröning (2004) a relação R de A e B geralmente é expressa como o isótopo de menor abundância (mais pesado) dividido pelo de maior abundância (mais leves), ambos sendo calculados a partir do mesmo processo de medição e atingindo valores de α sempre próximos de um.

As variações na composição isotópica dos elementos são geralmente expressas numa unidade específica, denominada de delta (δ). Àlegre (2008) descreve o valor de δ de uma amostra como um desvio relativo a um padrão pré-definido:

$$\delta = \frac{\text{razão isotópica da amostra} - \text{razão isotópica do padrão}}{\text{razão isotópica do padrão}} \times 1000$$

(equação 8)

A razão isotópica considerada é sempre a razão do isótopo pesado para o isótopo leve. Como essa razão é muito pequena, o resultado é multiplicado por mil, sendo então o valor descrito em ‰ (por mil). Se o valor de δ for positivo, então a amostra é mais rica no isótopo pesado e se for negativo, a

amostra é mais pobre no isótopo pesado (ambos relativos ao padrão de referência de razão isotópica conhecida). Os termos “enriquecidos” e “empobrecidos” são utilizados em relação ao isótopo que está no numerador da fórmula e que por convenção, é sempre o isótopo pesado (Àlegre, 2008).

As razões isotópicas são normalmente expressas como os desvios de um valor de referência e não como relações absolutas. Segundo Brand (2004), isso ocorre devido às medições relativas serem mais precisas e por demandarem menos esforços na obtenção. Na prática, as medições são feitas em relação a uma referência que pode ser um material certificado ou um padrão que foi cuidadosamente calibrado em laboratório.

Sendo α_{A-B} o fator de fracionamento global entre A e B e δA e δB determinados a partir da equação descrita anteriormente, temos:

$$\delta A = \left(\frac{RA}{RS} - 1 \right) 10^3 \text{ (equação 9)} \quad \delta B = \left(\frac{RB}{RS} - 1 \right) 10^3 \text{ (equação 10)}$$

com R_S sendo o padrão.

Rearranjando-se as equações, tem-se que:

$$AB = \frac{1 + \frac{\delta A}{1000}}{1 + \frac{\delta B}{1000}} \sim 1 + \frac{(\delta A - \delta B)}{1000} \text{ (equação 11)}$$

A diferença do valor isotópico δ entre duas fases é relacionada com o fator de fracionamento por meio da seguinte relação:

$$\Delta (A-B) \sim 1000 \ln \alpha (A-B) \text{ (equação 12)}$$

Por fim, Àlegre (2008) pontua que é possível calcular os fracionamentos isotópicos para vários processos geológicos por meio dessas equações. No entanto, adverte que se trata de uma abordagem descritiva e não explicativa das reações químicas e processos físicos a serem estudados.

3.3. Fracionamento isotópico dos metais e suas aplicações

Os ambientes geológicos complexos e mutáveis podem ser evidenciados por meio dos sedimentos que os compõem, uma vez que as suas características e os seus aspectos são correlacionáveis ao meio de deposição. A análise de fatores, tais como, as relações estratigráficas, as fácies sedimentares, a composição química, a textura e os fósseis são muito úteis na interpretação da origem e da história sequencial das suas formações (Laporte, 1996).

Para análise desses fatores, a geoquímica utiliza diversos parâmetros, entre eles, os isótopos estáveis, na identificação e interpretação dos ambientes originais, bem como das mudanças neles ocorridas após alterações das condições físicas e dos processos químicos e biológicos.

Como evidência, Laporte (1996) descreve a associação entre as diferentes abundâncias dos isótopos do oxigênio presente nos carbonatos e a variação da temperatura do meio. O estabelecimento dessa relação é possível porque em temperaturas mais baixas, o ^{18}O prevalece em detrimento do ^{16}O , tornando a razão entre os isótopos $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ dos calcários e das conchas fósseis um indicativo da temperatura pretérita das águas dos oceanos. Outros exemplos, por ele citado, são as diferentes razões de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ encontradas entre as plantas terrestres e marinhas, e em conchas que são segregadas no mar ou em água doce, sugerindo indícios em relação à origem desses materiais.

Em Ferreira et al. (2007) os isótopos estáveis são apontados como ferramentas nas determinações de parâmetros importantes em estudos de depósitos minerais. O fracionamento das razões D/H, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{36}\text{S}/^{34}\text{S}$, por exemplo, permite estimar processos de assimilação e cristalização fracionada, quantificação e razões fluido/rocha, pressão, temperatura, profundidade de formação de depósitos, dentre outros. Os autores destacam que os isótopos estáveis tradicionais são potencialmente aplicáveis na prospecção química, permitindo a identificação de alvos favoráveis para sondagem de depósitos minerais.

Contudo, o foco desse estudo são os isótopos estáveis não tradicionais, que de forma análoga têm se destacado como fortes indicadores das condições ambientais com aplicações bastante diversificadas.

Por muitos anos, eles se mantiveram inexplorados devido às pequenas variações isotópicas decorrentes das suas elevadas massas moleculares (Ferreira et al., 2007). Porém, Pietruska et al. (2006) afirmam que mesmo as variações sendo pequenas, elas tem se mostrado significativas. Anber e Rouxel (2012) explicam que para todos os tipos de isótopos, os valores dos fracionamentos estão geralmente dentro de uma ordem de magnitude, portanto mesmo os elementos mais pesados irão fracionar. O que dificulta as medições dos isótopos dos metais não é o baixo valor do fracionamento natural, mas a baixa precisão dos métodos analíticos disponíveis (Anber e Rouxel, 2012).

Contudo, antes de apresentar as pesquisas aplicadas dos fracionamentos isótopos dos metais traços para reconstruções paleodeposicionais, é importante entender os parâmetros ambientais responsáveis pelo enriquecimento ou pela depleção dos elementos em sedimentos antigos e modernos. Esses processos são resultados dos fatores bióticos (utilização dos metais como micronutrientes essenciais) ou pelos fatores abióticos. Esse último inclui a adsorção de íons metálicos ou das espécies iônicas em substratos orgânicos ou minerais, a formação de complexos organometálicos e a precipitação de sulfetos de ferro e/ou oxihidróxidos de manganês insolúveis.

Segundo Tribovillard et al. (2006), os estudos sobre as condições redox nos oceanos rastreiam a distribuição dos agentes oxidantes no meio deposicional e nos processos diagenéticos e biogeoquímicos. Os meios oxidantes ou redutores são nomeados a partir das suas transições. Ambientes subóxicos ou anóxicos referem-se aqueles em que há diminuição ou ausência de gás oxigênio (O_2), respectivamente. Estes podem ser de dois tipos: sulfídricos e não sulfídricos (quando há ou não presença de ácido sulfídrico - H_2S). Entende-se por ambiente euxínicos, as colunas de água com características anóxicas e sulfídricas.

A formação dos ambientes redutores (anóxicos, sulfídricos e euxínicos) está diretamente ligada à atividade biológica, pois o ácido sulfídrico (H_2S) é um substrato catabólico das bactérias redutoras de sulfato. Até sobre condições

óxicas a decomposição da matéria orgânica pode ocorrer pela ação desses organismos, pois na ausência de sulfato, elas utilizam fontes energéticas secundárias, tais como, nitratos, óxido de manganês, oxihidróxidos de ferro e carbono.

Nas colunas de água, a anoxia ocorre a partir da ineficiente circulação e/ou renovação de O₂, ou em locais de intensa degradação da matéria orgânica. O mesmo ocorre para os sedimentos, considerando que o reabastecimento do oxigênio está ligado a bioturbação e a sua composição granulométrica (areia ou argila) (Tribovillard et al., 2006).

A presença de manganês (Mn) nos ambientes também influencia o meio redox e conseqüentemente o comportamento dos metais. Esse elemento é um reservatório móvel responsável por realizar a transferência dos metais traço da coluna d' água para os sedimentos. Os principais elementos influenciados pelo ciclo do Mn são: Ni, Cu, Zn, Co, Pb, Mo, V e Cr (como espécies iônicas) (Tribovillard et al., 2006).

Mas é na paleoceanografia que a demanda de estudos isotópicos dos metais de transição é maior. Anbar e Rouxel (2012) comentam que a motivação está nas possibilidades de obtenção de informações acerca do ciclo biogeoquímico dos metais essenciais e na relação emergente entre as variações isotópicas e a oxigenação dos oceanos.

Os elementos bioessenciais são foco porque a produtividade primária nos oceanos pode ser controlada pela disponibilidade de micronutrientes metálicos ou pela presença de metais tóxicos. A extrapolação das hipóteses de que os teores de ferro nos oceanos afetam a atividade biológica, as mudanças climáticas e a taxa de sequestro de carbono para outros metais, fazem aumentar o interesse pelos elementos biogeoquímicos essenciais como o Cd, Mo, Co, Cu, Mn, Zn e pelos metais potencialmente tóxicos, como o Cd, Cr e o Hg, principalmente em ambientes próximos a atividade antropogênica (Anbar e Rouxel, 2012).

Além disso, Anbar e Rouxel (2012) esclarecem que a história evolutiva da oxigenação dos oceanos influencia a disponibilidade desses metais em outras atividades biológicas, como a redução do sulfato e a fixação do nitrogênio. Sendo assim, os isótopos dos metais tem grande potencial para informar sobre mudanças temporais e espaciais a níveis globais e regionais.

O Mo, por exemplo, é citado em diversos estudos (Anbar e Rouxel, 2012; Anbar, 2004; Barling et al., 2001; McManus et al., 2002; Siebert et al., 2001) como um elemento especialmente aplicável em paleoceanografia em decorrência da sua importância biológica no ciclo de nitrogênio e por apresentar comportamento geoquímico vinculado à taxa de oxigenação no oceano. Montero-Serrano et al. (2009) e Migeon et al. (2015) também destacam seu uso como marcador efetivo das condições de oxidação e redução do ambiente.

Sob condições oxidantes, o molibdênio existe como uma espécie solúvel Mo (VI) e em condições redutoras ele é insolúvel (Migeon et al., 2015). Um enriquecimento deste elemento em sedimentos e em rochas é interpretado como um reflexo dos baixos valores do potencial óxido-redução na coluna de água durante o processo de deposição.

O cobre e o zinco são associados a investigações relacionadas principalmente as atividades biológicas, devido à participação desses metais na composição das enzimas e conseqüentemente no metabolismo dos diversos seres vivos. O cobre, assim como o molibdênio, é um participante ativo das reações redox e também dão indícios das condições redutoras. O zinco se destaca em processos biológicos e como traçador de atividades antrópicas.

Na sequência são abordados os processos relevantes que promovem o fracionamento dos isótopos de Mo, Cu e Zn e as suas aplicações como proxy geoquímicos.

- Molibdênio

O Mo possui sete isótopos estáveis naturais: ^{92}Mo (14,84%), ^{94}Mo (9,25%), ^{95}Mo (15,92%), ^{96}Mo (16,68%), ^{97}Mo (9,55%), ^{98}Mo (24,13%), e ^{100}Mo (9,63%) com abundância variando entre 10 a 25% e uma vida média de 10^9 anos (Anbar e Rouxel, 2012; Anbar, 2004; Montero-Serrano et al., 2009).

O comportamento do Mo se torna particularmente interessante para investigação isotópica por apresentar variações nos estados de oxidação e por ter diferentes opções de razões isotópicas a serem determinadas (Barling et al., 2001; Archer e Vance, 2012), sendo $^{97}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$ e o $^{98}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$ as razões mais comumente relatadas (Hoefs, 2009).

Anbar (2004) descreve o Mo como um elemento incomum em relação a sua distribuição na superfície da Terra. Ele coordena fracamente com outros ligantes frequentes em ambientes sedimentares, tais como o Cl^- e o OH^- e é um dos poucos metais de transição que formam oxianions (Tribovillard et al. 2006). Em pH marinho (8,0 ~8,4) o Mo não é concentrado por plânctons comuns, dificilmente é adsorvido pela maioria das partículas naturais e tem pouca afinidade com a superfície dos minerais argila e carbonatos. Em soluções cujo potencial de óxido redução é maior do que zero ($\text{Eh} > 0$) e em pH maiores do que 5 ($\text{pH} > 5$), ele é encontrado na sua forma mais oxidada, o Mo (VI), prevalecendo na forma do íon molibdato (MoO_4^{2-} - oxianion de coordenação tetraédrica). Esse ânion tem um comportamento conservador e interage fracamente com as partículas em suspensão, tornando o Mo o elemento de transição mais abundante na água do mar (Malinosvky et al., 2005).

Semelhante ao Fe, o Mo é utilizado na fixação do nitrogênio e na associação com a oxigenação dos oceanos. Enquanto o Fe é o quarto elemento mais abundante (~ 5%) na crosta terrestre, o Mo é um elemento vestigial (~1 $\mu\text{g g}^{-1}$). Nos oceanos essa relação se inverte, as concentrações de Fe raramente ultrapassam a 2 nmol Kg^{-1} enquanto que a concentração de Mo é de 105 nmol Kg^{-1} . Em águas oxigenadas, o Fe se oxida e se hidrolisa formando oxihidróxidos férricos insolúveis. Já o Mo é encontrado principalmente na forma do íon solúvel altamente estável (MoO_4^{2-}). Assim, enquanto o Fe tem um curto tempo de residência no oceano, o Mo mantém-se pouco reativo por aproximadamente 800 mil anos (Anbar e Rouxel, 2012).

Em relação à sua interação com o elemento enxofre (S), Montero-Serrano et al. (2009) apresenta a molibdenita (MoS_2) como o principal minério de Mo encontrado na crosta terrestre. Em sistemas oxigenados, o Mo e o S são análogos devido à baixa reatividade nos oceanos e porque ambos são transferidos para a solução durante o processo de intemperismo oxidativo (Barling et al., 2001). Além disso, as semelhanças entre o MoO_4^{2-} e o SO_4^{2-} (número de coordenação, raio iônico) sugerem que a assimilação biológica do Mo possa ser inibida pelo íon sulfato (Barling et al, 2001).

Na presença de H_2S (condições anóxicas), o Mo é facilmente removido da água dos oceanos, de forma que o enriquecimento desse metal nos

sedimentos indica que a deposição se deu em condições redutoras. Os mecanismos de remoção são pouco compreendidos, em parte porque a especiação do Mo, em tais configurações, é complexa devido a reações químicas muito lentas (Anbar, 2004; Tribovillard et al., 2006; McManus et al., 2002).

No entanto, alguns modelos explicam o papel desempenhado pelo sulfeto na fixação do Mo em sedimentos. Em um deles considera-se que o H_2S na coluna d'água não só fixam o Mo por meio da formação das espécies MoS_2 e MoS_3 , como também propiciam a mineralização a partir de complexos inorgânicos que envolvem a participação dos elementos ferro, molibdênio e enxofre. Outra suposição considera que a alta concentração de H_2S/HS^- em ambientes euxínicos transformam o molibdato (MoO_4^{2-} – forma estável conservativa) em tiomolibdato (MoO_xS_{4-x} – espécie reativa). Ao ser produzido, o tiomolibdato é removido da água mediante adsorção em partículas que contém elementos metálicos, especialmente o Fe, e em moléculas orgânicas sulfuradas. O complexo Fe – Mo – S que se forma, mantém-se preservado através dos tempos sobre a superfície da pirita (FeS_2) (Montero-Serrano et al., 2009).

A partir dessas considerações, a presença ou ausência de espécies reativas ou insolúveis de menor valência do Mo pode ser interpretada como uma assinatura de relatos das condições do passado, já que os ambientes euxínicos, onde essas espécies são mais facilmente encontradas, são raros nos oceanos modernos (Scott e Lyons, 2012).

Segundo Scott e Lyons (2012) a maior remoção de Mo da água do mar para os sedimentos, tornando-os enriquecidos ocorre em ambientes anóxicos. A rápida remoção do tiomolibdato da solução tem o potencial de esgotar o reservatório local ou global do Mo dissolvido. Esse fenômeno é mais expressivo no Mar Negro e em xistos pretos antigos, nas quais a composição isotópica do Mo são idênticas à água dos oceanos (Hoefs, 2009; Scott e Lyons, 2012).

Já em ambientes óxicos, ele é capturado da coluna d'água por oxihidróxidos de manganês (Mn-óxidos). O mecanismo de transferência, após captura, consiste em etapas que promove a transferência do Mo para as águas intersticiais e delas para as superfícies dos sedimentos. Para que isso ocorra à

coluna d'água deve estar suficientemente oxigenada para que os oxihidróxidos de Mn se acumulem na interface água-sedimento e as águas intersticiais estejam em condições redutoras para promover a posterior dissolução do Mn, e consequente liberação do Mo para outras reações (Scott e Lyons, 2012).

De acordo com Montero-Serrano et al. (2009), esse processo produz um fracionamento dos isótopos mais leves nos sedimentos ($\delta^{98/95}\text{Mo} \sim -0,7\text{‰}$) enquanto a coluna d'água fica enriquecida dos seus isótopos mais pesados ($\delta^{98/95}\text{Mo}_{\text{água do mar}} \sim 2,3 \text{‰}$). Caso não ocorra a redução, o Mo é eliminado diretamente para a coluna d'água ou então é transferido a partir das águas intersticiais por difusão. Scott e Lyons (2012) afirmam que a sedimentação do Mo associado ao Mn é o fator principal de enriquecimento isotópico da água do mar em condições óxicas, portanto mais comum em oceanos modernos.

Considera-se que o Mo que entra nos oceanos por meio de fontes continentais é isotopicamente fracionado com a remoção da água do mar para sedimentos óxicos ou anóxicos, possuindo distintas assinaturas isotópicas. Aqueles sedimentos isotopicamente mais leves são formados em processos aeróbicos, enquanto os sedimentos sobrepostos em condições anóxicas tem composição próxima a da água do mar (Malinosky et al, 2005).

Vários trabalhos (Barling et al., 2001; McManus et al., 2002; Siebert et al., 2006, Scheiderich et al., 2012; Zhou et al., 2012) reforçam a ideia desse comportamento ambíguo nos diferentes estados de oxidação. Barling et al. (2001) foram os primeiros a observarem o fracionamento de massa natural da composição isotópica do Mo utilizando o MC-ICPMS. Eles avaliaram diferentes padrões representativos dos ambientes anóxicos, óxidos e continentais. O primeiro, composto pelos sedimentos do Mar Negro, sapropel e xisto preto apresentaram os valores de $\delta^{97/95}\text{Mo}$ positivos. Utilizando um padrão de nódulo de ferro-manganês do Oceano Pacífico (USGS: NOD-P-1) obteve valores negativos, enquanto a molibdenita demonstrou valores intermediários entre os demais. Portanto, os valores de $\delta^{97/95}\text{Mo}$ encontrados para as amostras são consistentes com as concepções a respeito dos mecanismos químicos de enriquecimento do Mo em sedimentos marinhos.

Outro exemplo condizente com o comportamento do Mo em ambientes redutores, é o trabalho de Scott e Lyons (2012) que utilizaram os valores de $\delta^{97/95}\text{Mo}$ para mapear os locais na qual o H_2S estava restrito em águas

intersticiais daqueles em que o H_2S estava presente nas águas profundas. Eles observaram que onde o sulfeto e o tiomolibdato estão restritos as águas intersticiais, a concentração do Mo em sedimentos é aproximadamente $10 \mu g L^{-1}$ e raramente superiores a $20 \mu g L^{-1}$. Por outro lado, em ambientes euxínicos, em que o sulfeto de hidrogênio está presente na coluna de água, as concentrações de Mo aumentam para $60 \mu g L^{-1}$, podendo chegar a $100 \mu g L^{-1}$.

Em águas de rios, Pearce et al. (2010) encontraram valores para o $\delta^{98/95}Mo$ variando entre 0,15 a 2,4‰, sendo portanto, mais enriquecidos em relação a composição da crosta continental ($\sim 0‰$). Ao longo da bacia hidrográfica, também foram observadas mudanças na composição isotópica do Mo dissolvido, variando de 0‰ próximo das nascentes e de $\sim 1‰$ a jusante, associados ao processo de intemperismo. Além disso, a análise de outras fontes fluviais, tais como, os coloides e os precipitados de ferro, demonstraram uma incorporação preferencial dos isótopos mais leves, principalmente na região do estuário em que ocorre o aumento na salinidade da água.

Para minerais e sedimentos de água doce os estudos também indicam mudanças na composição isotópica. Malinovsky et al. (2007) encontraram nas frações de sedimentos detríticos de dois lagos na Suíça, variações de $-0,6 \pm 0,15 ‰$ a $0,05 \pm 0,18 ‰$. Embora as águas do lago contribuam de forma insignificante para o balanço hídrico dos principais rios, e a influência dos meios de drenagens dentro das bacias ainda ser pouco estudada, uma extrapolação sugere que Mo transportado pelos rios possam refletir a variabilidade isotópica nas bacias de drenagem (Malinovsky et al., 2007).

Outra investigação importante do Mo é a sua interação com a matéria orgânica. Scott e Lyons (2012) e Siebert et al. (2006) discutem a compatibilidade entre a concentração de Mo e a sua assinatura isotópica com a taxa de material orgânico reativo depositado nos sedimentos. As reações de decomposição do carbono orgânico podem envolver a participação do sulfato como via metabólica e conseqüentemente abranger o molibdênio. Siebert et al. (2006) acreditam que são necessários dados adicionais, mas se essa relação persistir sob outras condições, significa que os isótopos de Mo poderão ser eficientes indicadores para ciclagem de carbono no ambiente.

Quanto aos meios formadores de minérios, o comportamento isotópico de Mo permanece praticamente desconhecido.

- Cobre

O cobre (Cu) é um metal de transição do grupo 11, cuja configuração eletrônica é $3d^{10} 4s^1$. Esse metal ocorre em dois estados de oxidação, Cu (I) e Cu (II), sendo o último o mais estável. Os íons Cu^+ e o Cu^{3+} só existem na forma de complexos ou em compostos pouco solúveis. Os minérios mais comuns são os sulfetos: a calcopirita ($CuFeS_2$); calcocita (Cu_2S) e a bornita (Cu_5FeS_4), e em condições oxidantes: o carbonato de cobre ($CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$), o óxido cuproso (Cu_2O), dentre outros (Lee, 1999).

Em relação à abundância isotópica, o Cu possui dois isótopos estáveis naturais: ^{63}Cu (69,17%) e ^{65}Cu (30,83%) e uma grande capacidade em formar variados complexos com diferentes números de coordenações. Essa propriedade é apontada, por Hoefs (2009), como um pré-requisito para ocorrência de fracionamento isotópico significativo.

Tribovillard et al. (2006) destacam que em ambientes marinhos óxicos, o Cu é um ligante constantemente presente em complexos organometálicos e, em menor frequência, unido ao íon cloreto presente na solução ($CuCl^+$). A extração e o enriquecimento do Cu em sedimentos estão associados à complexação com a matéria orgânica e com a adsorção em partículas de oxihidróxidos de Fe-Mn. Conseqüentemente, a decomposição desses componentes libera o Cu nas águas intersticiais. Ele pode ser incorporado à pirita ou formar fases com o sulfeto (CuS e CuS_2). Em condições redutoras o Cu (II) é transformado em Cu (I) pela ação das bactérias que oxidam o sulfato. Em sedimentos hemipelágicos, o Cu diagenético é fixado nos minerais nontronita e esmectita (Tribovillard et al., 2006).

O cobre é o terceiro metal de transição mais abundante, sendo superado somente pelos elementos ferro e zinco. Ele é um micronutriente essencial para os seres vivos e nos principais reservatórios da superfície da Terra ele é quantitativamente identificado (Little et al., 2014). Ele desempenha um papel essencial à vida, sendo útil a uma série de enzimas e proteínas encontradas em animais e plantas. Acima de certos níveis, ele é considerado biologicamente tóxico. Na água do mar, sua forma dominante é Cu (II) ligado a complexos orgânicos. Mudança na sua especiação tem importantes

implicações em relação à biodisponibilidade e a toxicidade (Anbar e Rouxel, 2012).

Por ser um metal de grandes aplicações industriais e tecnológicas, o Cu vem sendo explorado desde a pré-história. De acordo com Maher (2005) esse fato promove maior interesse nos meios de investigação, possibilitando o conhecimento direto a respeito do seu comportamento na gênese de depósitos minerais. Contudo, Anbar e Rouxel (2012) elucidam que os conhecimentos sistemáticos dos processos cinéticos e de equilíbrio dos fracionamentos isotópicos do Cu ainda são muito incompletos, principalmente nos oceanos.

Conforme Hoefs (2009), o fracionamento isotópico do Cu geralmente ocorre em temperaturas mais baixas. Grande parte das pesquisas atuais tem sido focada nos mecanismos de fracionamento nessas condições (Marèchal e Albarède, 2002; Zhu et al., 2002; Erlich et al., 2004). No entanto, em alguns trabalhos (Maher, 2005; Larson et al., 2003) se observa um fracionamento relevante para o Cu em temperaturas elevadas. Larson et al. (2003), por exemplo, observaram variações de $\delta^{65/63}\text{Cu} > 2 \text{ ‰}$ em altas temperaturas ao investigar os skarn e os minérios de cobre pórfiro.

Anbar e Rouxel (2012) relatam que recentes estudos de isótopos de Cu foram direcionados para os processos de fracionamento em sistemas hidrotermais do fundo do mar (Rouxel et al., 2004; Zhu et al., 2000), em rochas magmáticas, em depósitos supergênicos de Cu (Larson et al., 2003) e em processos de lixiviação de minerais de cobre. As maiores variações isotópicas são observadas em sulfetos, que foram alterados por fluidos hidrotermais de alta temperatura, ou em processos de oxidação no fundo dos oceanos (Larson et al., 2003; Rouxel et al., 2004). Algumas suposições são levantadas para justificar esse fato, como por exemplo, considerar que a variação encontrada seja em decorrência da mistura de cobre vindo de reservatórios distintos, tal como é observado para os isótopos estáveis tradicionais, ou então, que ela seja produto dos processos de lixiviação ou de precipitação (Mahen, 2005).

Quanto aos processos redox, os estudos (Erlich et al., 2004; Zhu et al., 2002; Anbar e Rouxel, 2012) têm indicado a redução do Cu (II) a Cu (I) como o principal processo de fracionamento isotópico desse elemento em sistemas naturais. Com isso, os isótopos de Cu apresentam-se com potencial para revelar as condições redox em ambientes marinhos menos oxigenados.

Exemplo disso, tem-se Albarède (2004), que encontrou grandes variações do $\delta^{65/63}\text{Cu}$ em águas intersticiais e em sedimentos marinhos formados em ambientes subóxicos e anóxicos (faixa entre -0,94 a -2,83 ‰) . Anbar e Rouxel (2012) divulgam que nesse processo, os precipitados na forma Cu (I) são de 3 a 5 ‰ mais leves do que as espécies Cu (II) dissolvidos durante seu processo de redução.

Sendo assim, os isótopos de Cu tornam-se fortemente fracionados durante os processos redox (Bigalke et al., 2013). Por essa razão, Markl et al. (2006) consideram mais conveniente a utilização dos isótopos de Cu para decifrar dados dos processos redox naturais, do que considerá-los como “impressões digitais” na identificação de suas origens, uma vez que a variação causada por processos redox dentro de um único depósito é normalmente muito maior do que a variação inter depósito. Essa conclusão converge para Zhu et al. (2000) que ao analisarem amostras de ambientes aquosos e de baixa temperatura perceberam que elas exibiam grandes variações, enquanto a calcopirita se manteve invariável.

Em atividades de ciclagem bioquímica, Zhu et al. (2002) relatam um fracionamento isótopo de até 1,5 ‰ associadas aos processos de absorção biológica. Enquanto Albarède (2004) definiu, para as camadas superficiais dos nódulos de Fe-Mn, um desvio de 0,31‰.

A respeito dos valores das composições isotópicas nos reservatórios terrestres Sorte et al. (2003), Rouxel et al. (2004) e Maréchal et al. (1999) demonstram haver pouca variação isotópica entre os diferentes tipos de rochas (com todas as rochas ígneas variando de -0,4 a 0,5 ‰). Amostras desta investigação consistem em calcopirita, bornita, calcocita, cobre nativo, cuprita, covelite, azurita e sulfato de cobre. O conjunto de dados para amostras representativas da crosta continental - rochas de silicato e sedimentos clásticos - ainda é pequena (Maréchal et al., 1999; Archer e Vance, 2004), mas os dados disponíveis para sedimentos do fundo do mar, arenito, xisto e basalto dão uma média de $\delta^{65}\text{Cu}$ de $+ 0,16 \pm 0,16$ ‰. (Vance et al 2008).

Vance et al. (2008) divulgaram os primeiros dados isotópicos do Cu nos rios , bem como dados preliminares para estuários e para a água do mar. Em rios de grande porte os valores de $\delta^{65}\text{Cu}$ são enriquecidos ($\delta^{65}\text{Cu} = + 0,02$ a $+ 1,45$ ‰). Em dois estuários da Inglaterra os valores de $\delta^{65}\text{Cu}$ são menores (+

0,42 a + 0,94 ‰), havendo um rápido decréscimo para valores de $\delta^{65}\text{Cu}$ perto da foz do estuário.

Além disso, os isótopos de Cu em rios e em ambientes marinhos estão na forma de Cu^{+2} dissolvido e adsorvido. A fração dissolvida é enriquecida em isótopos pesados, provavelmente devido à forte complexação por ligantes orgânicos, enquanto a fração adsorvida apresenta valores menores para o $\delta^{65}\text{Cu}$ (Vance et al., 2008). Amostras de água do mar, geralmente apresentam valores de delta para o Cu mais pesados ($\delta^{65}\text{Cu} = 0,9 - 1,5 \text{ ‰}$ – Vance et al. 2008) do que na entrada fluvial ($\delta^{65}\text{Cu} = 0,68 \text{ ‰}$ – Little et al., 2014), implicando um processo marinho que os fraciona e uma resultante sedimentar isotopicamente mais leve. Para o sistema de isótopos de molibdênio, isso ocorre pela sorção nos óxidos de Fe-Mn, e esta composição isotópica leve é registrada em crostas Fe-Mn. A mesma investigação realizada para Cu e em crostas de Fe-Mn das principais bacias oceânicas, produziu $\delta^{65/63}\text{Cu} = + 0,44 \pm 0,23\text{‰}$. Assim, para os isótopos de Cu, a produção de óxidos de Fe-Mn em particulados pode explicar a composição isotópica pesada dos oceanos (Little et al., 2014).

Em amostras de solo estudados por Bigalke et al. (2013) os valores de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ variaram sistematicamente com a profundidade (de -0,02 a 0,16 ‰), sugerindo que o fracionamento isotópico ocorre pós-sedimentação em resposta as oscilações das condições redox e pela deposição de matéria orgânica sazonalmente variável.

- Zinco

O zinco (Zn) é um metal de transição pertencente ao grupo 12 da tabela periódica, cuja configuração eletrônica é $d^{10} s^2$. Os elementos desse grupo possuem baixos pontos de fusão e ebulição, o que os tornam mais reativos. O Zn participa da constituição de cerca de vinte enzimas, destacando-se sob o ponto de vista biológico. Na formação da Terra ele foi depositado na forma de sulfeto (ZnS), que por intemperismo hidrotermal transformou-se em carbonatos e silicatos (Lee, 1999). Os cinco isótopos estáveis do Zn, com as suas respectivas abundâncias são: ^{64}Zn (48,63%), ^{66}Zn (27,90%), ^{67}Zn (4,10%), ^{68}Zn (18,75%) e ^{70}Zn (0,62%) (Hoefs, 2009).

Ele é um nutriente biológico essencial também nos oceanos, sendo o segundo metal mais abundante nesse meio. Sua concentração é controlada por absorção pelo fitoplâncton e pela remineralização (Hoefs, 2009). Mantém-se conservado em conchas de carbonato e nas diatomáceas e está correlacionado com a sílica na água do mar; características que o tornam útil na paleoceanografia. As razões Zn/Ca e Zn/Si podem ter aplicações semelhantes aos isótopos de N e de Si no rastreamento da ciclagem dos nutrientes na água do mar (Anbar e Rouxel, 2012) e o fracionamento isotópico do Zn em diatomáceas já demonstrou ter relação com a sua quantidade biologicamente absorvida (Hoefs, 2009).

Tribovillard et al. (2006) identificam que em ambientes marinhos, o Zn se comporta como um micronutriente e pode ser encontrado principalmente complexado aos ácidos húmicos/fúlvicos ou nas formas Zn^{2+} ou $ZnCl^+$, adsorvido nas partículas de oxihidróxidos-Fe-Mn e na matéria orgânica. Após processos de decomposição e dissolução desses materiais, o metal é liberado para as águas intersticiais. Em condições de redução (nomeadamente como zona de redução bacteriana) ele pode ser precipitado na forma de ZnS, se associar a pirita ou formar os seus próprios sulfetos (esfalerita $[Zn, Fe] S$) (Tribovillard, 2006).

De acordo com Brayan et al. (2015), os sedimentos marinhos contendo ferromanganês são os maiores sumidouros de Zn da água do mar, sendo as amostras naturais mais pesadas analisadas até hoje. Esse fracionamento contrasta com a composição isotópica dos metais em sedimentos que geralmente são leves relativos aos oxihidróxidos de Fe-Mn. Esse resultado sugere que a água do mar também seja enriquecida do isótopo mais pesado e que haja uma captação preferencial dos isótopos leves pelos plânctons.

Assim, o fracionamento isotópico do Zn entre a água do mar e os sedimentos é considerado insignificante, indicando que os fatores biológicos são mais importantes se comparados aos processos de adsorção em materiais inorgânicos (Gelabert et al., 2006; Cloquet et al., 2007). O Zn, diferentemente do Cu e do Mo, demonstra pouca participação em reações redox, devido ao seu permanente estado divalente.

Como consequência se observa uma pequena variação nos valores para a razão $\delta^{66/64}Zn$ em amostras geológicas, como minérios e sedimentos

(menores que 1 ‰, dentro do intervalo de 0,13 ‰ a 0,82 ‰) (Marèchal et al., 1999; Marèchal e Albarède, 2002; Archer e Vance, 2002; Hoefs, 2009).

Além disso, outras amostras geológicas apresentam um significativo enriquecimento dos isótopos pesados do Zn em relação ao MRC Lyon JMC: nódulos de ferromanganês ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,5$ a $1,2$ ‰; Marèchal et al., 1999), crostas de ferromanganês ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,8$ a $1,2$ ‰; Little et al., 2014) e carbonatos ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,3$ a $1,4$ ‰; Pichat et al., 2003).

Os dados isotópicos do Zn também são utilizados nas investigações da sua ciclagem biológica, devido à probabilidade de assimilação em águas superficiais por diatomáceas, resultando na absorção preferencial dos seus isótopos leves (Bigalke et al., 2013).

Peel et al. (2009) analisaram partículas sedimentares do Lago Greifen, na Suíça e avaliaram os fracionamentos isotópicos do Zn em relação ao ciclo sazonal de produtividade e disponibilidade de nutrientes. Eles encontraram composições isotópicas do $\delta^{66/64}\text{Zn}$ entre $-0,44$ ‰ e $-0,66$ ‰ em amostras coletadas de junho a setembro. Esses valores são explicados pela absorção preferencial dos isótopos leves de Zn durante o crescimento das algas (período de alta produtividade biológica) e valores mais elevados de $\delta^{66/64}\text{Zn}$ nos demais meses do ano (o valor médio de $-0,2$ ‰) relacionados ao aporte do metal por meios antropogênicos ou litogênicos.

As razões isotópicas de zinco também são adequadas para traçar contaminação antrópica devido aos fracionamentos cinéticos durante a evaporação, a condensação, a adsorção e a difusão, provocando diferenças entre as razões encontradas em resíduos, produtos metálicos e emissões atmosféricas (Cloquet et al., 2006; Bigalke et al., 2013).

Foram encontradas variações de $\delta^{66/64}\text{Zn}$ em bacias hidrográficas associadas a contribuições do aporte de Zn proveniente da contaminação pela drenagem de uma mina ácida (Borrok et al., 2009), de cargas suspensas (decorrentes de erosão e de efluentes de esgoto) dispensadas no Rio Sena (Chen et al., 2009) e em sedimentos de um lago urbano obtidos entre camadas depositadas antes e durante a operação de uma fundição próxima, e em camadas depositadas depois que a fundição parou de funcionar (Thapalia et al., 2010).

Luck et al. (1999) identificaram diferenças significativas para o $\delta^{66}\text{Zn}$ nas águas pluviais entre as áreas rurais (0 a 0,15 ‰) e as áreas urbanas (-0,2 a -0,1‰) que foram associadas a contaminação de Zn pela atividade humana. Enquanto Dolgoplova et al. (2006) relatam a composição isotópica do Zn em líquens em área de mineração na Rússia com valores de $\delta^{66}\text{Zn}$ (0.44 ‰ a 1.33 ‰).

Sirvy (2007) avaliou o impacto da atividade metalúrgica do Zn em sistemas fluviais. Os isótopos proveniente dos rejeitos da metalurgia mostraram-se altamente fracionados (atingindo valores de até $\delta^{66/64}\text{Zn} = 1,49$ ‰) em relação ao minério ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,16$ ‰). A análise dos sedimentos do rio a jusante da mina foi de $\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,91$ ‰ e a montante $\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,31$ ‰. Esses resultados, em conjunto com outras evidências, permitiram concluir que houve um enriquecimento isotópico com a exploração do minério de zinco, confirmado pela entrada do metal na bacia devido a drenagem dos rejeitos.

Foram possíveis também encontrar valores mais baixos para as variações isotópicas do Zn em fluidos hidrotermais, inferindo que a precipitação do sulfeto de zinco pode ser um fator importante na determinação de variações $\delta^{66/64}\text{Zn}$ e nas atividades antropogênicas, onde os produtos industriais mostram-se mais leves que em minérios de Zn. Hoefs (2009) cita o valor de -1,5 ‰ para depósitos de esfarelita, que foram interpretadas como um fracionamento cinético ocorrido pela rápida precipitação desse minério.

Anbar e Rouxel (2012) descrevem uma investigação sobre o registro de isótopos de Zn em carbonatos no fundo do mar. Nos últimos 175 mil anos encontraram variações de valores $\delta^{66/64}\text{Zn}$ de 0,6 até 1,2 ‰. Os pesquisadores atribuíram essas variações a mudanças seculares na composição isotópica do Zn nas águas superficiais, devido ao efeito competitivo nas atividades biológicas.

Diversos estudos (Bigalke et al., 2013; Little et al., 2014; Vance et al., 2016) avaliaram o comportamento dos isótopos de Zn nos processos ocorridos nos solos sugerindo a não ocorrência de fracionamento na pedogênese. A composição geral do isótopo de Zn no solo ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,22$ – $0,30$ ‰) estão de acordo com os valores para as rochas ígneas ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,2$ – $0,5$ ‰) e para sedimentos de lago ($\delta^{66/64}\text{Zn} = 0,30 \pm 0,05$ ‰; Sonke et al., 2008; $\delta^{66}\text{Zn} = 0,39 \pm 0,09$ ‰; Thapalia et al., 2010).

As figuras 1, 2 e 3, apresentam a variação nos valores de delta dos fracionamentos isotópicos do Mo, Cu e Zn em diferentes amostras naturais.

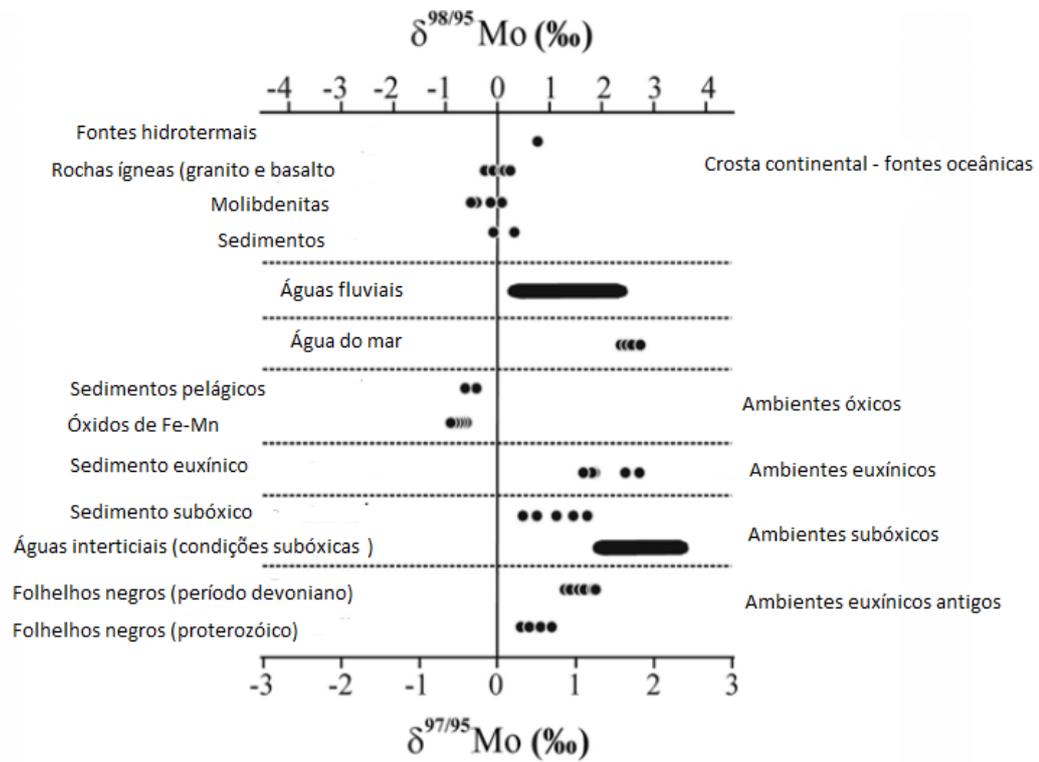


Figura 1. Fracionamento isotópico do Mo em amostras naturais. Fonte: McManus et al. (2002); Siebert et al. (2003); Barling et al. (2001); Arnold et al. (2004); Archer e Vance (2008)

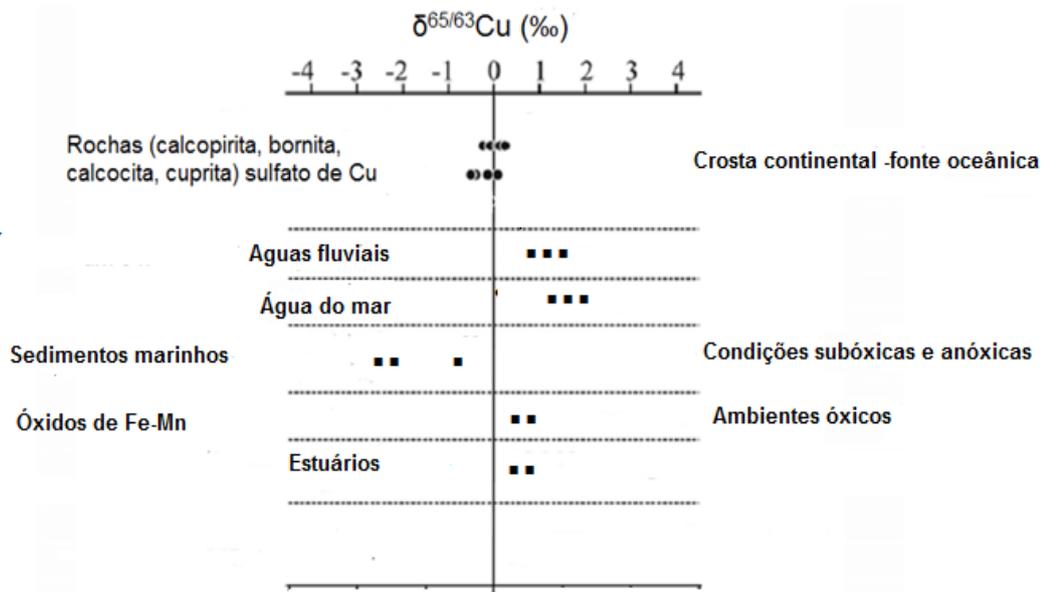


Figura 2. Fracionamento isotópico do Cu em ambientes naturais. Fontes: Maréchal et al. (1999); Zhu et al. (2002); Albarède et al. (2004); Vance et al. (2008); Little et al. (2014)

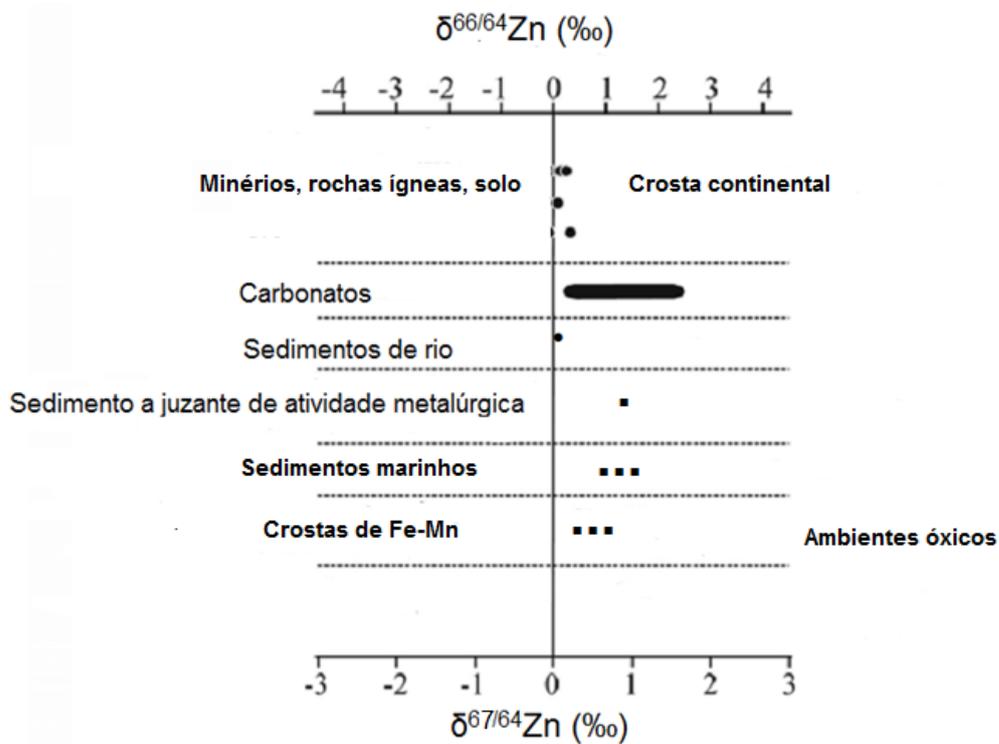


Figura 3. Fracionamento isotópico do Zn em amostras naturais. Fontes: Maréchal et al. (1999), Hoefs (2009); Sirvry (2007); Anbar e Rouxel (2012); Little et al (2014)

4. Técnica de separação e purificação dos metais em colunas cromatográficas

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e sistema multicoletor é o método mais indicado para determinação das razões isotópicas dos metais, mas que pode produzir resultados incorretos em caso de matrizes complexas que não são devidamente preparadas.

Além das etapas de decomposição ácida, são necessárias as separações e as purificações dos analitos da amostra para melhoria dos limites de detecção, exatidão e precisão. Em especial, porque os elementos a serem investigados são encontrados em quantidades traço.

A técnica mais comum de separação de metais em amostras geológicas é a cromatografia de troca iônica. Nesse processo, a separação precisa remover o máximo de componentes da matriz que possam provocar interferências espectrais e ainda obter a recuperação máxima dos elementos de interesse, evitando os efeitos de matriz e a ocorrência de fracionamento isotópico na coluna cromatográfica (Marèchal et al., 1999; Anbar et al., 2001; Siebert et al., 2001; Marèchal e Albarède, 2002; Pietruska et al., 2006).

Anbar et al. (2001) relatam que a detecção desses efeitos de fracionamentos induzidos requerem técnicas analíticas capazes de medir as diferenças de composição isotópica entre as amostras e os padrões de referência, com uma precisão melhor do que 1 ‰. Os autores esperam que tais precisões sejam úteis na elucidação dos mecanismos de fracionamentos naturais e conseqüentemente, extensivos à compreensão dos processos químicos ambientais envolvendo os metais de transição. Entretanto, conforme Wieser e Laeter (2007), o valor do fracionamento isotópico que ocorre na coluna é, muitas vezes, negligenciável, desde que o procedimento de extração seja altamente eficiente.

Sendo assim, a etapa de separação cromatográfica discutida nesta seção, se caracteriza como um dos maiores desafios analíticos a ser enfrentado e, portanto, será mais bem discutida. Quanto ao processo de abertura da amostra foi empregada à digestão ácida seguindo um método já consolidado e será abordada em detalhes somente na seção de materiais e métodos.

4.1. Cromatografia de troca iônica

O princípio básico do método consiste na seleção de solutos de carga de sinais contrários à fase estacionária. A adsorção ocorre de forma reversível entre a fase móvel (eluente) e o grupo trocador (íons, moléculas ou complexos) devido à diferença de afinidade eletrostática entre eles. Posteriormente, o soluto é eluído pelo fluxo de íons que possui maior força de interação com a fase estacionária (Petit, 2009).

De acordo com Collins et al. (2006) a fase estacionária é composta de material poroso, insolúvel em água e em solventes orgânicos. A definição pelo melhor material deve levar em consideração a granulometria, o grupo funcional, a porosidade (distribuição das partículas) e a força iônica do meio. Já a especificidade do soluto reativo (volume, concentração) é determinada pela calibração do método (Petit, 2009).

Collins et al. (2006) ressaltam que os grupos de troca mais eficientes são aqueles com maior quantidade de ligações cruzadas. É o caso das resinas aniônicas compostas por grupamentos divinilbenzeno usadas na separação de metais em colunas cromatográficas. Nesses trocadores, quanto mais grupamentos divinilbenzeno mais permutas poderão ser realizadas nessa resina, não só por aumentar os sítios de troca, como também por conferir a ela maior resistência à compressão ou expansão em meio aquoso (Petit, 2009).

Essa propriedade (a porosidade) está vinculada a outro parâmetro igualmente importante para a escolha do grupo trocador, que é a força iônica do meio. De acordo com Petit (2009), quanto maior o número de grupamentos divinilbenzeno, menos porosa será a resina e maior a força iônica do meio, aumentando assim, as interações eletrostáticas entre os íons na coluna.

Os números que aparecem na classificação X-1, X-2, X-4, X-8, X-12 e X-16 das resinas comerciais definem os indicadores da porcentagem de grupos divinilbenzeno presentes na mistura polimerizante (Collins et al., 2006). A estrutura típica de uma resina que contém o grupo divinilbenzeno é mostrada na Figura 4.

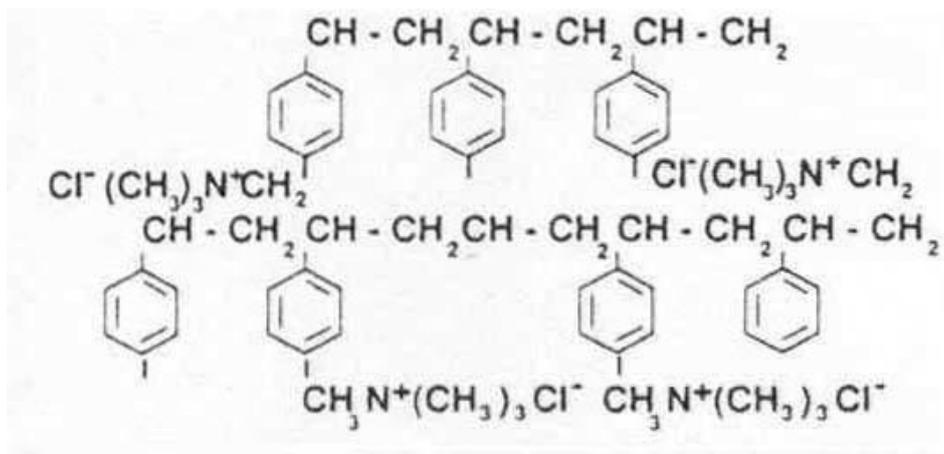


Figura 4. Divinilbenzeno com substituição parcial do grupamento amônio por íons cloreto. Fonte: Petit (2009)

Esses grupos trocadores são utilizados desde a década de 1950, quando Krauss e Moore (1952) realizaram um estudo do comportamento dos metais de transição em colunas cromatográficas. A resina empregada foi a Dowex-1, composta de uma amina quaternária de poliestireno-divinilbenzeno. Eles obtiveram a separação desses elementos a partir de diferentes soluções de ácido clorídrico, pois nesse meio, a maioria deles formam complexos aniônicos com o cloro. Sequencialmente foram empregadas soluções de HCl nas concentrações 12, 6, 4, 2,5, 0,5 e 0,005 mol L⁻¹ e os elementos separados a partir dessa ordem foram Ni, Mn, Co, Cu, Fe e Zn. Essa diferença de afinidade pela resina em função da concentração do ácido permitiu identificar a seletividade dos metais na coluna, tornando possível estabelecer procedimentos eficientes de separação para os diferentes elementos numa mesma matriz.

As resinas disponíveis para essa finalidade são bastante diversificadas. As mais comumente empregadas para separação de metais em amostras ambientais são aquelas mais finas (200-400 mesh ou superior) e de alto grau analítico definido por AG. Elas estão disponíveis em vários tipos e são definidas pelo tamanho da malha. Quanto maior a malha, maior o tamanho das partículas constituintes e, maior será o fluxo do eluente na coluna.

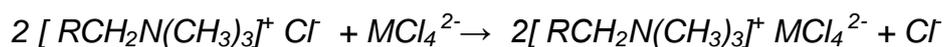
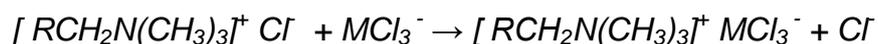
Com base em publicações recentes e nas considerações gerais mencionadas, as resinas AG-MP-1 e AG1-X8 se destacam por serem as mais adequadas. Elas possuem a característica de serem potentes permutadoras de ânions, contendo os grupos funcionais de amônio quaternário, ligados ao

copolímero reticulado de estireno divinil benzeno. Essas ligações cruzadas deixam-nas mais permeáveis as substâncias de peso molecular elevado quando comparada a uma resina altamente reticulada de diâmetro seco equivalente. Comparativamente, a resina AG1-X8 é mais seletiva, mais reticulada e menos porosa em relação à AG-MP-1 (Collins et al., 2006).

O mecanismo de reação do processo de troca iônica para separação de metais consiste em três etapas. Na primeira, definida como condicionamento da coluna, ocorre a passagem do ácido clorídrico provocando a complexação dos íons Cl^- com o grupamento amônio da resina. Esse processo a torna apta para realização de trocas aniônicas.

Na segunda etapa, onde há o carregamento da amostra com HCl, ocorre à retenção das espécies químicas que possuem afinidade com a resina e a eliminação das partículas que não interage na coluna, devido à incompatibilidade com os sítios de troca (as cargas positivas e as cargas neutras).

Portanto, no estado de equilíbrio, temos um radical hidrofóbico (R) ligado a um eletrólito (grupo amônio quartenário) que se encontra complexado ao íon Cl^- . Essa espécie interage com os complexos metálicos provenientes da amostra promovendo as permutas intercambiáveis, conforme as representações abaixo:



Por último, ocorre a passagem de soluções ácidas que possuem íons que são adsorvidos na coluna no lugar do metal. Isso ocorre por dois motivos: ou porque esses íons têm mais afinidade eletrostática com a resina ou em casos de afinidades menores ou equivalentes, estes íons de troca se encontram em uma concentração mais elevada. Esta segunda condição explica o mecanismo de regeneração da coluna para a sua reutilização, pois o restabelecimento do equilíbrio é atingido passando um volume do primeiro eluente de 5 a 10 vezes maior que a capacidade da resina. Nesse caso, o grau de afinidade é superado pela maior concentração de íons (Collins et al., 2006).

4.2. Evolução dos métodos de purificação para Cu, Zn e Mo

Marèchal et al. (1999) propuseram um método de separação para Cu e Zn com o uso de uma resina fortemente básica de troca aniônica em meio ácido (HCl).

Este método tem sido a principal referência nos estudos isotópicos dos metais e diversas adaptações foram realizadas no intuito de melhorar o processo de separação e minimização do fracionamento isotópico induzido (Anbar et al., 2001). Das alterações realizadas destacam-se: a diminuição no tamanho e no volume da resina (Archer e Vance, 2004); o aumento no número de colunas cromatográficas e/ou na quantidade de passagens da amostra na coluna (Chapman et al., 2006; Petit, 2009), o aumento nos volumes e nas concentrações dos eluentes empregados (Chapman et al., 2006).

A Tabela 1 destaca os possíveis elementos presentes nas matrizes que dificultam a análise dos isótopos de Cu e Zn em MC-ICPMS. Eles produzem significativas interferências e por isso devem ser eliminados pelo processo de separação.

Tabela 1. Principais interferentes para o Cu e o Zn em medições isotópicas em MC-ICPMS. Adaptado de Chapman et al. (2006)

Isótopo	Interferência isobárica	Íons de dupla carga	Espécies poliatômicas	
^{63}Cu	^{64}Ni		$^{23}\text{Na}^{40}\text{Ar}^+$, $^{47}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$, $^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2^+$	
^{64}Zn			$^{24}\text{Mg}^{40}\text{Ar}^+$, $^{48}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$, $^{48}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$,	
^{65}Cu			$^{130}\text{Ba}^{2+}$	$^{25}\text{Mg}^{40}\text{Ar}^+$, $^{49}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$, $^{33}\text{S}^{16}\text{O}_2^+$, $^{32}\text{S}^{33}\text{S}^+$,
^{66}Zn			$^{132}\text{Ba}^{2+}$	$^{26}\text{Mg}^{40}\text{Ar}^+$, $^{50}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$, $^{50}\text{V}^{16}\text{O}^+$, $^{50}\text{Cr}^{16}\text{O}^+$,
^{67}Zn			$^{134}\text{Ba}^{2+}$	$^{27}\text{Al}^{40}\text{Ar}^+$, $^{51}\text{V}^{16}\text{O}_2^+$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^{+2}$,
^{68}Zn	^{70}Ge	$^{136}\text{Ba}^{2+}$,	$^{28}\text{Si}^{40}\text{Ar}^+$, $^{52}\text{Cr}^{16}\text{O}^+$, $^{35}\text{S}^{16}\text{O}^{+2}$,	
		$^{136}\text{Ce}^{2+}$	$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$, $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}_2^+$, $^{32}\text{S}^{36}\text{S}^+$,	
^{70}Zn		$^{140}\text{Ce}^{2+}$,	$^{30}\text{Si}^{40}\text{Ar}^+$, $^{54}\text{Cr}^{16}\text{O}^+$, $^{54}\text{Fe}^{16}\text{O}^{+2}$,	
		$^{139}\text{La}^{2+}$	$^{54}\text{Fe}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}_2^+$, $^{35}\text{Cl}^{2+}$	

Para a purificação do Mo não há entre os trabalhos pesquisados (Barling et al. 2001; Anbar et al., 2001; Wieser e Laeter, 2000; Siebert et al., 2001, Migeon et al., 2015) um referencial comum entre eles. O que se observa, na sua maioria, é a aplicação de duas colunas cromatográficas contendo resinas de funções opostas. A primeira de troca aniônica, tem como finalidade a separação dos elementos diversos da matriz, principalmente o Zr e o Mn. A segunda coluna, de troca catiônica, normalmente é inserida para realizar a separação do ferro.

A maior dificuldade na separação do molibdênio da maioria das amostras geológicas é sua baixa concentração. A única exceção é a molibdenita, MoS_2 , um mineral em que Mo é o principal constituinte (Malinosvsky et al., 2005). Nas etapas de separação, os estudos enfatizam a retirada do Zr das amostras, tanto por ser um interferente isobárico direto, como também por ser normalmente usado como fator de correção do fracionamento de massa instrumental. O Fe também é considerado outro grande obstáculo, justificando a introdução de uma segunda coluna destinada exclusivamente para a sua remoção (Siebert et al., 2001; Wieser e Laeter, 2000, Malinosvsky et al., 2005).

As melhorias e/ou adaptações realizadas ao longo dos anos, são divulgadas pelos mesmos autores na continuidade das suas publicações (Siebert et al., 2003; Siebert et al., 2006; Wieser e Laeter, 2002).

Os principais interferentes químicos para análise do Mo em MC-ICPMS estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Principais interferentes para o Mo em medições isotópicas em MC-ICP-MS. Adaptado de Malinovsky et al (2005)

Isótopo	Interferência isobárica	Íons de dupla carga	Espécies poliatômicas
^{92}Mo	^{92}Zr	$^{184}\text{W}^{2+}$, $^{184}\text{Os}^{2+}$	$^{76}\text{Se}^{16}\text{O}^+$, $^{76}\text{Ge}^{16}\text{O}^+$, $^{75}\text{As}^{17}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{54}\text{Fe}^+$, $^{38}\text{Ar}^{54}\text{Cr}^+$, $^{62}\text{Ni}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{59}\text{Co}^{15}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{57}\text{Fe}^{35}\text{Cl}^+$, $^{55}\text{Mn}^{37}\text{Cl}^+$,
^{94}Mo	^{94}Zr	$^{188}\text{Os}^{2+}$	$^{78}\text{Se}^{16}\text{O}^+$, $^{56}\text{Fe}^{38}\text{Ar}^+$, $^{54}\text{Fe}^{40}\text{Ar}^+$, $^{58}\text{Ni}^{36}\text{Ar}^+$, $^{54}\text{Cr}^{40}\text{Ar}^+$, $^{64}\text{Zn}^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{63}\text{Cu}^{15}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{62}\text{Ni}^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{59}\text{Co}^{35}\text{Cl}^+$, $^{57}\text{Fe}^{37}\text{Cl}^+$
^{95}Mo		$^{190}\text{Os}^{2+}$	$^{78}\text{Se}^{16}\text{OH}^+$, $^{55}\text{Mn}^{40}\text{Ar}^+$, $^{57}\text{Fe}^{38}\text{Ar}^+$, $^{59}\text{Co}^{36}\text{Ar}^+$, $^{65}\text{Cu}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{64}\text{Zn}^{15}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{58}\text{Ni}^{37}\text{Cl}^+$ $^{58}\text{Fe}^{37}\text{Cl}^+$
^{96}Mo	^{96}Zr $^{96}\text{Ru}^+$	$^{192}\text{Os}^{2+}$	$^{80}\text{Se}^{16}\text{O}^+$, $^{56}\text{Fe}^{40}\text{Ar}^+$, $^{58}\text{Ni}^{38}\text{Ar}^+$, $^{65}\text{Cu}^{15}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{66}\text{Zn}^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{64}\text{Ni}^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{61}\text{Ni}^{35}\text{Cl}^+$ $^{59}\text{Co}^{37}\text{Cl}^+$
^{97}Mo		$^{192}\text{Pt}^{2+}$	$^{80}\text{Se}^{16}\text{OH}^+$, $^{57}\text{Fe}^{40}\text{Ar}^+$, $^{59}\text{Co}^{38}\text{Ar}^+$, $^{61}\text{Ni}^{40}\text{Ar}^{16+}$, $^{58}\text{Fe}^{40}\text{Ar}$, $^{68}\text{Zn}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{63}\text{Cu}^{35}\text{Cl}^+$ $^{61}\text{Ni}^{37}\text{Cl}^+$, $^{63}\text{Cu}^{37}\text{Cl}^+$
^{98}Mo	$^{98}\text{Ru}^+$	$^{196}\text{Pt}^{2+}$	$^{82}\text{Se}^{16}\text{O}^+$, $^{58}\text{Ni}^{40}\text{Ar}^+$, $^{58}\text{Fe}^{40}\text{Ar}^+$, $^{68}\text{Zn}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{63}\text{Cu}^{35}\text{Cl}^+$, $^{61}\text{Ni}^{37}\text{Cl}^+$
^{100}Mo	$^{100}\text{Ru}^+$	$^{200}\text{Hg}^{2+}$	$^{84}\text{Sr}^{16}\text{O}^+$, $^{60}\text{Ni}^{40}\text{Ar}^+$, $^{64}\text{Fe}^{36}\text{Ar}^+$, $^{68}\text{Zn}^{14}\text{N}^{18}\text{O}^+$, $^{69}\text{Ga}^{15}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{70}\text{Ge}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$, $^{63}\text{Cu}^{37}\text{Cl}^+$

5. Técnica instrumental de determinação das razões isotópicas

5.1. MC-ICPMS

A espectrometria de massa é uma ferramenta de análise que fornece informações qualitativas e quantitativas sobre a composição atômica e molecular de diferentes materiais. Os primeiros trabalhos associados ao uso dessa técnica e da consequente descoberta dos isótopos, datam do início do século XX, sendo J. J. Thompson e F. W. Aston as principais referências que inspiraram os estudos e a construção dos modelos mais atuais (Willard et al, 1981).

Allègre (2008) descreve que a primeira técnica de medição isotópica consistia em utilizar a amostra como um composto gasoso, em que os átomos eram ionizados após bombardeamento de elétrons. Mais tarde veio a técnica de ionização térmica (TIMS), na qual o sal do elemento investigado é depositado sobre o filamento de um metal e aquecido por uma corrente elétrica até a sua ionização.

Conforme Fantle e Bullen (2008), os primeiros modelos de espectrômetros de massa de ionização térmica, introduzidos na década de 1960, não possuíam sensibilidade adequada para medir isótopos de massa intermediária ($A < 56$), tais como Fe, Cr e Ca. Porém, com a evolução dos procedimentos analíticos e instrumentais essa tarefa foi sendo realizada com maior confiabilidade.

Muynck (2008) ressalta que o TIMS foi, por vários anos, usado nas determinações das razões isotópicas dos elementos mais pesados, mesmo após a introdução do espectrômetro de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), em 1983. Somente com o advento do espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado e sistema multicoletor (MC-ICPMS) que o TIMS foi sendo substituído. Segundo Rehkämper et al. (2004) as análises tornaram-se mais rápidas e práticas e permitiram determinar as composições isotópicas dos elementos que antes não podiam ser analisados, devido aos seus altos potenciais de ionização.

Albarède et al. (2003) afirmam que as primeiras medições isotópicas por MC-ICPMS foram pouco convincentes devido a combinação de efeitos

inadequados, tais como interferências isobáricas, efeitos de matriz e a complexidade na trajetória dos íons formados a partir das altas temperaturas. Entretanto, essa técnica foi sendo rapidamente aprimorada, tornando-se igualmente eficiente.

De uma forma geral, os espectrômetros de massa utilizam um conjunto de lentes com potencial variável para focar o feixe de íons, um imã para discriminação das massas dos elementos e uma série de coletores para medir simultaneamente os diferentes isótopos.

O princípio básico desses instrumentos consiste na introdução de uma pequena quantidade de amostra na fonte para que sejam convertidos em íons gasosos pelo bombardeamento com elétrons, fótons, íons ou moléculas. A ionização pode ser obtida por energia elétrica ou térmica. Basicamente, os espectrômetros de massa são constituídos por três componentes principais: a fonte de íons, o analisador de massa e o detector.

Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são convertidos em íons que são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massa, que tem como função fazer a dispersão do analito baseado na sua razão massa-carga (m/z). O detector ao receber a corrente dos íons selecionados, transforma-a em sinais elétricos que são processados e posteriormente interpretados (Skoog et al., 2002).

No entanto, os espectrômetros de massa se diferenciam pela forma como a amostra é introduzida e ionizada. No TIMS, a ionização é feita com o plasma aquecido eletricamente e no MC-ICPMS, a fonte de íons é o plasma de argônio em alta temperatura (Albarède e Beard, 2004).

Os componentes principais de um MC-ICPMS convencional são: 1) um sistema de introdução de amostra 2) um plasma indutivamente acoplado de argônio como fonte de ionização 3) um mecanismo de transferência de íons e 4) um analisador de massa que lida com a propagação da energia cinética do íon e com a produção de um espectro referente à medição da razão isotópica. Desta forma, esse instrumento combina três eficientes sistemas analíticos: uma fonte de ionização de plasma (ICP), um analisador de massa com dupla focalização e um sistema multicoletor.

A introdução de amostra tem como função produzir o aerossol e conduzir uma parte significativa deste para o plasma. A configuração padrão de

um plasma indutivamente acoplado (ICP) é um nebulizador pneumático acoplado a uma câmara de pulverização adequada para análise de amostras líquidas ou sólidas previamente dissolvidas. A elevada temperatura atingida no plasma, diferentemente do que ocorre no TIMS, promove a ionização de praticamente todos os elementos da tabela periódica e não somente aqueles de baixo potencial de ionização.

A parte do ICP é constituída de uma mistura gasosa de átomos, íons, moléculas e elétrons a uma temperatura bastante elevada (6000-8000 K). A tocha é formada por três tubos concêntricos, na qual o gás de argônio circula em diferentes fluxos. Um gás frio, a uma taxa de 10^{-20} L min⁻¹, que flui entre o tubo externo e o médio funcionando como uma barreira térmica entre o plasma e a tocha. Um gás auxiliar, de vazão de fluxo de 1,0–1,5 L min⁻¹ que dá forma e sustenta o plasma, e um gás nebulizador (0,8 - 1,2 L min⁻¹) presente no tubo interno, responsável por carrear o aerossol gerado no sistema de injeção da amostra. Essa amostra em contato com o plasma resulta na dessolvatação, na atomização de moléculas e na ionização de átomos (Santos, 2010).

O sistema analisador de massa é de dupla focalização, constituído por uma associação entre os campos magnético e eletrostático. Quando o setor magnético é sucedido pelo elétrico, como é o caso do sistema utilizado neste trabalho, tem-se a chamada configuração Nier-Johnson. A dispersão maior de energia dos íons gerados pela fonte de ICP é minimizada por esse sistema de dupla focalização, e a instabilidade do plasma é suprimida pela presença dos multicoletores (Ferreira, 2012). No esquema da Figura 5 pode-se observar a geometria básica dessa configuração.

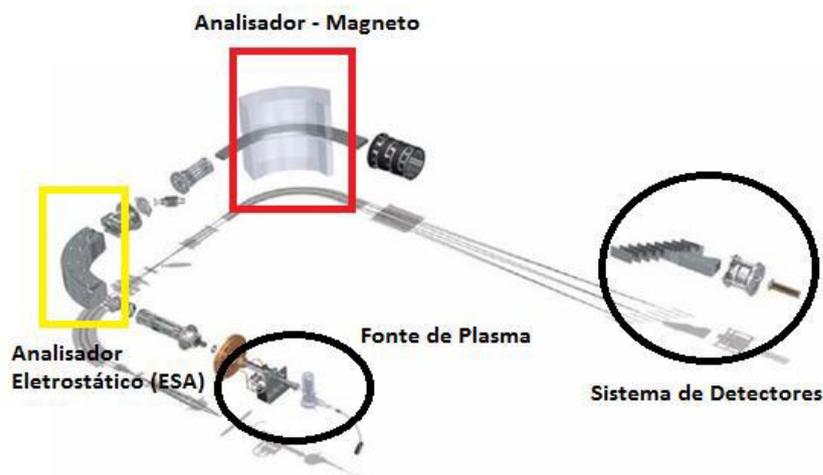


Figura 5. Esquema básico do MC-ICPMS que possui configuração denominada de geometria Nier-Johnson. Fonte: Ferreira, 2012 adaptado de Yang (2009).

O Laboratório de Geocronologia do Instituto de Geociências da Universidade de Brasília dispõe de um MC-ICPMS modelo Neptune Finnigan (Figura 6) na qual foram realizadas as determinações das razões isotópicas dos elementos de interesse nesse estudo.



Figura 6. Laboratório de Geocronologia do Instituto de Geociências da Universidade de Brasília com o MC-ICPMS –Neptune Finnigan

O Neptune Finnigan é equipado com nove detectores de Faraday e cinco contadores de íons para o estudo de isótopos com sinal de baixas intensidades. Com isso, ele consegue a análise em alta precisão de uma grande variedade de isótopos.

No entanto, o MC-ICPMS quando comparado ao TIMS apresenta alguns inconvenientes, que incluem o surgimento de interferentes indesejáveis formados a partir do plasma, uma magnitude maior de viés de massa e um significativo efeito de matriz, especialmente para elementos de massas atômicas menores (Albarède e Beard, 2004).

5.2. Fontes de incerteza nas medições em MC-ICPMS

Os espectros formados pelo MC-ICPMS quando comparado a métodos de detecção óptica são muito mais simples e fáceis de interpretar, entretanto, a simplicidade do espectro de massa obtido é, por vezes, comprometida pela ocorrência de interferências espectrais (Muyinck, 2008).

Rehkämper et al. (2004) reforçam que as interferências são preocupantes para elemento de massa inferior a 100 unidades de massa atômica, e principalmente para as medições das razões isotópicas. O método caracteriza medidas muito pequenas, referentes às diferenças sutis nas composições isotópicas dos elementos, exigindo a identificação adequada das diferentes fontes de incerteza.

Skoog et al. (2002) fazem distinção entre os tipos de interferentes que existem separando-os em duas categorias: interferências espectroscópicas e interferências não espectroscópicas.

As interferências espectroscópicas são aquelas em que a espécie iônica no plasma tem o mesmo valor da razão massa/carga do íon de interesse, podendo ser a partir de íons isobáricos, poliatômicos, dupla carga ou íons de óxidos refratários.

As espécies isobáricas atingem frequentemente os isótopos mais abundantes, como por exemplo, o $^{58}\text{Ni}^+$ que se sobrepõem ao $^{58}\text{Fe}^+$. Uma estratégia de correção durante a sessão analítica é utilizar outro isótopo de menor abundância como referência, para a avaliação as intensidades dos picos. No caso do exemplo citado, o isótopo $^{56}\text{Fe}^+$ pode auxiliar na determinação do pico m/z 58, prevendo as sobreposições isobáricas a partir das razões das abundâncias isotópicas.

Os constituintes isobáricos também podem aparecer a partir de espécies poliatômicas formadas pelas interações entre espécies do plasma, da matriz ou

da atmosfera. Esse fenômeno é comum em valores de m/z de elementos mais leves, podendo, em alguns casos, ser corrigido com o uso de um branco, ou se possível com um isótopo diferente do analito investigado.

Já os óxidos e hidróxidos produzidos pelos diferentes componentes presentes na análise (analito, elementos da matriz, solvente, gases) formam um grupo de interferentes mais complexos, potencializando o risco de sobreposição dos picos dessas formações com o pico do analito, diminuindo assim a confiabilidade dos resultados. Sendo, portanto um grande desafio eliminá-los. Normalmente, se consegue isso, manipulando as variáveis experimentais envolvidas nas suas formações (velocidade de fluxo de injeção, potência da radiofrequência, tamanho do orifício do amostrador, composição do gás do plasma, eliminação do oxigênio e remoção eficiente do solvente).

As interferências não espectroscópicas são resultantes de outros elementos combinados à amostra e provocam a diminuição no sinal de detecção do analito, resultando no efeito de matriz. De acordo com Skoog et al. (2002), esse tipo de interferência pode ser minimizado pelo uso de soluções mais diluídas, intervindo nos procedimentos de introdução da amostra ou na separação das espécies de interesse.

As medidas das razões isotópicas exigem resultados com alto nível de precisão e exatidão que são possíveis somente tendo o conhecimento dos elementos que intervêm na qualidade do método empregado. De acordo com Albarède e Beard (2004) o maior desafio é contornar as variações isotópicas produzidas no laboratório e no espectrômetro de massa, devido às semelhanças em relação aos fracionamentos isotópicos de ocorrência natural. Sendo assim, a confiabilidade dos dados obtidos é reduzida não só pelas diferentes interferências supracitadas, mas também por fatores inerentes ao instrumento.

Ponzenvera et al. (2006) relacionam as intervenções do analista (manutenção e sintonização do hardware) e a instabilidade instrumental como fatores que explicam a ocorrência de variações nas medições nos diferentes dias ou mesmo durante uma mesma sessão analítica.

Contudo, os motivos mais preponderantes relacionados ao erro instrumental são: as fontes de ruídos, o viés de massa, o *background*, as contaminações e o tempo morto do detector.

As fontes de ruídos são decorrentes de diferentes partes do instrumento, tais como, pulsações da bomba peristáltica, variações na eficiência do nebulizador, dinâmica de circulação do plasma, estabilidade da calibração, temperatura, dentre outros. Normalmente elas são minimizadas com ajustes experimentais pré-determinados. O MC-ICPMS em relação aos outros espectrômetros de massa, consegue reduzir os ruídos instrumentais devido aos campos de aceleração e ao campo magnético operarem em modo estacionário e por realizarem a detecção simultânea dos diferentes isotópos. Essas estratégias eliminam as alterações temporais durante a aquisição dos dados.

A contaminação e o background são definidos como correntes de íons, originária de diversas fontes e que possuem a mesma razão massa/carga do isotópo investigado. As interferências espectrais e o efeito de memória estão incluídos nessas categorias.

Outra ocorrência importante é a contagem de pulso dos íons que chegam ao detector. Como a taxa de contagem é elevada, pode ocorrer um empilhamento de pulso e o detector não estar apto para captação dos íons que chegam durante esse intervalo de tempo. Este inconveniente é conhecido como “tempo morto” (*dead time*) e é essencial, para obtenção de resultados confiáveis, que ele seja determinado (Santos, 2010).

Contudo, o viés de massa é apontado por vários autores (Albarède et al., 2004; Marèchal et al., 1999; Ponzenera et al., 2006; Rehkämper et al., 2004) como o mais importante durante as medições no MC-ICPMS. Ponzenera et al. (2006) explicam que esse processo é resultante da combinação de duas ocorrências no instrumento. A primeira intercorre na parte de trás do cone amostrador, na qual a expansão supersônica resulta em menor eficiência de transporte para os íons mais leves. A segunda ocorre após passagem no cone skimmer, na qual a tensão da extração dos feixes de íons provoca a repulsão dos elétrons, surgindo o efeito espaço-carga (interações eletrostáticas entre os íons de carga positiva). Este fenômeno afeta preferencialmente os íons mais leves e pode mudar de forma significativa a amplitude das medidas no MC-ICPMS.

Em resumo, Muynck et al. (2008) descreve o viés de massa como o efeito decorrente das diferenças nas transferências entre os íons devido as

suas massas. Os elementos leves são mais defletidos do que os pesados que tendem a permanecer na região central do feixe. Essa discriminação de massa provoca um fracionamento devido a efeito espaço-carga na região de interface entre o plasma e as lentes.

Esse tema será retomado com a apresentação das estratégias utilizadas para minimização das incertezas nas medidas das razões isotópicas no MC-ICPMS, em especial na correção do viés de massa instrumental descrita em materiais e métodos.

5.3. Métodos de correção das medições em MC-ICPMS

A coleta de dados da razão isotópica exige redução dos erros a níveis insignificantes a partir das otimizações de instrumentos e aplicações de correções (Rehkämper et al., 2004). Torna-se fundamental para a produção de resultados precisos a contabilização de todas as fontes possíveis de incerteza (Yang, 2009).

Segundo Yang (2009), os espectrômetros de massa precisam se adequar as melhores condições de análise, tais como, picos bem definidos, sensibilidade elevada e estável para o analito, redução dos efeitos de memória e minimização dos efeitos de matriz.

Já foi mencionado nesse trabalho que a eliminação de erros provenientes da matriz depende da eliminação dos seus interferentes exigindo uma boa recuperação no processo de separação cromatográfica. Caso contrário, uma nova fonte de incerteza poderá surgir decorrente do fracionamento isotópico.

Além disso, a separação dos elementos é a forma mais eficaz de se evitar imprecisões nas medidas ocasionadas pelas interposições externas. Por esse motivo, Rehkämper et al. (2004) consideram as correções para interferências isobáricas, poliatômicas, íons de dupla carga ou de formação de óxidos/hidróxidos refratários de menor gravidade comparadas aos erros instrumentais. O mais importante é a distinção entre o que é erro de medida e o que é fracionamento de ocorrência natural (Wieser e Laeter, 2007).

Desta forma, são abordados nessa seção, os métodos de correção das fontes de incerteza envolvidos na metodologia, principalmente aqueles inerentes ao espectrômetro de massa.

Pietruska et al. (2006) afirmam que a exatidão e a precisão das medições isotópicas realizadas em MC-ICPMS, dependem de uma série de efeitos que possam surgir durante a análise, mas destacam o viés de massa instrumental como sendo a ocorrência mais pronunciada, e portanto a mais importante a ser corrigida.

Esse efeito, já descrito anteriormente na seção 5.2 (fontes de incertezas) relaciona-se à transmissão preferencial dos íons mais pesados, devido às variações dos parâmetros instrumentais do espectrômetro de massa durante uma sessão analítica. Portanto, os resultados das medições das razões isotópicas não podem ser divulgados sem a correção do viés de massa instrumental (Petit, 2009).

Nas últimas décadas, vários métodos de correção do viés de massa instrumental foram utilizados, não havendo consenso sobre o melhor (Peel et al., 2008). Todos os procedimentos de correção de viés de massa instrumental apresentam vantagens e desvantagens, dependendo dos elementos, do tipo de amostra, da separação química, do instrumento utilizado e do seu grau de estabilidade (Chen et al., 2016).

Os mais comumente aplicados são agrupados por Yang (2009) em quatro categorias: 1) Normalização interna combinada ao método de regressão linear 2) Padronização interna 3) *Double-spike* e 4) *Sample-standard-bracketing* (SSB), que serão discutidas a seguir.

1) A normalização interna empregando a lei exponencial ou linear foi originalmente introduzida para os fracionamentos que ocorrem na técnica de ionização térmica. No entanto alguns estudos (Marèchal et al., 1999; Rehkämper et al., 2004; Archer e Vance, 2004) demonstram que esse método também é aplicável em MC-ICPMS. Archer e Vance (2004) pontuam duas qualidades desse instrumento aplicáveis a esse método de correção: a primeira é que o ICP opera em estado estacionário, sendo, portanto, as variáveis instrumentais independentes do tempo. A segunda é que o analito e o elemento de correção se comportam de forma semelhante no instrumento, permitindo considerar que o viés de massa para os dois seja idêntico.

Para aplicação dessa correção é necessário que a amostra esteja dopada com o isótopo de um elemento de massa atômica similar ao analito (Araújo, 2012). Marèchal et al. (1999) melhoraram as precisões das medidas de Cu e Zn usando um elemento para controlar o fracionamento do outro, ou seja, o viés de massa instrumental foi corrigido com a dopagem de Cu para monitorar o Zn e a dopagem de Zn para monitorar o Cu.

Inicialmente, Marèchal et al. (1999) consideraram que a normalização interna convencional, determinada a partir da introdução do elemento dopante, fosse suficiente para a correção do viés de massa instrumental. No entanto, os autores só obtiveram sucesso após perceberem que o fator de fracionamento entre os elementos Cu e Zn eram diferentes entre si. Sendo assim, eles realizaram a correção do viés de massa a partir de uma abordagem mais empírica, introduzindo a lei de fracionamento exponencial. Os resultados alcançados para as determinações das razões isotópicas desses metais em MC-ICPMS foram considerados adequados e sem precedentes em termos de precisão (Archer e Vance, 2004).

2) A padronização interna é aquela em que utiliza-se como fator de correção, um par de isótopos do elemento do analito que seja invariante na natureza, ou então, pelo uso de uma ou mais razões isotópicas, de um ou mais elementos de referência, que tenha sido adicionada à amostra.

O inconveniente apontado para a padronização interna é que os elementos podem ser diferentemente fracionados no MC-ICPMS e, portanto os resultados das razões isotópicas derivadas podem estar equivocados.

Para evitar esse tipo de erro, os estudos introduziram os Materiais de Referências Certificados para calibrar a proporção de um padrão interno, na intenção que esse valor seja usado na correção do elemento de interesse, como por exemplo, uso do padrão SRM 981 para calibrar o Tl, e este por sua vez irá corrigir o viés de massa do Pb (Weiss et al., 2004).

Malinovsky et al. (2005) descrevem a utilização da dopagem do Zr ou o do Ru, para corrigir o viés de massa produzido durante as medições das razões isotópicas do Mo em MC-ICPMS. Porém o Zr produz interferências isobáricas sobre o ^{92}Mo , ^{94}Mo e o ^{96}Mo , enquanto Ru tem sobre o ^{98}Mo e o ^{100}Mo , e as utilizações desses elementos nas amostras como padrões internos

limitam o número de razões isotópicas de Mo livre de interferências que possam ser medidos.

Ainda em relação a utilização do spike de Zr para correção do viés de massa instrumental, Wieser e Laeter (2002) também se mostram cautelosos, pois, além do Zr (92, 94 e 96) ter correspondência isobárica com o Mo, existe uma dificuldade em separá-los, mesmo utilizando a técnica de cromatografia de troca iônica. Anbar et al. (2001) observaram interferências não identificadas no pico do ^{94}Mo e Siebert et al. (2001) afirmam que os desvios relativamente mais elevados de alguns dados isotópicos do Mo podem ser contribuições da permanência do Zr, mesmo após a separação química.

3) Na técnica conhecida como *double-spike*, uma alíquota da amostra a ser investigada é enriquecida com a adição de um elemento que possui razão isotópica conhecida, e uma outra alíquota é mantida sem alteração. As leituras dessas duas amostras ocorrem simultaneamente (Yang, 2009).

Historicamente as primeiras aplicações do *double-spike* foram na determinação das razões isotópicas do chumbo em TIMS. Com a substituição pelo MC-ICPMS, esse elemento foi analisado sem a utilização dessa técnica e os resultados alcançados foram compatíveis ao TIMS.

Contudo, muitos trabalhos empregam o método *double-spike* para a correção do viés de massa nas determinações isotópicas por MC-ICPMS, principalmente para Mo (Siebert et al., 2001; Archer e Vance, 2008; Mayer e Wieser, 2014; Migeon et al., 2015). No entanto, esse método envolve cálculos complexos e muitas vezes não muito claros. Isso levou Skierszkan et al. (2016) a publicarem uma descrição e apresentação detalhada desses cálculos.

Marèchal et al. (1999) esclarecem que o *double-spike* permite contabilizar o viés de massa instrumental, mas exige que o elemento tenha mais de três isótopos. Sendo assim, ela é inadequada para o Cu e pouco utilizada para o Zn. No entanto, para o Mo que contém sete isótopos naturais, ela é bastante comum.

Um exemplo é o trabalho de Malinosvky et al. (2005), que considera o método eficiente e vantajoso a medida que diminui a exigência em relação a uma recuperação quantitativa do Mo na coluna de separação cromatográfica. Para esse metal, normalmente são aplicadas alíquotas do material altamente enriquecido com os isótopos ^{100}Mo , ^{97}Mo (mais comuns) ou ^{94}Mo . Contudo,

eles pontuam que as limitações do *double-spike* estão relacionadas a exigência de uma adição precisa dos materiais e na dificuldade da calibração dos picos.

Wieser e Laeter (2002) adotaram esse método para medições em TIMS para cinco amostras diferentes de molibdenita. Eles encontraram correlação entre os valores calculados, de modo que a média ofereceu uma boa estimativa da variação isotópica desse mineral. Os experimentos indicaram a não ocorrência de fracionamento do Mo em molibdenita e os valores atingiram uma precisão adequada.

Yang (2009) aponta como desvantagens para esse método de correção, o alto custo e necessidade de aquisição de *spikes* de alto grau de pureza. Por outro lado, o fator de correção do viés de massa é corrigido durante a medição experimental, proporcionando dados mais diretos e precisos (Wen et al., 2010).

Pietruska e Reznik (2007) avaliam o *double-spike* como um método menos vulnerável aos efeitos de matriz e, portanto aos efeitos de fracionamento isotópico oriundos da separação do molibdênio na coluna. No entanto, a consideram mais suscetíveis a efeitos de memória.

4) O *Sample-Standard-Bracketing* (SSB) é um método bastante comum entre os meios de correções para isótopos estáveis, principalmente devido a sua simplicidade (Yang, 2009). A estratégia é intercalar a leitura da amostra entre dois padrões, assumindo uma variação linear no decorrer do tempo. Assim, para aplicação deste método é importante observar a passagem de cada padrão antes e após a amostra, e verificar se a variação é significativa ou não.

Nessa técnica a correção do viés de massa é obtida fazendo a comparação dos resultados experimentais das razões isotópicas da amostra com as razões isotópicas dos padrões. O SSB exige uma separação eficiente da matriz e um viés de massa idêntico para a amostra e para o padrão.

Wen et al. (2010) ressaltam que exceto pelo efeito de matriz, o SSB é o método mais fácil de ser aplicável. Eles obtiveram medições precisas de Mo em diferentes tipos de MC-ICPMS usando o método SSB. Os resultados das correções para soluções padrões de Mo foram consideradas apropriadas e igualmente comparáveis a técnica do *double-spike*. No entanto, nesse caso em particular, a qualidade dos resultados esteve vinculada ao uso de amostras

praticamente livres de interferência de matriz, de modo que os principais problemas do método não precisaram ser levados em consideração.

Já Pietruska e Reznik (2007) consideraram ineficiente o uso do SSB como método de correção para o viés de massa em amostras naturais. Os autores encontraram valores para um padrão de Mo passado na coluna, isotopicamente mais leve do que o esperado em relação a análise direta desse mesmo padrão (sem passagem na coluna). Eles associaram essas variações isotópicas ao efeito de matriz e não ao viés de massa, reforçando a ideia de que é possível obter mais sucesso nas correções com SSB se for controlado o efeito de fracionamento isotópico na coluna.

Nesse método, as estratégias de calibração exige que os efeitos do viés de massa instrumental permaneçam invariáveis com o tempo. Como no MC-ICPMS isso não acontece, a calibração deve ser ajustada, considerando que a variação dos efeitos de viés de massa, em toda a sequência de medição, é propagada como um componente de incerteza e que existe uma proporcionalidade linear entre o viés de massa normalizado e a massa média das razões isotópicas (Ponzenvera et al, 2006).

5.4. Métodos de validação para as medições das razões isotópicas dos metais

A importância das medições isotópicas dos metais faz aumentar as exigências a respeito da sua qualidade e da sua comparabilidade. Taylor (2004) chama a atenção dos pesquisadores em relação à ausência de materiais de referências isotópicos e a rastreabilidade das medições, colocando em questão o tempo em que ela ainda poderá ser negligenciada.

Normalmente, a correta calibragem das medições isotópicas relativas exige o uso de um material de referência com uma proporção isotópica conhecida (Gröning, 2004). Muitas vezes essa referência é escolhida para representar a razão isotópica de um reservatório, na qual o elemento se encontra numa distribuição isotópica homogênea. Por exemplo, água do mar para os elementos hidrogênio e oxigênio, nitrogênio atmosférico para o nitrogênio ou carbonatos marinhos para o carbono (Gröning, 2004).

Ao escreverem sobre a natureza dos materiais de referências certificados, Gröning (2004) questiona os dados isotópicos obtidos entre os laboratórios e das semelhanças que podem existir entre eles. Para Kipphardt (2004) o estabelecimento de dados consistentes depende da equivalência dos resultados divulgados e da reprodutibilidade dos mesmos. Portanto, a preocupação de ambos é tornar a comparabilidade uma condição a ser efetivamente estabelecida para a determinação das razões isotópicas.

Ponzenvera et al. (2006) consideram que a comparabilidade pode ser alcançada pela realização de medições rastreáveis a sistema de referência em comum, e com as declarações das incertezas combinadas demonstrando a fiabilidade dos resultados.

As estratégias necessárias para aumentar a comparabilidade entre os laboratórios estão voltadas para o treinamento adequado dos analistas, para o rigoroso controle de qualidade dos procedimentos e em especial para a utilização de Materiais de Referências Certificados. Esses materiais são utilizados nos instrumentos de medição juntamente com a amostra para determinação dos valores de delta (δ) Taylor (2004).

De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM, 2012) um material de referência é definido como sendo um material ou uma substância que tem um ou mais dos seus valores suficientemente homogêneos e bem estabelecidos, para serem utilizados na calibração de um aparelho, na avaliação de um método de medição ou na atribuição de valores para diversos materiais. Ele pode vir acompanhado de um certificado que estabelece a sua rastreabilidade, ou seja, à obtenção exata da unidade na qual os valores das propriedades são expressos e acompanhados por uma incerteza (Taylor, 2004).

Ponzenvera et al. (2006) indicam que a rastreabilidade pode ser visualizada como uma cadeia ou uma combinação de cadeias referentes aos resultados das medições expressas em modelos matemáticos.

Kipphardt (2004) descreve a rastreabilidade como sendo a propriedade de um resultado de medição relacionado às referências estabelecidas por padrões nacionais ou internacionais, por meio de uma cadeia contínua de comparações associadas às incertezas. No entanto, Kipphardt (2004) ressalta que esse conceito mesmo sendo tradicional e bem estabelecido no

desenvolvimento do trabalho científico é recente no campo das medições isotópicas.

Quanto aos materiais de referências, dependendo do cuidado, a validade das suas medidas pode ser bastante diferente no que diz respeito à qualidade metrológica, a declaração da incerteza ou mesmo a qualidade do padrão. Portanto, uma documentação clara e transparente do processo de certificação deve estar sempre disponível (Kipphardt, 2004).

Taylor (2004) orienta que os materiais de referências precisam estar em uma forma química estável, armazenados e distribuídos em recipientes fechados e inertes para evitar a evaporação, a adsorção ou a contaminação. Caso contrário há uma perda de autenticidade afetando de forma quantitativa e imprevisível as medições calibradas a partir deles. Além disso, esse material deve estar disponível para a comunidade científica por um longo período.

Esse autor comenta que mesmo parecendo óbvio, na prática esses quesitos nem sempre são cumpridos. Não só porque os problemas associados têm sido subestimados, como também pelo elevado custo envolvido na produção desses materiais, ficando muitas vezes limitados a laboratórios muito específicos.

Ponzenvera et al. (2006) pontuam que o ideal é que os materiais de referência estejam disponíveis na forma líquida a fim de evitar heterogeneidade isotópica entre eles, como acontece quando se utiliza o metal sólido.

Taylor (2004) também ressalta o conflito em relação às medições após a introdução de uma nova amostra de referência ou de um novo delta zero na escala de variações isotópicas. Quando os materiais de referências naturais são produzidos a partir de uma mesma localização, verifica-se que a composição isotópica da nova amostra não é idêntica a anterior. A garantia da amostra que ainda estiver disponível em alguns dos laboratórios vai diferir da sucessora em relação aos operadores, aos processos de medição e ao estabelecimento e manutenção do padrão internacional. Isto dificulta as comparações devido às medições das incertezas, pois estas estão diretamente ligadas à qualidade.

Além disso, Gröning (2004) considera desvantajosa que a "escala da razão isotópica" seja definida por um material físico cuja disponibilidade é quantitativamente limitada. Portanto, a escala da composição isotópica, tal

como definido, está suscetível a mudança quando um material primário exaurir e for substituído por um novo. Ele adverte que a comparação do antigo com o novo material irá introduzir uma incerteza extra.

Contudo, as vantagens em determinar as razões dos isótopos de forma relativa ultrapassam as desvantagens. Para a maioria das aplicações, as diferenças nas razões isotópicas entre as amostras e o material de referência são mais importantes do que os valores das próprias proporções absolutas. Ao considerar que as amostras apresentam valores próximos da referência, devido às pequenas variações de razões isotópicas, os valores absolutos das razões isotópicas necessitariam de 5 a 6 dígitos após a casa decimal para se tornarem significativos (Gröning, 2004).

Porém, para alguns elementos os obstáculos são ainda maiores que esses, porque não se tem uma definição dos materiais que possam cumprir o papel de referência como delta zero. Por exemplo, não há atualmente material de referência isotópico padrão internacionalmente aceito para a composição isotópica do zinco e do molibdênio, apesar das indicações do NIST SRM 3134 para o Mo (Cloquet et al., 2007) e do IRMM-3732 para o Zn (Ponzenvera et al., 2006).

Até o momento, o fracionamento isotópico de massa do Mo e do Zn é normalmente descrito pelas razões dos seus pares de isótopos em relação a uma solução padrão preparada internamente nos laboratórios. Dentre os diversos padrões disponíveis para essa finalidade, o Johnson Matthey Specpure (JMC) é o mais utilizado (Cloquet et al., 2007; Wen et al., 2010).

Portanto, se existem diferentes soluções de referências para serem selecionadas, os valores das razões isotópicas desses elementos podem variar de um laboratório para outro, impedindo que sejam comparáveis entre si.

O trabalho de Wen et al (2010) relata a composição isotópica de seis soluções-padrão de referência para o Mo: o SRM 3134 (lote 891307) do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST), JMC-Mo Sie (lote 602332B), JMC -Mo Wen (lote 13989C), Merck (lote 170334), Sigma -Aldrich (lote 207306) e Prolabo. As medições foram realizadas em diferentes MC-ICPMS associada à técnica de correção SSB. Segundo os autores, as soluções analisadas foram preparadas e analisadas para que a composição isotópica do Mo fossem idênticas dentro do erro, apesar de suas diferentes especificações.

Wen et al. (2010) obtiveram valores de delta muito próximos de zero para as diferentes soluções, sugerindo que a suas composições isotópicas fossem semelhantes a amostra NIST SRM 3134. Com exceção da solução-padrão da Merck, que apresentou ser ligeiramente embroprecida dos isótopos pesados.

Em Goldberg et al. (2013) dez soluções de Mo tiveram os seus valores de $\delta^{98/95}\text{Mo}$ normalizados para o NIST SRM 3134. Seis destas foram intercalibradas por quatro laboratórios e mostraram uma diferença de até 37‰ entre um padrão e outro. Porém, os resultados entre os laboratórios foram bastante reprodutivos, o que possibilitou utilizá-los como referências nas normalizações.

Por exemplo, Nakagawa et al. (2008) investigaram os padrões JMC identificados como Kyoto-Mo e o Big-Mo e encontraram para o $\delta^{98/95}\text{Mo}$, uma diferença entre elas de $+0.12 \pm 0.01 \text{‰}$ (2s). O mesmo resultado foi encontrado por Goldberg et al. (2013) ($+0.11 \pm 0.06 \text{‰}$ (2s)).

Migeon et al. (2015) reportaram para o padrão ENS-Lyon um valor de $\delta^{98/95}\text{Mo}$ de $-0,25 \pm 0,02\text{‰}$, o mesmo que Greber et al. (2012) e Goldberg et al. (2013) encontraram para o padrão JMC Bern-Mo ($-0.29 \pm 0.08 \text{‰}$ e $-0.27 \pm 0.06\text{‰}$, respectivamente). Já Wen et al. (2010), referindo-se a esse padrão como “JMC Sie”, reportaram o valor de $+0.04 \pm 0.13\text{‰}$.

Ponzenvera et al. (2006) utilizaram o IRMM 3702 como o delta zero para as análises isotópicas do Zn e reforçam a importância de melhoria da comparabilidade das medições entre laboratórios.

A vantagem da utilização do IRMM 3702 é que ele pode ser rastreável em relação à solução padrão Johnson Matthey (JMC), lote 3-0749L, denominada de JMC Lyon (material utilizado como referência nos primeiros estudos isotópicos do Zn). A composição isotópica do IRMM-3702 em relação ao JMC Lyon produziu valores de $\delta^{66}\text{Zn}$ de $0,32 \pm 0,16 \text{‰}$ (Cloquet et al., 2007). No entanto, são necessárias mais análises por laboratórios independentes para calibrar com precisão o IRMM-3702 em relação ao JMC Lyon.

Uma compilação de valores de delta para as soluções-padrão usadas até agora na literatura, bem como os seus valores normalizados em relação ao JMC Lyon, é fornecido por Cloquet et al. (2007). São descritos

valores de $\delta^{66/64}\text{Zn}$ variando entre -8,5 e -9 ‰ para as soluções padrões Accutrace e Romil, e de -7,5 a - 2,4 ‰ para as soluções Specpure e NIST SRM 682 (Cloquet et al., 2007).

Para o cobre as amostras deste estudo foram reportadas em relação ao MRC ERM-AE 633. Esse material é reconhecido internacionalmente como padrão de referência delta zero e foi calibrado em relação ao extinto NIST SRM 976.

Moeller et al. (2012) apresentaram os primeiros dados isotópicos reportados ao ERM-AE 633. Eles investigaram dois padrões, identificados como Romil Cu e Bergen Cu, e os respectivos valores de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ encontrados foram 0.17 ± 0.06 ‰ e -0.07 ± 0.04 ‰. Esses padrões quando reportados ao NIST SRM 976 apresentaram valores similares (0.18 ± 0.06 ‰ e -0.06 ± 0.06 ‰) demonstrando a proximidade existente entre esses dois MRC e a possibilidade de comparações entre eles.

6. Materiais e métodos

6.1. Materiais e reagentes

Todos os procedimentos foram realizados em sala limpa com a utilização de reagentes com elevado grau de pureza: água ultrapurificada pelo sistema Nanopure (18 mΩ cm), ácido clorídrico (HCl P.A), ácido fluorídrico (HF P.A) e nítrico (HNO₃ P.A) sub-destilados, peróxido de hidrogênio (Suprapur®, Merck), padrões monoelementares (Tritisol®, Merck) rastreáveis pelo NIST para os metais Cu (lote HC 109865), Zn (lote HC 112017), Fe (lote HC 114789) e para o Mo, Alfa Aesar (Specpure ®) Johnson Matthew Company (lote 61200523).

Foram empregados os vasos de teflon (Savillex®) para coleta do eluato, colunas cromatográficas de polietileno BioRad® de 5 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro interno e as resinas AG-MP-1 (100-200 mesh) BioRad® e AG1-X8 (200-400 mesh) Eichron® para preenchimento das colunas.

Nas determinações das razões isotópicas foram selecionados como padrões isotópicos delta zero, a solução de Mo supracitada e os Materiais de Referência Isotópicos IRMM 653 (para o Zn) e ERM-AE 633 (para o Cu).

Utilizaram-se também os seguintes materiais geológicos de referência (certificados para a concentração total de metais) e considerados, neste estudo, como amostras reais: Limestone (JLS-1), granodiorito (GSP-2-US) e sedimento do Rio Buffalo (NIST RM 8704). Duas amostras de sedimentos fluviais de diferentes localidades da Bacia Amazônica: uma do Rio Xingu (1°58'42S - 53°54'00 W) identificada como CA2 e outra do Rio Amazonas (0°07'11S - 51°08'56 W) identificada como CA7. A Tabela 3 relaciona essas amostras com as concentrações dos metais investigados em $\mu\text{g g}^{-1}$ em cada uma delas.

Tabela 3. Concentração dos metais nas amostras investigadas

Amostra	Concentração do metal na amostra em $\mu\text{g g}^{-1}$		
	Mo	Cu	Zn
Calcário – Limestone (JLS-1)	0,07	0,36	3,19
Granodiorito – GSP2-US	2,1	43,0	120
Sedimento do rio Buffalo – USA (NIST RM 8704)	1,97	83,4	408
Sedimentos do rio Xingu - Brasil	0,18	18,6	53,40
Sedimentos do rio Amazonas - Brasil	0,34	59,82	184,24

Todos os materiais de vidro e de plástico utilizados foram previamente descontaminados, conforme roteiros descritos a seguir.

6.2. Roteiros de lavagens dos materiais

6.2.a. Materiais e vidrarias

- Enxaguar e deixar imerso em ácido nítrico (HNO_3) 10% por 48 horas.
- Enxaguar e deixar imerso em água ultra-purificada (18.2 $\text{m}\Omega \text{ cm}$), com renovação da água a cada 12 horas por dois dias consecutivos.
- Deixar secar em dessecador.

6.2.b. Vasos de teflon

Os vasos de teflon usados para coleta do eluato na fase de separação e purificação dos metais foram lavados seguindo o roteiro pré-estabelecido pelo Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília. As etapas de lavagem são:

- a) Colocar água régia concentrada nos vasos até cobrir o fundo e deixá-los em chapa quente por 24 horas.
- b) Retirar os vasos e aguardar o resfriamento. Em seguida, colocá-los em um contêiner contendo água régia diluída e deixá-lo em chapa quente por mais 24 horas.
- c) Depois de retirada dos vasos do contêiner, descartar a água régia diluída e adicionar água ultra-purificada nanopure. Deixá-los na chapa quente por 1 hora.
- d) Retirar a água e deixar os vasos secando. Adicionar HCl 6 mol L^{-1} em cada vaso e deixá-los em chapa quente por 48 horas.
- e) Substituir o ácido por água e voltar para aquecimento por mais 1 hora.
- f) Finalmente desprezar a água e colocar os vasos no dessecador.

6.2.c) Preparo das Amostras (sintéticas e reais)

6.2.c.1. Soluções padrões monoelementares

Foram preparadas soluções monoelementares de Cu, Zn e Mo em três diferentes concentrações de aproximadamente 1 mg L^{-1} , 2 mg L^{-1} e 4 mg L^{-1} , a partir de soluções padrões de 1000 mg L^{-1} .

6.2.c.2. Amostra sintética

Para o desenvolvimento do método de purificação foi empregada uma amostra sintética produzida pela combinação de Cu, Zn, Fe e Mo a partir das soluções padrões monoelementares. As concentrações e proporções desses elementos na amostra simularam as existentes em rochas e sedimentos, cujos valores médios são: $95 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ para o Zn, $33 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ para o Cu e $2.0 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ para o

Mo (concentrações baseadas em Salomons e Frörestner, 1984). O Fe, apesar de não ser um elemento de interesse nesse estudo, foi acrescentado à amostra, devido a sua constante presença e elevada abundância em matrizes geológicas (~4,1%), e por representar um dos principais constituintes que geram interferências isobáricas e poliatômicas nos metais de interesse para o presente estudo. Foi desconsiderada nesta etapa a existência de outros elementos que compõem uma matriz real.

6.3. Amostras reais

6.3.a. Materiais certificados

Os materiais de referência geológicos empregados como amostras reais já são processados, apresentando aspecto homogêneo, sendo diretamente pesados para o processo de abertura por digestão ácida.

6.3.b. Sedimentos fluviais da bacia Amazônica

- Coleta

No período de 04 a 13 de novembro de 2013, foi realizada a 2ª expedição científica na Bacia Amazônica para as atividades do Projeto CLIM-AMAZON (uma iniciativa científica conjunta entre Brasil e Europa com financiamento da União Europeia (UE) por meio do FP7- Sétimo Programa-Quadro para a Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico).

Foram coletados os sedimentos utilizando amostrador, broca, gerador elétrico, fios condutores, tubos de acrílico e canetas permanentes. A retirada dos testemunhos está representada na Figura 7.

Os tubos de coleta foram devidamente identificados pelo código do ponto de amostragem, indicando as extremidades correspondentes ao topo e a base. Eles foram amarrados e mantidos em pé e a água contida nos tubos foi sendo retirada com o auxílio de uma seringa (tempo de decantação de 24h).

No intuito de preservar a amostra, principalmente de possíveis reações redox, os tubos foram congelados e mantidos no freezer.

Ao término da viagem, os testemunhos foram retirados do freezer, amarrados com cordas e embalados com sacos plásticos e fitas adesivas. Foram transportados até Brasília por via aérea e recongelados na chegada ao laboratório.



Figura 7. Fotografia ilustrando os pontos de coleta dos sedimentos

- Processamento das amostras

Todas as etapas posteriores à coleta foram realizadas nos laboratórios AQQUA (Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental) do Instituto de Química e no Laboratório de Geocronologia do Instituto de Geociências. Ambos da Universidade de Brasília.

- Abertura dos tubos contendo os testemunhos

O material dos tubos é feito de polimetil-metacrilato (acrílico) e a tampa de polietileno. Os testemunhos foram colocados sobre a bancada, e com o auxílio de um esmeril da marca Makita, foram cortados ao meio, ao longo do seu eixo longitudinal. Manteve-se constante cuidado para que os vestígios do polímero derretido proveniente da abertura não se misturassem aos sedimentos, conforme pode ser visto pela Figura 8.

Após abertura dos tubos, o perfil foi seccionado com uma espátula de aço inoxidável em segmentos de 5 cm de espessura, desde a base até o topo. Para

medição das fatias usou-se uma trena que ficou fixada a bancada ao lado do testemunho.

Foram retirados destas fatias, os fragmentos maiores, tais como, raízes e restos de folhas. Em seguida foram armazenadas em um pote plástico com tampa devidamente identificado e colocadas no freezer para congelamento.



Figura 8. Etapas da abertura dos tubos contendo as amostras de sedimentos.

- Preparação das amostras de sedimentos

As amostras congeladas foram colocadas em um gral e maceradas com um pistilo. Em seguida foram transferidas para os tubos de centrífuga contendo as correspondentes identificações. A Figura 9 ilustra a sequência analítica na preparação das amostras.

Os tubos de centrífuga foram colocados nos vasos e levados para o liofilizador por 7 horas ininterruptas. Após o processo de liofilização, as amostras foram novamente maceradas, peneiradas, secadas e homogeneizadas, conforme descrito a seguir:

- 1) Foram lavados e pesados béqueres de 50 mL .
- 2) Esses béqueres foram utilizados para pesagem dos estratos.
- 3) Após a pesagem, os estratos foram peneirados por via úmida (água ultra-purificada do sistema Mili-Q) em peneira de 63 μm . As partículas retidas foram devolvidas para os béqueres, levadas à secura na estufa, pesadas e guardadas em sacos plásticos contendo etiquetas de identificações.
- 4) As frações finas, que possuem partículas menores que 63 μm (tamanho silte + argila) foram colocadas na estufa para secar a uma temperatura de 60°C. Após cerca de 30 horas, eles foram removidos para tubos de centrifuga, congelados e novamente liofilizados.

Para esse estudo foram selecionadas duas frações de sedimentos de dois dos rios da bacia Amazônica, o Xingu e o Amazonas.

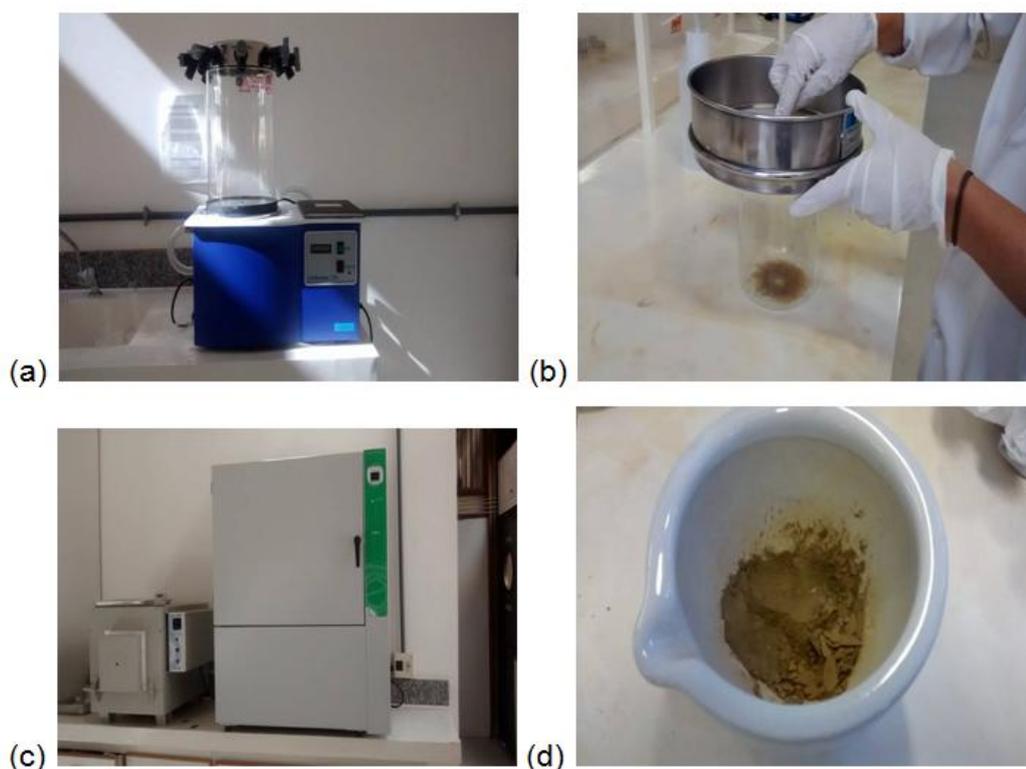


Figura 9. Fotografias ilustrando as sequências analíticas de preparação das amostras. (a) Etapa de liofilização da amostra (b) Peneiragem via úmida (c) Etapa de secagem após a peneiragem via úmida (d) Amostra macerada contendo apenas as partículas finas.

- Abertura das amostras

Foram pesadas, em vasos de teflon (Savillex®), alíquotas de 500 mg para granodiorito e de 300 mg para os demais materiais geológicos. Considerando o número de amostras a serem processadas, optou-se pela digestão aberta nos savillex®, pelo método USEPA 3052 (com adaptações), que consiste em uma abertura total, conforme descrito a seguir:

- 1) Umidecer 300 mg de sedimento seco e homogeneizado com 1 mL de água purificada no sistema Milli-Q.
- 2) Adicionar 6 mL de HNO₃, 3 mL de HF e 2 mL de HCl (abertura total) e levar ao bloco digestor a 150°C durante 5 horas. Foi adicionada cerca de 1 mL de peróxido de hidrogênio.
- 3) Manter “overnight” e no dia seguinte evaporar o reagente a 120°C até a redução do volume por cerca de 1 mL, depois baixar para 90°C até a secura total.
- 4) Após essa etapa, os resíduos foram redissolvidos em HCl 7 mol L⁻¹ e H₂O₂ 0,001% para posterior separação e purificação dos metais de interesse por cromatografia de troca iônica (as amostras foram mantidas em frascos de polietileno e conservadas a 4°C).

Foram reservadas alíquotas das soluções originais para utilizá-las como referência na análise quantitativa da recuperação dos elementos e na identificação de ocorrência ou não de fracionamento isotópico na coluna cromatográfica.

6.4. Montagem das colunas cromatográficas

As resinas foram pesadas em balança analítica (cerca de 1,5 g de material seco para cada coluna) e esse material passou por três ciclos consecutivos de lavagem com solução de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹. A cada ciclo, as resinas foram centrifugadas por cerca de vinte minutos, retirando os sobrenadantes. Ao término da última lavagem, manteve-se a suspensão para preenchimento das colunas.

Os grânulos das resinas foram acondicionados até atingir os volumes a serem testados em cada ensaio. Não houve formações de bolhas e de espaços livres entre eles.

Após essa etapa, as resinas foram lavadas, fazendo-se passar 3 mL de água ultra-purificada (18.2 mΩ cm) alternada com 6 mL de ácido nítrico 0,5 mol L⁻¹. Esse procedimento foi repetido por três vezes consecutivas e refeito após cada utilização da coluna (Petit, 2009).

Para evitar o ressecamento, as resinas ficavam submersas em água durante o período em que não estavam sendo utilizadas.

6.5. Definição da resina para cromatografia de troca iônica

A primeira etapa do desenvolvimento desse método envolveu a avaliação e seleção da resina mais adequada, considerando o interesse na separação dos três metais simultaneamente. Foram testadas a AG-MP-1 e a AG1-X8, que segundo a literatura, são as resinas mais utilizadas nos processos de separações dos metais.

Nas realizações dos experimentos foram produzidas seis colunas, sendo três para cada tipo de resina. Em todas elas utilizaram-se os volumes de 2 mL e as mesmas soluções monoelementares para o processo de eluição.

Divididas em baterias, foram realizadas as recuperações do Cu, Zn e Mo nas concentrações aproximadas de 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹ e 4 mg L⁻¹.

Para o Mo admitiu-se, baseado nos relatos dos diferentes estudos pesquisados (Siebert et al., 2000; Malinosvky et al., 2001; Wieser e Laeter, 2000) que a sua dessorção na coluna ocorre com a passagem de HNO₃ 0,5 mol L⁻¹.

O método para recuperação foi seguindo o protocolo de Marèchal et al (1999), com alterações nos volumes dos ácidos empregados como eluentes.

A resina que apresentou melhor recuperação combinada dos três analitos foi utilizada para o desenvolvimento do método.

6.6. Definição dos parâmetros experimentais para cromatografia de troca iônica

Foram realizados dois planejamentos fatoriais para desenvolvimento e otimização do método de separação e purificação dos metais. No primeiro, foram selecionadas três variáveis independentes definidas em dois níveis: tamanho da coluna (2,0 e 3,0 mL de resina), a concentração do HCl (5 e 6 mol L⁻¹) e o eluente para eliminação do ferro (HCl 1 mol L⁻¹ e a mistura HCl/HF nas concentrações 0,5 e 1 mol L⁻¹, respectivamente). No segundo experimento fatorial foram testadas as variáveis tamanho da coluna, nos níveis 2,0 e 2,5 mL e o HCl, nas concentrações 6 e 7 mol L⁻¹. Utilizou-se nessa etapa a amostra sintética, descrita no item 6.3.c.

As melhores condições experimentais foram definidas a partir dos cálculos dos planejamentos fatoriais e a otimização empregando o Método de Superfícies de Resposta (MSR). Os cálculos foram realizados em planilhas eletrônicas desenvolvidas pelo Laboratório de Quimiometria Teórica e Aplicada do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) utilizando o software Excel® da Microsoft. Para o uso das planilhas foram seguidas as orientações do tutorial (Teófilo e Ferreira, 2006).

As variáveis independentes e os valores testados em cada ensaio são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Variáveis de efeito e os níveis estipulados para os Planejamentos Fatoriais no processo de separação cromatográfica

Ensaio	Variável (X ₁) Quantidade da resina (mL)	Variável (X ₂) Concentração do HCl (mol L ⁻¹)	Variável (X ₃) Eluente para extração do ferro
1º Planejamento fatorial 2 ³			
1	2.0	5	HCl/HF
2	3.5	5	HCl/HF
3	2.0	6	HCl/HF
4	3.5	6	HCl/HF
5	2.0	5	HCl
6	3.5	5	HCl
7	2.0	6	HCl
8	3.5	6	HCl
2º Planejamento fatorial 2 ²			
9	2.0	6	HCl/HF
10	2.5	6	HCl/HF
11	2.0	7	HCl/HF
12	2.5	7	HCl/HF

Após a passagem na coluna, os eluatos foram evaporados até a secura e redissolvidos em HNO₃ 3%. Para todos os experimentos foram reservadas alíquotas das soluções originais para utilizá-las como referência na análise quantitativa da recuperação dos elementos.

6.7. Determinação da concentração total dos metais – Avaliação da recuperação quantitativa dos elementos após eluição em coluna

As quantificações dos metais Cu, Zn, Fe e Mo para avaliação da recuperação, após a passagem pela coluna cromatográfica, foram realizadas em Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Induzido por Micro ondas (MP-AES 4200 Agilent®) utilizando o nitrogênio (N₂) como o gás de plasma. Empregou-se calibração externa, com faixa linear de 0,1 a 4,0 mg L⁻¹. Todas as medidas foram feitas em triplicatas. Os comprimentos de onda selecionados e os limites de detecção e quantificação para cada elemento estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Limite de detecção, quantificação, coeficiente de determinação e sensibilidade das curvas analíticas obtidas por MP-AES

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Limite de detecção (LOD) mg L ⁻¹	Limite de quantificação (LOQ) mg L ⁻¹	R ²	Sensibilidade (mg L ⁻¹)
Cu	327,395	0,0005	0,00168	0,9991	0,98
Zn	481,053	0,0050	0,0166	0,9992	0,97
Fe	259,940	0,00056	0,0018	0,9998	0,98
Mo	386,410	0,0018	0,006	0,9996	0,99

Em amostras nas quais o molibdênio estava em uma faixa de concentração inferior ao limite de detecção do MP-AES utilizou-se o Espectrômetro de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS, Thermo Scientific®, modelo X series 2). Empregou-se calibração externa, com faixa linear de 50 a 150 µg L⁻¹ a partir do padrão monoelementar do molibdênio. A calibração de massas nas diferentes regiões do espectro foi realizada utilizando-se um padrão multi elementar contendo In, U, Ce e Ba. Obteve-se para o Mo um R² = 0,9999, com limite de detecção (LOD) = 0,00025 mg L⁻¹ e limite de quantificação (LOQ) = 0,0007 mg L⁻¹. As análises foram realizadas em triplicata.

Os isótopos empregados na determinação quantitativa foram o ⁹⁸Mo e o ⁹⁵Mo. Os parâmetros operacionais do ICP-MS encontram-se descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Condições operacionais do ICP-MS

Parâmetros operacionais do instrumento	
Potência do plasma	1380 W
Vazão Ar-plasma	13,0 L min ⁻¹
Vazão Ar- auxiliar	0,70 L min ⁻¹
Vazão Ar-nebulizador	0,79 L min ⁻¹
Dwell time	50 ms
Número de replicatas	3
Operação do detector	Modo dual
Taxa de aspiração da amostra	100 µL s ⁻¹

6.8. Avaliação de ocorrência de fracionamento isotópico no processo de separação e purificação nas colunas cromatográficas

Para certificação de que o método de separação não causa o fracionamento isotópico, foram medidas as razões isotópicas dos metais nas soluções monoelementares empregadas para a produção da amostra sintética, cujos valores foram tomados como referência. Esses dados foram comparados aos valores das razões isotópicas da amostra sintética após o processo de purificação por cromatografia de troca iônica.

6.9. Determinação das razões isotópicas por MC-ICPMS

6.9.1. Parâmetros e configurações do instrumento

As razões isotópicas de Zn, Cu e Mo das amostras e dos materiais de referência foram determinadas no Laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília, utilizando MC-ICPMS (Thermo Fisher Scientific Neptune Plus).

Para as medições de Cu e Zn, as massas ^{62}Ni , ^{63}Cu , $^{64}\text{Zn}/^{64}\text{Ni}$, ^{65}Cu , ^{66}Zn , ^{67}Zn e ^{68}Zn foram simultaneamente detectadas utilizando os copos de Faraday. As sequências analíticas foram realizadas automaticamente usando-se um extrator automático Cetac ASX-100 e fendas de coletores de baixa resolução (~ 300), combinando concentrações de Cu e Zn a $300 \mu\text{g L}^{-1}$. O sistema de entrada inclui um sistema de introdução estável (SIS) que consiste numa câmara de pulverização de vidro de quartzo em tandem (duplo padrão ciclone mais Scott) acoplada a um nebulizador de PFA de baixo fluxo (50 mL min^{-1}). Cada medida de amostra consistiu em um bloco de trinta e sete ciclos com tempo de integração de 8 s.

Para Mo, as medidas isotópicas foram conduzidas de maneira idêntica as desenvolvidas para o sistema Cu-Zn. Os isótopos ^{92}Mo , ^{94}Mo , ^{95}Mo , ^{96}Mo , ^{97}Mo , ^{98}Mo e ^{100}Mo foram medidos simultaneamente com ^{91}Zr e ^{99}Ru . As análises foram realizadas ao longo de um ciclo de vinte medições com tempo de integração de 4s. Utilizou-se um nebulizador ultrassônico CETAC Aridus

(CETAC Technologies, Omaha, EUA) para a introdução das amostras. Este dispositivo produz um spray mais seco que reduz o teor de oxigênio e nitrogênio no plasma. Esta estratégia foi utilizada para minimizar as interferências poliatômicas desses elementos com o Zn, uma vez que este metal estava presente na fração do Mo após a co-eluição no processo de separação cromatográfica.

As configurações do instrumento e as posições dos isótopos nos coletores de Faraday para os dois métodos são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7. Posições dos isótopos nos coletores de Faraday para as medidas das razões isotópicas dos metais e as condições operacionais do instrumento MC-ICPMS NEPTUNE

Copo	L4	L2	L1	C	H1	H2	H3		
Configuração	⁶² Ni	⁶³ Cu	⁶⁴ Zn	⁶⁵ Cu	⁶⁶ Zn	⁶⁷ Zn	⁶⁸ Zn		
Parâmetros instrumentais para Cu e Zn nas análises no Neptune									
Potencial de aceleração (W)				1050					
Taxas de fluxos de ar (L min ⁻¹)				Gás de refrigeração	de 15				
				Gás auxiliar	0.70				
				Gás da amostra	0.85				
Vazão da amostra				50 µL min ⁻¹					
Tempo de integração				8 segundos					
Resolução de massa				Baixa resolução ~ 300					
Número de Medições				1 ciclo de 37 medições					
Posição dos coletores de Faraday para as análises do Mo no Neptune									
Copo	L4	L3	L2	L1	C	H1	H2	H3	H4
Configuração	⁹¹ Zr	⁹² Mo	⁹⁴ Mo	⁹⁵ Mo	⁹⁶ Mo	⁹⁷ Mo	⁹⁸ Mo	⁹⁹ Ru	¹⁰⁰ Mo
Parâmetros instrumentais do Neptune para análise do Mo									
Potencial de aceleração (W)					1050				
Taxas de fluxo de ar (L min ⁻¹)					Gás de refrigeração		15		
					Gás auxiliary		0.72		
					Gás da amostra		0.935		
Vazão da amostra					50 µL min ⁻¹				
Tempo de integração					4 segundos				
Resolução de massa					Baixa resolução ~ 300				
Número de medições					1 ciclo de 20 medições				
Condições operacionais do nebulizador ultrassônico (Aridus II/CETAC)									
Temperatura da câmara de pulverização					110°C				
Temperatura do desolvatador					160°C				
Sweep gas flow rate					1.75 [L min ⁻¹]				
Gás Nitrogênio					0.03 [L min ⁻¹]				

6.9.2. Análises, correções de interferência e calibração por SSB

As interferências isobáricas e poliatômicas foram monitoradas diretamente no MC-ICPMS. Para o método Cu-Zn, os dados foram corrigidos com os valores das medidas do branco e do isótopo ^{62}Ni (usado para fazer correções de interferências isobáricas do ^{64}Ni em relação a ^{64}Zn). Para a análise de Mo, o ^{91}Zr e o ^{99}Ru foram usados para monitorar e corrigir os sinais dos isótopos que são interferências isobáricas para Mo nas massas atômicas 92, 94, 96 e 100.

Para correção do viés de massa instrumental pelo método SSB, a passagem do padrão no instrumento ocorreu antes e após a passagem de três amostras consecutivas. Para evitar a contaminação cruzada entre as amostras e os padrões, realizou-se a lavagem da sonda de aspiração com o branco (HNO_3 3%) durante quinze minutos, sendo que nos cinco minutos finais, as intensidades dos sinais do branco eram registradas para serem subtraídas dos sinais das amostras ou dos padrões subsequentes.

Em todas as sessões analíticas foram utilizados como padrões entre as amostras o MRC ERM-AE 633 para o Cu, o IRMM 653 para o Zn e a solução JMC para o Mo.

Não foi considerada a incerteza relacionada ao tempo morto. A contagem do tempo morto é realizada quando se utiliza o multiplicador de elétrons nas medições. Além disso, não é usual a aplicação desse dispositivo no Neptune, por considerar que os coletores de Faraday já possuem a robustez desejada para o método.

6.9.3. Procedimento de cálculo nas correções do viés de massa por SSB

Todos os cálculos numéricos foram realizados no Microsoft Office Excel. O modelo foi ajustado para a sequência de medição característica do método SSB (amostra-padrão-amostra).

Após as medições no MC-ICPMS, as intensidades dos isótopos de Cu, Zn e Mo foram transcritas para as planilhas eletrônicas. Para corrigir a instabilidade do instrumento devido aos tempos de lavagens, foram realizadas as subtrações dos valores das intensidades dos brancos nas intensidades dos

padrões e das amostras correspondentes, conforme representado pela equação 1:

$$IA = I_a - I_b \text{ (equação 13)}$$

IA = sinal do isótopo corrigido

I_a = sinal do isótopo medido experimentalmente

I_b = sinal do isótopo no branco

Após a correção do branco, foram calculadas as razões entre os pares de isótopos selecionados, segundo a equação 2:

$$R = \frac{IA_{cor}}{IB_{cor}} \text{ (equação 14)}$$

R = medida da razão isotópica

IA_{cor} = intensidade do sinal do isótopo A corrigido

IB_{cor} = intensidade do sinal do isótopo B corrigido

A e B = pares de isótopos dos metais analisados

Foram calculados os valores médios das razões isotópicas para os padrões Rx1 (padrão executado antes das amostras) e Rx2 (padrão executado depois das amostras), conforme equação 3:

$$Rx1 = \frac{\sum_{i=1}^n Rx1}{n}, Rx2 = \frac{\sum_{i=1}^n Rx2}{n} \text{ (equação 15)}$$

Na sequência foi realizada a interpolação entre as razões isotópicas dos padrões isotópicos corrigidos, considerando os tempos médios de medição dos dois padrões antes e depois das amostras em segundos:

$$R(OBS)i = \frac{RB}{Rx(interpolação)}$$

$$= \frac{RB}{RX(OBS) + \frac{RX2 - RX1(ti - tx1)}{tx2 - tx1}} \text{ (equação 16)}$$

O valor obtido na interpolação foi corrigido pelo fator de fracionamento de massa (k). Para esta etapa considerou-se que o viés de massa foi linear com o tempo e que as variações dos padrões e das amostras eram semelhantes entre si. Nessas condições, as razões isotópicas médias dos padrões medidos antes e depois da amostra são utilizadas para corrigir o viés

da massa instrumental conforme abordagem de Albarède et al. (2004) e segundo a equação 5:

$$(Ri)_A = (Ri)_P \frac{(ri)_A}{\sqrt{(ri)_P^1 \times (ri)_P^2}} \quad (\text{equação 17})$$

Onde $(Ri)_P$ é a razão isotópica teórica do padrão, $(ri)_A$ é a média das razões isotópicas da amostra e $(ri)_P^1$ e $(ri)_P^2$ são as médias experimentais dos padrões analisados antes e depois da amostra.

Como nos estudos de isótopos estáveis, as diferenças relativas nas razões isotópicas entre as amostras são mais importantes do que seus valores absolutos, o resultado da composição isotópica é definido em relação a um padrão comum, e os dados isotópicos são relatados por um valor delta (δ), expressos em per mil (‰) (Alègre, 2008) e determinado conforme equação 8 anteriormente descrita:

$$\delta = \frac{\text{razão isotópica da amostra} - \text{razão isotópica do padrão}}{\text{razão isotópica do padrão}} \times 1000$$

Neste trabalho, os valores δ da composição isotópica de Cu, Zn e Mo são relativos à solução padrão de Materiais de Referências Isotópicas ERM-AE 633, IRMM 653 e solução-padrão Johnson Matthey Company (Alfa Aesar Specpure®), respectivamente.

Quanto à incerteza dos valores de delta, a maioria dos trabalhos nessa área, se limitam a expressá-la como duas vezes o desvio padrão (2s), sem considerar a correlação entre os diferentes isótopos. Neste estudo os resultados das medições foram corrigidos usando o cálculo de propagação de incertezas com base no "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement" (ISO GUM 95) e no Guia Eurachem/CITAC e o intervalo atribuído ao mensurando está relatado, na seção de resultados, tanto pela reprodutibilidade externa (2s) quanto pela incerteza padrão expandida (U).

6.10. Análise de ocorrência ou não de fracionamento isotópico instrumental

Para identificar se houve ou não fracionamento isotópico instrumental foi calculado os valores de delta para Cu, Zn e Mo a partir das razões desses metais na amostra sintética, antes e depois da purificação, em relação aos seus respectivos padrões delta zero (Materiais de Referência Isotópicos para Cu e Zn e a solução JMC para o Mo).

6.11. Exatidão e Precisão do método

Para avaliar a exatidão do método foram medidas por diversas vezes ao longo de três sessões analíticas, as razões isotópicas do Cu e do Zn dos Materiais de Referências Isotópicos ERM-AE 633 e NIST IRMM 653, respectivamente. Não foi possível realizar essa mesma análise para o Mo devido à ausência de material de referência isotópico para este elemento.

Em relação à precisão em termos de repetibilidade, foram avaliadas as variações nas medidas das razões isotópicas do Cu e do Zn dos Materiais de Referências Certificados e do Mo da solução de referência JMC, ao longo de uma mesma sessão analítica. A precisão em termos de reprodutibilidade foi avaliada considerando as dispersões das medidas dos materiais nas três sessões realizadas ao longo do tempo.

7. Resultados e Discussão

7.1. Definição da resina para cromatografia de troca iônica

A partir dos resultados obtidos nos experimentos, a resina que apresentou melhor desempenho para os três metais foi a AG-MP-1. Os valores das concentrações das soluções e os rendimentos após passagem na coluna estão apresentados nas Tabelas 8, 9 e 10.

Tabela 8. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento cobre

Média das concentrações reais das soluções trabalho sem passagem na coluna (mg L^{-1})	Média das Concentrações após processo de separação (mg L^{-1})		Recuperação (%)	
	AG-MP-1	AG1-X8	AG-MP-1	AG1-X8
0,991 \pm 0,007	0,355 \pm 0,005	0,332 \pm 0,002	36 \pm 7	34 \pm 5
2,070 \pm 0,002	0,880 \pm 0,001	0,565 \pm 0,004	43 \pm 5	27 \pm 7
4,353 \pm 0,009	2,083 \pm 0,001	0,682 \pm 0,004	48 \pm 2	16 \pm 2

Tabela 9. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento zinco

Média das concentrações reais das soluções trabalho sem passagem na coluna (mg L^{-1})	Média das Concentrações após processo de separação (mg L^{-1})		Recuperação (%)	
	AG-MP-1	AG1-X8	AG-MP-1	AG1-X8
1,152 \pm 0,004	0,620 \pm 0,006	0,506 \pm 0,004	54 \pm 1	44 \pm 2
2,021 \pm 0,003	0,919 \pm 0,003	0,856 \pm 0,003	45 \pm 1	42 \pm 1
4,302 \pm 0,006	2,599 \pm 0,004	2,433 \pm 0,007	60 \pm 1	57 \pm 1

Tabela 10. Resultado comparativo do rendimento das resinas AG-MP-1 e AG1-X8 após aplicação do protocolo de separação para o elemento molibdênio

Média das concentrações reais das soluções trabalho sem passagem na coluna (mg L^{-1})	Média das Concentrações após processo de separação (mg L^{-1})		Recuperação (%)	
	AG-MP-1	AG1-X8	AG-MP-1	AG1-X8
0,814 \pm 0,005	0,310 \pm 0,005	0,193 \pm 0,001	38 \pm 3	24 \pm 3
1,990 \pm 0,007	0,889 \pm 0,008	0,624 \pm 0,005	45 \pm 1	31 \pm 1
4,152 \pm 0,002	2,035 \pm 0,001	1,470 \pm 0,001	49 \pm 1	35 \pm 1

Os rendimentos nessa etapa foram alcançados com procedimentos anteriores aos ajustes das variáveis que influenciam no rendimento da coluna cromatográfica, tais como, tamanho da coluna, concentração dos eluentes e os eluentes mais adequados para cada elemento.

Sendo assim, os resultados foram preeliminares ao desenvolvimento do método e estiveram abaixo do pretendido, considerando que as recuperações dos metais para as determinações das razões isotópicas por MC-ICPMS devem ser superiores a 90%, para garantir que não haja fracionamento isotópico nesta etapa (Malinosvky et al., 2005).

Além disso, ausência de uma matriz real nas amostras testadas não só altera o comportamento do Cu e do Zn em relação à fase estacionária (Chapman et al., 2006 e Petit, 2009), como também pode diminuir a resolução da coluna (Collins et al., 2006).

Desta forma, considerou-se que independente da concentração testada à resina AG-MP-1 apresentou para os três metais o melhor resultado, sendo, portanto escolhida para ser a resina a ser empregada no método.

As definições dos parâmetros experimentais mais adequados para a separação simultânea do Cu, Zn e Mo atingindo os rendimentos necessários para todos eles foram definidos com o emprego do planejamento fatorial, que é apresentado a seguir.

7.2. Definição dos parâmetros experimentais para cromatografia de troca iônica

Na Tabela 11 encontram-se os resultados obtidos para o planejamento fatorial que avaliou o emprego das três variáveis de efeito (quantidade de resina AG-MP-1 da coluna, concentração do HCl e o melhor eluente para eliminação do Fe) no processo de recuperação dos metais em colunas cromatográficas. As condições experimentais de cada ensaio estão apresentadas na Tabela 5 no item 6.6 da seção de materiais e métodos.

Tabela 11. Resposta em termos de porcentagem das recuperações dos metais Cu, Zn e Mo em colunas cromatográficas empregando-se a amostra sintética

Resultado dos ensaios do planejamento fatorial 2 ³			
Ensaio	Resposta 1 Recuperação do molibdênio (%)	Resposta2 Recuperação do cobre (%)	Resposta 3 Recuperação do zinco (%)
1	86,83 ± 0,65	5,49 ± 0,28	41,82 ± 0,95
2	5,97 ± 0,88	22,15 ± 0,99	2,00 ± 0,08
3	91,36 ± 0,31	12,15 ± 0,27	101,46 ± 1,23
4	71,11 ± 0,17	38,43 ± 0,81	32,30 ± 0,19
5	1,84 ± 0,04	6,47 ± 0,48	85,37 ± 0,30
6	4,54 ± 0,60	14,31 ± 0,20	97,37 ± 1,34
7	2,53 ± 0,21	14,12 ± 0,89	56,26 ± 0,73
8	0,38 ± 0,12	48,63 ± 0,46	0,20 ± 0,43
Resultado dos ensaios do planejamento fatorial 2 ²			
9	100,00 ± 0,50	55,77 ± 0,21	78,44 ± 0,23
10	95,00 ± 0,32	60,58 ± 0,32	77,36 ± 0,12
11	89,00 ± 0,20	54,33 ± 0,20	79,17 ± 0,17
12	101,22 ± 0,30	66,89 ± 2,67	78,32 ± 0,74

A análise de variância (ANOVA), aplicada para a validação do ajuste do modelo desenvolvido para a otimização das variáveis, está apresentada nas Tabelas 12 e 13. Os resultados indicam que os modelos são considerados estatisticamente significativos e preditivos com 95% de confiança. Os coeficientes de determinação (R²) estão descritos nas tabelas e demonstram que os modelos são adequados para prever os dados obtidos.

Tabela 12. ANOVA para a porcentagem de extração dos metais Cu, Zn e Mo obtida no processo de separação cromatográfica

Extração do Cobre					
	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Fcal	p-valor
Regressão	12703	9	1411.5	13.77	0.00113
Resíduos	712.17	7	102.45		
Falta de ajuste	645.28	5	129.06		
Erro puro	71.885	2	35.942	3.59	0.23207
Total	13420	16			
% variação explicada (R^2)= 94,65%					
Extração do Zinco					
	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Fcal	p-valor
Regressão	4403.7	5	880.73	18.78	0.0029
Resíduos	234.54	5	46.908		
Falta de ajuste	212.96	3	70.985		
Erro puro	21.585	2	10.792	6.58	0.1348
Total	4638.2	10			
% variação explicada (R^2)= 94,94%					
Extração do molibdênio					
	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	Fcal	p-valor
Regressão	23591	9	2621.2	9,198	0,00386
Resíduos	1994.7	7	284.95		
Falta de ajuste	1934	5	386.8		
Erro puro	60.667	2	30.333	12,752	0,07431
Total	25585	16			
% variação explicada (R^2)= 92,20%					

Tabela 13. Análise de Variância (ANOVA). Coeficientes da regressão dos modelos quadráticos para as respostas das taxas de recuperações dos metais em colunas de separações cromatográficas

Termo	Mo	Cu	Zn
β_0	94,92	56,9	74,45
β_1	-7,25	6,769	-15,3
β_2	-5,54	8,977	-3,59
β_3	-24,9	-----	6,68
β_{12}	6,97	2,405	-11,7
β_{13}	12,71	-----	7,60
β_{23}	-9,14	-----	-26,5
β_{11}	-29,8	- 23,67	-9,67
B_{22}	-10,3	-13,12	-7,44
β_{33}	-20,2	-----	-8,15
R^2	0,9297	0,9495	0,9297
Efeitos principais			
Tamanho da coluna	**a	**a	**a
Concentração do HCl	ns ^b	**a	**a
Eluente para saída do ferro	**a	ns ^b	**a

^a significativo com $p < 0.05$ (**); ^b não significativo com $p > 0.05$

O percentual de Cu recuperado na amostra sintética variou de 5,49 a 66,89 %.

Verifica-se na Tabela 13 que as variáveis: tamanho da coluna (X_1) e concentração do HCl (X_2) foram significativos ($p \leq 0,05$). A variável eluente para extração do ferro (X_3) não influenciou nesses resultados, pois a etapa de eluição do cobre precede a etapa de eluição do ferro.

Os coeficientes dos termos lineares são todos positivos, o que significa que, a recuperação é melhorada aumentando os níveis dos fatores (coluna de maior tamanho e solução ácida mais concentrada). Não há evidência da interação desses dois fatores na faixa experimental investigada (Tabela 13).

Por outro lado, como os coeficientes dos termos quadráticos são negativos, uma elevação maior do nível dos fatores tende a diminuir o percentual de recuperação para este metal.

A influência das variáveis na recuperação individual do cobre também pode ser avaliada pela superfície de resposta. Por meio da Figura 10 é possível concluir que tanto a coluna quanto a concentração do HCl em seus níveis mais elevados (7 mol L^{-1} e a coluna de 2,5 mL de resina) contribuíram para aumentar a recuperação do Cu.

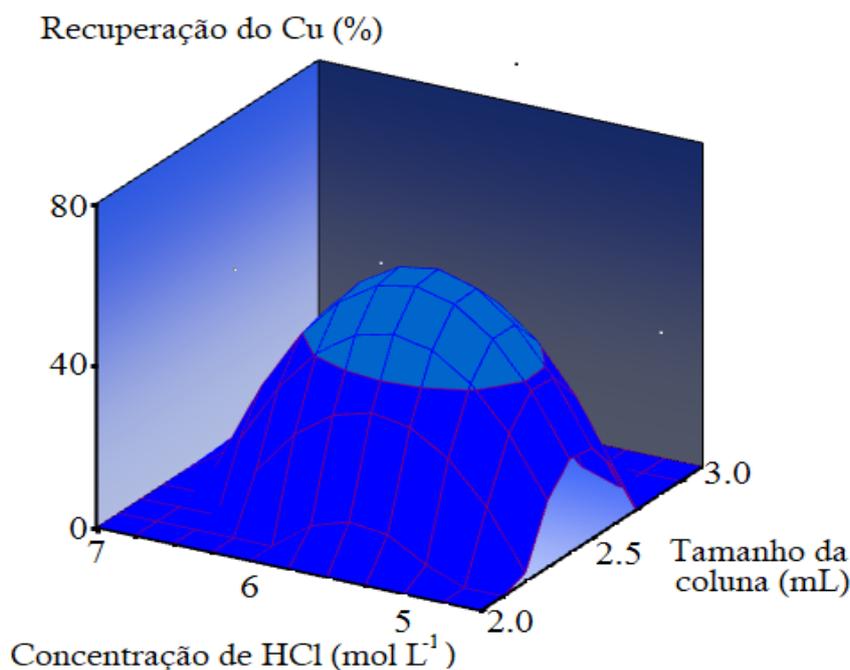


Figura 10. Superfície de Resposta para os efeitos: concentração do ácido clorídrico (HCl) e tamanho da coluna para a recuperação percentual do Cu

Entretanto, o valor máximo obtido foi inferior ao pretendido, na qual o percentual deve estar acima de 90%. A melhoria dessa resposta será discutida mais adiante e só foi alcançada com a utilização das amostras reais. Esse resultado já era esperado, pois, conforme reportados por outros autores (Chapman et al., 2006; Petit, 2009) o Cu e o Zn tende a ser eluído mais rapidamente da coluna na ausência dos elementos da matriz, justificando a princípio o baixo rendimento apresentado na amostra sintética, que não contém matriz igual aos materiais geológicos, como sedimentos e rochas.

Para o zinco, na amostra sintética, a taxa de recuperação variou de 0,20 a 100%. Somente o tamanho da coluna (X_1), das variáveis principais, mostrou-se significativo com 95% de confiança (Tabela 13). Os melhores rendimentos ocorreram nos ensaios onde essa variável de efeito esteve fixada no nível inferior (colunas contendo 2,0 mL de resina).

Das interações entre as variáveis de efeito, destacam-se X_1X_2 (tamanho da coluna e concentração do HCl) e X_2X_3 (concentração do HCl e tipo de eluente para extração do ferro). Essas interposições referem-se às superfícies de respostas representadas na Figura 11a e 11b, respectivamente. A interação

X_1X_3 (tamanho da coluna e tipo de eluente para extração do ferro) não foi estatisticamente significativa (Tabela 13).

Os maiores rendimentos ocorreram utilizando colunas menores, com a mistura HCl/HF para extração do ferro e com o emprego do ácido mais concentrado.

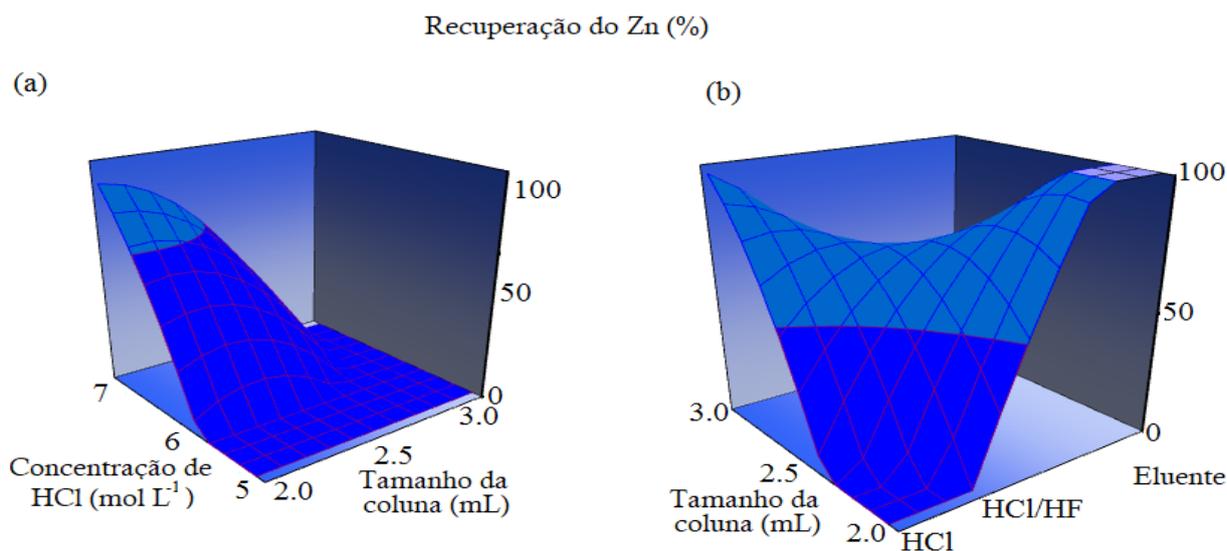


Figura 11. Superfície de Resposta para os efeitos: (a) concentração do ácido clorídrico e tamanho da coluna e (b) tamanho da coluna e eluente para o Fe na recuperação percentual do Zn

Em relação ao Mo, observou-se que, na maioria dos ensaios dos planejamentos fatoriais, a sua recuperação ocorreu na etapa prevista para a eluição do Zn. Portanto, os resultados apresentados para o Zn e o Mo são decorrentes de uma co-eluição. Nessa fração foram encontrados percentuais de rendimento para o Mo que variaram de 0,38 a 100%.

Para o elemento molibdênio, as variáveis: tamanho da coluna (X_1) e tipo de eluente para o ferro (X_3) e as interações entre elas foram estatisticamente significativas (Tabela 11). A concentração do HCl se mostrou relevante somente quando relacionado ao tipo de eluente empregado para eliminação do Fe.

De acordo com as Figuras 12a e 12b, a recuperação do Mo foi favorecida com o emprego da mistura HCl/HF associado a colunas maiores e ao ácido (HCl) mais concentrado.

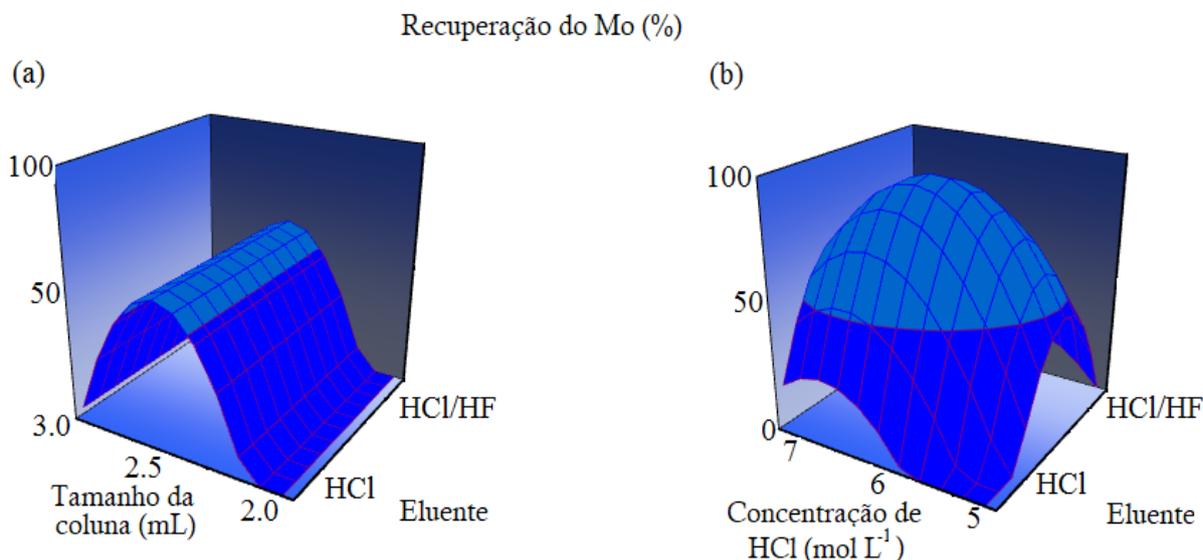


Figura 12. Superfície de Resposta para os efeitos: (a) tamanho da coluna e eluente para o Fe e (b) concentração do ácido clorídrico e tamanho da coluna na recuperação percentual do Zn

Portanto, analisando as influências das variáveis para cada elemento, mas tendo o compromisso de obter as maiores taxas de recuperações conjuntas para o Cu, Zn e Mo, as condições experimentais mais favoráveis foram: o uso de colunas de polietileno de dimensões de 5.0 cm de altura e 1.0 cm de diâmetro interno, preenchidas com a resina AG-MP-1 (100-200 mesh) em volumes iguais a 2,5 mL, HCl na concentração 7 mol L⁻¹ e a mistura HCl/HF como eluente para eliminação do ferro.

7.3. Definição do método de separação para Cu, Zn e Mo

O método aqui apresentado, baseou-se nas junções dos protocolos de Marèchal et al. (1999) publicado para as separações de Cu, Zn e Fe, e em Wieser e Laeter (2000) para a separação do Mo, após a otimização das variáveis descritas anteriormente.

O procedimento envolve três eluições consecutivas: a fração do Cu (com HCl 7 mol L⁻¹), a eliminação do Fe (com a mistura HCl/HF nas concentrações 0,5 e 1 mol L⁻¹, respectivamente) e a co-eluição do Zn e do Mo (com HNO₃ 0,5 mol L⁻¹). Conforme detalhado na Tabela 14.

As soluções de HCl empregadas nas etapas de condicionamentos das colunas, nas remoções das matrizes e nas eluições do Cu tiveram a adição do peróxido de hidrogênio 0,001%, que por ser um forte agente oxidante, mantém os elementos em um único estado de oxidação, evitando desta forma, a ocorrência de fracionamento isotópico (Marèchal e Albarède, 2001).

Tabela 14. Método de separação para os elementos Cu, Zn e Mo (e Fe) por cromatografia de troca aniônica

Etapa	Volume (mL)	Eluente
Condicionamento da coluna	10	HCl 7 mol L ⁻¹ + 0,001% H ₂ O ₂
Passagem da amostra	2	HCl 7 mol L ⁻¹ + 0,001% H ₂ O ₂
Remoção da matriz	6	HCl 7 mol L ⁻¹ + 0,001% H ₂ O ₂
Eluição do Cu	24	HCl 7 mol L ⁻¹ + 0,001% H ₂ O ₂
Eluição do Fe	10	HCl:HF (0,5:1 mol L ⁻¹)
Co-eluição do Mo e Zn	12	HNO ₃ 0,5 mol L ⁻¹

Coluna de polietileno; tamanho da coluna: 5 cm;
Quantidade de resina AG-MP-1: 2,5 mL

Embora tenha ocorrido a co-eluição entre o Zn e o Mo, esta fração pode ser usada nas determinações das razões isotópicas dos dois metais, porque não existe interferência isobárica entre eles. Entretanto, Malinovsky et al. (2005) mencionam que a combinação dos elementos nitrogênio, oxigênio e zinco podem formar os íons (⁶⁴Zn¹⁴N¹⁶O⁺(0.48), ⁶⁴Zn¹⁵N¹⁶O⁺ (0.002), ⁶⁶Zn¹⁴N¹⁶O⁺ (0.28), ⁶⁸Zn¹⁴N¹⁶O⁺(0.19), ⁶⁸Zn¹⁴N¹⁸O⁺(0.0004)) que são interferentes poliatômicos dos isótopos ⁹⁴Mo, ⁹⁵Mo, ⁹⁶Mo, ⁹⁸Mo e ¹⁰⁰Mo, respectivamente. Os valores que se encontram em parênteses representam as abundâncias desses interferentes calculados a partir dos dados compilados da IUPAC e mencionados por Malinovsky et al. (2005), onde se verifica serem muito baixas.

Ao considerar que a probabilidade de ocorrência desses íons é pequena e que existem estratégias no método que possibilitam a minimização e ou correção desse tipo de interferência, a adição de mais etapas no método na tentativa de separar o Zn do Mo seria desvantajosa, considerando que haveria mais gasto de reagentes e de tempo, maior probabilidade de ocorrência de

erros e de contaminação, além de fracionamento isotópico para ambos os metais.

A solução encontrada foi empregar o nebulizador ultrassônico para a introdução das amostras no MC-ICPMS para as determinações dos isótopos do Mo, reduzindo ao máximo as concentrações de oxigênio e nitrogênio e evitando, assim, a formação mesmo que pequenas, de possíveis espécies poliatômicas interferentes.

Para verificar se o uso do nebulizador ultrassônico foi efetivo e eficiente monitorou-se o isótopo ^{97}Mo , que é livre de interferentes, para avaliar possíveis alterações no sinal do isótopo ^{95}Mo que tem influência dos íons poliatômicos formados. As razões $^{97/95}\text{Mo}$ do padrão puro e da amostra sintética (contendo este mesmo padrão) depois de purificada, não mostraram diferenças significativas entre elas, ou seja, na solução de Mo sem a presença do Zn, a razão $^{97/95}\text{Mo}$ foi de $0,62655 \pm 0,00004$, considerado aqui como valor de referência; enquanto, na fração purificada (amostra sintética purificada contendo o Mo e o Zn da co-eluição) foi de $0,62656 \pm 0,00004$.

A estratégia adotada mostrou-se, portanto, eficiente e não foram encontradas evidências da interferência a do Zn nas razões isotópicas do Mo.

A mistura HCl/HF foi eficiente na remoção do ferro tornando possível separá-lo do molibdênio sem a necessidade de introduzir uma segunda coluna cromatográfica. Além disso, foi atingido um grau de purificação entre eles análogo ao indicado por Pietruska et al.(2006), na qual os principais interferentes (X) tiveram uma relação X/Mo <1.

Embora, inicialmente, o presente trabalho não tivesse por objetivo a purificação do elemento ferro, mas, apenas a sua eliminação, os resultados obtidos permitem indicar o método desenvolvido para separação e purificação deste metal para determinações de suas razões isotópicas por MC-ICPMS.

7.4. Análise da ocorrência ou não de fracionamento isotópico no processo de separação e purificação na coluna cromatográfica

Para análise de ocorrência ou não de fracionamento isotópico após passagem da amostra sintética na coluna foram comparados os valores das razões isotópicas do Cu, Zn e Mo antes e depois ao processo de separação e

purificação por cromatografia de troca iônica. A Tabela 15 indica os valores das razões isotópicas para cada elemento nas duas situações supracitadas. Observa-se que em todos os casos os valores são semelhantes indicando a não ocorrência de fracionamento isotópico induzido.

Tabela 15. Método de separação para os elementos Cu, Zn e Mo (e Fe) por cromatografia de troca aniônica

Razão isotópica	Solução não purificada	Solução purificada
$^{65}\text{Cu}/^{63}\text{Cu}$	$0,044895 \pm 0,000033$	$0,444913 \pm 0,000012$
$^{66}\text{Zn}/^{67}\text{Zn}$	$0,024533 \pm 0,000012$	$0,024536 \pm 0,000002$
$^{98}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$	$0,62655 \pm 0,00004$	$0,62656 \pm 0,00004$

7.5. Aplicação do método de separação para amostras reais

Foram feitas as eluições do Cu, Zn e Mo nas amostras reais usando o método de separação descrito na Tabela 14. Para avaliar os percentuais de recuperação foram comparadas as concentrações dos metais nas frações extraídas das colunas com as concentrações dos metais nas alíquotas que não foram purificadas.

As taxas de recuperações dos metais nas amostras reais estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16. Recuperação do Cu, Zn e Mo após a eluição na coluna cromatográfica (n=3)

Amostra	Elemento		
	Cobre		
	Valor esperado (mg L ⁻¹)	Valor obtido (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Granodiorito (GSP-2)	4,23 ± 0,21	3,93 ± 0,20	93,0 ± 1,32
Calcário (JLS-1)	1,40 ± 0,05	1,36 ± 0,02	91,0 ± 0,05
Sedimento Rio Buffalo (SRM 8704)	0,36 ± 0,04	0,34 ± 0,04	95,0 ± 0,11
Sedimento Rio Xingu (CA2)	2,80 ± 0,05	2,59 ± 0,11	93,0 ± 0,04
Sedimento Rio Amazonas (CA7)	8,98 ± 0,56	8,66 ± 0,75	96,46 ± 0,06
	Zinco		
	Valor esperado (mg L ⁻¹)	Valor obtido (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Granodiorito (GSP-2)	12,20 ± 0,19	11,18 ± 2,94	91,7 ± 1,81
Calcário (JLS-1)	3,20 ± 0,05	3,04 ± 0,01	95,0 ± 0,03
Sedimento Rio Buffalo (SRM 8704)	8,90 ± 0,03	8,50 ± 0,07	91,8 ± 0,01
Sedimento Rio Xingu (CA2)	8,03 ± 0,05	7,98 ± 0,05	99,37 ± 0,05
Sedimento Rio Amazonas (CA7)	27,67 ± 0,43	25,77 ± 0,05	93,13 ± 0,05
	Molibdênio		
	Valor esperado (µg L ⁻¹)	Valor obtido (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Granodiorito (GSP-2)	21,0 ± 0,02	20,0 ± 0,01	94,7 ± 2,01
Calcário (JLS-1)	15,2 ± 0,41	14,79 ± 0,44	97,0 ± 0,03
Sedimento Rio Buffalo (SRM 8704)	23,1 ± 0,24	22,84 ± 1,20	98,0 ± 0,05
Sedimento Rio Xingu (CA2)	27,5 ± 0,12	25,87 ± 0,67	94,0 ± 0,02
Sedimento Rio Amazonas (CA7)	50,7 ± 0,21	50,29 ± 1,30	99,0 ± 0,03

Os resultados obtidos nas amostras reais foram melhores que nas amostras sintéticas, atingindo percentuais maiores que 90%. Em especial para o Cu e o Zn, atestando que esses elementos interagem de forma diferente na resina quando há presença de outros constituintes na amostra. A contribuição dos metais nas amostras foi monitorada pelos brancos. Os valores encontrados para os brancos foram baixos, em média 26 ± 7 ng para Zn, 33 ± 4 ng para Cu e 21 ± 4 ng para o Mo.

Além disso, a purificação do Mo tornou-se mais simples e mais rápida se comparada aos demais métodos atualmente descritos na literatura (Siebert et al. 2000; Malinosvky et al. 2001; Migeon et al., 2015) que normalmente realizam diversas etapas de purificação e utilizam no mínimo duas resinas diferentes.

Portanto, o método desenvolvido foi eficiente para a separação dos metais pretendidos, atingindo percentuais de recuperação exigidos para as análises isotópicas. Em especial, o método pode ser aplicado a matrizes ambientais com características diferenciadas e permite a elevada recuperação mesmo o elemento estando em concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$, como é o caso do Mo.

7.6. Determinações das razões isotópicas dos metais em MC-ICPMS

Após a etapa de separação dos metais em colunas cromatográficas foram realizadas as determinações das razões isotópicas do Cu, Zn e Mo da amostra sintética e das amostras reais em MC-ICPMS. Os resultados obtidos para Cu e Zn são apresentados na Tabela 17 e aqueles obtidos para Mo na Tabela 18. As incertezas relatadas são apresentadas como duas vezes o desvio padrão (2s) e como a incerteza expandida U, calculada usando o fator de abrangência $k=2$, que dá um nível de confiança de aproximadamente 95%.

Tabela 17. Valores e precisões do δ para Cu e Zn nas amostras selecionadas

Amostra	$\delta^{65/63}\text{Cu}$	U	2s	$\delta^{66/67}\text{Zn}$	U	2s	$\delta^{68/67}\text{Zn}$	U	2s
	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)	(‰)
Granodiorito (GPS 2)	+0,47	0,10	0,08	-1,75	0,10	0,04	-0,90	0,10	0,05
Calcário (JLS-1)	-0,30	0,41	0,10	-0,12	0,07	0,05	-0,23	0,07	0,05
Sedimento Rio Búffalo (SRM 8704)	+0,45	0,80	0,05	+2,97	0,09	0,06	+6,44	0,09	0,06
Sedimento Rio Xingu (CA2)	+1,51	0,10	0,07	+0,32	0,07	0,03	+0,55	0,07	0,03
Sedimento Rio Amazonas (CA7)	+0,95	0,25	0,09	+0,70	0,09	0,08	+1,26	0,09	0,08

$\delta^{65/63}\text{Cu}$ - reportado em relação ao ERM-AE633.

$\delta^{66/67}\text{Zn}$ e $\delta^{68/67}\text{Zn}$ - reportado em relação ao IRMM 653.

Tabela 18. Valores e precisões do δ para o Mo nas amostras selecionadas

Amostras	$\delta^{98/95}\text{Mo}$ em relação ao JMC Alfa Aesar (‰)	U (‰)	2s (‰)	$\delta^{98/95}\text{Mo}$ normalizado para o NIST 3134
Granodiorito (GPS2)	+0,22	0,08	0,07	$-0,11 \pm 0,07$
Calcário (JLS-1)	-0,90	0,10	0,06	$-1,24 \pm 0,06$
Sedimento Rio Buffalo (SRM-8704)	+1,06	0,18	0,02	$+0,72 \pm 0,02$
Sedimento Rio Xingu (CA2)	+0,64	0,02	0,02	$+0,31 \pm 0,02$
Sedimento Rio Amazonas (CA7)	+0,11	0,06	0,03	$-0,23 \pm 0,03$

A comparabilidade dos valores de delta para Zn e o Mo em relação à literatura é bastante restrita, pois esses metais não possuem um material de referência isotópica aceito internacionalmente.

Neste estudo, os valores para o Zn nas amostras investigadas foram relatados em relação ao IRMM 653 e não foi possível compará-los com outros trabalhos, devido à falta de referências na literatura que utilizasse esse mesmo material de referência isotópico como o valor delta zero.

Para o Mo, conforme mencionado, empregou-se à solução padrão JMC Mo Alfa Aesar ICP (Lote 61200523) como delta zero. Os valores dos deltas dos dois sedimentos dos rios da Bacia Amazônica e dos três materiais de referência certificados foram normalizados para o NIST SRM 3134. Para a conversão dos dados, foi admitido $\delta^{98/95}\text{Mo}$ igual a $-0,34 \pm 0,05\%$ para o padrão JMC Alfa Aesar em relação ao NIST SRM 3134 (valor retirado de Goldberg et al., 2013).

Para o granodiorito o valor de $\delta^{98/95}\text{Mo}$ encontrado nesse estudo é consistente, dentro da faixa de incerteza, ao valor reportado por Yang et al. (2015) ($-0,17 \pm 0,06$ (2s)). Para as demais amostras, não foram encontrados referenciais que permitissem comparações.

Para o cobre as amostras foram reportadas em relação ao MRC ERM-AE 633. Esse material é reconhecido internacionalmente como padrão de referência delta zero e foi calibrado em relação ao extinto NIST SRM 976.

Desta forma, pode-se considerar que os valores de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ para o granodiorito obtidos no presente estudo é comparável, dentro da incerteza, aos

valores divulgados por Li et al. (2009) ($+0.30 \pm 0.04 \text{ ‰}$) e Bigalke et al. (2010) ($+0.35 \pm 0.04 \text{ ‰}$), ambos estão reportados ao NIST SRM 976.

Das amostras investigadas somente as composições isotópicas de Cu e de Mo pode ser comparada com dados reportados na literatura. Esse resultado permite considerar que o método mais simples e multi-elementar desenvolvido no presente estudo, pode ser empregado com segurança, dentro dos limites de precisão necessários, como uma ferramenta multi-proxy na geoquímica isotópica.

Quanto as incertezas encontradas, os resultados dos valores de delta foram estimados pela reprodutibilidade externa (2s) e pelo cálculo de propagação das incertezas, conforme orientações do ISO GUM 95 (Tabelas 14 e 15). Considerando somente as incertezas associadas a duas vezes o desvio padrão, os valores encontrados nesse estudo estão dentro da faixa de incerteza esperada (resultados menores que 1‰). Na próxima seção, na Tabela 18, estão apresentadas algumas referências e os valores das precisões encontradas para esses metais. Nelas são detectadas variações de 0,001‰ a 1,43 ‰.

Já em relação às incertezas combinadas não há como compará-las, uma vez que nos demais estudos, os aspectos matemáticos da propagação da incerteza entre variáveis correlacionadas não são considerados. Meija et al. (2012) demonstraram que a incerteza da medida da razão $^{79/81}\text{Br}$ é subestimada em 30% se os sinais dos isótopos forem considerados como variáveis independentes (não-correlacionadas). Aqui, semelhante à Meija et al. (2012) os valores apresentados para as incertezas combinadas foram maiores que os valores da reprodutibilidade externa (2s).

7.7. Análise de ocorrência ou não de fracionamento isotópico instrumental

Para certificação de que o método de separação não provoca o fracionamento isotópico, foram medidas as razões isotópicas dos metais nas soluções monoelementares empregadas para a produção da amostra sintética, cujos valores de razão isotópica foram tomados como referência.

Na solução de Cu (lote HC 109865) o valor de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ reportado em relação ao ERM AE 633 foi de $-1,65 \pm 0,05\text{‰}$ (2s). Após a passagem na coluna foi de $-1,57 \pm 0,05\text{‰}$ (2s). Para a solução Zn (lote HC 112017) foram calculados os valores do $\delta^{66/67}\text{Zn}$ e do $\delta^{68/67}\text{Zn}$, ambos reportados em relação ao IRMM 653. Antes da purificação os valores foram de $-0,62 \pm 0,04\text{‰}$ para o $\delta^{66/67}\text{Zn}$ e $-1,07 \pm 0,04\text{‰}$ para o $\delta^{68/67}\text{Zn}$. Nessa mesma ordem, depois de purificados foram de $-0,64 \pm 0,03\text{‰}$ (2s) e $-1,10 \pm 0,03\text{‰}$ (2s).

Para o Mo, os valores de delta da solução Alfa Aesar (Specpure®) Johnson Matthew (lote 61200523) foram reportados em relação a ela mesma, portanto, o cálculo do $\delta^{98/95}\text{Mo}$ foi realizado após a passagem dessa solução na coluna e o valor encontrado foi de $0,00 \pm 0,02\text{‰}$ (2s).

Como os valores dos deltas das alíquotas purificadas e das soluções sem a purificação podem ser considerados comparáveis, dentro do erro, pode-se concluir que o método de separação proposto não provoca o fracionamento isotópico nos metais investigados.

7.8. Figuras de mérito e validação

Para avaliar a exatidão do método, as razões isotópicas do Cu e do Zn dos materiais de referência isotópicos ERM-AE 633 e IRMM 653 foram medidas várias vezes ao longo de três sessões analíticas. Não foi possível avaliar a exatidão nas medidas do Mo devido à ausência de MRC para este elemento.

Os valores médios das relações $^{65/63}\text{Cu}$ e $^{67/66}\text{Zn}$, após a correção dos dados pelo método SSB, foram de $0,44564 \pm 0,0005$ e $0,0245525 \pm 0,0000053$, respectivamente. Considerando os erros, não houve diferenças entre as médias obtidas experimentalmente e os valores reportados para os Materiais de Referência Certificados considerados ($0,44563 \pm 0,00042$ para $^{65/63}\text{Cu}$, $0,0245516 \pm 0,0000070$ para $^{66/67}\text{Zn}$).

Para a análise da precisão foram avaliadas as variações nas medidas das razões isotópicas de Cu e Zn dos Materiais de Referências Certificados e do Mo da solução de referência JMC durante a mesma sessão analítica. Considerando as três sessões realizadas, a precisão em termos de

repetibilidade variou de 0,06 a 0,11 ‰ (2s) para Cu; 0,04 a 0,06 ‰ (2s) para Zn e 0,02 ‰ a 0,03 ‰ (2s) para Mo.

A reprodutibilidade, mostrada nas Figuras 13, 14 e 15, dos valores das razões isotópicas foi estimada a partir de medidas repetidas dos padrões isotópicos de Cu, Zn e da solução padrão de Mo nas diferentes sessões analíticas. Os valores de delta para Cu e Zn apresentados são as razões isotópicas dos MRC medidas em relação aos seus valores certificados. Para o Mo os valores são relativos às razões isotópicas na solução JMC determinada experimentalmente.

Para o Cu, a reprodutibilidade das medições de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ foi definida em dez análises repetidas do ERM-AE 633. Elas produziram uma precisão de $\pm 0,07$ ‰ (2s). Para o Zn, foram realizadas trinta e oito repetições das medidas do IRMM 653 que deram a precisão de $\pm 0,09$ ‰ (2s) para $\delta^{66/67}\text{Zn}$, e para Mo foram dezesseis análises repetidas da solução JMC (Alpha Aesar Specpure®) que deram $\pm 0,02$ ‰ (2s) para $\delta^{98/95}\text{Mo}$. Ambos os conjuntos de dados foram obtidos durante um período de três anos.

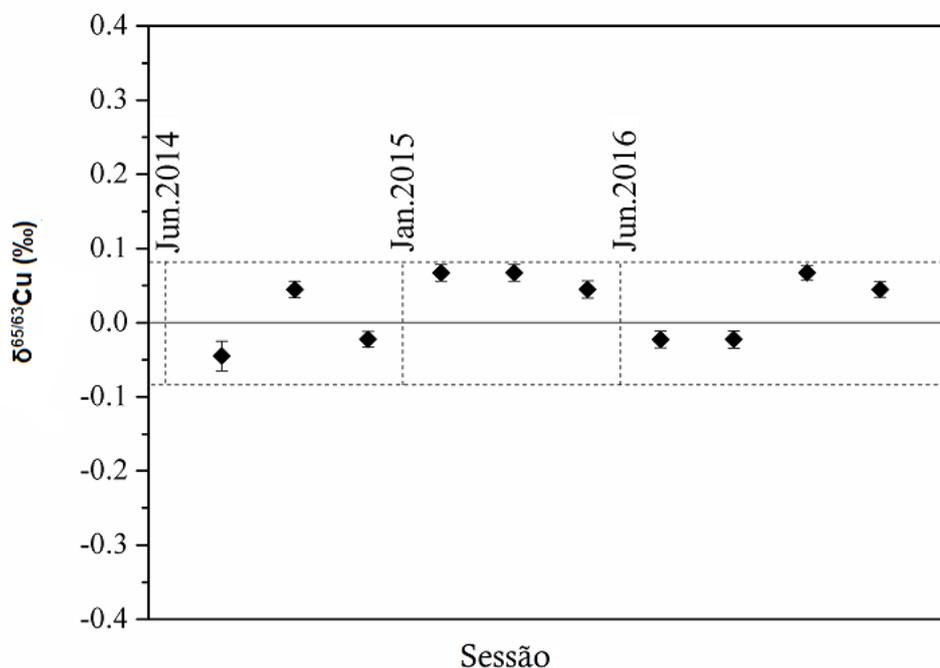


Figura 13. Reprodutibilidade das medições de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ (ERM-AE-633) para três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,07 ‰ (2s, n = 10)

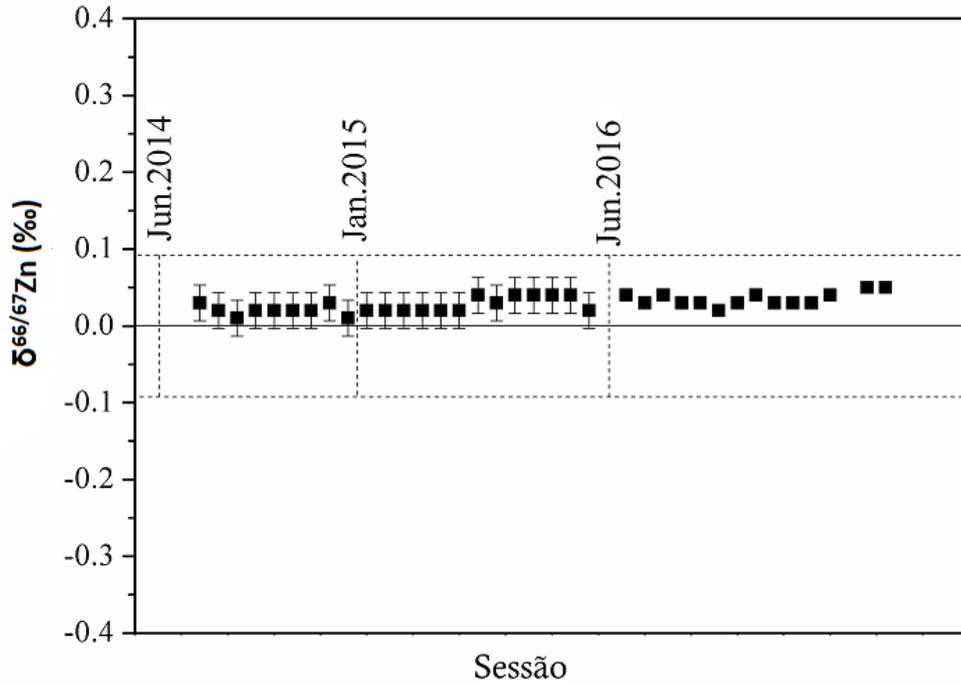


Figura 14. Reprodutibilidade das medições de $\delta^{66/67}\text{Zn}$ (IRMM-653) para três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,09 ‰ (2s, n = 38)

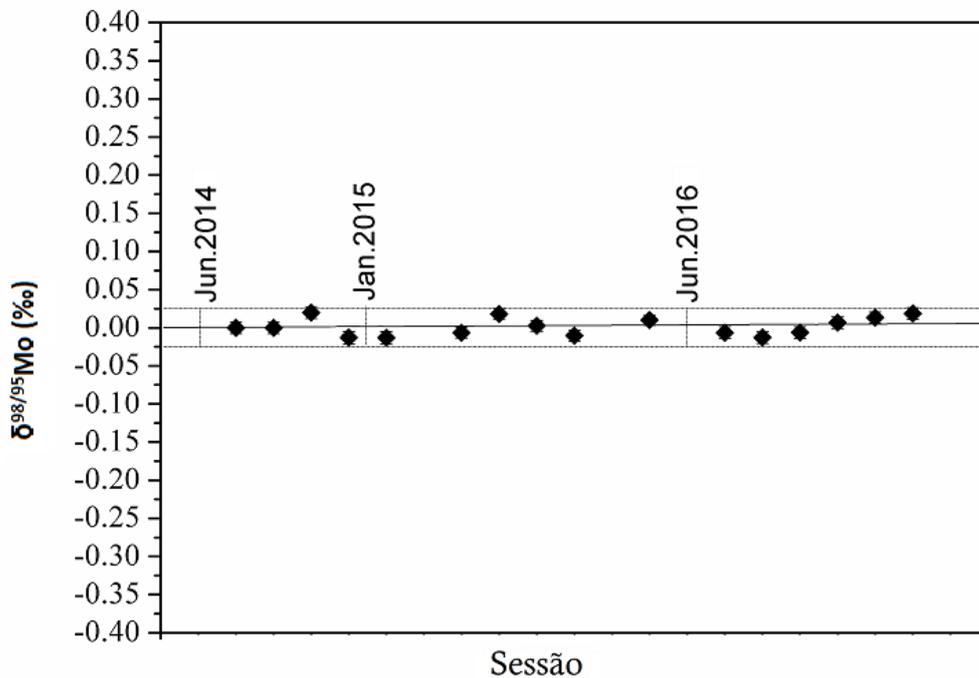


Figura 15. Reprodutibilidade das medidas de $\delta^{98/95}\text{Mo}$ (Alfa Aesar JMC) para as três sessões analíticas. A reprodutibilidade média a longo prazo é de 0,02 ‰ (2s, n = 16)

Comparando os dados apresentados na Tabela 19, a precisão alcançada nas determinações das razões isotópicas dos materiais geológicos empregados neste estudo é melhor que a maioria dos estudos que também desenvolveram métodos de purificação para Cu, Zn ou Mo e realizaram determinações de suas razões isotópicas por MC-ICPMS em amostras reais.

Em especial, se forem considerados que os resultados obtidos foram utilizando um método mais simples para correção para o viés de massa instrumental (*SSB* em vez de *Double-spike*) e que o método, diferente dos demais é multielementar.

Tabela 19. Precisões alcançadas por diferentes métodos e grupos de trabalho

Referência	Instrumento (MC-ICPMS)	Correção do viés de massa	Reprodutibilidade externa (2s) ‰	
			$\delta^{65/63}\text{Cu}$	$\delta^{66/64}\text{Zn}/\delta^{67/64}\text{Zn}$
Esse estudo	Thermo Finnigan Neptune	SSB	0,05 – 0,10 (n=3)	0,03- 0,08 (n=3)
Marèchal et al. (1999)	Plasma 54	Normalização externa	0,04* (n=6)	0,04* (n=6)
Chapman et al. (2006)	GVi Isoprobe	SSB	0,08 – 0,15 (n=6 ou 8)	0,07 - 0,17 (n=10)
Petit (2009)	Nu Plasma	SSB	0,01– 0,03 (não reportado)	0,01 – 0,07 (não reportado)
Arnold et al. (2010)	Nu Plasma	Double-spike	-----	0,04 – 0,15 (n=3)
Skierszkan et al. (2016)	Nu Plasma	Double-spike	-----	0,001 – 0,11 (n=3)
Peel et al. (2008)	GVi Isoprobe	SSB	0,00- 1,00 (não reportado)	0,01– 1,43 (não reportado)
$\delta^{97/95}\text{Mo}/\delta^{98/95}\text{Mo}$				
Referência	Instrumento (MC-ICPMS)	Correção do viés de massa	Reprodutibilidade externa 2s (‰)	
Esse estudo	Thermo Finnigan Neptune	SSB (direto)	0,02 – 0,07 (n=3)	
Malinovsky et al. (2005)	Thermo Finnigan Neptune	Normalização Externa	0,08 – 0,10 (n=6)	
Skierszkan et al. (2016)	Nu Plasma	Double-spike	0,01 – 0,10 (n=3)	
Pearce et al. (2010)	Nu Plasma	Double-spike	0,02 – 0,40 (não reportado)	

* Valores reportados para todas as amostras investigadas.

7.9. Aplicações geológicas

Este estudo ainda apresenta a composição isotópica de Cu, Zn e Mo de amostras da Bacia Amazônica que exibe condições ambientais bastante distintas. Em relação às características hidrológicas, o Rio Amazonas é dominado por sedimentos derivados principalmente dos Andes, enquanto o Rio Xingu tem menos material suspenso e drena antigos terrenos cratônicos do escudo da Amazônia brasileira.

As amostras desses dois rios também se diferem pelos aspectos correlacionados ao seu meio de deposição. O sedimento do Rio Amazonas foi coletado em condições mais oxidadas e parcialmente afetadas pelo Oceano Atlântico. Já o sedimento do Rio Xingu foi coletado em ambiente mais reduzido. Exceto pelos valores de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ observados nos sedimentos do Xingu, os resultados reportados para esses sedimentos correspondem a essa interpretação.

A complexa interação dos elementos em ambientes óxicos ou anóxicos pode ser definida pelas razões isotópicas dos metais. O Cu e o Mo são metais sensíveis às condições redox, apresentando valores de delta distintos para caracterizá-las. Em condições redutoras, os sedimentos normalmente apresentam δ positivos para o Mo e δ negativos para o Cu. Em relação aos meios oxidantes, os valores para Cu e Mo se invertem, os sedimentos são enriquecidos dos isótopos do Cu e ficam mais leves em relação ao Mo.

Neste estudo foi encontrado para o sedimento do Rio Xingu o valor médio de $\delta^{98/95}\text{Mo} = +0,31\text{‰} \pm 0,02$, mas para o Cu, a amostra estava enriquecida do seu isótopo pesado, apresentando o valor de $\delta^{65/63}\text{Cu} = +1,51\text{‰} \pm 0,07$. Apesar de anômalo, esse resultado deve ser avaliado considerando os muitos processos biogeoquímicos que ocorrem em diferentes reservatórios (água, rocha, sedimento) antes de o metal chegar aos sedimentos.

Conforme Vance et al. (2016), o fracionamento isotópico dos metais de transição observada nos rios, inicia-se nos solos. Cerca de 50 a 90% dos isótopos pesados do Cu são exportados dos solos para a água, de forma que os sedimentos devem ser o repositório final para compensar o fluxo fluvial, a partir de um mecanismo de fracionamento de equilíbrio entre as diferentes fases.

Outra suposição para explicar o valor positivo vista na amostra do Xingu é admitir a ocorrência do fracionamento pós-sedimentação em resposta aos padrões de precipitação relacionadas às estações do ano, as sazonais variações da matéria orgânica e do potencial redox que pode mudar com a profundidade do sedimento, como observado por Bigalke et al. (2013) e por Guinoiseau et al. (2017). Segundo Bigalke et al. (2013), a oscilação na condição redox provoca a formação de coloides metálicos, como o CuO, na qual o isótopo ^{65}Cu é preferencialmente complexado, explicando o aumento no valor de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ na amostra.

Para os sedimentos do Rio Amazonas, coletados próximo a foz, foram definidos o valores médios de $\delta^{65/63}\text{Cu} = +0,95 \text{ ‰} \pm 0,09$ e do $\delta^{98/95}\text{Mo} = - 0,23 \text{ ‰} \pm 0,03$. Nesse caso, os dados corroboram entre si devidos seus valores em termos de fracionamento isotópico ser opostos entre si, definindo o ambiente oxidante e fortemente influenciado pela mudança na salinidade da água (sedimentos próximos ao Oceano Atlântico).

Quanto ao Zn, o seu enriquecimento nos sedimentos indica uma retenção preferencial dos isótopos leves em atividades biológicas, de forma que os valores de delta do Zn em amostras geológicas são positivos, caso não haja influência de fontes difusas, como o aporte pela emissão atmosférica ou pela atividade antrópica. Os valores de delta do Zn nesse estudo são positivos e estão de acordo com o esperado, ou seja, valores menores em condições redutoras ($\delta^{66/67}\text{Zn} = + 0,31 \text{ ‰}$ para o sedimento do Rio Xingu) e maiores em meio oxidantes ($\delta^{66/67}\text{Zn} = + 0,70 \text{ ‰}$ para o sedimento do Rio Amazonas).

Quanto à diferença observada nas amostras em relação as suas localizações na Bacia Amazônica, é admitida a influência do Oceano Atlântico no fracionamento dos metais. No sedimento próximo a foz do Rio Amazonas a deposição se dá por processos biogeoquímicos que ocorrem sobre forte influência das marés e conseqüentemente, contribuem significativamente para a ciclagem dos elementos relacionados à química da água interticial e aos estados redox (Vance et al., 2008; Bigalke et al, 2013). Nesse estudo, foi observado um decréscimo nos dados isotópicos do Cu no sedimento ao se aproximar da foz do Rio Amazonas (os valores do $\delta^{65/63}\text{Cu}$ foram de $+ 1,51\text{‰}$ para $+ 0,95\text{‰}$). O mesmo efeito foi observado em Vance et al. (2008) que

encontram valores de $\delta^{65/63}\text{Cu}$ no rio de até + 1,45‰ e no estuário o valor baixou para + 0,94 ‰.

Em relação a Mo, os valores reportados neste estudo são os primeiros relatados para a Bacia Amazônica e corroboram com os resultados encontrados para Cu e Zn. Para o $\delta^{98/95}\text{Mo}$ foi encontrada uma diferença de 0,08‰ entre as duas amostras. Os valores de delta positivo para o sedimento do rio Xingu ($\delta^{98/95}\text{Mo} = 0,31 \text{ ‰}$) reforçam as condições redutoras e ainda mostram que sedimento mais próximos do mar, como o caso da amostra coletada próxima a foz do Rio Amazonas ($\delta^{98/95}\text{Mo} = - 0,23 \text{ ‰}$) são mais leves, como também observado por Siebert et al.(2003) e Pearce et al. (2010).

7.10. Perspectivas futuras

As investigações dos isótopos estáveis não tradicionais em ciências naturais estão em constante crescimento. Grandes avanços como a melhoria nas detecções dos isótopos dos metais a partir do desenvolvimento de métodos mais exatos e precisos tornou mais evidente o fracionamento de massa de uma variedade de elementos e compostos.

Conforme apresentado na revisão bibliográfica, os isótopos dos metais vêm se destacando como mais uma ferramenta geoquímica para interpretação das condições ambientais e consequente melhoria no entendimento dos diferentes eventos geológicos antigos e atuais.

Contudo, o desenvolvimento de métodos que possam caracterizá-los torna promissora a aplicação desses isótopos em outras áreas da ciência, como por exemplo, na certificação de diferentes materiais a partir das suas origens, tais como petróleo, água, madeira, alimentos diversos, dentre outros.

8. Conclusão

O presente trabalho apresenta um método simples para a separação, purificação simultânea e determinação precisa e exata da composição isotópica de três metais (Cu, Zn e Mo). Ele é aplicável a diferentes tipos de amostras geológicas, que têm como característica uma matriz diversa, onde a maioria delas possui altas concentrações de ferro e baixos teores dos metais estudados, ou como no caso da amostra de calcário, o alto teor de cálcio e níveis muito baixos dos outros elementos, principalmente o Mo.

Os resultados mostram que Cu, Fe, Mo e Zn podem ser isolados com sucesso da matriz geológica usando seis etapas em uma única coluna, e que a pureza resultante é suficiente para análise direta com correção por SSB empregando MC-ICPMS.

Os resultados da comparação das composições isotópicas de Cu e Mo obtidas para granodiorito, com relação aos dados reportados na literatura, mostram que o método mais simples e multielementar desenvolvido neste estudo podem ser utilizados com segurança, dentro dos limites de precisão, como uma ferramenta multi-proxy em geoquímica isotópica.

A precisão e exatidão das razões de isótopos medidas são comparáveis às incertezas analíticas relatadas por outros autores em investigações similares. Portanto, os dados obtidos sugerem que: 1) o método analítico aplicado neste estudo fornece medidas precisas e confiáveis de isótopos de Cu, Zn e Mo para diferentes amostras geológicas 2) os valores correspondem a uma assinatura isotópica que permite seu uso como proxies multi-elementar e 3) os métodos de separação e correções instrumentais podem ser simplificados sem prejudicar a confiabilidade e a precisão dos dados.

Espera-se que este trabalho contribua para os avanços dos estudos relacionados à geoquímica isotópica dos metais de transição e suas aplicações como proxies locais e globais em estudos paleoambientais, biogeoquímicos e arqueológicos, entre outros. Deve-se notar que o procedimento economiza tempo ao realizar a separação de elementos e a correção do viés de massa instrumental.

Embora limitado no escopo, este estudo reporta os primeiros dados para assinatura isotópica de Cu, Zn e Mo em sedimentos superficiais da Bacia do

Rio Amazonas e revelam variação significativa em $\delta^{65/63}\text{Cu}$ (+1.51 a +0.95 ‰), $\delta^{66/67}\text{Zn}$ (+0.32 para +0,70 ‰) $\delta^{98/95}\text{Mo}$ (+0,31 a -0,23 ‰) entre amostras coletadas no Xingu e no rio Amazonas.

9. Referências bibliográficas

- Albarède, F. 2004. The Stable Isotope Geochemistry of Copper and Zinc. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry* 55:409-427. doi:10.1146/annurev.earth.34.031405.125029.
- Albarède, F., Telouk, P., Blichert-Toft, J., Boyet, M., Agranier, A., Nelson, B. 2004. Precise and Accurate Isotopic Measurements Using Multiple-Collector ICPMS. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (12): 2725–44. doi:10.1016/j.gca.2003.11.024.
- Albarède, F., Beard, B. 2004. Analytical Methods for Non-Traditional Isotopes. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 55(1): 113-152.
- Allègre, C.J. 2008. *Isotope geology*. Institute de Physique du Globe de Paris and Université Denis Diderot. Cambridge.
- Anbar, A. D., Knab, K., Barling, J. 2001. Precise Determination of Mass-Dependent Variations in the Isotopic Composition of Molybdenum Using MC-ICPMS. *Analytical Chemistry* 73 (7): 1425–1431. doi:10.1021/ac000829w.
- Anbar, A.D. 2004. Molybdenum Stable Isotopes: observations, interpretation and directions. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry* Vol. 55: 429-454.
- Anbar, A. D., Rouxel, O. 2007. Metal Stable Isotopes in Paleoceanography. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 35: 717–746.
- Araújo; Daniel Ferreira 2012. *Isótopos de Cu e Zn: metodologia e aplicação como traçadores de fontes e processos biogeoquímicos na bacia do Lago Paranoá-DF*. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, 2012.
- Archer C.; Vance D. 2002. Large fractionation in Fe, Cu and Zn isotopes associated with Archean microbially-mediated sulphides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66 (Suppl.) A 26.
- Archer, C., Vance, D. 2004. *Mass discrimination correction in multiple-collector plasma source mass spectrometry: an example using Cu and Zn isotopes*. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19(5): 656.
- Archer, C., Vance, D., 2008. The isotopic signature of the global riverine molybdenum flux and anoxia in the ancient oceans. *National Geoscience* 1: 597–600.
- Arnold, T., Schönbächler, M., Rehkämper, M., Dong, S., Zhao, F.J., Kirk, G.J.D., Coles, B.J., Weiss, D.J. 2010. Measurement of Zinc Stable Isotope Ratios in Biogeochemical Matrices by Double-Spike MC-ICPMS and determination of the Isotope Ratio Pool Available for Plants from Soil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398 (7–8): 3115–25. doi:10.1007/s00216-010-4231-5.
- Barling, J., Arnold, G.L., Anbar, A.D. 2001. Natural mass-dependent variations in the isotopic composition of molybdenum. *Earth and Planetary Science Letters* 193: 447-457.
- Beard, B.L., Johnson, C.M., 2006. Comment on “Heavy iron isotope composition of granites determined by high resolution MC-ICP-MS” by. *Chemical Geology* 235 (1–2): 201–204.
- Bigalke, M., Weyer, S., Wilcke, W. 2010. Copper Isotope Fractionation during Complexation with Insolubilized Humic Acid. *Environmental Science and Technology* 44 (14): 5496–5502. doi:10.1021/es1017653.

- Bigalke, M., Kersten, M., Weyer, S.; Wilcke, W. 2013. Isotopes Trace Biogeochemistry and Sources of Cu and Zn in an intertidal soil. *Soil Science Society of America Journal* 77:680–691.
- Borrok, D. M., Wanty, R.B., Ridley, W.I., Wolf, R.P., Lamothe, J., Adams, M. 2007. Separation of Copper, Iron, and Zinc from Complex Aqueous Solutions for Isotopic Measurement. *Chemical Geology* 242 (3–4): 400–414. doi:10.1016/j.chemgeo.2007.04.004.
- Borrok, D. M.; Nimick, D. A., Richard B. Wanty, R. B.; Ridley, B. W. 2008. Isotopic variations of dissolved copper and zinc in stream waters affected by historical mining. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 72: 329–344.
- Brand, A.W. 2004. Mass spectrometer hardware of analyzing stable isotope ratios. Handbook of Stable Analytical Techniques, Volume 1, PA de Groot. Elsevier.
- Carneiro, C.D.R, Mizusaki, A.M.P., Almeida, F.F.M. 2005. A determinação da idade das rochas. *Terra e Didática* 1(1):6-35.
- Chapman, J. B., Mason, T.F.D., Weiss, D.J., Coles, B.J., Wilkinson, J.J. 2006. Chemical Separation and Isotopic Variations of Cu and Zn from Five Geological Reference Materials. *Geostandards And Geoanalytical Research* 30 (1): 5–16. doi:10.1111/j.1751-908X.2006.tb00907.x.
- Collins; C.H.; Braga; L.G.; Bonato; P.S. *Fundamentos de Cromatografia-Campinas*, SP: Editora Unicamp, 2006.
- Cloquet, C.; Carigna, J.; Libourel, G. 2006. Isotopic composition of Zn and Pb atmospheric depositions in Urban/Periurban area of Northeastern France. *Environmental Science & Technology* 40: 6594-6600.
- Cloquet, C.; Carignan, J.; Lehmann, M. F.; Vanhaecke, F. 2008. Variation in the isotopic composition of zinc in the natural environment and the use of zinc isotopes in biogeosciences: a review. *Anal Bioanal Chem* 390:451–463.
- Chen, J. B., Gaillardet, J., Louvat, P., Huon, S. 2009. Zn isotopes in the suspended load of the Seine River, France: Isotopic variations and source determination. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73: 4060–4076.
- Duan, Y., Anbar, A.D., Arnold, G.L., Lyons, T.W., Gordon, G.W., Kendall, B. 2010. Molybdenum isotope evidence for mild environmental oxygenation before the Great Oxidation Event. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74: 6655–6668. doi:10.1016/j.gca.2010.08.035.
- Ehrlich, S., Butler, I., Halicz, L., Rickard, D., Oldroyd, A., Matthews, A. 2004 Experimental study of the copper isotope fractionation between aqueous Cu (II) and covellite, *CuS*. *Chemical Geology* 209: 259 – 269.
- EURACHEM/CITAC: Determinando a incerteza nas medições analíticas. QUAN: 2002 Versão brasileira.
- Fantle, M., Bullen, T. 2009. Essentials of iron, chromium and calcium isotope analysis of natural materials by thermal ionization mass spectrometry. *Chemical Geology* 258: 50-64.
- Ferreira, Ana Isabel Amaral Janeiro Viegas. *Espectrometria de massa de razões isotópicas*. Faculdade de Ciências. Tese de doutorado, Universidade de Lisboa, 2008.
- Gélabert A., Pokrovsky O. S., Viers J., Schott J., Boudou A. and Feurtet-Mazel A. 2006. Interaction between zinc and freshwater and marine diatom species: Surface complexation and Zn isotope fractionation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70: 839-857.

- Goldberg, T., Archer, C., Vance, D., Poulton, S.W. 2009. Mo Isotope Fractionation during Adsorption to Fe (Oxyhydr)oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 73 (21). Elsevier Ltd: 6502–16. doi:10.1016/j.gca.2009.08.004.
- Goldberg, T., Gordon, G., Izon, G., Archer, C., Pearce, C.R., James McManus, J., Anbar, A.D., Rehkämper, M. 2013. Resolution of Inter-Laboratory Discrepancies in Mo Isotope Data: An Intercalibration. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28 (5): 724–35. doi:10.1039/C3JA30375F.
- Greber, N. D., Siebert, C., Nägler, T.F., Pettke, T. 2012. $\delta^{98/95}\text{Mo}$ Values and Molybdenum Concentration Data for NIST SRM 610, 612 and 3134: Towards a Common Protocol for Reporting Mo Data. *Geostandards and Geoanalytical Research* 36 (3): 291–300. doi:10.1111/j.1751-908X.2012.00160.x.
- Gröning, M. 2004. International Stable Isotope Reference Materials. Handbook of Stable Analytical Techniques, Volume 1. Elsevier.
- Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, Draft Supplement 1: Numerical methods for the propagation of distributions; BIPM Joint Committee on Guides in Metrology, Geneva, 2005.
- Guinoiseau, D., Gélabert, A., Allard, T., Louvat, P., Moreira-Turcq, P., Benedetti, M. 2017. Zinc and copper behaviour at the soil-river interface: New insights by Zn and Cu isotopes in the organic-rich Rio Negro basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 213: 178–197.
- Hoefs Jochen. *Stable Isotope Geochemistry*. Sixty Edition. Springer – Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- Johnson C.M., Beard B.L., Roden E.E., Newman D.K., Nealson K.H. 2004. Isotopic constraints on biogeochemical cycling of Fe. *Rev. Mineral. Geochem.* 55:359–408.
- Kipphardt H. 2004. Traceability in isotopic measurements. Handbook of Stable Analytical Techniques, Volume 1, PA de Groot. Elsevier.
- Krauss K.A., Moore, G.E. 1953. Anion exchange studies. The divalent transition elements manganese to zinc in hydrochloric acid.
- Larson, P.B., Maher, K., Ramos F.C., Chang, Z., Gaspar M., Meinert, L.D. 2003. *Copper isotope ratios in magmatic and hydrothermal ore-forming environments*. Chem.Geol. 201:337–50
- Lee, J.D. Química Inorgânica não tão concisa. Ed. Edgard Blucher. 2003.
- Li, W., Jackson, S. E., Pearson, N.J., Alard, O., Chappell, B.W. 2009. The Cu isotopic signature of granites from the Lachlan Fold Belt, SE Australia. *Chemical Geology* 258: 38–49. doi:10.1016/j.chemgeo.2009.06.047.
- Little, S.H., Vance, D., Walker-Brown, C., Landing, W.M. 2014. The oceanic mass balance of copper and zinc isotopes, investigated by analysis of their inputs, and outputs to ferromanganese oxide sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 125: 673–693.
- Luck, J.M., Ben Othman, D., Barrat, J.A., Albaréde, F., 2003. Coupled ^{63}Cu and ^{16}O excesses in chondrites. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67 (1): 143–151.
- Maher, K. *Analysis of copper isotope ratios by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry an interpretation of copper isotope ratios from copper mineralization*. Dissertação de mestrado. Washington State University. Departament of geology, 2005.

- Malinovsky, D., Rodushkin, I., Baxter, D.C., Ingri, J., Öhlander, B. 2005. Molybdenum Isotope Ratio Measurements on Geological Samples by MC-ICPMS. *International Journal of Mass Spectrometry* 245 (1–3): 94–107. doi:10.1016/j.ijms.2005.07.007.
- Malinovsky, D., Hammarlund, D., Ilyashuk, B., Martinsson, O., Gelting, J. 2007. Variations in the isotopic composition of molybdenum in freshwater lake systems. *Chemical Geology* 236: 181–198.
- Maréchal, C. N., Télouk, P., Albarède, F. 1999. Precise Analysis of Copper and Zinc Isotopic Compositions by Plasma-Source Mass Spectrometry. *Chemical Geology* 156 (1–4): 251–73.
- Maréchal, C.N., Albarède, F. 2002. Ion-Exchange Fractionation of Copper and Zinc Isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66 (9): 1499–1509. doi:10.1016/S0016-7037(01)00815-8
- Markl, G., Lahaye, Y., Schwinn, G., 2006. Copper isotopes as monitors of redox processes in hydrothermal mineralization. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70: 4215–4228.
- Martin, J.H., Fitzwater, S.E. 1998. Iron-deficiency limits phytoplankton growth in the northeast Pacific subarctic. *Nature* 331:341–343.
- Mason, T. F. D., Weiss, D.J., Horstwood, M., Parrish, R.R., Russell, S.S., Mullane, E., Coles, B.J. 2004. High-Precision Cu and Zn Isotope Analysis by Plasma Source Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19 (2): 218. doi:10.1039/b306953b.
- Mayer A. J., Wieser, M. E. 2014. *The absolute isotopic composition and atomic weight of molybdenum in SRM 3134 using an isotopic double spike. Journal Anal. At Spectrom.* 29: 85.
- McManus, J., Nägler, T.F., Siebert, C., Wheat, C.G., Douglas E.H. 2002. Oceanic molybdenum isotope fractionation: Diagenesis and hydrothermal ridge-flank alteration. *Geochemistry Geophysics Geosystems*. Volume 3, Number 12: 1078, doi:10.1029/2002GC000356.
- Meija, J., Mester, Z. 2007. “Signal Correlation in Isotope Ratio Measurements with Mass Spectrometry: Effects on Uncertainty Propagation.” *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy* 62 (11): 1278–84. doi:10.1016/j.sab.2007.09.005.
- Migeon, V., Bourdon, B., Pili, E., Fitoussi, C. 2015. An Enhanced Method for Molybdenum Separation and Isotopic Determination in Uranium-Rich Materials and Geological Samples. *Journal Analytical Atomic Spectrometry* 30 (9): 1988–96. doi:10.1039/C5JA00106D.
- Moeller, K., Schoenberg, R., Pedersen, R.B., Weiss, D., Dong, S. 2012. Calibration of the New Certified Reference Materials ERM-AE633 and ERM-AE647 for Copper and IRMM-3702 for Zinc Isotope Amount Ratio Determinations. *Geostandards and Geoanalytical Research* 36 (2): 177–99. doi:10.1111/j.1751-908X.2011.00153.x.
- Montero-Serrano, J.C., Santana, M.M., Tribovillard N., Riboulleau, A., Garbán, G. 2009. Comportamiento geoquímico del molibdeno y sus isótopos en el ambiente sedimentario - Un resumen bibliográfico. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44(2): 263-275.
- Muyndck, D. *Development of separation methods and measurement protocols for Sr and Pb isotopic analysis of archaeological artefacts by means of single-collector and multi-collector ICP-mass spectrometry.* Tese de doutorado. Departament of analytical chemistry. Universiteit Gent, 2008.

- Nakagawa, Y., Firdaus, M.L., Norisuye, K., Sohrin, Y., Irisawa, K., Hirata, T. 2008. Precise Isotopic Analysis of Mo in Seawater Using Multiple Collector-Inductively Coupled Mass Spectrometry Coupled with a Chelating Resin Column Preconcentration Method Precise Isotopic Analysis of Mo in Seawater Using Multiple Collector-Inductively Coupl. *Analytical Chemistry* 80 (23): 9213–19.
- O'Neil, J. R. 1986. Appendix: Terminology and Standards. *Rev. mineral* 16. 1-40.
- Pearce, C.R., Burton, K.W., Von Strandmann, P.A.E, James, R. H., Gíslason, S.R. 2010. Molybdenum isotope behaviour accompanying weathering and riverine transport in a basaltic terrain. *Earth and Planetary Science Letters* 295:104–114. doi:10.1016/j.epsl.2010.03.032.
- Peel, K., Weiss, D., Chapman, J., Arnold, T., Coles, B. 2009. A Simple Combined Sample–standard Bracketing and Inter-Element Correction Procedure for Accurate Mass Bias Correction and Precise Zn and Cu Isotope Ratio Measurements. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (1): 103. doi:10.1039/b710977f.
- Petit, C.J. 2009. Géochimie isotopique du Cu-Zn et spéciation des Eléments en Trace Métalliques par titrage acidimétrique. Thèse de Doctorat. L'Université Libre de Bruxelles.
- Pietruszka, A. J., Reznik, A.D. 2007. Identification of a Matrix Effect in the MC-ICP-MS due to Sample Purification Using Ion Exchange Resin: An Isotopic Case Study of Molybdenum. *International Journal of Mass Spectrometry* 270 (1–2): 23–30. doi:10.1016/j.ijms.2007.11.001.
- Ponzevera, E., Quétel, C.R., Berglund, M., Taylor, P.D.P., Evans, P., Loss, R.D., Fortunato, G. 2006. Mass Discrimination During MC-ICPMS Isotopic Ratio Measurements: Investigation by Means of Synthetic Isotopic Mixtures (IRMM-007 Series) and Application to the Calibration of Natural-Like Zinc Materials (Including IRMM-3702 and IRMM-651). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 17 (10): 1412–27. doi:10.1016/j.jasms.2006.06.001.
- Pichat, S., Douchet C., Albarède F. 2003. Zinc isotope variations in deep-sea carbonates from the eastern equatorial Pacific over the last 175 ka. *Earth and Planetary Science Letters* 210: 167-178.
- Pietruszka, A., Walker, R.J., Candela P.A. 2006. Determination of mass-dependent molybdenum isotopic variations by MC-ICP-MS: An evaluation of matrix effects. *Chemical Geology* 225: 121– 136.
- Pietruszka, A., Reznik, A.D. 2008. *Identification of a matrix effect in the MCICP-MS due to sample purification using ion exchange resin: An isotopic case study of molybdenum. Int J Mass Spectrom* 270:23–30.
- Rehkämper, M., Wonbacher, F., Agarwall, J. K. 2004. *Stable isotope analysis by Multiple Colletor ICP-MS*. Handbook of Stable Analytical Techniques, Volume 1, PA de Groot. Elsevier.
- Roddaz, M., Christophoul, F., Zambrano, J.D.B., Soula J., Baby P. 2012. Provenance of late Oligocene to quaternary sediments of the Ecuadorian Amazonian foreland basin as inferred from major and trace element geochemistry and Nd e Sr isotopic composition. *Journal of South American Earth Sciences* 37: 136-153.

- Rouxel, O., Fouquet, Y., Ludden, J.N. 2004. Copper isotope systematics of the Lucky Strike, Rainbow and Logatchev seafloor hydrothermal fields on the Mid-Atlantic Ridge. *Econ. Geol.* 99:585–600.
- Salomons, W.; Fröstner, W. Em *Metal in the hidrocycle*.th ed., Springer:Verlag Berlin Heidelberg, 1984.
- Siebert, C., Nagler, T.F., Kramers, J.D. 2001. Determination of Mo Isotope Fractionation by Double-Spike Multicollector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Geochemistry Geophysics Geosystems* vol 2 paper 2000GC000124. doi:http://dx.doi.org/10.1029/2000GC000124.
- Siebert, C., Nagler, T.F., Von Blanckenburg, F., Kramers, J.D. 2003. Molybdenum isotope records as a potential new proxy for paleoceanography. *Earth and Planetary Science Letters* 211: 159-171. doi:10.1016/S0012-821X(03)00189-4.
- Siebert, C., McManus J, Bice, A, Poulson, R, Berelson, W. M. 2006. *Molybdenum isotope signatures in continental margin marine sediments. Earth Planet. Sci. Lett.* 241:723–33.
- Skierszkan, E. K., Mayer, K.U., Weis, D., Beckie, R.D. 2016. Molybdenum and Zinc Stable Isotope Variation in Mining Waste Rock Drainage and Waste Rock at the Antamina Mine, Peru. *Science of the Total Environment* 550: 103–113. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.053.
- Santos, M. E. *Desenvolvimento de metodologia para determinação da razão isotópica $87\text{Sr}/86\text{Sr}$ por ICP-MS – um traçador natural para águas de produção em reservatório de petróleo e águas subterrâneas*. Dissertação de mestrado. Centro de desenvolvimento de tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, 2010.
- Scott C., Lyons, T. W. 2012. Contrasting molybdenum cycling and isotopic properties in euxinic versus non-euxinic sediments and sedimentary rocks: Refining the paleoproxies. *Chemical Geology*. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemgeo
- Scheiderich K., A.L. Zerkle, G.R. Helz, J. Farquhar, R.J. Walker. 2010. Molybdenum isotope, multiple sulfur isotope, and redox-sensitive element behavior in early Pleistocene Mediterranean sapropels. *Chemical Geology* 279: 134–144.
- Schoenberg, R., S. Zink, M. Staubwasser, F. Von Blanckenburg. 2008. The stable Cr isotope inventory of solid Earth reservoirs determined by double spike MC-ICP-MS. *Chemical Geology* 249: 294–306.
- Siebert, C., Nægler, T.F., Kramer, J.D. 2001. Determination of molybdenum isotope fractionation by double-spike multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry. *Geochemistry Geophysics Geosystems*, vol 2.
- Siebert, C., McManus J, Bice, A, Poulson, R, Berelson, W. M. 2006. Molybdenum isotope signatures in continental margin marine sediments. *Earth Planet. Sci. Lett.* 241:723–33.
- Siebert, C, Nagler, T.F, Von Blanckenburg, F., Kramers, J.D. 2003. Molybdenum isotope records as a potential new proxy for paleoceanography. *Earth Planet. Sci. Lett.* 211:159–71.
- Sivry, Y., J. Riotte, J.E. Sonke, S. Audry, J. Schäfer, J. Viers, G. Blanc, R. Freydier, B. Dupré. 2008. Zn isotopes as tracers of anthropogenic pollution from Zn-ore smelters The Riou Mort–Lot River system. *Chemical Geology* 255: 295-304.

- Skoog, D.A, West, D. M.; Holler J.F., Crouch S. R, *Fundamento de química analítica*, Ed. Pioneira Thompson Learning, 2006.
- Sonke, J.E., Sivry, Y., Viers, J., Freydier, R., Dejonghe, L., Andre, L., Aggarwal, J.K., Fontan, F., Dupre, B., 2008. Historical variations in the isotopic composition of atmospheric zinc deposition from a zinc smelter. *Chem. Geol.* 252: 145–157.
- Thapalia, A., Borrok, D.M., van Metre, P.C., Musgrove, M., Landa, E.R., 2010. Zn and Cu isotopes as tracers of anthropogenic contamination in a sediment core from an urban lake. *Environ. Sci. Technol.* 44: 1544–1550.
- Taylor, P.D.P., Bievre, P., Valkiers, S. 2004. The nature and role of primary certified isotopic reference materials: a tool to underpin isotopic measurements on a global scale. *Handbook of Stable Analytical Techniques*, Volume 1, PA de Groot. Elsevier.
- Teófilo, E., Ferreira, M.C.. 2006. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. *Química Nova* 29 (2): 338–350.
- Tribouillard, N., Algeo, N.T., Lyons, T., Riboulleau, A. 2006. Trace metals as paleoredox and paleoproductivity proxies: An update. *Chemical Geology* 232: 12–32.
- Vance D., Archer C., Bermin J., Perkins J., Statham P.J., Lohan M.C., Ellwood M.J.; Mills R.A. 2008. The copper isotope geochemistry of rivers and the oceans. *Earth and Planetary Science Letters* 274: 204–213. doi:10.1016/j.epsl.2008.07.026.
- Vance, D., Matthews, A., Keech A., Archer, C., Hudson G., Pett-Ridge, J., Chadwick, J. O. 2016. The behaviour of Cu and Zn isotopes during soil development: Controls on the dissolved load of rivers. *Chemical Geology*.
- Wen, H J, Carignan, J., Cloquet, C., Zhu, X. K., Zhang, Y.Z. 2010. Isotopic Delta Values of Molybdenum Standard Reference and Prepared Solutions Measured by MC-ICP-MS: Proposition for Delta Zero and Secondary References. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (5): 716–21. doi:Doi 10.1039/B921060a.
- Wieser, M.E., De Laeter, J.R. 2000. Thermal ionization mass spectrometry of molybdenum isotopes. *International Journal of mass spectrometry* 197: 253-261.
- Wieser, M. E., De Laeter, J.R. 2003. A Preliminary Study of Isotope Fractionation in Molybdenites. *International Journal of Mass Spectrometry* 225 (2): 177–83. doi:10.1016/S1387-3806(02)01115-6.
- Wieser, M. E., De Laeter, J.R., Varner, M.D. 2007. Isotope Fractionation Studies of Molybdenum. *International Journal of Mass Spectrometry* 265 (1): 40–48. doi:10.1016/j.ijms.2007.05.010.
- Weiss, D.J., Kover, B., Dolgoplova, A., Gallagher, K., Spiro, B., Roux, G., Mason, T.F.D., Kylander, M., Coles, B.J. 2004. Accurate and precise Pb isotope ratio measurements in environmental samples by MC-ICP-MS. *Int J Mass Spectrom* 232:205–215.
- Yang, J., Siebert, C., Barling, J., Savage, P., Liang, Y., Halliday, A.N. 2015. Absence of molybdenum isotope fractionation during magmatic differentiation at Hekla volcano, Iceland. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 162: 126–136. doi.org/10.1016/j.gca.2015.04.011.

- Yang, L. 2009. Accurate and precise determination of isotopic ratios by MC-ICP-MS: a review. Chemical Metrology, Institute for National Measurement Standard National Research Council Canada, 1200 Montreal Rd., Ottawa, Ontario, Canada.
- Yang, L., Peter, C., Panne, U., Sturgeon, R.E. 2008. Use of Zr for mass bias correction in strontium isotope ratio determinations using MC-ICP-MS. *J Anal At Spectrom* 23:1269–1274.
- Zhou, L. , P. B. Wignall, J., Su, Q., Feng, S. Xie, L., Zhao, J. Huang. 2012. *U/Mo ratios and $\delta^{95/95} Mo$ as local and global redox proxies during mass extinction events. Chemical Geology.*
- Zhu, X.K, O’Nions, R.K., Guo, Y., Belshaw, N.S, Rickard D. 2000. Determination of natural Cu-isotope variation by plasma-source mass spectrometry: implications for use as geochemical tracers. *Chem. Geol.* 163:139–49.
- Zhu X.K., Guo, Y, Williams R.J.P, O’Nions R.K., Matthews, A., Belshaw, N.S., Canters, G.W., Waal, E.C., Weser, U., Burgess, B.K., Salvato, B. 2002. Mass fractionation processes of transition metal isotopes. *Earth and Planetary Science Letters* 200: 47-62