



22 a 27 de abril de 1990

ANAIS - PROCEEDINGS

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA PARA A DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Vera Akiko Maihara
 Marina Beatriz Agostini Vasconcellos
 Débora Inês Teixeira Fávoro
 Maria José Aguirre Armelin

Divisão de Radioquímica
 Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-CNEN/SP
 Comissão Nacional de Energia Nuclear
 Caixa Postal 11049 - São Paulo - SP - Brasil

SUMÁRIO

Foi desenvolvido um método de separação radioquímica para a determinação dos elementos Hg, Sb, As e Se em amostras biológicas por análise por ativação com neutrons.

O método estudado consistiu na dissolução da amostra irradiada com neutrons em mistura de HNO_3 e H_2SO_4 em bomba de teflon, a 130°C por 1 a 4 horas. Após a dissolução da matéria orgânica, Hg e Sb foram retidos em coluna aniônica Dowex 2-X8, em HCl 6M. Em seguida, a solução efluente foi percolada numa coluna de trocador inorgânico TDO, dióxido de estanho, onde os elementos As e Se foram retidos em meio HCl 3M. Os ensaios preliminares foram realizados com traçadores radioativos desses elementos e os rendimentos mostraram-se satisfatórios.

Foram analisados materiais de referência certificados para verificar a precisão e exatidão do método desenvolvido.

ABSTRACT

In order to determine Hg, Sb, As and Se in biological materials by neutron activation analysis, a radiochemical separation was developed.

The chemical separation procedure used was based on the digestion of the irradiated sample in a mixture of HNO_3 and H_2SO_4 in a teflon bomb, at 130°C for 1 to 4 hours. After the dissolution of organic matter, Hg and Sb were retained by a Dowex 2-X8 resin column in 6M HCl. The effluent was passed through a TDO, tin dioxide column which retains As and Se in 3M HCl medium.

Radioactive tracers of these elements were used to determine the yields of the separation process.

Certified reference materials were analyzed to check the precision and accuracy of the method.

I. INTRODUÇÃO

O conhecimento dos teores de As, Sb, Hg e Se em matrizes biológicas é de grande importância para estudos nas áreas do meio ambiente e da saúde, devido às propriedades tóxicas desses elementos, que acima de determinados níveis tornam-se altamente prejudiciais à saúde humana⁽¹⁻²⁾.

A técnica de análise por ativação com neutrons é particularmente adequada para a análise desses elementos, pois eles apresentam características nucleares favoráveis. No entanto, é necessário desenvolver métodos de separação radioquímica para a determinação de elementos importantes, tais como Hg, As, Sb, Se, Cu, Cd, entre outros, uma vez que se encontram neste tipo de matriz em concentrações extremamente baixas e são mascarados por outros radioisótopos interferentes, formados a partir de outros elementos presentes na amostra, principalmente Na, Br, P e K.

Muitos procedimentos analíticos envolvendo separação radioquímica para a determinação de elementos, tóxicos ou não, em matrizes biológicas e alimentos, têm sido desenvolvidos, envolvendo destilação, precipitação, extração com solventes e troca iônica⁽³⁻⁵⁾.

Apresenta-se no presente trabalho um processo de separação simples para a determinação simultânea de Hg, Sb, As e Se em matrizes biológicas, utilizando trocador inorgânico (TDO), dióxido de estanho e resina de troca iônica (Dowex 2-X8). O procedimento utilizado é resultado de algumas modificações efetuadas a partir do trabalho desenvolvido por Rengan et al⁽⁶⁾, onde o arsênio é retido em coluna de trocador inorgânico TDO em meio clorídrico e fluorídrico, e em seguida o antimônio é retido numa resina aniônica forte Dowex 2-X8, em meio clorídrico.

O método estudado no presente trabalho consiste na dissolução da amostra irradiada em bomba de teflon com HNO_3 e H_2SO_4 . A solução amostra, em condições apropriadas, é percolada numa coluna de resina aniônica (Dowex 2-X8), em meio HCl 6M, ficando retidos Hg e Sb. Em seguida, passa-se a solução efluente na coluna de TDO, que retém As e Se em HCl 3M.

O processo de separação estabelecido foi aplicado na análise dos materiais biológicos de referência Rice Flour (NBS-SRM 1568), Citrus Leaves (NBS-SRM 1572) e Bowen's Kale, para verificar a sua precisão e exatidão.

II. PARTE EXPERIMENTAL

II.1. Experimentos Preliminares

Os experimentos preliminares foram feitos utilizando os traçadores radioativos ^{203}Hg , ^{76}As , ^{124}Sb e ^{75}Se , preparados a partir da irradiação dos sais de alta pureza desses elementos, no reator IEA-R1 (IPEN-CNEN/SP). Os traçadores radioativos foram utilizados para verificar o rendimento do processo de separação desenvolvido.

II.2. Coluna de TDO (dióxido de estanho)

O trocador inorgânico TDO (Carlo Erba-Itália), após a eliminação das partículas finas, foi acondicionado em uma coluna de polietileno de 0,7 cm diâmetro X 5 cm comprimento para a retenção de As e Se. Cada coluna foi pré-equilibrada com 15 ml de HCl 3M, antes de seu uso.

11.3. Coluna de Resina Dowex 2-X8

A resina Dowex 2-X8 (200 - 400 mesh) da BioRad foi lavada diversas vezes com H₂O destilada para retirada dos finos. A resina foi ativada percorrendo as seguintes soluções sucessivamente: NaOH 0,8N, água destilada, HCl 2M e H₂O destilada.

Cerca de 5 ml da resina Dowex 2-X8 (2 g de resina seca) são utilizados para cada experimento. Antes de seu uso, ela é pré-equilibrada com 20 ml de HCl 6M.

11.4. Preparação das Amostras e Padrões

Cerca de 200 a 300 mg de material de referência do NIST (ex-NBS) (Citrus Leaves e Rice Flour) ou da IUPAC (Bowen's Kale) foram pesados em ampolas de quartzo limpas. Os materiais de referência foram analisados sem prévio tratamento.

Os padrões foram preparados a partir de soluções primárias obtidas pela dissolução dos seus compostos espectroscopicamente puros em soluções ácidas. Uma solução padrão multielementar foi preparada a partir das soluções primárias. Aliquotas apropriadas da solução multielementar foram pipetadas em ampolas de quartzo limpas, contendo aproximadamente 2 µg de As e Sb e 1 µg de Hg e Se. Após irradiação, a solução padrão foi processada de maneira idêntica à efetuada para a amostra como será descrito no item 11.6.

11.5. Irradiação e Sistema de Contagem

As amostras e os padrões foram irradiados simultaneamente sob fluxo de neutrons térmicos de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹ por 8 horas, no reator IEA-RI.

As medidas da radiação gama foram feitas num detector GMX - Série GAMMAX - HPGE, ORTEC, modelo GMX20195, com uma resolução de 1,84 keV para o pico de 1332 keV do ⁶⁰Co. Acoplado ao detector tem-se um sistema eletrônico, constituído de multianalisador de raios gama de 4096 canais, marca ORTEC, modelo 6240B, amplificador, fonte de alta tensão, computador da marca Digital PDP 11/04 e impressora Dec Writer 11, da Digital.

As contagens foram feitas em frascos de vidro, de 3,0 cm de diâmetro, a 3,0 cm do detector.

A análise dos espectros de raios gama foi feita pelo programa Ge(Li) Gam, em linguagem ORACL desenvolvido pela ORTEC.

11.6. Separação Radioquímica

Após dois dias de decaimento radioativo, as ampolas de quartzo contendo as amostras, foram lavadas com HNO₃ diluído e H₂O destilada, resfriadas em N₂ líquido e quebradas no topo. Cada amostra foi então transferida para a bomba de teflon, e adicionaram-se os carregadores de Hg (0,743 mg), As (0,532 mg) Se (0,450 mg) e Sb (0,110 mg), 3 ml de HNO₃ conc. e 1 ml de H₂SO₄ conc. A bomba de teflon foi levada à estufa a 130°C por 1 a 4 horas.

A solução amostra dissolvida foi resfriada à temperatura ambiente e adicionaram-se 3 ml de uréia 10%, 5 ml de HCl conc. e 0,2 g NaBrO₃ e gotas de H₂O₂ 120 vol. Aqueceu-se lentamente a solução até que sua coloração tornou-se amarelo claro. Após resfriamento à temperatura ambiente a solução foi percolada na coluna de resina aniônica forte Dowex 2-X8 (vazão de 1 ml/min). A colu-

na foi então lavada com 20 ml de HCl 6M, e transferida para o frasco de contagem.

À solução efluente, adicionou-se volume igual de H₂O destilada e percolou-se na coluna de TDO (vazão de 0,5 ml/min). A coluna de TDO foi lavada com 15 ml de HCl 3M e transferida para o frasco de contagem.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A digestão das amostras biológicas com ácidos nítrico e sulfúrico foi feita em bomba de teflon. Foram realizados testes com traçadores radioativos para verificar possíveis perdas dos elementos de interesse durante a dissolução, onde não foi constatada perda de nenhum elemento.

Utilizaram-se também traçadores radioativos para estabelecer as melhores condições para a análise, tomando como ponto de partida o procedimento desenvolvido por Rengan et al⁽⁶⁾. Como o objetivo do presente trabalho foi de determinar simultaneamente os elementos As, Sb, Hg e Se, resolveu-se acrescentar os dois últimos elementos ao procedimento analítico. Foi constatado, inicialmente, que mercúrio ficou retido parcialmente (cerca de 30%) na coluna de TDO, em meio HCl e HF. Resolveu-se então modificar o processo proposto por Rengan, passando a solução amostra dissolvida primeiro pela coluna da resina aniônica forte Dowex 2-X8, em meio clorídrico. Após a dissolução da matéria orgânica, adicionam-se solução de uréia 10%, para eliminar os óxidos nitrosos, e NaBrO₃ e H₂O₂ 120% para oxidar todo o antimônio presente na amostra. Foi observado também por Rengan, que a retenção de Sb na resina Dowex 2-X8, em meio clorídrico é total se o elemento estiver na sua forma oxidada, SbV. Desse modo, após ajuste da solução amostra para as melhores condições de análise, os elementos Hg e Sb são retidos na resina Dowex 2-X8, na sua forma clorídrica. O meio da solução efluente é ajustado, de modo que os elementos As e Se fiquem retidos no trocador TDO. A Tabela 1 mostra os valores dos rendimentos químicos obtidos para cada elemento, após processada toda a separação radioquímica. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para os materiais de referência Rice Flour (SRM 1568), Citrus Leaves (SRM 1572) e Bowen's Kale, utilizando-se o procedimento experimental estabelecido, juntamente com os valores apresentados na literatura. Pode-se observar que os resultados de As e Hg mostram-se concordantes com os obtidos por outros autores. Os valores discordantes da literatura para o Sb mostram o quanto é problemático a sua determinação exata. Quanto a análise do Se, os valores encontrados no presente trabalho estão bastante inferiores aos da literatura. Isto se deve a retenção parcial do Se na coluna de TDO, observando-se picos do radioisótopo ⁷⁵Se na solução efluente final.

Deve-se ressaltar que este trabalho encontra-se em andamento e os resultados apresentados são preliminares. Estão sendo estudadas as condições de análise para uma melhor retenção de Se na coluna de TDO.

Pretende-se além disso efetuar um maior número de análises dos materiais de referência, para aprimorar a qualidade dos resultados. Após esta etapa, o procedimento analítico desenvolvido será aplicado para análises de alimentos.

AGRADECIMENTOS

O trabalho foi parcialmente financiado pela Agência Internacional de Energia Atômica, FAPESP e FINEP.

TABELA 1

Rendimento Químico dos Elementos Hg, Sb, As e Se,
Após Separação Radioquímica

Elemento	Rendimento %
Hg	99 \pm 5
Sb	96 \pm 5
As	100 \pm 13
Se	85 \pm 11

Os valores representam a média e o desvio padrão de 4 determinações individuais.

TABELA 2

Resultados Preliminares para as Concentrações dos Elementos Hg, Sb, As e Se nos Materiais de Referência Bowen's Kale, Rice Flour e Citrus Leaves

Concentração em ng/g (base seca)						
	BOWEN'S KALE		RICE FLOUR (SRM 1568)		CITRUS LEAVES (SRM 1572)	
	Este Trabalho (a)	Valores da Literatura	Este Trabalho (a)	Valores da Literatura	Este Trabalho	Valores da Literatura
Hg	134 ± 18	168±25 (BOWEN-1974) 169±19 (MAIHARA-1989)	8,7 ± 0,5	6,0±0,7 (NBS-1978) 6,4±1,0 (GLADNEY-1980)	88	80±20 (NBS-1982)
Sb	36 ± 7	39±1 (HOEDE-1979) 68,9 (BOWEN-1974)	9,5 ± 0,2	5±1 (GLADNEY-1980) 7,6 (CUNNINGHAM-1987)	141	(40) (NBS-1982)
As	144 ± 14	141±31 (BOWEN-1974) 98±4 (HOEDE-1979)	431 ± 15	400±10 (GLADNEY-1980) 410±50 (NBS-1978)	2864	3100±30 (NBS-1982)
Se	36 ± 3	121 (BOWEN-1974) 123±20 (MAIHARA-1989)	48 ± 12	420±3 (GLADNEY-1980) 400±100 (NBS-1978)	ND	(25) (NBS-1982)

ND - Não detectado

(a) - Média e desvio padrão de 2 determinações individuais

REFERÊNCIAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Trace Elements in Human Nutrition. Geneva, 1973. (WHO-Tech.Rep.532).
2. UNDERWOOD, E.J. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. New York, Academic, 1977.
3. PIETRA, R.; SABBIONI, E.; GALLORINI, M.; ORVINI, E. Environmental, Toxicological and Biomedical Research on Trace Metals: Radiochemical Separation for Neutron Activation Analysis. J.Radioanal.Nucl.Chem., Articles, 102(1):69-98, 1986.
4. MAIHARA, V.A.; VASCONCELLOS, M.A. Determination of Trace Elements in Brazilian Rice Grain and in Biological Reference Materials by Neutron Activation Analysis. J.Radioanal.Nucl.Chem., Articles, 132(2):329-37, 1989.
5. TASKAEV, E.; PENEV, I.; KINOVA, L. Radiochemical Determination of Mercury, Arsenic, Cadmium, Zinc and Copper in Biological Materials. J.Radioanal.Nucl.Chem., Articles, 120(1):83-8, 1988.
6. RENGAN, K.; HAUSHALTER, J.P.; JONES, J.D. Simultaneous Determination of Arsenic and Antimony in Environmental Samples by Radiochemical Neutron Activation Analysis. J.Radioanal.Chem., 54:347-53, 1979.
7. BOWEN, H.J.M. Problems in the Elementary Analysis of Standard Biological Materials. J.Radioanal.Chem., 19:215-26 (1974).
8. HOEDE, D.; VAN DER SLOOT, H.A. Application of Hydride Generation for the Determination of Antimony and Arsenic in Biological Material by Neutron Activation Analysis. Analyt.Chim.Acta, 111:321-25, 1979.
9. GLADNEY, E.S. Elemental Concentrations in NBS Biological and Environmental Standard Reference Materials. Analyt.Chim.Acta, 118:385-96, 1980.
10. CUNNINGHAM, W.C. Radiochemical Determination of As, Cr, Mo, Sb and Se in Foods. J.Radioanal.Nucl.Chem.Articles, 113(2): 423-30, 1987.
11. Certificate of Analysis Standard Reference Material 1568. Rice Flour, National Bureau of Standards, Washington D.C., 1978.
12. Certificate of Analysis Standard Reference Material 1572 - Citrus Leaves, National Bureau of Standards, Washington D.C., 1982.