

SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA PARA A CERTIFICAÇÃO DE ALGUNS ELEMENTOS TRAÇO EM MATERIAIS BIOLÓGICOS DE REFERÊNCIA

V.A.Maihara* ; M.Gallorini #; M.B.A. Vasconcellos *

* Divisão de Radioquímica IPEN-CNEN/SP Caixa Postal 11049 São Paulo

CNR Centro di Radiochimica e Analisi per Attivazione-27100 Pavia Itália

RESUMO

Um método de separação radioquímica foi desenvolvido e aplicado para determinar os elementos Cd, W, Cr, Co, U e Th nos seguintes materiais de referência, de origem botânica: SRM 1547 Peach Leaves, SRM 1515 Apple Leaves e IAEA Spinach, que é um novo material distribuído pela AIEA. O procedimento é baseado na separação cromatográfica desses elementos numa coluna de resina CHELEX 100, em meio HAc/NH₄Ac 0,1 M a pH 4,8. O objetivo foi obter maiores informações desses elementos presentes nos materiais de referência, cujos valores não foram determinados ou apresentam-se como "suggested values".

INTRODUÇÃO

Os procedimentos analíticos adotados para a certificação de elementos traço em materiais de referência (SRM's) devem possuir além de alta sensibilidade, os requisitos de alta precisão e máxima exatidão.

Isto é particularmente necessário quando as concentrações dos elementos traço a serem determinadas estão a níveis muito baixos (ng/g ou ppb), como nos casos de análise de espécies biológicas como sangue, plasma⁽¹⁾, ou na análise de elementos essenciais e tóxicos em alimentos, ar ou água, presentes em concentrações normais⁽²⁻³⁾

A Análise por Ativação com Nêutrons (NAA) é uma das principais técnicas que possui esses requisitos. Entretanto, em matrizes biológicas os radioisótopos ²⁴Na e ³²P produzidos após ativação com nêutrons térmicos, predominam no espectro de raios gama em tal extensão que a determinação precisa e exata de certos elementos traço torna-se impossível, a menos que procedimentos de separação específicos sejam aplicados para evitar este problema. Estas separações envolvendo material radioativo podem utilizar diversos processos químicos, como destilação, precipitação, extração com solventes, troca iônica e retenção em trocadores inorgânicos, como testam vários trabalhos já realizados na Divisão de Radioquímica do Ipen⁽⁴⁻⁶⁾.

Neste trabalho um procedimento de separação radioquímico foi desenvolvido para a análise de alguns elementos traço críticos, como W, Cd, Cr, Th, U e Co em materiais biológicos. A separação é baseada na retenção desses elementos em resina cationica CHELEX 100 em meio tamponado de HAc 0,1 M e NH₄Ac 0,1 M a pH 4,8. Este procedimento é uma adaptação de trabalhos anteriores de Pietra e Gallorini, em diferentes condições de retenção⁽⁷⁾. Posteriormente, essa separação será aplicada na análise de amostras de dietas alimentares de 2 grupos populacionais diferentes: de crianças de idade pré-escolar de uma creche e de idosos de um asilo, ambos da cidade de São Paulo.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes. A resina cationica Chelex 100 na forma Na⁺ (100 - 200mesh) foi fornecida pela Bio-rad Laboratories(EUA). A resina Chelex 100 foi transformada na forma NH₄⁺, como descrito abaixo. A solução padrão multielementar dos elementos de interesse foi preparada por diluição das respectivas soluções padrão primárias da British Drug House (RU). Os ácidos HNO₃ e HF usados na

dissolução da matéria orgânica, e o ácido acético e o acetato de amônio foram todos de grau analítico.

Amostras. As amostras consistiram de três materiais de referências biológicas de origem botânica, todas do NIST (National Institute of Standard and Technology - EUA): SRM 1547 Peach Leaves, SRM 1515 Apple Leaves e IAEA 331 Spinach. Este último material foi distribuído pela AIEA (Agência Internacional de Energia Atômica) a diversos laboratórios para um programa de intercomparação interlaboratorial.

Preparação das Colunas. Colunas de plásticos de polietileno de 12 cm de altura, 1 cm de diâmetro interno e com reservatório de 50 ml foram utilizadas para a retenção dos elementos na CHELEX 100. A resina Chelex (cerca de 3cm de altura) foi condicionada com 20 ml de HNO₃ 2M, 40 ml de NH₄OH 1M a 50 °C, e então lavada com 50 ml de água destilada à temperatura ambiente. Este procedimento permitiu transformar a resina da forma Na⁺ para a forma NH₄⁺

Irradiação das Amostras e Padrão. Cerca de 150 mg de amostras de material de referência foram irradiadas juntamente com 400 µl da solução padrão multielementar em ampolas de quartzo por 8 horas em fluxos de 10¹³ n cm⁻² s⁻¹ no Reator TRIGA MARK II da Universidade de Pavia, Itália.

Equipamento de Contagem. Os espectros de raios gama foram analisados por um detector Ge PopTop GMX com 20% de eficiência e resolução de 1,93 keV no pico de 1332,4 keV do ⁶⁰Co, acoplado a um analisador multicanal ADCAM TM e a uma eletrônica associada.

Procedimento Químico. Após um dia de decaimento radioativo, as amostras irradiadas juntamente com carregadores dos elementos W, Cr, Cd, Th, U e Co (cerca de 10 µg cada) foram dissolvidos com 5ml de HNO₃ concentrado e algumas gotas de HF em bombas de teflon Parr a 150°C por 10 horas. O mesmo procedimento foi seguido para o padrão, onde 100 µl da solução multielementar irradiada foi pipetada em 100 mg da amostra não irradiada, e dissolvido do mesmo modo descrito para as amostras. As soluções dissolvidas foram levadas à secura por evaporação controlada a 60 °C, para evitar perdas dos elementos voláteis. Os resíduos foram retomados com 10 ml de solução tampão de ácido acético 0,1M - acetato de amônio 0,1M a pH 4,8. Essas soluções resultantes foram então percoladas numa coluna de resina Chelex 100 na forma NH₄⁺ (previamente condicionada com 50 ml da solução tampão). Após a passagem da solução carga, as

colunas foram lavadas com 50 ml da solução tampão. Nessas condições ficaram retidos quantitativamente os elementos W, Cd, Cr, Th, U e Co. Os elementos W, Cd e U foram determinados numa primeira contagem das colunas no detector de Ge (logo após o término da separação), por meio da medida dos respectivos radioisótopos: ^{187}W ($t_{1/2} = 24,0\text{h}$) em 685,7 keV, ^{115}Cd - $^{115\text{m}}\text{In}$ ($t_{1/2} = 53,46\text{h}$) pelos picos de 336 e 528 keV e ^{239}Np ($t_{1/2} = 2,35\text{d}$) em 228,2 keV. Numa segunda contagem (após 1 semana) foram analisados os elementos Cr, Th e Co por: ^{51}Cr ($t_{1/2} = 27,8\text{d}$) em 320,0 keV, ^{233}Pa ($t_{1/2} = 27,0\text{d}$) em 311,0 keV e ^{60}Co ($t_{1/2} = 5,24\text{a}$) em 1172 e 1332 keV, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos da separação radioquímica completa para os elementos W, Cd, Cr, Th, U e Co, calculados a partir dos experimentos com traçadores radioativos dos elementos, são mostrados na Tabela 1. Todos os elementos foram quantitativamente retidos (rendimento químico maior que 90%) na resina Chelex 100 nas condições experimentais estudadas.

Tabela 1 Rendimento de Retenção de W, Cd, U, Th, Cr e Co na resina Chelex 100 em meio HAc 0,1 M/NH₄Ac 0,1M

ELEMENTO	RENDIMENTO %
W	90
Cd	97
U	90
Th	96
Cr	97
Co	96

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam os resultados obtidos neste trabalho na análise desses elementos nos materiais de referência SRM 1547 Peach Leaves, SRM 1515 Apple Leaves e IAEA 331 Spinach, respectivamente, assim como os valores apresentados pela literatura.

Tabela 2 Análise de W, Cd, U, Cr, Th e Co no material SRM 1547 Peach Leaves

ELEMENTO	ESTE TRABALHO (n)	TRABALHO DE BECKER[8]	VALOR CERTIFICADO [9]
W ng/g	23,8 ± 3,3 (4)	nd	-
Cd ng/g	28 ± 7 (3)	27,3 ± 0,3	(30)
U ng/g	15,7 ± 1,8 (4)	nd	(15)
Cr µg/g	1,13 ± 0,17 (4)	1,16 ± 0,04 1,53 ± 0,10 ^a	(1)
Th ng/g	50,3 ± 6,7 (3)	nd	(50)
Co ng/g	69 ± 10 (3)	76 ± 3	(70)

- Não existe valor certificado
- () Valores de referência
- a Análise Instrumental
- nd Valor não determinado
- (n) Número de determinações

Tabela 3 Análise de W, Cd, Cr, U, Th e Co em SRM 1515 Apple Leaves

ELEMENTO	ESTE TRABALHO	TRABALHO DE BECKER[8]	VALOR CERTIFICADO [10]
W ng/g	8,0 ± 2,3 (3)	nd	-
Cd ng/g	19 ± 5 (3)	13,8 ± 0,9	(14)
U ng/g	9,9 ± 0,6 (2)	nd	(6)
Cr ng/g	332 ± 30 (2)	312 ± 25 391 ± 55 ^a	(300)
Th ng/g	34,5 ± 5,3 (3)	nd	(30)
Co ng/g	86 ± 8 (4)	101 ± 4 ^a	(90)

- Não existe valor certificado
- () Valores de referência
- a Análise Instrumental
- nd Valor não determinado
- (n) Número de determinações

Tabela 4 Determinação dos elementos W, Cd, Cr, Th, U e Co no novo material AIEA 331 Spinach

ELEMENTO	ESTE TRABALHO (n)
W ng/g	15,7 ± 3,2 (5)
Cd µg/g	2,89 ± 0,45 (7)
U ng/g	143 ± 29 (6)
Cr µg/g	1,48 ± 0,15 (7)
Th ng/g	55,5 ± 8,9 (7)
Co ng/g	356 ± 21 (7)

(n) Número de determinações

A partir dos resultados obtidos nas Tabelas 2 e 3, podemos observar que os valores encontrados para os elementos Cd, Cr e Co estão bastante próximos com os obtidos por Becker et al., e com os valores de referência (suggest values), fornecidos pelo NIST. Para W, U e Th não existem dados na literatura, apenas valores de referência para os dois últimos elementos. A determinação de tungstênio em sistemas biológicos é bastante problemática, por análise puramente instrumental, uma vez que o valor de sua meia-vida é próximo ao do ^{24}Na ($t_{1/2} = 15\text{h}$). O procedimento desenvolvido permitiu um fator de descontaminação muito grande do ^{24}Na , que praticamente não ficou retido na resina Chelex 100. A precisão do método foi checado com a análise de diversas réplicas das amostras, e foi inferior a 15%, o que pode ser considerado muito bom a este nível de concentração (ng/g), exceto para Cd e W, cujos desvios padrão relativos estão na ordem de 25%. O presente trabalho teve também como objetivo contribuir com dados analíticos para a certificação do novo material de referência AIEA 331 Spinach (Tab. 4). A determinação de W, Th e U em matrizes biológicas é escassa, devido aos seus teores extremamente baixos, porém estudos recentes têm sido realizados para verificar o desempenho desses elementos em sistemas biológicos.

CONCLUSÃO

A simplicidade do método aplicado permite a análise rápida dos elementos W, Cd, U, Th, Cr e Co em sistemas biológicos, sem muitas etapas de manipulação. A sensibilidade obtida demonstra a validade do procedimento desenvolvido. Quanto a exatidão, apesar de não existirem valores certificados para esses elementos nos materiais de referência analisados, pode-se observar que os resultados obtidos estão bastantes concordantes com os apresentados na literatura. Portanto, acredita-se que os valores das concentrações de Cd, Cr, Co, U, Th e principalmente de W, obtidas no presente trabalho serão importantes para uma posterior certificação desses elementos no novo material de referência AIEA 331 Spinach.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à AIEA , a Capes e ao CNPq que financiaram o trabalho e o estágio na Itália.

REFERÊNCIAS

- [1] MINOIA C.; SABBIONI,E., APOSTOLI,P., PIETRA,R., POZZOLLI,L., GALLORINI,M., NICOLAOU,G., ALESSIO,L., CAPODAGLIO,E. Trace Elements Reference Values in Tissues from Inhabitants of the European Community. I.A Study of 46 Elements in Urine, Blood and Serum of Italian Subjects. *Scienc.Tot.Environ.*,95: 89-105, 1990
- [2] LAVINI,N.; ALFASSI,Z.B. Determination of Trace Amounts of Cadmium, Cobalt, Chromium, Iron, Molybdenum, Nickel, Selenium, Titanium, Vanadium and Zinc in Blood and Milk by Neutron Activation Analysis. *Analyst*,115: 817-822, 1990.
- [3] FARDY,J.J.; WARNER,I.M. A Comparison of Neutron Activation Analysis and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for trace Element Analysis of Biological Materials. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*,157(2): 239-244, 1992.
- [4] MAIHARA,V.A.; VASCONCELLOS,M.B.A. Multielemental Analysis of Brazilian Milk Powder Samples by Neutron Activation. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*,122(1) 161-173, 1988.
- [5] MAIHARA,V.A.; VASCONCELLOS,M.B.A. Determination of Trace Elements in Brazilian Rice Grains and Biological Materials by Neutron Activation Analysis. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*,132(2): 85-199, 1991.
- [6] VASCONCELLOS,M.B.A.; MAIHARA,V.A.; FAVARO, D.I.T.; ARMELIN,M.J.A.; CORTES TORO,E.; OGRIS,R. Development of Radiochemical Separation Metals for the Determination of Some Toxic Elements in Biological Reference Materials. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*, 153(3): 185-199, 1991.
- [7] PIETRA,R.; FORTANER,S.; SABBIONI,E.; GALLORINI,M. Use of Chelex 100 Resin in Preconcentration and Radiochemical Separation Neutron Activation Analysis Applied to Environmental Toxicology and Biochemical Research. *J.Trac.Microp. Techn.* 11(11-3): 235-250, 1993.
- [8] BECKER,D.; GREENBERG,R.R.; STONE,S.F. The Use High Accuracy NAA for the Certification of NIST Botanical Standard Reference Materials. *J.Radioanal.Nucl.Chem.* 160(1): 41-53, 1992.
- [9] CERTIFICATE OF ANALYSIS National Institute of Standard & Technology NIST. Standard Reference Material 1547 Peach Leaves. Gaithersburg, MD, 1991.
- [10] CERTIFICATE OF ANALYSIS National Institute of Standard & Technology NIST Standard Reference Material 1515 Apple Leaves. Gaithersburg, Md, 1991

ABSTRACT

In this paper a radiochemical separation method has been developed to determine the elements W, Cd, Cr, U, Th e Co in three biological materials of botanic origin used as SRM's: Peach Leaves, Apples Leaves and the new proposed material Spinach. The aim was to obtain more information for these elements whose values are not yet determined or are given only as "suggested values". The radiochemical procedure was based on chromatographic separation using resin Chelex 100 in HAc 0.1M-NH₄Ac 0.1M at pH 4.8. All the experimental data e results obtained are described and compared with the literatura values.