

RECIENTES PROGRESOS DE TECNICAS ANALITICAS NUCLEARES Y NO NUCLEARES PARA ANALISIS DE ELEMENTOS TRAZA. VENTAJAS Y LIMITACIONES.

C.S.Munita

Supervisão de Radioquímica. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
C.Postal 11049. CEP 05422-970. Pinheiros, São Paulo, SP

RESUMEN

En este trabajo son presentados algunos aspectos de siete técnicas analíticas: AAS, ETA-AAS, ICP-AES, ICP-MS, NAA, PIXE y XRF. Las potencialidades de las técnicas son comparadas tomando como referencia los elementos químicos que son considerados esenciales y/o tóxicos en una matriz biológica y para elementos que son indicadores de fuente en una matriz ambiental.

INTRODUCCION

En los últimos años han surgido varias técnicas analíticas para determinar elementos a nivel de trazas ($0,01-100\mu\text{g/g}$) y ultra-trazas ($<0,01\mu\text{g/g}$). Apesar de los logros alcanzados, ninguna técnica puede ser considerada como la panacea para resolver todos los problemas en los diferentes tipos de matrices.

Con la proliferación de técnicas analíticas y las modificaciones que han aparecido dentro de cada una de ellas, han aumentado las dificultades para los propios especialistas poder compararla con otras y decidir para que tipo de problema o área de interés su técnica es la más adecuada o al menos una de las más favorable.

Este trabajo tiene el propósito de ayudar a esclarecer las dudas que se presenten, resaltando las ventajas, limitaciones y los recientes progresos de siete técnicas analíticas: espectrometría de absorción atómica (AAS), atomización electrotrémica por espectrometría de absorción atómica (ETA-AAS), espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma inducido (ICP-AES), espectrometría de masa con fuente de plasma inducido (ICP-MS), análisis por activación neutrónica (NAA), emisión de rayos-X inducido por partículas (PIXE) y espectrometría por fluorescencia de rayos-X (XRF).

La comparación entre las técnicas es realizada tomando como referencia los elementos químicos que son considerados esenciales y/o tóxicos para los seres vivos, en una matriz biológica. En el caso de una matriz ambiental (material particulado atmosférico) los elementos que son indicadores de fuente. Especial énfasis es dado a los problemas de interferencias espectrales, límites de detección, precisión y exactitud.

GENERALIDADES

Análisis por activación neutrónica (NAA). Alrededor de 1950 comenzó el progreso del NAA como técnica sensible para elementos a nivel de traza. El análisis puramente instrumental (INAA) solo fue posible a mediados de los años 60 con el surgimiento de los detectores de alta resolución de Ge(Li) para rayos gamma[1].

Fundamentos. NAA usa el radioisótopo artificial producido por el bombardeo del elemento estable con neutrones u otras partículas, pero en la mayoría de los casos son usados neutrones térmicos de reactores nucleares de fisión. Todos los métodos de activación nuclear se fundamentan en la medida de la radiación emitida por el radioisótopo producido usando espectrómetros de alta resolución. El elemento presente en la muestra es identificado por medio del tipo de radiación emitida, energía y el periodo de semidesintegración característico de cada radioisótopo. El fundamento del análisis cuantitativo está en la relación de la área del fotopico con la masa del elemento.

Al igual que otras técnicas espectrométricas la detección de un elemento en la muestra está influenciada por la presencia de otros elementos. Por lo tanto, el fotopico del elemento de interés siempre está sobre el fondo (background) del Compton continuo originado de los otros elementos radioactivos. Gracias al hecho que los radioisótopos tienen diferentes periodos de semidesintegración, es posible determinar varios elementos optimizando el tiempo de irradiación, conteo y de desintegración. Es frecuente someter la muestra a dos o más irradiaciones consecutivas (una por pocos minutos y otra de varias horas) y realizar dos o más medidas consecutivas a diferentes intervalos después de la irradiación.

Usando INAA alrededor de 40 elementos pueden ser determinados en muestras ambientales con sensibilidad del orden $\mu\text{g/g}$ o menores. Para cierto tipo de muestras, por ejemplo biológicas o para determinaciones de elementos del orden de ng/g o menores se puede recurrir a separaciones radioquímicas post-irradiación. En ese caso NAA tiene una gran ventaja sobre las otras técnicas analíticas en virtud que las separaciones son realizadas sin peligro de contaminación y para facilitar la separación se puede adicionar portador a la muestra.

El límite de detección es gobernado por constantes nucleares (sección eficaz), parámetros experimentales (haz de neutrones), presencia del elemento en la muestra y radiaciones de fondo[2].

Varios elementos, como por ejemplo Li, Be, B, C, N, O, Si, P, S, Sn, Tl y Pb son difíciles de determinar. Correcciones por efecto de absorción de los neutrones o de los rayos gamma en la muestra son despreciables. En algunos casos pueden ocurrir interferencias nucleares pero son poco significativas y las que ocurren son fácilmente identificables. Interferencias espectrales, es decir, sobreposición de fotopicos de diferentes

radioisótopos en el espectro, también pueden ocurrir pero pueden ser cuantificadas y eliminadas.

Por sus características favorables: exactitud, precisión, capacidad de análisis multielemental y alta sensibilidad desempeña un papel muy importante en la certificación de materiales de referencia.

Recientes progresos. Hoy en día NAA es una técnica bien establecida y nuevos progresos son escasos. Los progresos más significativos en los últimos años se refieren a la automatización por computador de todas las etapas del análisis, incluyendo irradiación, decaimiento, conteo, análisis del espectro y cálculo de concentración. Un progreso importante en esta área fue el desarrollo del análisis por activación neutrónica instrumental cíclico para la determinación de elementos con periodo de semidesintegración corto, menor de 1 minuto[3].

Fluorescencia de rayos X (XRF). En la XRF la muestra a ser analizada es excitada con radiación electromagnética de suficiente energía para producir el salto del electrón de un nivel más energético a otro de menor energía. La diferencia de energía entre los dos niveles es liberada en la forma de rayos X. La energía del rayo X emitido es característico para cada elemento y la concentración se puede deducir de la intensidad del rayo X en el espectro. Existen dos modos de XRF: "Wavelength - dispersive XRF" (WD-XRF) y "energy - dispersive XRF" (ED-XRF). Las dos son técnicas bien establecidas de modo que sus ventajas y limitaciones son bien conocidas. Pueden ser utilizadas en muestras biológicas, ambientales, geológicas y líquidas. Ambas son sensibles para elementos que van desde $Z=11$ (Na) a $Z=92$ (U) y en casos especiales pueden ser medidos elementos con $Z < 10$. El límite de detección depende de la instrumentación usada y de la matriz, pero en general el rango varía de 1-10 μg [4,5]. Con WD-XRF se consigue un límite de detección más bajo que con ED-XRF. Una de las desventajas de estas técnicas es que tanto la radiación electromagnética incidente como el rayo X fluorescente pueden ser atenuados en la muestra, por lo tanto, hay que hacer correcciones para los efectos de la matriz. La mayor limitación de ED-XRF es la baja resolución del detector de Si(Li), por lo tanto pueden ocurrir interferencias espectrales, por ejemplo la línea K_{α} y K_{β} de elementos adyacentes del sistema periódico. La evaluación del fondo es difícil por ausencia de regiones limpias entre los picos, por eso es necesario realizar un sofisticado tratamiento matemático en el espectro[6].

La exactitud en análisis por XRF está condicionada, principalmente, por las correcciones de los efectos de absorción en la matriz y en el caso de ED-XRF por la calidad del programa de evaluación del espectro. La sensibilidad por XRF depende de varios factores, entre otros, energía e intensidad de la radiación de excitación, ángulo sólido para excitación y detección y eficiencia intrínseca del detector.

Los progresos más significativos en XRF parecen ocurrir en las áreas de reflexión total (TXRF) y radiación por sincrotrón (SR-XRF). La TXRF no es muy utilizada y en el mundo solo es usada en aproximadamente 20 laboratorios. Por esta técnica se ha conseguido un límite de detección del orden de 0,2 ng/g [7].

La técnica SR-XRF debe ser considerada como técnica en desarrollo y factible a estudios. Por eso es muy prematuro hacer una evaluación de las ventajas y limitaciones. Sin embargo, algunos investigadores han logrado límites de detección del orden de 0,1-1 $\mu\text{g/g}$.

Dentro del grupo de XRF podemos incluir el análisis por emisión de rayos X inducido por partículas (PIXE). Esta técnica comenzó en 1970, es multielemental y no destructiva. La diferencia con XRF está en que la excitación es realizada con partículas cargadas: protones o partículas alfa. En la mayoría de los casos son usados protones de 1-4 MeV producidos en un

acelerador de partículas, por ejemplo Van der Graaff o en ciclotrones. Presenta efectos de matriz y tamaño de partículas[8].

Espectrometría atómica óptica. Existe una amplia variedad de técnicas basadas en espectrometría atómica óptica. Las variaciones se derivan de las diferencias en la excitación o fuente de luz. Pueden ser clasificadas en[9]:

-espectrometría de absorción atómica (AAS), esta técnica incluye horno de grafito o atomización electrotérmica por AAS (ETA-AAS), generación de hidruro AAS (HG-AAS) y vapor frío AAS (CV-AAS).

-Espectrometría de fluorescencia atómica (AFs). Incluye espectrometría de fluorescencia atómica inducida por láser (LIF). Con frecuencia LIF es usada en combinación con ETA y en este caso, para algunos elementos, se han conseguido límites de detección $< 0,1 \mu\text{g/ml}$.

-Espectrometría de emisión atómica (AES), incluye las técnicas: espectrometría de emisión atómica inducida por plasma (ICP-AES), espectrometría de emisión atómica inducida por masa (ICP-MS) y espectrometría de emisión atómica inducida por fluorescencia de plasma atómico (ICP-AFs)[10].

Un aspecto común en todas estas técnicas es que la muestra tiene que ser vaporizada y tiene que estar en estado líquido (solución). Por esta característica los instrumentos de espectrometría óptica pueden ser interfaseados con columnas cromatográficas lo que es muy favorable en estudios de especiación.

La técnica HG-AAS es apropiada para medir elementos que forman hidruros covalentes gaseosos, por ejemplo As, Se, Sn, Sb, Te y Bi. Por otro lado, la técnica CV-AAS es exclusivamente utilizada para determinar Hg.

Los primeros instrumentos comercializados de ICP-MS aparecieron en 1983 y actualmente están en operación alrededor de 200 en todo el mundo. La mayor ventaja es la excelente sensibilidad para casi todos los elementos del sistema periódico, 0,01-0,1 ng/ml , y la capacidad de dar información sobre la composición isotópica de la muestra.

COMPARACION ENTRE LAS TECNICAS

El criterio usado para comparar las técnicas incluye: sensibilidad, especificidad, precisión, exactitud y capacidad de análisis.

Considerando la capacidad de análisis, las técnicas pueden ser clasificadas en monoelementales: AAS y ETA-AAS y en multielementales: NAA, ICP-AES, XRF y PIXE.

Cuando se desea tener información de varios elementos, las técnicas multielementales son preferibles. Cuando se necesita alta exactitud, las técnicas monoelementales son aconsejables.

Sensibilidad. La sensibilidad es, tal vez, el criterio crucial en análisis de elementos traza. Si el elemento no es detectado todas las otras consideraciones dejan de tener consistencia. En la Tabla 1 se presentan los límites de detección para elementos esenciales y tóxicos, para las diferentes técnicas analíticas en muestra biológica de suero de sangre humano. Para facilitar la comparación están incluidas las concentraciones normales encontradas. En la Tabla 2 se encuentran los límites de detección para material particulado atmosférico.

Interferencias, precisión y exactitud. Interferencias espectrales ocurren en las siete técnicas presentadas, pero las menos significativas son en INAA y WD-XRF. Los efectos de matriz son menos importantes en INAA. Efectos de matriz en XRF y PIXE dependen de la espesura de la muestra, de cualquier manera las dos técnicas de emisión tienen ventajas sobre ICP-AES, ICP-MS y AAS una vez que los efectos de matriz son bien conocidos. En las técnicas AAS, los efectos de matriz son mucho

Tabla 1 Límites de detección, en ng/g, en suero de sangre humano[12].

| Elem | Normal | NAA | AAS | ETA-AAS | ICP-AES | XRF |
|--------------|--------|------|------|---------|---------|-------|
| Esenc | | | | | | |
| Co | 0,3 | 10 | 70 | 0,06 | 0,1 | 200 |
| Cr | 2,8 | 2 | 60 | 0,04 | 0,08 | 700 |
| Cu | 1140 | 2 | 40 | 0,04 | 0,4 | 400 |
| Fe | 1150 | 2000 | 60 | 0,008 | 0,5 | 300 |
| Mn | 1,4 | 1 | 20 | 0,01 | 0,01 | 200 |
| Mo | 4,0 | 100 | 330 | 0,2 | 0,2 | 1500 |
| Ni | 30 | 700 | 70 | 0,1 | 0,2 | 200 |
| Se | 11 | 10 | 500 | 0,1 | 30 | - |
| Si | 80 | - | 2000 | 7 | 10 | 11000 |
| Sn | 33 | 30 | 1000 | 0,4 | 3 | - |
| V | 1,0 | 2 | 900 | 0,5 | 0,06 | 150 |
| Zn | 1000 | 100 | 9 | 0,002 | 0,1 | 200 |
| Tóx. | | | | | | |
| As | 190 | 50 | 100 | 0,2 | 2 | - |
| Ba | 79 | 20 | 200 | 0,06 | 0,02 | 400 |
| Be | <4,0 | - | 20 | 0,01 | 0,4 | 1000 |
| Bi | 20 | - | 220 | 0,3 | 50 | 2000 |
| Cd | 5 | 5 | 10 | 0,003 | 0,06 | 2500 |
| Hg | 3 | 3 | 2200 | 0,5 | 1 | 1000 |
| Li | 31 | - | 20 | 0,6 | - | 2000 |
| Pb | 46 | 500 | 100 | 0,05 | 1 | - |
| Sb | 54 | 7 | 300 | 0,2 | 200 | - |

Tabla 2 Límites de detección, en µg/g, en muestras de particulado atmosférico [13,14]

| Elem. | INAA | ED-XRF | PIXE | ICP-AES | ICP-MS | ETA-AAS |
|-------|--------|--------|------|---------|--------|---------|
| V | 0,03 | 20 | 1,3 | 3,5 | 0,03 | 0,2 |
| Cr | 0,03 | 16 | 0,8 | 4 | 0,06 | 0,01 |
| Mn | 0,001 | 12 | 0,6 | 0,95 | 0,10 | 0,01 |
| Fe | 6 | 12 | 0,5 | 3 | | 0,02 |
| Ni | 3 | 5 | 0,4 | 6,5 | 0,10 | 0,2 |
| Cu | 0,03 | 6 | 0,3 | 3,5 | 0,32 | 0,02 |
| Zn | 0,3 | 5 | 0,3 | 1,2 | 0,21 | 0,001 |
| As | 0,03 | 4 | 0,4 | 35 | 0,04 | 0,2 |
| Se | 0,03 | 2 | 0,4 | 50 | 0,79 | 0,5 |
| Mo | 0,3 | 5 | 1,9 | 5,5 | 0,04 | 0,02 |
| Cd | 0,6 | 6 | 10 | 1,7 | 0,06 | 0,003 |
| In | 0,0006 | | 14 | 40 | 0,07 | |
| Sn | 1 | 8 | 16 | 17 | 0,06 | 0,1 |
| Sb | 0,01 | 8 | 14 | 20 | 0,05 | 0,1 |
| Hg | 0,03 | 7 | 1,0 | 17 | 0,02 | 2 |
| Tl | | | 1,1 | 25 | | 0,1 |
| Pb | | 8 | 1,1 | 30 | 0,05 | 0,05 |

más pronunciados en ETA-AAS. De las dos técnicas de ICP, ICP-MS es de lejos la más propensa a efectos de matriz[11].

Considerando que INAA es la única técnica en la cual los efectos de matriz son virtualmente despreciables, es evidente que los resultados son más exactos que en las otras seis técnicas.

Otro factor importante que influye en la precisión y exactitud de una técnica analítica es la estabilidad de respuesta de los instrumentos. Los instrumentos de ICP-AES, ICP-MS y AAS requieren calibraciones frecuentes, algunas veces a cada pocas horas. La estabilidad de respuesta es superior en XRF y PIXE y las curvas de calibración de esas técnicas pueden ser válidas por un periodo prolongado de tiempo, meses o años.

Confirmar la estabilidad de una curva de calibración es fácilmente llevada a cabo por medio de medidas regulares de padrones. Los equipamientos de contaje en INAA también presentan una respuesta estable.

En la Tabla 3 se presenta un cuadro comparativo de las técnicas abordadas.

Tabla 3 Cuadro comparativo de cada una de las técnicas analíticas[9].

| Técnica | Tipo de muestra | Lim. detecc. | Tipo anal. | Interf. espect. | Efecto matriz |
|--------------|-----------------|----------------|------------|------------------|---------------|
| INAA | sól. | 0,001-1 ug/g | no | baja dest. | bajo |
| XRF | sól. | 1-10 ug/g | no | baja/ alta dest. | medio |
| PIXE | sól. | 0,2-3 ug/g | no | alta dest. | medio |
| ETA-AAS liq. | | 0,01-0,2 ng/ml | dest. | medio | alto |
| ICP-AES liq. | | 1-30 ng/ml | dest. | alta | medio |
| ICP-MS liq. | | 0,03-0,1 ng/ml | dest. | alta | alto |

CONCLUSION

En las Tablas 1 y 2 se presentan, comparativamente, los límites de detección para las diferentes técnicas analíticas expresados en la misma unidad para una serie de elementos.

Por medio de la técnica de AAS solamente Cu, Fe, Zn, As y Li pueden ser determinados en muestras de suero de sangre humano. La técnica ETA-AAS es la más sensible para muestras biológicas siendo comparable con ICP-AES. Por esta última técnica no es posible determinar Si, Se, Bi y Sb una vez que los niveles en el suero son menores que el límite de detección alcanzado.

Una técnica que mostró tener una alta sensibilidad fue NAA; sin embargo, no es suficientemente sensible para determinar Co, Cr, Fe, Mn, Mo, Ni y V en muestras de suero.

La técnica XRF no tiene suficiente sensibilidad para muchos elementos en suero humano, solamente pueden ser analizados Cu, Zn, y Br.

Varias características de las diferentes técnicas están resumidas en la Tabla 3. De las Tablas 1 y 2 y de lo que fue discutido en el trabajo, es evidente que existen varias técnicas sensibles para análisis de elementos al nivel de traza y cada una de ellas es competitiva con las otras.

Las técnicas no destructivas presentan una clara ventaja sobre las destructivas para análisis de material particulado atmosférico.

Para análisis de muestras líquidas las técnicas de espectrometría óptica y, particularmente ICP-MS son mucho más convenientes que las instrumentales.

El carácter multielemental de una técnica es muy importante porque mismo que un elemento no tenga importancia

para un problema específico, el aumento de los niveles puede permanecer desconocido cuando se utiliza una técnica que determina solo unos pocos elementos. Esta información adicional puede desempeñar un papel esencial en la interpretación de los resultados por medio de correlaciones entre elementos y en tales casos pueden ser utilizados para identificar fuentes o problemas.

Un investigador antes de escoger una técnica analítica tiene que saber si está interesado en la información de un elemento específico o si son necesarios resultados sobre varios elementos. A veces un elemento es suficientemente representativo para causar un determinado problema. Informaciones sobre datos multielementales son útiles en estudios donde la naturaleza del problema no es bien entendida.

REFERENCIAS

- [1] KOLTHOFF, I.M.; ELVING, P.J.; KRIVAN, V. (EDS). **Treatise on Analytical Chemistry. Second Edition, Part I, Vol.14, Section K: Nuclear Activation and Radioisotopic Methods of Analysis.** Wiley, New York, N.Y., 1986, 795p.
- [2] ALIAN, B.; SANSONI, B. A Review on Activation Analysis of Air Particulate Matter. **J.Radioanal.Nucl.Chem.**, 89:191-275, 1984.
- [3] EHMANN, W.D.; VANCE, D.E. Advances in Neutron Activation Analysis. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 20:405-443, 1989.
- [4] MALMQVIST, K.G. Comparison Between Pixe and XRF for Applications in Art and Archaeology. **Nucl.Instr.and Meth.** B14:86-92, 1986.
- [5] KLOCKENKAMPER, R. et alii. Comparison of Different Excitation Methods for X-Ray Spectral Analysis. **Fresenius Z.Anal.Chemie.**, 326:105-117, 1987.
- [6] VAN GRIEKEN, R.E.; LABRECQUE, J.J. **Trace Analysis of Environmental Samples by X-Ray Emission Spectroscopy.** In: **Trace Analysis**, Vol.4 (J.F.Lawrence,ed.), Academic, New York, N.Y., 101-183, 1985.
- [7] TOROK, S.B. X-Ray Spectrometry. **Anal.Chem.**, 64:180R-196R, 1992.
- [8] KHAN, Md.R.; CRUMPTON, D. Proton Induced X-Ray Emission Analysis. Parts I and II. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 11:103-116, 1981.
- [9] BROEKAERT, J.A.C.; TOLG, G. Recent Developments in Atomic Spectrometry Methods for Elemental Trace Determinations. **Fresenius Z.Anal.Chemie**, 326:495-509, 1987.
- [10] MONTASER, A.; GOLIGHTLY (EDS). **Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Emission Spectrometry**, VCH Publishers, New York, N.Y., 660p, 1987.
- [11] WILLIS, J.P. Instrumental Analytical Techniques in Geochemistry: Requirements and Applications. **Fresenius Z.Anal.Chemie**, 324:855-864, 1986.
- [12] MORRISON, G.H. Elemental Trace Analysis of Biological Materials. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 8:287-320, 1979.
- [13] MEANHAUT, W.; VANDENHAUTE, J.; DUFLOU, H. Applicability of Pixe to the Analysis of Biological Reference Materials. **Fresenius Z.Anal.Chemie**, 326:736-738, 1987.

ABSTRACT

In this paper are presented several aspects of seven analytical techniques: atomic absorption spectrometry (AAS), electrothermal atomization AAS (ETA-AAS), inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), neutron activation analysis (NAA), particle-induced X-ray emission analysis (PIXE) and X-ray fluorescence (XRF). The various techniques are intercompared with each other, this is done from a number of viewpoints. The evaluation is limited to the effectiveness of these techniques for the determination of essential and/or toxicological elements in serum, and for atmospheric particulate matter.