

ANÁLISE DE ESMALTE E DENTINA DE HUMANOS PELO MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Marco A. B. Soares^{1,2}, Eduardo M. Adachi² e Mitiko Saiki²

¹ Instituto de Química (IQUSP)
Universidade de São Paulo
Av. Professor Lineu Prestes 748
05513-970 São Paulo, SP
vankfire@gmail.com

² Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP

RESUMO

As determinações de elementos traço em tecidos dentais têm sido de grande interesse para o estudo da correlação existente entre a composição elementar e as cáries dentais, bem como os hábitos alimentares dos indivíduos. No presente trabalho amostras de dentina e esmalte de adultos saudáveis foram analisadas pelo método de análise por ativação com nêutrons. Para análise as amostras fornecidas por clínicas dentárias foram previamente lavadas com água purificada e acetona p.a., submetidas à secagem a uma temperatura de 40°C e em seguida foram moídas em um almofariz de ágata. O procedimento experimental, constituiu em irradiar cada amostra juntamente com os padrões, com nêutrons do reator IEA-R1. As irradiações longas, de 8 horas, foram feitas sob um fluxo de nêutrons térmicos de $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, para determinação de Ca, Na, Sr e Zn. Nas irradiações curtas de 15 segundos sob um fluxo de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ foram analisados Mg, Mn, Na e Sr. As atividades gama induzida das amostras e padrões foram medidas utilizando um detector de Ge hiperpuro ligado a um espectrômetro de raios gama. As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo. Os resultados obtidos indicaram que Ca, Mg e Na estão presentes em ambos os tecidos dentais na ordem de percentagens e os elementos Mn, Sr e Zn aos níveis de $\mu\text{g g}^{-1}$. Para validar a metodologia foram analisados os materiais certificados de referência NIST 1400 Bone Ash e NIST 1486 Bone Meal.

1. INTRODUÇÃO

Os elementos traço desempenham um papel importante e complexo no metabolismo humano e mesmo quando presentes em baixas concentrações podem ser benéficos ou prejudiciais à saúde.

As determinações de elementos traço em matrizes de dentes humanos têm sido de grande interesse uma vez que elas podem fornecer valiosas informações sobre o estado da saúde deste tecido, e sua correlação com as cáries dentárias, hábitos alimentares bem como sobre o nível da exposição dos indivíduos a determinados elementos tóxicos.

Dentre os diversos trabalhos existentes sobre determinação de elementos traço em dentes destaca-se o de Brown *et al.* [1] que apresentaram uma metodologia para amostragem e análise de dentes decíduos utilizando ICP-MS. Um outro trabalho de grande interesse é o do Santos *et al.* [2] que prepararam amostras de dentes humanos para análise pelo método

criogênico seguido de moagem e determinação dos elementos Cu, Mn e Pb pela técnica de FAAS. Carvalho *et al.* [3] avaliaram a distribuição de Bi, Cu, Hg e Zn em dentes humanos tratados com amalgama dentária. Reitznerová *et al.* [4] determinaram os elementos Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, Sr e Zn em esmalte dental pelos métodos de FAAS, ETA AAS, ICP-AES e ICP-MS.

O objetivo do presente trabalho foi aplicar o método de análise por ativação com nêutrons (NAA) à análise de esmalte e dentina, separadamente, de indivíduos adultos considerados saudáveis para um estudo comparativo entre as concentrações de elementos presentes nestes dois tipos de tecidos.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. Materiais Utilizados

As amostras de dentes humanos adultos e saudáveis foram doadas pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. A separação entre os tecidos, esmalte e dentina, foi feita pelo clínico dentista.

Os materiais de referência, NIST 1400 Bone Ash [5] e NIST 1486 Bone Meal [6], ambos provenientes do National Institute of Standards & Technology foram utilizados para avaliar a precisão dos resultados.

As soluções padrão de elementos com concentrações (entre parênteses $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram Ba (4004), Ca (10023), Cl (10000), Mg (9989), Mn (200,8), Na (2003,6), Sr (10204) e Zn (999). Estas soluções padrão foram adquiridas da Spex CertiPrep USA. Alíquotas de 50 μL destas soluções pipetadas sobre tiras de papel de filtro foram submetidas a secagem e depois embaladas em invólucros de polietileno, previamente lavados com solução diluída de ácido nítrico p.a. e água purificada MilliQ. As impurezas presentes neste plástico puderam ser consideradas desprezíveis e desta maneira não foram considerados o valor da análise do branco.

2.2. Preparação das Amostras de Dentes para Análise

As amostras de dentes de humanos foram previamente lavadas com água deionizada e acetona p.a. e submetidas a secagem por um dia a temperatura 40 °C. Após secagem, estas amostras foram moídas manualmente em um almofariz de ágata.

2.3. Procedimento da Análise por Ativação por Nêutrons

Cerca de 100 a 150 mg de cada amostra e dos materiais de referência NIST 1486 Bone Meal e NIST 1400 Bone Ash foram pesados em invólucros de polietileno, usando uma balança analítica da marca Mettler com uma precisão de $\pm 0,00005$ g. Foram realizadas duas séries de irradiação, longas e curtas, no reator IEA-R1. Na irradiação longa de 8 horas os padrões e as amostras colocados em invólucros de plástico e foram embalados com folhas de alumínio, e irradiados em um dispositivo de alumínio chamado de “coelho” sob fluxo de nêutrons térmicos de aproximadamente $5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Na irradiação curta os padrões e as

amostras colocados em invólucros de plástico foram irradiados em um coelho de polietileno por 15 segundos e sob um fluxo de nêutrons térmicos de cerca de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Após adequados tempos de decaimento foram feitas as medições das atividades gama dos radioisótopos formados das amostras e padrões usando um detector semicondutor de Ge hiperpuro da Canberra ligado a uma placa multicanal 8192 S-100 também da Canberra, a um microcomputador e sistema eletrônico associado. Foram realizadas duas séries de medidas, para evitar o problema de interferência na análise. Os espectros gama foram adquiridos usando o programa S100 da Canberra. O processamento do espectro foi feito usando o programa de computador VERSÃO 2 que nos fornece as energias dos raios gama e taxas de contagens.

2.4. Identificação dos Radioisótopos e Calculo dos Elementos

A identificação dos radioisótopos foi efetuada pela energia dos raios gama e meia vida. As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo de análise por ativação, usando a seguinte equação [7].

$$Ca = [mp.Aa.e^{0,693 (tda - tdp) / t_{1/2}}] / (Ap.Ma) \quad (1)$$

Ca = Concentração do elemento na amostra; Ma = Massa total da amostra; mp = Massa do elemento no padrão; Aa = Atividade em taxa de contagens do radioisótopo medido na amostra para tempo de decaimento tda; Ap = Atividade em taxa de contagens do radioisótopo medido no padrão para tempo de decaimento tdp; tda = Tempo de decaimento da amostra; tdp = Tempo de decaimento do padrão; $t_{1/2}$ = Meia vida do radioisótopo medido.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados as medias das concentrações de Ba, Ca, Na, Sr e Zn obtidas nos materiais de referência NIST 1400 Bone Ash e NIST 1486 Bone Meal respectivamente, juntamente com os valores dos certificados [5] [6] para comparação. Em cada material de referência foram realizadas réplicas de oito determinações

Tabela 1 Concentrações de elementos no material de referência NIST 1400 Bone Ash

Elemento	Média \pm DP ^a	DPR, ^b %	Er, ^c %	Valores do certificado
Ba, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	227,1 \pm 8,9	3,9	- ^d	- ^e
Ca, (%)	38,2 \pm 2,7	6,9	0,2	38,18 \pm 0,13
Na, (%)	0,53 \pm 0,04	8,4	-	(0,6) ^f
Sr, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	254 \pm 19	7,6	1,9	249 \pm 7
Zn, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	158,4 \pm 6,2	3,9	12,5	181 \pm 3

a. desvio padrão; b. desvio padrão relativo; c. erro relativo; d. não calculado devido o elemento não apresentar valor certificado; e. sem valor certificado; f. valor informativo.

Tabela 2. Concentrações de elementos no material de referência NIST 1486 Bone Meal

Elemento	Média ± DP	DPR, %	Er, %	Valores do certificado
Ba, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	290,7 ± 9,9	3,4	-	-
Ca, (%)	26,1 ± 1,3	4,8	2,0	26,58 ± 0,24
Na, (%)	0,45 ± 0,05	10,4	-	(0,5)
Sr, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	291 ± 25	8,5	10,0	264 ± 7
Zn, ($\mu\text{g g}^{-1}$)	134,9 ± 8,1	6,0	8,2	147 ± 16

Os resultados da Tabela 1, obtidos para o material Bone Ash, indicam que as percentagens de erros relativos foram inferiores a 12,5 %. As concentrações obtidas para o Zn foram menores que certificados e isto se deve provavelmente ao efeito do tempo morto, decorrente da alta atividade ao ^{32}P . Os valores de desvios padrão relativos dos resultados obtidos foram inferiores a 8,4 %, o que indica uma reprodutibilidade dos resultados obtidos.

No caso do material Bone Meal, da Tabela 2, verifica-se que há uma boa concordância dos dados obtidos com os valores certificados. As percentagens de erros relativos variaram de 2,0 a 10,0 %. Os valores de desvios padrão relativos foram inferiores a 10,4%, o que indica uma reprodutibilidade dos resultados obtidos. Em ambos materiais de referência o Ba não apresenta valor certificado e os dados apresentados neste trabalho constituem uma contribuição para certificação deste elemento nestes materiais.

Na Tabela 3 estão os resultados da média e faixa de concentrações de elementos em dentes de adultos saudáveis com relação à dentina e esmalte separadamente.

Tabela 3 Média e faixa de concentrações de elementos nos tecidos esmalte e dentina

Elementos	Dentina permanente		Esmalte permanente	
	Média ± DP(N) ^a	Faixa	Média ± DP(N) ^a	Faixa
Ca (%)	21,5 ± 1,8 (10)	18,9 - 23,9	33,8 ± 4,2 (10)	27,4 - 40,0
Cl ($\mu\text{g g}^{-1}$)	794 ± 251 (10)	318,1 - 1193,7	8102 ± 1960 (10)	5493 - 11539
Mg (%)	0,75 ± 0,22 (6)	0,49 - 1,09	0,25 ± 0,05 (9)	0,20 - 0,29
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,67 ± 0,19 (6)	0,42 - 1,01	1,17 ± 0,48 (9)	0,4 - 2,06
Na (%)	0,55 ± 0,08 (10)	0,41 - 0,69	0,64 ± 0,11 (10)	0,46 - 0,80
Sr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	169 ± 107 (10)	63,8 - 353,8	303 ± 181 (9)	114,0 - 709,5
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	175 ± 32 (10)	121,6 - 218,0	208 ± 146 (10)	121,5 - 618,3

a. numero de amostras analisadas

Uma comparação preliminar entre os resultados obtidos da Tabela 3 para o esmalte e a dentina mostra que as concentrações dos elementos Ca, Mg, Mn, Na, Sr e Zn no esmalte e na dentina são da mesma ordem de grandeza. Entretanto o esmalte apresenta concentração mais elevada de Ca, Cl, Mn e Sr que a dentina.

3. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos materiais certificados de referência mostraram a viabilidade do uso da técnica de análise por ativação com nêutrons na determinação de Ca, Na, Sr e Zn nas amostras de dente. Os resultados obtidos nas análises de material de referência indicam boa precisão e exatidão com desvios padrão e erros relativos inferiores a 10,4 e 12,5 % respectivamente.

Além disso, esta técnica apresenta vantagens na análise de matriz de dentes, devido a possibilidade de uma análise multielementar utilizando pequena quantidade de amostra e sem a necessidade de efetuar a sua dissolução

As comparações entre os resultados obtidos para dentina e esmalte mostram que o esmalte apresenta as concentrações de Ca, Cl, Mn e Sr mais altas que a dentina.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP e CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIA

1. C.J. Brown; S.R.N. Chenery; B. Smith; A. Tomkins; G.J. Roberts; L. Sserunjogi; M. Thompson, "A sampling and analytical methodology for dental trace element analysis," *Analyst*, v. **127**, pp. 319-323 (2002).
2. D. Santos; F. Barbosa; S.S. De Souza; F.J. Krug, "Cryogenic sample grinding for copper, lead and manganese determination in human teeth by slurry sampling GFAAS," *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. **18 (8)**, pp. 939-945 (2003).
3. M.L.Carvalho; J.P. Marques; J. Brito; C. Casaca; A.S. Cunha, "Hg, Bi, Cu and Zn distribution in human teeth treated by dental amalgam measured by synchrotron microprobe," *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B-Beam Interactions with Materials and Atoms*, v. **192**, pp. 148-154 (2002).
4. E.Reitznerová; D. Amarasiriwardena; M. Kopčáková; R.M. Barnes, "Determination of some trace elements in human tooth enamel," *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v. **367** pp. 748-754 (2000).
5. National Institute of Standards & Technology. *Standard Reference Material 1400 Bone Ash*, Certificate of Analysis, (1992).
6. National Institute of Standards & Technology. *Standard Reference Material 1486 Bone Meal*, Certificate of Analysis, (1992).
7. D. De Soete; R. Gijels; H. Hoste, *Neutron Activation Analysis*, Wiley Interscience, London, England, (1972).