

**CNEN/SP**

---

**ipen** Instituto de Pesquisas  
Energéticas e Nucleares

**APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO  
COM NÉUTRONS À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS  
TRAÇOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS  
BRASILEIROS**

**Vera Akiko Nishida e Marina Beatriz Agostini Vasconcellos**

**PUBLICAÇÃO IPEN 220**

**OUTUBRO/1988**

**APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS  
À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS EM AMOSTRAS  
DE ALIMENTOS BRASILEIROS**

Vera Akiko Maehara e Marina Beatriz Agostini Vasconcellos

**DEPARTAMENTO DE FÍSICA E QUÍMICA NUCLEARES**

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

811 10

BRAZIL

FOOD

NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

TOXICITY

---

IPEN Doc 3082

Publicação aprovada pela CNEN em 24/09/87

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são da responsabilidade do(s) autor(es)

# APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS À DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇOS EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS BRASILEIROS \*

Vera Akiko Maehara e Marina Beatriz Agostini Vasconcellos

## RESUMO

Um dos aspectos mais importantes para o conhecimento dos teores dos elementos traços nos alimentos e organismos animais, que tem merecido nos últimos anos um interesse cada vez maior dos cientistas ligados à área de saúde, é o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, precisos e exatos. A análise por ativação com nêutrons (AAN) se destaca como uma técnica das mais confiáveis. O presente trabalho faz parte de um Projeto Coordenado de Pesquisas da AIEA sobre aplicações de técnicas nucleares para análises de elementos tóxicos em alimentos. Aplica-se o método AAN para análises de pão, leite em pó e arroz, alimentos considerados básicos da dieta alimentar brasileira. Apresentam-se também alguns aspectos da AAN aplicada à análise de matrizes biológicas.

## APPLICATION OF NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS TO THE DETERMINATION OF TRACE ELEMENTS IN BRAZILIAN FOODSTUFFS

## ABSTRACT

Recently there has been an increase of consciousness about the importance of trace elements in human health and disease as well as a rising concern about food contamination. The development of sensitive, accurate and precise methods is one of the most important aspects of the knowledge of trace elements contents in foods and in biological samples. Neutron activation analysis is one of the most suitable techniques because a great number of elements can be determined in concentrations in the range of  $\mu\text{g/g}$  to  $\text{ng/g}$ . The present work is a part of an AIEA Co-ordinated Research Programme on the applications of nuclear techniques for toxic elements in foodstuffs. Neutron activation analysis is applied to analysis of bread, milk powder and rice that are considered essential foods in the Brazilian diet. Some aspects of the activation analysis of biological matrices are discussed.

## I INTRODUÇÃO

A crescente conscientização da população brasileira no sentido de melhor fiscalizar a qualidade dos alimentos consumidos, assim como os

---

(\*) Trabalho apresentado no 29 Congresso Geral de Energia Nuclear (CGEN) Rio de Janeiro - RJ, no período de 24 à 29 de Abril de 1988

Inúmeros casos de denúncias de alimentos contaminados, como a aflatoxina em amendoins, Hg em peixes, o alto teor de Cr em gelatinas, entre outros, têm levado os institutos governamentais a necessitarem de laboratórios especializados em técnicas analíticas altamente sensíveis, que forneçam resultados com alto grau de confiabilidade para garantir a qualidade e quantificar o conteúdo de substâncias presentes nos alimentos.

Atualmente existem poucas informações a respeito dos teores dos elementos inorgânicos presentes nos alimentos consumidos pela população brasileira. A atual legislação baseia-se no decreto 55 271 de 26/03/1965. Este decreto fornece os limites máximos de tolerância de alguns elementos inorgânicos em bebidas e alimentos em geral, não especificando o tipo dos alimentos.

Dentro deste contexto pesquisadores de alguns institutos de pesquisas, como Instituto Adolfo Lutz, IQUSP, a Divisão de Radioquímica do IPEN-CNEN/SP, o ITAL de Campinas e algumas indústrias de alimentos, formaram um grupo de analistas de metais em alimentos. Esse grupo tem por objetivo discutir as técnicas de análises disponíveis, bem como reunir um maior número de dados possível sobre a determinação de contaminantes metálicos em alimentos brasileiros. Uma vez reunido um volume suficiente de dados e amadurecidas as discussões sobre técnicas analíticas, o grupo pretende atuar ao nível da legislação brasileira fornecendo subsídios para que possam ser estabelecidos ou alterados os teores máximos permitíveis de elementos metálicos em uma série de alimentos, que venham causar um mínimo de riscos à saúde humana.

Entre as técnicas analíticas existentes destacam-se a espectrometria de absorção atômica (AAS), a espectrometria de emissão após excitação com ICP e a análise por ativação (AAN). Cada uma dessas técnicas fornece resultados de muitos elementos em uma única análise. Entretanto, nenhuma delas é capaz de fornecer resultados para todos os elementos.

As técnicas nucleares têm desempenhado um importante papel para a monitoração de elementos tóxicos como Hg, As, Se nos alimentos, em muitos países desenvolvidos. A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA utiliza a técnica de análise por ativação com nêutrons para a determinação de As, Sb, Se, Cr e Mo em alimentos a níveis de interesse toxicológico e nutricional(1).

A análise por ativação com nêutrons térmicos é uma das que se destaca por sua sensibilidade, uma vez que um grande número de elementos pode ser determinado na faixa de  $\mu\text{g/g}$  a  $\text{ng/g}$ , com fluxos de  $10^{12}$  a  $10^3$  nêutrons  $\text{cm}^{-2}\text{s}^{-1}$

A Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) vem coordenando desde o final de 1985 o programa de pesquisa "Co-ordinated research programme on nuclear techniques for toxic elements in foodstuffs". A Divisão de Radioquímica do IPEN-CNEN/SP faz parte desse programa como participante associado com o projeto "Application of Neutron Activation Analysis to the Monitoring of Trace Elements in Brazilian Foodstuffs".

Um dos objetivos desse trabalho é desenvolver um método de análise por ativação para determinar os teores de Hg, Se, As, Zn, Sb, Fe e outros em alimentos de grande consumo da população brasileira e de países asiáticos, como o arroz.

A técnica de análise por ativação instrumental é muito utilizada em análises de alimentos para determinar o conteúdo de Na, K, Cl, Al, Mn, Br, Zn, Mg e Rb. Entretanto, dependendo do tipo de amostra, é necessário aplicar métodos de separação radioquímica para determinar elementos como Hg, Se, As e Sb, entre outros.

Muitos dos processos de separação radioquímica empregam trocadores inorgânicos como HAP, TIP e ZP para remover respectivamente os radioisótopos  $^{24}\text{Na}$ ,  $^{42}\text{K}$  e  $^{32}\text{P}$ , que constituem numa das maiores interferências do método em matrizes biológicas<sup>(2)</sup>. Outros utilizam resinas de troca iônica, destilação, precipitação e eletrodeposição<sup>(3,4)</sup>.

No presente trabalho são discutidos alguns aspectos da análise por ativação com nêutrons aplicada a análise de alimentos, focalizando os trabalhos desenvolvidos pela Divisão de Radioquímica do IPEN-CNEN/SP, onde foram analisados pão, leite em pó e arroz, considerados básicos da dieta alimentar, bem como padrões biológicos certificados, tais como Bowen's Kale e Bovine Liver.

## II PARTE EXPERIMENTAL

### II 1 Preparação das Amostras

As amostras foram adquiridas em supermercados ou padarias da cidade de São Paulo

Na AAN é interessante, sempre que possível, obter amostras na forma de pó. O procedimento a ser adotado na preparação das amostras vai variar conforme o alimento a ser analisado.

Procedeu-se, assim, para os seguintes alimentos

Pão Inicialmente fez-se a secagem das amostras a 50°C por 30 horas. Em seguida efetuou-se a moagem em almofariz de ágata até obter granulometria de 80 mesh.

Leite em Pó Não foi realizado nenhum tratamento prévio.

Arroz Foi feita a moagem do arroz em moinho elétrico, após lavagem com água destilada. A seguir foram feitas a liofilização e a moagem, obtendo-se assim amostras com granulometria de 80 mesh.

### II 2 Padrões

Nas análises multielementares instrumentais podem ser utilizados como padrões os materiais biológicos de referências, certificados por instituições como a AIEA e a NBS (National Bureau Standard). Entre eles pode-se citar Citrus Leaves, Bovine Liver, Animal Muscle e Bowen's Kale. Esses materiais por apresentarem composições muitas vezes semelhantes aos alimentos analisados, são submetidos às mesmas condições de irradiação e contagem para a determinação de um grande número de elementos traços.

Em alguns casos, principalmente quando separações radioquímicas são necessárias, prefere-se utilizar padrões sintéticos multielementares, que são preparados a partir de soluções primárias dos elementos a serem determinados.

### II 3 Equipamentos de Contagem

Utilizaram-se detectores de Ge(Li) com resoluções de 2,8 keV e 2,6 keV para o pico de 1332 keV do  $^{60}\text{Co}$ , acoplados a analisadores de 4096 canais, respectivamente, da Hewlett Packard e da Ortec

As análises dos espectros de raios gama foram feitas pelo programa FALA<sup>(5)</sup> em linguagem BASIC, no minicomputador HP modelo 2100 A, desenvolvido na Divisão de Radioquímica, e pelo programa Ge(Li) Gam, em linguagem ORACL, desenvolvido pela ORTEC

### II 4 Irradiação

As amostras de alimentos (100-300 mg) e os padrões biológicos (50-250 mg) foram irradiados simultaneamente por períodos de 2 a 30 minutos em fluxos de nêutrons de  $10^{12} \text{ ncm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , para a determinação de radioisótopos de meias vidas curtas (de minutos a algumas horas) Para análises de elementos que dão origem a radioisótopos de meias vidas longas as amostras foram irradiadas por 8 horas em fluxos da ordem de  $10^{12}$  a  $10^{13} \text{ ncm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  no reator IEA-R1, do IPEN-CNEN/SP

Os recipientes de irradiação utilizados foram recipientes de polietileno, especiais para a análise por ativação e fornecidos pela Free University de Amsterdam, envelopes de alumínio e ampolas de quartzo

### II 5 Análise Instrumental

Após períodos de decaimento convenientes (de 3 minutos a 2,5 horas no caso das irradiações curtas e de 3 a 15 dias, no caso de irradiações de 8 horas) mediu-se as amostras nos espectrômetros de raios gama descritos

Os tempos de contagem variaram de 2000 segundos a 2,5 horas Nessas condições pode-se determinar o conteúdo de Na, K, Cl, Al, Mn, As, Br, Zn, Mg, Fe, Ca, Sc, Sb, Cr e Rb, nos alimentos analisados

## II 6 Análise com Separação Radioquímica

### II 6 1 Análise Destrutiva do Pão e do Leite em Pó

Após irradiações de 8 horas (fluxo de  $10^{12} \text{ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e tempo de resfriamento de 60 horas, a amostra (100 mg) e o padrão Bowen's Kale (50 mg) foram dissolvidos em  $\text{HNO}_3$  conc,  $\text{HClO}_4$  70% e  $\text{H}_2\text{O}_2$  120 vol. A solução foi levada à secura, após a digestão completa da matéria orgânica, e re tomada em  $\text{HCl}$  8N. A solução clorídrica foi então, percolada em uma coluna de HAP (pentóxido de antimônio hidratado), onde ficaram retidos os radioisótopos  $^{24}\text{Na}$  e  $^{42}\text{K}$ . Na solução efluente foram detectados os radioisótopos  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{69\text{m}}\text{Zn}$  e  $^{140}\text{La}$ , que na análise instrumental foram mascarados pelo  $^{24}\text{Na}$ .

### II 6 2 Análise de Hg e Se em Padrão Biológico e em Arroz

Para a determinação de Hg e Se em alimentos foi necessário recorrer a uma análise destrutiva para separar esses elementos da matriz e de outros elementos interferentes.

A separação radioquímica desenvolvida envolveu a dissolução das amostras (irradiadas em ampolas de quartzo por 8 horas - fluxo de  $10^{13} \text{ncm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) em  $\text{HNO}_3$  conc,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc e  $\text{H}_2\text{O}_2$  120 vol, em sistema fechado. Após destilação dos elementos em meio bromídrico, o selênio foi precipitado sob a forma elementar após redução com metabissulfito de sódio, e o mercúrio precipitado como sulfeto, após adição de  $\text{NH}_4\text{OH}$  conc e triacetamida na solução já isenta de selênio.

## III RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos para a análise instrumental das amostras de pão, leite em pó e arroz. Os valores representam as médias de 3 a 6 determinações individuais para cada elemento.

TABELA 1 - Resultados das Análises Não Destrutivas dos Alimentos

\*

CONCENTRAÇÃO TOTAL DOS ELEMENTOS				
(Média + DP)				
Elemento	Pão Industrial	Pão Francês	Leite em Pó	Arroz(tipo 2)
Na	0,77 ± 0,02 %	0,96 ± 0,01 %	0,323 ± 0,004 %	13,5 ± 0,6
Cl	1,04 ± 0,06 %	1,49 ± 0,07 %	0,76 ± 0,05 %	-
K	-	-	1,15 ± 0,02 %	434 ± 36
Ca	-	-	1,02 ± 0,11 %	-
Mn	10,2 ± 0,8	7,38 ± 0,31	0,52 ± 0,04	-
Mg	-	-	1040 ± 25	-
Al	-	-	10,4 ± 0,2	-
Br	10,9 ± 0,3	12,5 ± 0,7	14,7 ± 0,4	0,36 ± 0,02
Fe	75 ± 3	60 ± 7	-	-
Rb	3,4 ± 0,4	2,4 ± 0,3	24 ± 2	3,7 ± 0,3
Zn	14,9 ± 0,6	9,7 ± 1,1	24 ± 3	15,1 ± 0,9
Cr	0,30 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,03	-
Sb	0,90 ± 0,01	0,29 ± 0,04	1,07 ± 0,06	-
As	-	-	-	0,278 ± 0,035
Sc	2,35 ± 0,56ng/g	2,63 ng/g	-	-

OBS Os resultados são dados em µg/g, a não ser nos casos indicados como % ou ng/g

(-) Análises não realizadas

As Tabelas 2 e 3 apresentam os resultados obtidos após os processos de separação química, desenvolvidos para a eliminação de alguns elementos interferentes

TABELA 2 - Resultados das Análises Destrutivas do Pão e do Leite em Pó

CONCENTRAÇÃO TOTAL DOS ELEMENTOS			
( Média $\pm$ DP )			
Elemento	Pão Industrial	Pão Francês	Leite em Pó
Na %	0,78 $\pm$ 0,04	0,95 $\pm$ 0,06	0,329 $\pm$ 0,004
K %	0,34 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,02	1,20 $\pm$ 0,02
Ca %	-	-	1,32 $\pm$ 0,04
Fe $\mu$ g/g	66 $\pm$ 4	62 $\pm$ 9	-
Zn $\mu$ g/g	20 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1	35 $\pm$ 2
Cu $\mu$ g/g	7,9 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 0,1	1,27 $\pm$ 0,01
Sb $\mu$ g/g	1,2	0,18	0,91
La ng/g	19,6	13,2	26,0
Sc ng/g	4,2 $\pm$ 0,9	2,2 $\pm$ 0,3	-

( - ) Análises não realizadas

TABELA 3 - Determinação de Hg e Se nos Padrões Biológicos Bovine Liver SRM-1577-a e Bowen's Kale e no Arroz pelo Método de Separação Radioquímica

CONCENTRAÇÃO TOTAL EM $\mu$ g/g (AMOSTRA SECA)					
Elemento	BOVINE LIVER		BOWEN'S KALE		Arroz Tipo 2
	Este Trabalho	Valor Certificado	Este Trabalho	Valor Certificado	
Hg	0,0054 $\pm$ 0,0014 (4)	0,004 $\pm$ 0,002	0,169 $\pm$ 0,019 (4)	0,168 $\pm$ 0,025	0,0155 $\pm$ 0,0056 (2)
Se	0,638 $\pm$ 0,075 (7)	0,71 $\pm$ 0,07	0,123 $\pm$ 0,020 (4)	0,133 $\pm$ 0,021	0,0406 $\pm$ 0,0054 (2)

OBS Os valores entre parenteses indicam o número de análises efetuadas

#### IV DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

##### IV 1 Análise do Pão e Leite em Pó

Pelas Tabelas 1 e 2 pode-se dizer que, de um modo geral, houve uma boa concordância entre as médias obtidas pelos métodos não destrutivo e destrutivo. Os erros relativos para a maioria dos elementos analisados no pão e no leite em pó estiveram em torno de 10%, que é considerado um bom resultado para análise de traços.

Foram calculados os limites de detecção de alguns elementos traços pelo critério de Currie<sup>(6)</sup>, nas condições experimentais do trabalho. Pela Tabela 4, pode-se observar que os limites estiveram sempre na faixa de  $\mu\text{g/g}$  e  $\text{ng/g}$ , o que atesta a sensibilidade do método de ativação empregado.

TABELA 4 - Limites de Detecção dos Elementos Traços Analisados pelos Métodos Não Destrutivo e Destrutivo pelo Critério de Currie, em  $\mu\text{g/g}$

Elemento	PÃO		LEITE EM PÓ	
	Método Não Destrutivo	Método Destrutivo	Método Não Destrutivo	Método Destrutivo
Cr	0,18	-	0,53	-
Sb	0,028	0,027	0,048	0,032
Br	1,1	-	0,77	-
Mn	0,47	-	0,18	-
Sc	0,0016	0,0017	-	-
Rb	0,49	-	0,23	-
Fe	34,3	12,1	-	-
Zn	2,8	2,1	1,8	2,4
Cu	-	0,018	-	0,048

( - ) Valor não calculado

O método de análise por ativação com nêutrons mostrou-se adequado para a determinação de Na, K, Ca, Mg, Cl, Al, Br, Cr, Zn, Fe, Cu, Rb, Sb e Sc em amostras de pão e leite em pó

#### IV 2 Análise de Hg e Se em Padrões Biológicos e em Arroz

O método de separação radioquímica empregado foi testado utilizando traçadores radioativos. O rendimento total encontrado foi de 99,3% para o  $^{75}\text{Se}$  e 97,2% para o  $^{197}\text{Hg}$

A dissolução das amostras foi efetuada em sistema fechado, uma vez que ocorrem perdas de Hg durante a digestão da matéria orgânica, como foi observada por Sjostrand<sup>(7)</sup>

A fim de testar a exatidão e precisão do método desenvolvido, foram analisados os padrões biológicos Bowen's Kale e Bovine Liver (NBS-SRM-1577-a). Os resultados indicaram uma boa concordância entre os valores certificados e os encontrados neste trabalho (Tabela 3)

O processo de separação foi aplicado para amostras de arroz, mostrando ser simples e sensível para determinar simultaneamente os teores de mercúrio e selênio

#### AGRADECIMENTOS

Os autores desejam agradecer à AIEA que financiou parcialmente os trabalhos

#### REFERÊNCIAS

- 1 CUNNINGHAM, W C Radiochemical determination of As, Cr, Mo, Sb and Se in foods. In MODERN trends in activation analysis, 7<sup>a</sup> international conference held in Copenhagen, June 23-27, 1986, vol 2 applications Roskilde, DK, Riso National Laboratory, Isotope Div, 1986 p 815-22

- 2 SCHELENZ, R & DIEHL, J F A study into the accuracy of the remote-controlled system for multielement determination in food-stuffs using NAA Washington D C , National Bureau of Standards, 1976 p 1173-80 (NBS-Special Publ-422)
- 3 LO, J G & YEH, S J Determination of trace elements in powdered milk by neutron activation analysis Radioisotopes, 25(4) 206-9, 1976
- 4 GRIMANIS, A P & PERTESSIS-KEIS, M Simultaneous determination of mercury and selenium in biological materials by radiochemical neutron activation analysis In MODERN trends in activation analysis, 7<sup>th</sup> international conference held in Copenhagen, June 23-27, 1986, vol 2, applications Roskilde, DK, Riso National Laboratory, Isotope Div , 1986 p 843-49
- 5 LIMA, F W & ATALLA, L T A simple program in "BASIC" language for analysis of gamma-spectra using an on-line minicomputer J Radioanal Chem , 20 769-77, 1974
- 6 CURRIE, L A Limits for qualitative detection and quantitative determination Anal Chem , 40(3) 586-92, 1968
- 7 SJOSTRAND, B Simultaneous determination of mercury and arsenic in biological and organic materials by activation analysis Anal Chem , 36(4) 814-19, 1964