



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM AMOSTRAS DE MEL
DE *CITRUS* spp PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO
COM NEUTRONS INSTRUMENTAL**

**Déborah Inês Teixeira FÁVARO, Marina Beatriz Agostini VASCONCELLOS e
Beatriz PAMPLONA**

PUB
V

PUBLICAÇÃO IPEN 310

JULHO/1990

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM AMOSTRAS DE MEL
DE *CITRUS* spp PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO
COM NEUTRONS INSTRUMENTAL**

**Déborah Inês Teixeira FÁVARO, Marina Beatriz Agostini VASCONCELLOS e
Beatriz PAMPLONA**

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E QUÍMICA NUCLEARES

**CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL**

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

B11.10

HONEY

NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

GAMMA SPECTROSCOPY

IPEN - Doc - 3883

Aprovado para publicação em 18/06/90.

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

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM AMOSTRAS DE MEL DE CITRUS spp
PELO MÉTODO DE ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NEUTRONS INSTRUMENTAL***

**Déborah Inês Teixeira FÁVARO, Marina Beatriz Agostini
VASCONCELLOS e Beatriz PAMPLONA¹**

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - IPEN-CNEN/SP
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRASIL**

RESUMO

O interesse na determinação da concentração de elementos químicos inorgânicos em amostras de mel tem aumentado nos últimos anos, devido à sua utilização como indicador de poluição ambiental em vários países da Europa.

No presente trabalho, desenvolveu-se um método de análise com objetivo de determinar o maior número possível de elementos inorgânicos, essenciais e potencialmente tóxicos, em amostras de mel usando o método de análise por ativação com neutrons instrumental seguido de espectrometria gama de alta resolução.

As amostras de mel foram submetidas a diferentes tempos de irradiação com neutrons no Reator de pesquisas IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP.

Com irradiações de 30 minutos, sob um fluxo de neutrons térmicos de 10^{12} n.cm⁻².s⁻¹, determinaram-se os elementos Na, K, Cl, Mg e Mn.

Sob um fluxo de 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹ e 16 horas de irradiação, determinaram-se os seguintes elementos: Br, Ca, Au, Sb, Cs, Rb, Zn, Sc, Fe, Co e La com diferentes tempos de resfriamento.

A faixa de concentração dos elementos analisados variou de ng/g a mg/g.

Em continuação ao presente trabalho, pretende-se analisar diferentes tipos de mel e estabelecer a composição química inorgânica característica de cada um deles. A partir desses dados pode-se analisar a existência de relações entre a composição mineral do mel e sua origem geográfica.

(*) Trabalho apresentado na 41ª Reunião Anual da SBPC - Fortaleza, julho de 1989.

(1) Departamento de Ecologia Geral - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

**MULTIELEMENTAR DETERMINATION IN CITRUS spp HONEY BEE
SAMPLES BY INSTRUMENTAL NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS***

**Déborah Inês Teixeira FÁVARO, Marina Beatriz Agostini
VASCONCELLOS e Beatriz PAMPLONA¹**

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - IPEN-CNEN/SP
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRASIL**

ABSTRACT

Recently interest has grown in the determination of the concentration of inorganic chemical elements in honey bee samples, due its utilization as indicator of environmental pollution in several countries of Europe.

In the present work, a method was developed to determine some essential and potentially inorganic elements in honey bee samples by instrumental neutron activation analysis followed by high resolution gamma ray spectrometry.

The honey samples were neutron irradiated during different times at the nuclear research reactor IEA-R1 of the IPEN-CNEN/SP.

The elements Na, Cl, K, Mg and Mn were determined using irradiations of 30 minutes under a thermal neutron flux of 10^{12} n.cm⁻².s⁻¹.

With 16 hours of irradiation under a flux of 10^{13} n.cm⁻².s⁻¹ and different cooling times, the elements Br, Ca, Au, Sb, Cs, Rb, Zn, Sc, Fe, Co and La were determined.

The concentration of the analyzed elements ranged from ng/g to mg/g.

In the future, different kinds of bee honey will be analyzed and the characteristic chemical composition of each one will be established.

Based on these elemental concentration data, the relationship between the mineral composition of bee honey and its geographical origin can be studied.

(*) Paper presented at the 41th Annual Meeting of the Brazilian society for the Advancement of Science, Fortaleza, July 1989.

(1) Ecological General Department, Bioscience Institute, USP.

1. INTRODUÇÃO

Médicos e Dietistas têm reconhecido, ao longo dos tempos, o valor nutricional do mel e certas propriedades que outros alimentos não possuem⁽¹⁾. O mel é constituído essencialmente por diferentes açúcares, predominantemente glucose e frutose, além de proteínas, amino-ácidos, enzimas, ácidos orgânicos, substâncias minerais, pólen e elementos químicos inorgânicos⁽²⁾.

A coloração do mel varia de claro a marrom escuro e a sua consistência pode ser fluída, viscosa ou ainda de parcial a totalmente cristalizado. O sabor e aroma variam, mas geralmente derivam da planta original⁽²⁾.

Vermeulen & Pelerents⁽³⁾ relatam que a composição mineral de um mel pode ser modificada pela data de colheita e pelo clima, causas de variação floral do local e do momento e, conseqüentemente, dos vários néctares coletados. Chamam a atenção também, para a verificação da possível introdução de algum elemento devido à poluição ambiental.

Atualmente, muitas pesquisas visam a utilização do mel como indicador de níveis de radioatividade e de poluição devido a elementos pesados no meio ambiente⁽⁴⁾.

Já foram identificados no mel inúmeros elementos químicos tais como: K, Na, Ca, Mg, Mn, Ti, Co, Mo, Fe, Cu, Si, Al, Cl, P, S, I, B, N e também Cr, Li, Ni, Pb, Sn, Zn, Os, Ba, Ga, Bi, Ag, Au, Ge, Sr, Be, V e Zr a níveis de traços⁽⁵⁾.

A análise dos elementos químicos inorgânicos pode ser feita por vários métodos, dentre eles, espectrometria de absorção atômica⁽⁶⁾ e análise por ativação com neutrons instrumental (AANI)⁽⁷⁾.

Smith⁽⁸⁾, estudando os elementos químicos inorgânicos presentes no mel, propôs a divisão desses elementos em essenciais, cuja concentração varia pouco e os não essenciais, com flutuações muito mais amplas.

No presente trabalho, desenvolveu-se um procedimento de análise com o objetivo de determinar o maior número possível de elementos essenciais e potencialmente tóxicos, em amostras de mel de citrus spp, usando-se o método de análise por ativação com neutrons instrumental seguido de espectrometria de raios gama de alta resolução. Esse método é muito adequado para determinação de elementos em baixa concentração, devido

a sua alta precisão, exatidão e sensibilidade.

Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com o Departamento de Ecologia Geral do Instituto de Biociências da USP, que forneceu a amostra de mel de citrus spp.

Os dados obtidos quanto à concentração de diversos elementos inorgânicos nesse tipo de mel e em outros que deverão ser analisados poderão fornecer informações sobre a presença de poluentes ambientais, assim como poderá permitir futuramente um estudo sobre a relação entre a composição mineral do mel e a sua origem geográfica.

Princípio do Método

Análise por ativação com neutrons (AAN) baseia-se em reações que ocorrem com os núcleos atômicos e, portanto, permite realizar análise dos elementos presentes em uma dada amostra, independentemente da forma química em que eles se encontram. Os materiais a serem analisados são submetidos a um fluxo de neutrons, ocorrendo a formação de isótopos radioativos, por meio de reações nucleares. A medida das radiações emitidas por esses isótopos permite realizar análises qualitativas e quantitativas.

Equação Fundamental da Análise por Ativação

$$A(t_i) = z \sigma \phi \frac{N_{AV} \cdot m \cdot f}{M} (1 - e^{-0.693 \times t_i / t_{1/2}}) \quad (1)$$

A = atividade medida, em contagens por segundo

z = eficiência do detector

σ = seção de choque de ativação isotópica

ϕ = fluxo de neutrons, em $n \cdot cm^{-2} \cdot s^{-1}$

N_{AV} = número de Avogrado = $6,023 \times 10^{23}$

m = massa do elemento irradiado, em gramas

f = abundância do nuclídeo alvo (100% = 1)

M = massa atômica do elemento irradiado

t_i = tempo de irradiação

$t_{1/2}$ = meia vida do radionuclídeo formado.

Aplicando-se essa expressão, tem-se o método de análise por ativação absoluta. Na prática, é difícil conhecer todos os parâmetros da equação (1) com exatidão e precisão suficientes e devido a esse fato podem-se cometer erros consideráveis na determinação das massas dos elementos de interesse. Por esse motivo, costuma-se empregar com maior frequência o método de análise por ativação comparativa, no qual não é necessário conhecer os parâmetros mencionados com tanta exatidão.

Análise por Ativação Comparativa

Aplicando-se a expressão (1) para a amostra e para o padrão e comparando-se as atividades respectivas, obtém-se a expressão:

$$m_a = \frac{A_a}{A_p} \cdot m_p \quad (2)$$

onde:

m_a = massa do elemento na amostra

m_p = massa do elemento no padrão

A_a = atividade da amostra

A_p = atividade do padrão

A amostra e o padrão são irradiados juntos, durante o mesmo tempo e sob o mesmo fluxo de neutrons.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Preparação da Amostra

O mel foi inicialmente calcinado por 30 minutos a 600°C numa mufla e, em seguida, moído manualmente num almofariz de ágata até uma granulometria conveniente. Esse procedimento foi repetido várias vezes até se obter cerca de 2 a 3 gramas de mel calcinado. Esse material foi então misturado várias vezes para completa homogeneização. Em seguida, pesaram-se cerca de 150 mg desse material, em cápsulas de polietileno (especiais para análise por ativação, importadas da Free University, de Amsterdam) para irradiações de até 16

horas e em papel alumínio, para irradiações de 40 horas.

2. Preparação dos Padrões

Usou-se como material de referência o padrão biológico Bowen's Kale⁽⁹⁾ fornecido pela IUPAC e que possui valores de concentração certificados para muitos elementos.

Pesaram-se cerca de 100 mg desse padrão em cápsulas de polietileno ou em papel alumínio dependendo do tempo de irradiação.

Na Tabela I se encontram os valores certificados para a concentração dos elementos no padrão Bowen's Kale.

Utilizaram-se também padrões sintéticos de Na, Cl, K, Mg e Mn preparando-se soluções de concentração bem conhecida desses elementos, por dissolução de sais ou óxidos de alta pureza em água destilada ou ácido nítrico diluído. Em seguida, pipetaram-se alíquotas dessas soluções em papel de filtro Whatman nº 40 que foi secado sob lâmpada de raios infra-vermelhos.

3. Irradiação

As amostras e padrões foram γ -radiados no Reator de Pesquisas IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP e submetidos a 3 tipos diferentes de irradiações:

a) irradiações de 30 minutos sob um fluxo de neutrons térmicos de cerca de 10^{12} n.cm⁻².s⁻¹. Neste caso, determinaram-se os elementos de meia vida curta: Na, Cl, Mn, Mg e K.

b) irradiações de 16 horas sob um fluxo de neutrons térmicos de cerca de 10^{12} n.cm⁻².s⁻¹.

Determinaram-se os elementos de meia vida média e longa realizando-se medidas com diferentes tempos de resfriamento: Na, K, Br, Ca, Sb, Fe, Rb, Co, Cr, Cs, Sc e Zn.

c) irradiações de 40 horas sob um fluxo de neutrons epitérmicos usando filtros de cádmio. Neste caso, elimina-se a ativação de muitos elementos interferentes como o Na, por exemplo. A ativação

ção epitérmica mostrou-se favorável para elementos tais como Br, Rb, Zn, Sb e Fe.

4. Medidas da Radioatividade

As amostras e padrões irradiados foram medidos em um espectrômetro de raios gama marca "ORTEC" constituído de um analisador de 4096 canais, modelo 6240B, acoplado a um detector de Ge(Li) ORTEC, modelo 8001-1521W com resolução de 2,4 keV no pico de 1332,5 keV do ^{60}Co . Os cálculos foram feitos utilizando-se um minicomputador PDP-11/04 da DIGITAL e o programa GELIGAM, em linguagem ORACL, desenvolvido pela ORTEC.

Usou-se também um multianalisador de raios gama de 4096 canais, ORTEC, modelo 7450, acoplado a um detector de Ge puro, marca ENERTEC modelo EGN/5 nº 7358, com resolução de 2,7 keV no pico de 1332,5 keV do ^{60}Co . O tratamento dos dados é feito por meio de um microcomputador Monydata, Modelo NYDA 200 Plus, com 512 K de memória e Winchester de 10 Megabytes, usando o programa TFR em linguagem PASCAL, que é uma adaptação do programa FALA⁽¹⁰⁾, desenvolvido por Atalla e Lima para a análise de espectros de raios gama.

5. Resultados e Discussão

Na Tabela II⁽¹¹⁾ se encontram apresentados os dados nucleares dos radioisótopos utilizados na análise do mel de citrus spp.

Nas Tabelas III, IV e V se encontram os resultados obtidos para a análise do mel de citrus spp por análise por ativação com neutrons instrumental.

No presente trabalho, estabeleceu-se um método puramente instrumental de análise de mel de citrus spp, determinando-se 15 elementos variando-se apenas o tempo de irradiação e o de resfriamento.

Pudemos observar que o método de análise por ativação com neutrons instrumental em amostras de mel de citrus spp, mostrou-se bastante sensível pois permitiu a determinação de elementos a níveis de con-

centração variando de $\mu\text{g/g}$ para o K até ng/g para os elementos Cs, Se, Co e Sb.

Comparando-se os resultados apresentados nas Tabelas IV e V, podemos constatar que na ativação epitêrmica com filtros de cádmio, foram obtidos resultados mais favoráveis para os elementos Br, Rb, Zn, Fe e Sb, conforme o esperado.

Com irradiação térmica de 16 horas foi possível a determinação de 12 elementos, conforme apresentado pela Tabela IV.

Em continuação ao presente trabalho, pretende-se analisar vários tipos de mel e estabelecer e comparar a composição química inorgânica característica de cada um deles. Posteriormente, pretende-se relacionar a composição química de um mel e sua origem geográfica.

TABELA IConcentração dos elementos no padrão certificado Bowen's Kale⁽⁹⁾.

Elemento	Concentração ($\mu\text{g/g}$)
Au	0,00191 \pm 0,00061
Br	24,6 \pm 2,3
Ca	41000 \pm 2180
Cl	3650 \pm 350
Co	0,0624 \pm 0,011
Cs	0,0773 \pm 0,006
Fe	118 \pm 17
K	24250 \pm 1310
La	0,0879 \pm 0,015
Mg	1580 \pm 100
Mn	14,95 \pm 1,40
Na	2392 \pm 326
Rb	52,9 \pm 4,4
Sb	0,654 \pm 0,0113
Sc	0,00816 \pm 0,00140
Zn	32,7 \pm 2,3

TABELA II

Dados nucleares dos radioisótopos utilizados para as análises de mel de citrus spp⁽¹¹⁾.

Elemento	Radioisótopo formado	meia-vida	Energia da Radiação gama medida (keV)
Au	¹⁹⁸ Au	2.7 d	411
Br	⁸² Br	35.87 h	554, 698, 776
Ca	⁴⁷ Ca	4.7 d	160, 1296
Cl	³⁸ Cl	37.29 min	1642
Co	⁶⁰ Co	5.24 a	1173.1, 1332.4
Cs	¹³⁴ Cs	2.07 a	604.7, 795.8
Fe	⁵⁹ Fe	45.1 d	1098.6, 1291.5
K	⁴² K	12.52 h	1525
La	¹⁴⁰ La	40.27 h	486.8, 1595.4
Mg	²⁷ Mg	9.45 min	844, 1014
Mn	⁵⁶ Mn	2.58 h	847, 1811
Na	²⁴ Na	15 h	1368
Rb	⁸⁶ Rb	18.66 d	1976.6
Sb	¹²² Sb	2.75 d	564, 692.5
Sb	¹²⁴ Sb	60.9 d	602.6, 1690
Sc	⁴⁶ Sc	83.9 d	889, 1120
Zn	⁶⁵ Zn	245 d	1115.4

TABELA III

Resultados obtidos para a análise do mel de citrus spp com 30 minutos de irradiação térmica.

Elemento	Unidade de Concentração	Fotopico usado (keV)	Número de Determinações	Concentração Elementar (peso seco) (Média ± Desvio)	Desvio Padrão Relativo (%)
Cl	µg/g	1642	7	15,9 ± 1,1	6,9
Mg	µg/g	1014	3	224 ± 19	8,5
Mn	µg/g	847	6	14,4 ± 1,1	7,6
Mn	µg/g	1811	6	14,5 ± 1,1	7,6
Na	µg/g	1368	7	54,5 ± 8,5	15,6
K	µg/g	312	6	4302 ± 564	13,1
K	µg/g	1525	7	3961 ± 566	14,3

TABELA IV

Resultados obtidos para análise de mel de citrus spp com 16 horas de irradiação térmica.

Elemento	Unidade de Concentração	Fotopico usado (keV)	Número de Determinações	Concentração Elemental (peso seco) (Média ± Desvio)	Desvio Padrão Relativo (%)
Au	ng/g	411	6	2,84 ± 0,68	24,0
Br	µg/g	554 , 776	6	0,43 ± 0,08	18,6
Co	ng/g	1173 , 1332	5	22,0 ± 4,1	18,6
Cs	ng/g	795	7	44,5 ± 4,4	9,9
Fe	µg/g	1099	3	48,6 ± 11,0	22,6
La	ng/g	1595	5	36,5 ± 10,0	27,4
Na	µg/g	1368	5	67,1 ± 8,8	13,1
K	µg/g	1525	3	4704 ± 701	14,9
Rb	µg/g	1076	6	7,74 ± 0,65	3,4
Sb	ng/g	564 , 1690	4	199,4 ± 29,2	14,6
Sc	ng/g	889 , 1120	7	5,7 ± 1,4	24,5
Zn	µg/g	1115	1	2,25 ± 0,86	38,2

TABELA V

Resultados obtidos para análise do mel de citrus spp com 40 horas de irradiação epitérmica.

Elemento	Unidade de Concentração	Fotopico usado (keV)	Número de Determinações	Concentração Elemental (peso seco) (Média \pm Desvio)	Desvio Padrão Relativo (%)
Br	$\mu\text{g/g}$	554 , 776	3	0,20 \pm 0,01	5,0
Co	ng/g	1173	5	25,2 \pm 10,3	41,0
Co	ng/g	1332	3	27,3 \pm 8,7	31,9
Cs	ng/g	795	6	31,7 \pm 4,3	13,6
Fe	$\mu\text{g/g}$	1099	4	40,7 \pm 3,2	7,8
Rb	$\mu\text{g/g}$	1076	7	6,38 \pm 0,22	3,4
Sb	ng/g	564	5	130,4 \pm 14,3	11,0
Sb	ng/g	1690	3	122,5 \pm 14,7	12,0
Sc	ng/g	1120	2	8,2 \pm 1,2	14,6
Zn	$\mu\text{g/g}$	1115	3	4,4 \pm 1,1	25,0

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PETROV, V. Minerals and nutritive value of honey. American Bee Journal, 112(2): 54-6, 1972.
2. FAO. Recommended European regional standard of honey. Bee World, 1970.
3. VERMEULEN, L. & PELERENTS, C. Tenneur en sucres, en phosphore et en fer de miels d'origine belge Medel. Landbouwhogeschc, Gent. 30(2): 527-41, 1965.
4. GILBERT, M.D. & LISK, D.J. Honey as an environmental indicator of radionuclide contamination. Bull. Envir. Contamin. Toxicol. 19(11): 32-4, 1976.
5. WHITE, J.W. Composition of Honey. In: CRANE, E. Honey: a Comprehensive Survey 3. ed. London, Heinemann, 1975, p. 157-206.
6. PETROV, V. Mineral constituents of some Australian honeys as determined by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Apicultural Research, 9(2): 95-101, 1970.
7. LASCEVE, G. & GONNET, M. Analyse par radioactivation du contenu minéral d'un miel. Possibilité de préciser son origine géographique. Apidologie 5(3): 201-223, 1974.
8. SMITH, H. Activation analysis in forensic science using radiochemical separations. In: General Atomic - Division of General Dynamics. Forensic activation analysis: proceedings of the 1st International Conference on ... held in San Diego, sep. 19-21, San Diego, 1966.
9. MURAMATSU, Y. & PARR, R.M. Survey of currently available reference materials for use in connection with the determination of trace elements in biological and environmental materials. December, 1985. (IAEA/RI/128).

10. ATALLA, L.T. & LIMA, F.W. A program in BASIC language for analysis of gamma-spectra using on-line minicomputers. J. of Radioanal. Chem., 20: 769-77, 1974.
11. ADAMS, F. and DAMS, R. A compilation of precisely determined gamma-transition energies of radionuclides produced by reactor irradiation. J. of Radioanal. Chem., 3: 99-125, 1969.