

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

"ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS"

ROSÂNGELA MAGDA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear.

Orientadora : Dra. Ieda Irma Lamas Cunha



São Paulo

1994

À minha mãe  
e avós

## AGRADECIMENTOS

Desejo expressar sinceros agradecimentos à minha orientadora, Dra. Ieda Irma Lamas Cunha, pela oportunidade de me dedicar à pesquisa científica e pela dedicação, paciência, interesse, amizade e incentivo durante toda a execução deste trabalho.

Agradeço ainda a todos que direta ou indiretamente me ajudaram a concretizá-lo.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em especial, à Abdalla pelo fornecimento das amostras.

Aos amigos, Ivo Manoel Giannoni, Maria Elvira e Luís de Oliveira, Rivani Teixeira Francisco e Ariovaldo Francisco Neto pelo empréstimo dos computadores.

A José Luís de Oliveira e ao Dr. Roberto Pessini pelo apoio e dedicação demonstrados.

À Dra. Maria José A. Armelin pelos conselhos e informações científicas, e a Gérson Paletti pelos primeiros passos na computação e pela digitação deste trabalho.

Aos amigos da Divisão de Radioquímica, que tão bem me

receberam, pelo incentivo e apoio recebido nas horas mais difíceis.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica (CNPQ) que financiou este trabalho.

# ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

ROSÂNGELA MAGDA DE OLIVEIRA

## RESUMO

Neste trabalho, estudou-se a determinação de fósforo em amostras de leite e osso, empregando-se o método de análise por ativação com nêutrons térmicos, com e sem separação radioquímica.

A análise com separação radioquímica consistiu na irradiação simultânea das amostras e padrões por 30 minutos, dissolução das amostras, adição de carregador de retenção de zinco, precipitação do fósforo como fosfomolibdato de amônio (A.M.P.) e contagem do fósforo-32 presente nas amostras em um detector Geiger-Müller.

A análise sem separação radioquímica consistiu na irradiação simultânea das amostras e padrões por 30 minutos, transferência das amostras para pranchetas de contagem e medida da radiação beta emitida pelo fósforo-32, após um determinado tempo de decaimento.

Após o estabelecimento dos métodos de análise de fósforo, estes foram aplicados em amostras de leite comercial e osso animal, e os valores obtidos nos métodos, com e sem separação radioquímica para cada matriz, foram comparados entre si.

Este trabalho possibilitou a obtenção de métodos de análise para fósforo que podem ser aplicados independentemente da quantidade de amostra disponível, do teor de fósforo presente na amostra ou dos interferentes que nela estejam presentes.

ROSÂNGELA MAGDA DE OLIVEIRA  
**ABSTRACT**

In this paper, phosphorus determination by neutron activation analysis in milk and bone samples was studied. Both instrumental and radiochemical separation methods were employed.

The analysis with radiochemistry separation consisted of the simultaneous irradiation of the samples and standards during 30 minutes, dissolution of the samples, addition of zinc hold back carrier, precipitation of phosphorus with ammonium phosphomolibdate (A.M.P.) and counting of phosphorus-32 by using Geiger-Müller detector.

The instrumental analysis consisted of the simultaneous irradiation of the samples and standards during 30 minutes, transfer of the samples into a counting planchet and measurement of the beta radiation emitted by phosphorus-32, after a suitable decay period.

After the phosphorus analysis methods were established these were applied to both commercial milk and animal bone samples, and data obtained in the instrumental and radiochemical separation methods for each sample, were compared between themselves.

In this work, it became possible to obtain analysis methods for phosphorus that can be applied independently of the

sample quantity available, the phosphorus content in the samples or interference that can be present in them.

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>26</b>
2.1 - MÉTODO DA ANÁLISE POR ATIVAÇÃO.....	26
2.2 - DECAIMENTO RADIOATIVO.....	29
2.3 - DETETOR GEIGER-MÜLLER.....	30
2.4 - DETERMINAÇÃO DA MEIA-VIDA DE UM RADIOISÓTOPO.....	33
2.5 - RETA DE CALIBRAÇÃO.....	34
2.6 - TESTES ESTATÍSTICOS.....	35
<b>CAPÍTULO 3 - PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>38</b>
3.1 - EQUIPAMENTOS.....	38
3.2 - REAGENTES.....	39
3.3 - PADRÕES UTILIZADOS.....	39
3.4 - AMOSTRAS ANALISADAS.....	40
3.5 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PARA ANÁLISE.....	40
3.5.1 - TRAÇADOR DE FÓSFORO.....	40
3.5.2 - SOLUÇÃO DE CARREGADOR DE FÓSFORO.....	41
3.5.3 - SOLUÇÃO DE MOLIBDATO DE AMÔNIO ACIDIFICADO.....	41
3.6 - PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO FOSFOMOLIBDATO DE AMÔNIO (A.M.P.).....	41
3.6.1 - INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE MOLIBDATO DE AMÔNIO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P....	43

3.6.2 - INFLUÊNCIA DA ACIDEZ DA SOLUÇÃO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.....	44
3.6.3 - INFLUÊNCIA DO TEMPO DA DIGESTÃO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.....	44
3.6.4 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.....	45
3.6.5 - INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE CARREGADOR DE FÓSFORO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P...	46
3.6.6 - ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE MOLIBDATO PARA DIFERENTES VOLUMES DE SOLUÇÃO....	46
3.6.7 - VERIFICAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DA PRECIPITAÇÃO DE FÓSFORO COMO A.M.P.....	47
3.7 - ANÁLISE RADIOQUÍMICA DO FÓSFORO.....	48
3.7.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	48
3.7.1.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ.....	48
3.7.1.2 - DISSOLUÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ.....	48
3.7.1.3 - PROCEDIMENTO PARA ANÁLISE RADIOQUÍMICA.....	50
3.7.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	51
3.7.2.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE OSSO.....	51
3.7.2.2 - DISSOLUÇÃO DAS AMOSTRAS DE OSSO.....	52
3.7.2.3 - PROCEDIMENTO PARA ANÁLISE RADIOQUÍMICA DAS AMOSTRAS DE OSSO.....	52
3.8 - ANÁLISE INSTRUMENTAL DO FÓSFORO.....	53
3.8.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE	

PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	53
3.8.1.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	54
3.8.1.2 - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE.....	54
3.8.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO PELO MÉTODO INSTRUMENTAL.....	56
3.8.2.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	56
3.8.2.2 - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE.....	56
3.8.3 - VERIFICAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE REAÇÕES NUCLEARES INTERFERENTES NA ANÁLISE DO FÓSFORO.....	57
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
4.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM LEITE.....	60
4.1.1 - ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	60
4.1.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	62
4.1.3 - VERIFICAÇÃO DA PRECISÃO DA ANÁLISE DE FÓSFORO EM LEITE PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.....	63
4.2 - ANÁLISE DO FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO.....	65
4.2.1 - ANÁLISE RADIOQUÍMICA DO FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO.....	65
4.2.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO NAS AMOSTRAS DE OSSO PELO MÉTODO INSTRUMENTAL.....	66

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
--	----

CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
--	----

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1

Tabela 1.1 - Reações Nucleares do Fósforo.....	87
Tabela 1.2 - Reações Nucleares Interferentes.....	87
Tabela 1.3 - Teor dos Elementos na Amostra de Leite Referência Power Milk A-11.....	88
Tabela 1.4 - Teor dos Elementos na Amostra de Osso Referência Calcined Bovine A-3/1.....	88

### APÊNDICE 2

Figura 2.1 - Procedimento para a Análise Radioquímica de Fósforo na Matriz Leite.....	89
Figura 2.2 - Procedimento para a Análise Radioquímica do Fósforo na Matriz Osso.....	90
Figura 2.3 - Procedimento para Análise sem Separação Radioquímica de Fósforo na Matriz Leite.....	91
Figura 2.4 - Procedimento para a Análise Instrumental de Fósforo na Matriz Osso.....	92

APÊNDICE 3

Figura 3.1 -Determinação da Meia-Vida do Radionuclídeo Fósforo-32 na Amostra de Leite.....93

Figura 3.2 - Determinação da Meia-Vida do Radionuclídeo Fósforo-32 em Amostra de Osso.....94

Figura 3.3 - Espectro da Matriz Osso Antes e Após o Processamento Químico.....95

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

A determinação de fósforo em amostras biológicas, tais como produtos alimentícios, tecido do corpo humano, tecido animal e plantas, é de grande importância devido ao seu papel em vários processos biológicos<sup>(1)</sup>.

O fósforo está presente no corpo como fósforo inorgânico e orgânico. Cerca de 85% do fósforo total no corpo constitui o fosfato inorgânico do esqueleto, e o restante está nos tecidos moles e fluidos.

Os compostos orgânicos desempenham papel relevante no desdobramento oxidativo dos carboidratos, proteínas e gorduras, e na captura e transferência da energia química liberada durante o processo. O composto que contém fósforo, como trifosfato de adenosina (ATP), serve como ligação entre os processos que liberam e os que requerem energia<sup>(2)</sup>.

Alguns compostos de fósforo são produzidos por meio da ação das enzimas fosforilases, por um processo conhecido como fosforilação, acréscimo do fosfato em um composto orgânico.

Outros compostos são formados pela composição do ácido fosfórico para formar os ésteres de fósforo. Os ésteres

facilitam a absorção do açúcar pela membrana intestinal, como também a sua passagem através das membranas capilares do corpo.

As vitaminas que fazem parte do sistema enzimático (como a piridoxal) devem primeiro ser fosforiladas. O fósforo (na forma de fosfato) é encontrado nos núcleos das células, como ácido nucleico que carrega a informação hereditária (genética) que possibilita a síntese da proteína.

Os fosfatos são também constituintes dos fosfolipídeos encontrados em quantidades significativas no fígado, plasma e membranas celulares. Participam no transporte de ácidos graxos e fornecem o material de isolamento para a função do nervo.

A existência e prevalência de uma síndrome clínica devido à deficiência de fósforo apenas recentemente foi reconhecida.

Os sinais e sintomas da hipofosfatemia são variáveis e diversos, dependendo do grau da deficiência. Em geral, a síndrome se manifesta com sinais e sintomas neurológicos (delírio, anorexia, coma, convulsões, neuropatia e distúrbios motores), endócrinos (hipoparatiroidismo, resistência à insulina), hematológicos (anemia, redução na fagocitose, diminuição na retração do coágulo, hemorragia), hepáticas (deteriorização na função hepática), esquelético (osteomalácia), renal (glicosúria), cardíaco (diminuição na contratibilidade).

Nos últimos anos, o interesse na importância nutricional de minerais e elementos traços tem aumentado marcadamente. Além disto, o aumento da relação entre uma dieta de minerais e elementos traços e a ocorrência de doenças crônicas específicas (hipertensão, osteoporose, câncer e doença cardiovascular) têm contribuído para aumentar a atenção para estes nutrientes.

Desde 1960, seis minerais inorgânicos e oito elementos traços são considerados essenciais para a saúde, entre estes o fósforo. Os demais elementos são sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloro, e os elementos traços ferro, iodo, cobre, manganês, zinco, cobalto, selênio e crômio.

É fundamental para esses estudos conhecer a concentração dos elementos presentes nos alimentos, uma vez que são ingeridos pelos animais e pelo homem, a partir dos alimentos que constituem sua dieta alimentar. Existe um interesse muito grande na determinação da concentração de elementos traços essenciais e não-essenciais presentes no leite, devido ao papel fundamental que este desempenha na nutrição humana.

A importância nutricional do leite deve-se a sua contribuição na quantidade total ingerida diariamente de elementos traços essenciais e não-essenciais.

Além disto, o leite é uma das principais fontes de fósforo ao lado de alimentos ricos em proteínas, tais como carnes, aves, peixes e ovos.

O fósforo também está presente na formação do osso humano e animal. O estudo dos processos biológicos, especificamente no gado, mostrou que muitas funções dependem da presença de determinados elementos minerais, como o fósforo.

No caso do gado, além da formação óssea, o fósforo é essencial para o funcionamento adequado dos microorganismos dos ruminantes, especialmente aqueles que digerem a celulose das plantas, e promovem o metabolismo das proteínas e outros sistemas enzimáticos.

A deficiência mineral mais comum no gado é a falta de fósforo, que ocasiona problemas relacionados com o crescimento e a reprodução.

Casos de deficiência de fósforo em animais herbívoros não estão limitados à alimentação do pasto. A deficiência pode ocorrer devido à uma grande quantidade de alimento proveniente de uma área com baixos teores em fósforo no solo, ou de uma nutrição sem um suplemento suficiente de alimentos ricos em fósforo. Em vacas leiteiras, a deficiência em fósforo causa falta e deprimimento do apetite, fraqueza muscular, perda de peso e osteomalácia.

Os trabalhos acerca da determinação do fósforo em diferentes matrizes empregam vários métodos para a análise deste elemento, tais como gravimétrico, colorimétrico,

volumétrico, espectrofotométrico, radioreagente e análise por ativação.

O método a ser empregado para a determinação do fósforo deve ser concernente com o tipo de matriz a ser analisado, o teor de fósforo na matriz de interesse e o tempo requerido para a análise.

O método gravimétrico<sup>(3-4)</sup> é um dos mais empregados, pois a maioria dos procedimentos analíticos para a determinação de fósforo baseia-se na precipitação do fósforo como fosfomolibdato de amônio. Através desta precipitação, pode-se obter uma separação do fósforo dos demais elementos da matriz.

Quando uma solução de molibdato de amônio em meio nítrico é adicionada à solução contendo fósforo, há formação do precipitado de fosfomolibdato de amônio, que tem a composição  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot \text{MoO}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .

Após a secagem do precipitado na estufa, a composição do resíduo corresponde à fórmula  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{MoO}_3$ . A determinação do fósforo como fosfomolibdato de amônio é usualmente considerada uma separação preliminar, quando se emprega o método gravimétrico.

Isto ocorre porque o composto fosfomolibdato de amônio é altamente higroscópico e não apresenta uma composição estequiométrica definida. Normalmente, após a formação do

composto fosfomolibdato de amônio, este é dissolvido e o fósforo é reprecipitado como fosfato de amônio magnésio ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) usando como reagente mistura magnesiana. O fosfato de amônio magnésio é então convertido a pirofosfato de magnésio ( $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) à  $1.100^\circ\text{C}$ , e a pesagem do fósforo é feita nesta forma.

Enfatiza-se que, para a determinação do fósforo como fosfato de amônio magnésio, é necessário que se faça uma separação preliminar do fósforo como fosfomolibdato de amônio, pois existem muitos elementos interferentes nesta precipitação, devido ao alto pH que possibilita que o produto de solubilidade de outros fosfatos e hidróxidos seja excedido.

Outro método empregado para a determinação do fósforo é o colorimétrico<sup>(5-9)</sup>, principalmente quando se pretende eliminar dificuldades, como a pesagem final do precipitado, em que muitos compostos de fósforo têm uma estequiometria incerta.

Antes de iniciar o método colorimétrico propriamente dito, deve-se fazer a separação do fósforo de alguns elementos interferentes, como arsênio, silício e germânio, os quais também formam complexos heteropoliácidos. A remoção do cobre, níquel e crômio algumas vezes é necessária, quando comparações de coloração visual estão sendo feitas, pois estes íons mudam a coloração da solução.

Boltz<sup>(10)</sup> propõe seis métodos de determinação

colorimétrica de fósforo na forma de ortofosfato e a aplicação destes métodos para a determinação de pequenas quantidades de fósforo em materiais específicos. De maneira geral, o alcance ótimo de concentração encontrado para o fósforo aplicando este método é de 0,1 - 1,2 ppm, enquanto o método de determinação colorimétrica empregando o fosfovanadomolibdato de amônio tem um alcance de concentração de 5-40 ppm.

A análise volumétrica<sup>(11-13)</sup> baseia-se na determinação do volume de uma solução padrão, cuja concentração é exatamente conhecida, e reage quantitativamente com a solução do elemento a ser determinado.

Na volumetria, a solução padrão é adicionada até que esteja equivalente à quantidade de substância a ser determinada. Esta equivalência deve ser identificada, em geral, por alguma mudança, produzida pela própria solução padrão ou mais usualmente pela adição de um reagente auxiliar conhecido como indicador.

O método volumétrico tem suas limitações como, por exemplo, a reação entre a substância a ser determinada e o reagente padrão deve ocorrer com grande rapidez. O elemento a ser determinado deve reagir estequiometricamente com o reagente e não devem ocorrer reações paralelas. Outras substâncias presentes na solução não podem interferir com a reação principal, e o indicador usado para definir o ponto final deve ser adequado. Os métodos volumétricos normalmente apresentam

alta precisão na faixa de partes por milhão (ppm).

O método radiorreagente<sup>(14-16)</sup> é também usado para a análise de fósforo, e a atividade de uma substância presente é determinada através da medida da atividade.

O elemento a ser determinado deve reagir quantitativamente com o excesso do reagente, formando composto de fácil separação. Se isto não ocorrer, então uma curva de calibração deve ser usada, a qual é preparada com um grupo de padrões. No caso mais simples, a massa é calculada diretamente a partir de sua atividade, fazendo a comparação com uma substância padrão de massa e atividade conhecidas.

Este método apresenta a desvantagem de depender da estabilidade da solução do radiorreagente. Se for necessário realizar uma separação preliminar do elemento a ser determinado na amostra, esta deve ser feita quantitativamente. Qualquer perda que ocorra do elemento a ser determinado durante a análise influencia o resultado da determinação.

Há autores que associam o método radiorreagente com a subestequiometria, na qual a substância é determinada usando-se uma quantidade subestequiométrica do reagente.

A espectrofotometria<sup>(17-20)</sup> pode ser definida como uma análise química, baseada na medida da quantidade de luz absorvida por uma solução colorida.

Quando se faz uma análise espectrofotométrica, não há necessidade de comparar a solução em análise com soluções de concentrações conhecidas. Este método apresenta a vantagem de poder ser aplicado na análise de uma mistura de dois componentes coloridos, havendo absorção máxima em diferentes comprimentos de onda. O procedimento experimental também é bastante simples, sendo reduzido em muitos casos apenas à dissolução, sem qualquer tipo de separação.

Os elementos podem ser determinados na faixa de concentração em partes por milhão (ppm) e partes por bilhão (ppb), sendo obtidos resultados com boa exatidão e precisão.

As desvantagens apresentadas por este método são que, na dissolução das amostras, certos solventes podem aumentar as concentrações dos átomos em uma absorbância média, podendo ocorrer uma absorção na própria chama, devido a um processo de combustão do solvente. Além disto, se houver necessidade de determinar vários elementos, repetidas leituras podem consumir a amostra disponível antes da análise estar completa. Fazer a diluição para aumentar o volume pode não ser possível, se um dos componentes presentes na amostra estiver em concentração muito baixa.

A análise por ativação com nêutrons térmicos é um método eficiente para a determinação de fósforo, o qual tem sido empregado nas análises de fósforo em amostras biológicas,

geológicas, semicondutores de alta pureza e diversos outros materiais<sup>(21-33)</sup>.

Este método apresenta uma sensibilidade , em que a maioria dos elementos do sistema periódico pode ser determinada na faixa de ppm ou ppb, empregando uma ativação com nêutrons térmicos, a um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

A análise por ativação apresenta uma vantagem em relação aos demais métodos, a de não sofrer, em geral, interferências ocasionadas pela contaminação introduzida pelos reagentes, que podem conter os próprios elementos a serem analisados. Na amostra irradiada, os átomos ativos podem ser sempre diferenciados dos não-ativados, o que torna desnecessária a realização da prova em branco para os reagentes.

Na análise por ativação, a amostra é exposta a um fluxo de partículas por um período de tempo  $t$ , e a maioria dos elementos presentes na amostra torna-se radioativo.

Este método em geral emprega como instrumento um reator nuclear, no qual ocorrem reações com partículas, tais como partículas alfa nêutrons e prótons.

O espectro de nêutrons do reator pode ser dividido em várias regiões, a saber : região 1 em que os nêutrons têm uma energia média de 0,025 eV e são chamados de térmicos; região 2 abrange os nêutrons epitérmicos, com energias de 0,1 a 1000 eV,

e região 3 compreende nêutrons com energias superiores a 1 keV. A partir de 10 keV de energia, os nêutrons são considerados rápidos.

O reator do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) é termalizado e o seu espectro de nêutrons é predominantemente formado por nêutrons térmicos, que possibilitam as reações  $(n, \gamma)$ . As outras reações nucleares tipo  $(n, \alpha)$  e  $(n, p)$  geralmente apresentam baixa secção de choque para nêutrons térmicos e para ocorrerem necessitam de nêutrons com maior energia.

No caso da ativação do fósforo com nêutrons, ocorre a reação  $^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$ .

O fósforo-31 (fósforo estável) apresenta uma abundância isotópica de 100% e produz o radioisótopo fósforo-32, que tem parâmetros nucleares (secção de choque 0,18 b e meia-vida de 14,3 dias) favoráveis a sua ativação em um reator nuclear.

Os elementos interferentes na análise são os que poderiam se ativar, originando também o fósforo-32.

O radioisótopo fósforo-32 também pode ser formado a partir do enxofre e cloro, pelas reações indicadas na Tabela 1.1. Porém, as reações  $(n, p)$  e  $(n, \alpha)$  mostram baixa secção de choque para nêutrons térmicos respectivamente 0,069b e 0,0088b, dependendo dos teores de enxofre e cloro na matriz, estes

elementos não ocasionam interferência para o fósforo.

Outro interferente para o fósforo é o silício, por meio da reação  $^{30}\text{Si} (n, \gamma) ^{31}\text{Si} \xrightarrow{\beta} ^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$ . A abundância isotópica do silício-30 é de somente 3,05% e, dependendo do teor de silício na amostra, este não produz interferência para o fósforo.

TABELA 1.1 - Reações nucleares relacionadas à determinação do fósforo.

Reações	Secção de Choque (barn)	Abundância isotópica (%)	T <sub>1/2</sub> (dias)	Energia Máxima (keV)
$^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$	0,180	100	14,3	1710
$^{32}\text{S} (n, p) ^{32}\text{P}$	0,069	95	14,3	1710
$^{35}\text{Cl} (n, \alpha) ^{32}\text{P}$	0,0088	75	14,3	1710
$^{30}\text{Si} (n, \gamma) ^{31}\text{Si} \xrightarrow{\beta} ^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$	0,105	3,05	14,3	1710

O radioisótopo fósforo-32 é um emissor beta e pode ser detetado com o emprego do detetor Geiger-Müller. Porém, este detetor não discrimina energia e apresenta um espectro contínuo. Ao se ativar a amostra, além da formação do fósforo-32, podem ser ativados outros elementos presentes na

amostra, que serão detectados simultaneamente com o fósforo pelo contador, tornando-se interferentes na análise.

Outra possibilidade para a detecção da radiação beta do fósforo seria empregar o detetor NaI(Tl), uma vez que o fósforo-32 apresenta o fenômeno de "bremsstrahlung", no qual a radiação beta interage com o cristal do detetor, ocorrendo a emissão de um raio X, detectado pelo detetor. Também, neste caso, a presença de outros radionuclídeos emissores beta na amostra poderá interferir na análise do fósforo.

Alguns dos radionuclídeos que podem interferir na medida da atividade do fósforo-32 são mostrados na Tabela 1.2.

TABELA 1.2 - Radioisótopos interferentes na determinação do fósforo<sup>(30)</sup>.

Isótopo	Abundância (%)	Secção de Choque (barns)	T <sub>1/2</sub>	Energia Beta Máxima (Mev)
P-32	100	0,19	14,3d	1,71
S-35	4,22	0,26	86,7d	0,168
Ca-45	2,06	1,10	165d	0,250
Ca-47	0,003	0,25	4,5d	1,86
Na-24	100	0,53	15h	5,52
K-42	6,88	1,30	12,4h	3,53
Rb-86	72,15	0,91	18,7d	1,77

Uma análise dos radioisótopos presentes na Tabela 1.2

mostra que os interferentes podem ser eliminados pela escolha adequada do tempo de resfriamento ou usando-se absorvedores de alumínio. Um absorvedor de alumínio de pequena espessura é suficiente para eliminar a radiação beta do enxofre-35 e do cálcio-45. O cálcio-47 também não causa qualquer interferência, pois possui uma baixa abundância isotópica. O sódio-24 e o potássio-42 emitem radiação beta, mas têm meia-vida curta e, após um tempo de resfriamento de cerca de uma semana, suas atividades terão decaído. O rubídio é o interferente mais importante devido as suas características nucleares, a saber : abundância isotópica, secção de choque e meia-vida.

Outra possibilidade para a análise do fósforo seria o emprego de nêutrons rápidos, via a formação do alumínio-28, por meio da reação  $^{31}\text{P} (n, \alpha) ^{28}\text{Al}$ , sendo o alumínio-28 um emissor de raios gama com meia-vida de 2,3 minutos.

Esta análise está sujeita a muitas restrições por ser muito curta a meia vida do alumínio-28; após a ativação, a amostra deve ser imediatamente manuseada para ser contada, o que limita a quantidade da amostra a ser irradiada e o tempo de irradiação que pode ser empregado.

Deve-se também levar em conta o teor de alumínio presente na amostra. O alumínio, por meio da reação  $^{27}\text{Al} (n, \gamma) ^{28}\text{Al}$ , produz o alumínio-28 e torna-se um interferente do fósforo. Segundo Alfassi e Lavi<sup>(34)</sup>, a análise do fósforo via alumínio-28 só é viável quando a relação P/Al é maior que 10:1.

Assim, quando se têm baixos teores de fósforo na amostra, a melhor opção é a análise do fósforo via fósforo-32.

Em geral, nos materiais biológicos, a concentração do fósforo é muito elevada. Na irradiação da matriz biológica com nêutrons térmicos forma-se o radioisótopo fósforo-32, o qual produz uma indesejável interferência causada pela interação da sua radiação beta com o cristal do detetor, com a emissão de raios X, dificultando a determinação de certos elementos, como cobre, arsênio, cloro, molibdênio, bromo e sódio. Portanto, para a análise de determinados elementos traços em materiais biológicos, é conveniente que se faça a separação prévia do fósforo. Neste caso, métodos de separação radioquímica do fósforo devem ser previamente empregados, para a seguir se proceder à análise do elemento de interesse.

Outro fato que ressalta a importância do estabelecimento de métodos radioquímicos, para a separação do fósforo dos demais constituintes da matriz, é que na ativação da amostra se forma o fósforo-32 emissor beta, e outros elementos presentes na amostra também se ativam e são emissores beta e gama e interferem na determinação do fósforo. Como o espectro beta é contínuo, não se consegue discriminar qual radioisótopo está se medindo; portanto, de modo geral será conveniente a prévia separação do fósforo da matriz irradiada, antes de efetuar a contagem deste radioisótopo.

Vários autores<sup>(34-46)</sup> têm empregado a análise por ativação com nêutrons térmicos, seguida de uma separação radioquímica para a análise de fósforo em diferentes matrizes, tais como rochas<sup>(39)</sup>, aço<sup>(40)</sup> e amostras biológicas<sup>(41-42)</sup>.

Corte e Hoste<sup>(43)</sup> determinaram fósforo em silício de alta pureza. As amostras e padrões foram irradiados simultaneamente no reator sob um fluxo de nêutrons térmicos de  $4.10^{11}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> durante 3 ou 11 dias, ou sob um fluxo de  $10^{14}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> durante 15 horas.

Após a irradiação, as amostras de silício foram dissolvidas na presença de uma quantidade conhecida de padrão de fósforo, com uma mistura de ácido fluorídrico e nítrico sob aquecimento. Após a evaporação do ácido fluorídrico, o resíduo esteve em aquecimento até a secura. O resíduo foi recuperado com água e nitrato de amônio. O fósforo-32 foi separado da matriz como fosfomolibdato de amônio. Em seguida, o precipitado de fosfomolibdato de amônio foi seco e montado em prancheta de contagem e selado com folha de mylar. A atividade beta do fósforo foi medida por um detetor Geiger-Müller. A pureza radioquímica foi verificada através da contagem das amostras por espectrometria gama e pela determinação da meia-vida do fósforo. A concentração de fósforo encontrada pelos autores está na faixa de ppb, com valores que variaram de  $3,75.10^3$  a 477 ppb.

Bowen e Cawse<sup>(44)</sup> determinaram sódio, potássio e fósforo

em amostras biológicas. As amostras e padrões foram irradiados no reator sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$  durante 15 horas. Após a irradiação, a amostra foi dissolvida com uma mistura de ácido nítrico e ácido sulfúrico em banho de areia a uma temperatura de 180 a  $200^{\circ}\text{C}$ ; separou-se o fósforo dos metais alcalinos baseando-se na solubilidade do ácido ortofosfórico em dietiléter. Em seguida, fez-se a precipitação do fósforo como fosfato de amônio magnésio, e a atividade do fósforo foi medida no detetor Geiger-Müller. O teor de fósforo obtido foi de 2,14 a 10,7  $\mu\text{g}$ , dependendo da quantidade de fósforo presente na amostra. Estes resultados foram comparados aos encontrados para o fósforo, quando este foi determinado empregando-se o método colorimétrico. Os resultados obtidos pelo método colorimétrico variaram de 2,06 a 10,1  $\mu\text{g}$ , concordantes com os encontrados no método de análise por ativação.

Souliuotis<sup>(45)</sup> determinou enxofre e fósforo em cerveja e papel de alta pureza, empregando o método de análise por ativação com separação radioquímica. As amostras e padrões foram irradiados simultaneamente no reator por 4 horas sob um fluxo de  $10^{10} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Após a irradiação, a amostra foi tratada na presença de ácido nítrico concentrado, até se tornar clara. A seguir, a solução foi transferida para um banho de areia e levada à secura. A separação do fósforo foi feita com uma extração sólido-líquido, cujo resíduo seco foi extraído com uma porção de éter seco contendo ácido sulfúrico concentrado. O éter foi separado por decantação em um béquer ou com uma

pipeta. Após a evaporação do éter, ajustou-se o pH da solução com hidróxido de amônio em 9 N, e aqueceu-se a solução a 80°C, adicionando-se citrato de amônio. A precipitação foi conduzida com a adição de cloreto de magnésio. A seguir, fez-se a filtração do precipitado, que foi seco e contado no detetor Geiger-Müller, conectado em um sistema de anticoincidência. Verificou-se a pureza radioquímica do precipitado de fosfato de amônio magnésio contendo fósforo-32, através da determinação de sua meia-vida e do uso de absorvedores de alumínio. Também foi empregada a espectrometria gama para verificar se algum radioisótopo emissor gama estava presente no precipitado. Para isto procedeu-se à contagem do precipitado de fosfato de amônio magnésio, em um detetor de cintilação, e o espectro de energia indicou ausência de radionuclídeos emissores gama. Os resultados foram reproduzíveis dentro de um erro relativo menor do que 5%, e a sensibilidade alcançou o valor de  $10^{-3}$  ppm para fósforo e enxofre.

Bouten e Hoste<sup>(46)</sup> determinaram enxofre e fósforo em aço. As amostras e padrões de referência foram colocados em papel de alumínio e irradiados simultaneamente, de 6 a 48 horas sob um fluxo de nêutrons de  $8 \cdot 10^{11}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Após a irradiação, as amostras foram dissolvidas com ácido nítrico na presença do carregador de fósforo e levadas à secura. O resíduo foi redissolvido e o fósforo precipitado como fosfomolibdato de amônio e contado no detetor Geiger-Müller. As amostras foram irradiadas com e sem envoltório de cádmio, o qual absorve os nêutrons de baixa energia e só os nêutrons não-termalizados vão

contribuir para a ativação da amostra. Neste caso, determina-se o enxofre pela reação  $^{32}\text{S} (n, p) ^{32}\text{P}$  (reação 1). Na irradiação sem cádmio, ocorrem as reações  $^{31}\text{P}(n, \gamma) ^{32}\text{P}$  (reação 2) e  $^{32}\text{S} (n, p) ^{32}\text{P}$  (reação 1), e a contagem obtida refere-se à contagem total de fósforo-32. Para saber quanto de fósforo-32 é formado a partir do fósforo-31 (reação 2), deve-se subtrair do valor da contagem total de fósforo o valor da contagem obtida na reação 1. Os procedimentos de análise foram testados em materiais de aço certificado de National Bureau of Standards (NBS) e, na maioria dos casos, os resultados estão dentro dos limites aceitáveis.

Os métodos radioquímicos, embora possibilitem bons resultados, são laboriosos e requerem pessoal treinado em métodos químicos, dissolução de amostras e conhecimento profundo sobre a química dos elementos em estudo.

Atualmente, grande ênfase é dada ao método instrumental de análise. No caso do fósforo, este também pode ser uma boa alternativa de análise.

O método envolve a irradiação simultânea de amostras e padrões, a espera de um determinado tempo de resfriamento e a medida da radiação emitida pelo fósforo-32. Os elementos interferentes podem ser eliminados pelo emprego de absorvedores de alumínio ou tempos de resfriamento adequados.

Weginwar e colaboradores<sup>(47)</sup> determinaram fósforo em

vários padrões da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) e National Bureau of Standards (NBS) e em amostras biológicas, tais como sangue, folhas de plantas, leite, tecidos cancerosos e dietas. As amostras e os padrões da AIEA e NBS foram pesados em papel de alumínio (envelopes de 15mm x 5mm) de alta pureza e irradiados no reator durante 2 a 10 horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos da ordem de  $10^{11}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Após um tempo de resfriamento de 3 a 4 semanas, quando a maioria da atividade dos radionuclídeos interferentes decaiu, a atividade do fósforo-32 foi medida no contador proporcional com fluxo de gás. As amostras acondicionadas no alumínio foram colocadas diretamente em recipientes de alumínio, próprias para a contagem beta. A precisão e a exatidão do método foram checadas aplicando-se o método em materiais de referência de espinafre SRM 1570 (NBS) e dieta humana H-9. O valor médio obtido para H-9 está em excelente acordo com o valor da literatura, mas para o material certificado SRM 1570, está 10% mais baixo. Os desvios-padrão foram de 6,16 e 5,34% respectivamente.

Bajo e Wyttenbach<sup>(48)</sup> estudaram a determinação de fósforo em materiais biológicos empregando a análise por ativação com nêutrons instrumental, através da reação  $^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$ . As amostras e padrões de fósforo foram colocados em recipientes de polietileno e irradiados simultaneamente no reator durante 0,4-1,5 horas a um fluxo de  $3,3 \cdot 10^{13}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. As contagens das amostras e padrões foram feitas pela medida do bremsstrahlung do fósforo-32, produzido em um detetor NaI (Tl), tipo poço. Os autores também estudaram as fontes de erro

associadas a esta análise, que é a produção de fósforo-32 a partir de enxofre-32 e cloro-35 por meio das reações  $(n, p)$  e  $(n, \alpha)$  respectivamente. Esta interferência foi estudada, irradiando-se quantidades conhecidas de hidrogênio fosfato de diamônio, cloreto de potássio e sulfato de potássio. A seguir, os sais irradiados foram contados no detetor de NaI (Tl) nas mesmas condições usadas para a análise de fósforo. Os autores concluíram que estes elementos interferiam diretamente na determinação do fósforo. Entretanto, a contribuição destes elementos pode ser eliminada, subtraindo-se a atividade produzida pelo enxofre e cloro, se a concentração destes é conhecida. Após tal estudo, o método foi aplicado em 10 materiais de referência; a precisão foi verificada, analisando-se muitas amostras em duplicatas, encontrando-se teor de fósforo na faixa de 800 a 1400 ppm.

Damsgaard e Heydorn<sup>(49)</sup> analisaram fósforo em um material certificado (leite em pó RM 63 - Natural Skim Milk Power). Estudaram-se as possíveis fontes de erro na análise, como também se fez uma comparação dos teores de fósforo obtidos para este material ao se empregar outros métodos de análise, tais como gravimétrico, titulométrico e espectrofotométrico. As amostras de leite (0,5 g) e os padrões de fósforo (ácido fosfórico) foram pesados em recipientes adequados e irradiados durante 1 hora, no reator dinamarquês que opera a 10 MW. Após a irradiação, as amostras foram dissolvidas com água. Pipetou-se uma alíquota de cada amostra em recipientes e evaporou-se até a secura com o auxílio de uma lâmpada de infravermelho. Fez-se o

mesmo procedimento para os padrões. Após um decaimento de 4 semanas, contaram-se as amostras e os padrões em um detetor Geiger-Müller. Os interferentes foram eliminados, fazendo-se a contagem das amostras com um absorvedor de alumínio de 0 a 400 mg/cm<sup>-2</sup>. A pureza do fósforo-32 foi verificada, determinando-se a meia-vida do fósforo. A seguir, aplicou-se este método em amostras de leite referência RM 63 Natural Skim Milk Power, e obteve-se valor médio de 0,98% com desvio padrão de 0,15. Segundo os autores, comparando-se os resultados deste método de análise com os resultados obtidos por outros métodos, verificou-se boa concordância com os resultados encontrados na espectrofotometria, enquanto na gravimetria e titulometria foram obtidos valores mais altos.

No presente estudo, para a análise do fósforo, optou-se pelo método de análise por ativação com nêutrons térmicos, pois este trabalho foi desenvolvido na Supervisão de Radioquímica do IPEN, que tem como infra-estrutura equipamentos e dispositivos necessários à ativação das amostras, tais como laboratórios de radioquímica, equipamentos de contagem e acesso aos dispositivos de irradiação no reator nuclear.

Neste trabalho, determinou-se o teor de fósforo em amostras de leite em pó, considerado um dos alimentos mais importantes para a dieta alimentar humana, e em amostras de osso, em que o fósforo é responsável pela sua formação. O método empregado foi o da análise por ativação com nêutrons térmicos, via a reação  $^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$ .

O método, com separação radioquímica, consistiu na irradiação simultânea de amostras e padrões no reator nuclear do IPEN, durante 30 minutos, sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, a seguir, o fósforo foi separado dos demais constituintes da matriz por meio da precipitação com molibdato de amônio. Os elementos interferentes que coprecipitam junto com o fósforo foram eliminados com o emprego de carregador de retenção. Em relação à contagem beta do fósforo-32, optou-se pelo emprego do detetor Geiger-Müller.

A análise instrumental envolveu a irradiação de amostras e padrões, durante 30 minutos sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, transferência da amostra para recipientes de contagem e medida da radiação beta emitida pelo fósforo-32. Os elementos interferentes foram eliminados empregando-se um tempo de resfriamento adequado.

Procurou-se otimizar os parâmetros experimentais envolvidos em cada método, com o objetivo de obter um bom rendimento de recuperação para o fósforo, com a ausência de contaminação de elementos interferentes. A pureza radioquímica do fósforo foi verificada por espectrometria gama e determinação da meia-vida do fósforo-32.

Após o estabelecimento dos procedimentos de análise, estes foram aplicados em amostras de leite comercial, usando como material de referência o padrão de leite da AIEA, Power Milk

A-11.

Para a análise do fósforo em amostras de osso, usaram-se amostras de osso animal, códigos 104, 506 e 702, fornecidas pelo Centro de Energia Nuclear da Agricultura Aplicado a Agricultura (CENA), e como material de referência, o padrão de osso certificado da AIEA, Calcined Bovine A-3/1. Fizeram-se comparações entre os resultados obtidos pelos métodos com e sem separação radioquímica e uma avaliação da precisão e exatidão destes métodos.

Este estudo traz uma importante contribuição para o desenvolvimento do método de análise que emprega a análise por ativação como instrumento de trabalho, porque possibilita a análise do fósforo em qualquer matriz, independentemente do teor de fósforo.

O capítulo 2 apresenta algumas considerações teóricas, sobre o método de análise por ativação, sobre o sistema de detecção empregado e também algumas expressões matemáticas.

No capítulo 3, Parte Experimental, descrevem-se os reagentes, equipamentos, as técnicas gerais empregadas na execução do trabalho como os procedimentos de análise para o fósforo nas amostras de leite e osso, o estudo dos fatores que influenciam a precipitação do fósforo como fosfomolibdato de amônio, e a verificação das reações nucleares que podem ser interferentes na análise do fósforo.

No capítulo 4, Resultados e Discussão, apresentam-se tabelas com os resultados obtidos nas determinações realizadas pelo método com e sem separação radioquímica e comentários acerca dos resultados.

No capítulo 5, faz-se uma consideração dos métodos aplicados, ressaltando-se a sua importância.

## CAPÍTULO 2

### CONSIDERAÇÕES GERAIS

Neste capítulo, fazem-se algumas considerações sobre o método de análise empregado para a determinação de fósforo e sobre o sistema de contagem utilizado. Ressaltam-se também alguns parâmetros e noções de estatística fundamentais para a execução deste trabalho.

#### 2.1 - MÉTODO DA ANÁLISE POR ATIVAÇÃO

A análise por ativação consiste na irradiação de amostras, geralmente com partículas produzidas em um reator nuclear.

A análise por ativação pode ser absoluta ou comparativa.

A análise por ativação absoluta apresenta a seguinte equação geral:

$$A = 1,63 \cdot 10^{-8} \cdot \frac{m \cdot \phi \cdot \sigma \cdot f}{M} \cdot (1 - e^{-0,693 \cdot t_i / t_{1/2}}) \cdot (e^{-0,693 \cdot t_r / t_{1/2}}) \quad (2.1)$$

onde:

- (1) A = Atividade em milicurie;
- (2)  $1,63 \cdot 10^{-8}$  = Fator de conversão das unidades;
- (3) m = Massa do elemento irradiado em gramas;
- (4)  $\phi$  = Fluxo de nêutrons em  $n \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ;
- (5)  $\sigma$  = Secção de Choque da ativação em barns;
- (6) f = Abundância Isotópica;
- (7) M = Massa Atômica do elemento;
- (8)  $t_{1/2}$  = Meia-vida do radionuclídeo formado;
- (9)  $t_i$  = Tempo de irradiação;
- (10)  $t_r$  = Tempo de resfriamento.

Ao empregar a equação (2.1) é necessário o conhecimento de valores tabelados, tais como a meia-vida do radionuclídeo formado, secção de choque, abundância isotópica e massa atômica. Além desses valores, deve-se também conhecer outros valores a serem conhecidos no momento da irradiação, como o fluxo de nêutrons, tempo de irradiação e tempo de resfriamento.

Chama-se fluxo de nêutrons o número das partículas por centímetro quadrado por segundo que incidem no alvo de interesse. Este parâmetro é extremamente importante, pois na prática é difícil determiná-lo com precisão, uma vez que o fluxo de nêutrons varia com a potência do reator e a sua intensidade também diminui progressivamente à medida que se afasta o alvo do núcleo do reator.

Outro parâmetro relevante é a secção de choque, considerada uma característica inerente a uma determinada reação nuclear. Esta deve ser alta o suficiente para favorecer a reação nuclear de interesse. É um parâmetro determinado experimentalmente e depende da energia das partículas incidentes.

Há ainda na equação parâmetros como tempo de irradiação, o qual deve ser conhecido com exatidão, pois é o tempo no qual o átomo alvo é ativado a um determinado fluxo de nêutrons. Outro parâmetro é o tempo de resfriamento, em que se espera o decaimento das radiações emitidas por radionuclídeos considerados interferentes na análise.

Teoricamente todos os parâmetros da equação geral da análise por ativação podem ser medidos e calculados. Devido a dificuldades experimentais, seria difícil obter estes parâmetros com boa exatidão para análises rotineiras.

Por isto, os pesquisadores geralmente optam pela análise por ativação comparativa; pois, irradiando-se a amostra e o padrão simultaneamente, todos os parâmetros da equação geral da análise por ativação (equação 2.1), como fluxo de nêutrons, secção de choque, abundância isotópica, meia-vida, tempo de irradiação e tempo de resfriamento, tornam-se iguais para a amostra e o padrão. Então, a partir da razão das atividades induzidas na amostra desconhecida ( $A_a$ ) e no padrão ( $A_p$ ), e conhecendo-se a massa do elemento de interesse no padrão, a

massa do elemento de interesse na amostra pode ser calculado pela equação 2.2:

$$\frac{A_a}{A_p} = \frac{m_a}{m_p} \quad (2.2)$$

onde  $A_a$  e  $A_p$  são as atividades induzidas do elemento na amostra e no padrão, e  $m_a$  e  $m_p$ , as massas do elemento na amostra e no padrão, respectivamente.

Neste trabalho, a massa de fósforo presente nas amostras analisadas foi obtida empregando-se a análise por ativação comparativa, irradiando-se simultaneamente a amostra com padrões, e procedendo-se ao cálculo da massa do fósforo, como indicado na equação (2.2).

## 2.2 - DECAIMENTO RADIOATIVO

A atividade dos elementos radioativos decai com o tempo, de acordo com a equação 2.3:

$$A = A_0 \cdot e^{-\lambda t} \quad (2.3)$$

onde:

(1) A = Atividade final;

- (2)  $A_0$  = Atividade inicial;
- (3)  $\lambda$  = Constante de desintegração radioativa, sendo  
 $\lambda = 0,693/t_{1/2}$ ;
- (4)  $t_{1/2}$  = meia-vida do radionuclídeo formado;
- (5)  $t_r$  = Tempo de resfriamento.

Após as contagens das amostras e padrões, faz-se uma correção da atividade de fósforo presente na amostra, de acordo com a equação (2.3).

### 2.3 - DETETOR GEIGER-MÜLLER

O detetor Geiger-Müller, ao lado da câmara de ionização e dos contadores proporcionais, pertence a um tipo de detetor no qual ocorre a ionização de um gás. Constitui-se de uma câmara cheia de gás, com um eletrodo central. Ao eletrodo central é aplicado uma voltagem, de modo que se crie um campo eletrostático capaz de acelerar os íons produzidos no gás, por efeito das radiações ionizantes, íons que são coletados pelo eletrodo em forma de um pulso elétrico.

Normalmente, o tubo Geiger-Müller é usado para a medida da radiação beta, pois apresenta grande sensibilidade para esta radiação; enquanto que, para a radiação gama, este detetor mostra baixa eficiência de contagem.

O detetor Geiger-Müller, o mais simples dos detetores, apresenta numerosas vantagens, tais como:

- a) alta sensibilidade para radiações beta;
- b) ampla variedade de tamanhos e formas, que permite adaptar-se as múltiplas aplicações;
- c) um elevado tamanho de pulso produzido no eletrodo central, que permite que a eletrônica associada seja bastante simples;
- d) baixo custo, tanto do detetor como dos equipamentos eletrônicos necessários para o sistema de medida;
- e) grande simplicidade de operação e poucos ajustes necessários para a medida.

Quando emprega-se o detetor Geiger-Müller em uma análise, deve-se fazer as devidas correções em relação ao tempo morto.

Tempo morto é o tempo de recuperação entre dois pulsos diferentes. Este fator é uma das mais importantes causas de erro do detetor Geiger-Müller, e a sua magnitude varia com os diferentes tipos, tamanhos e formas do detetor.

Portanto, este fator deve ser determinado experimentalmente para cada detetor Geiger-Müller.

Para o estudo do fator de correção do tempo morto no Geiger-Müller, utilizou-se uma prancheta dividida em quatro partes móveis e, em cada uma destas partes, pipetou-se uma

alíquota da solução radioativa de Európio- 152, obtendo-se as fontes denominadas  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  e  $n_4$ .

Fizeram-se contagens destas fontes ( $n_1$ ,  $n_2$ ,  $n_3$  e  $n_4$ ), com suas diversas combinações, para obter várias taxas de contagem.

O tempo morto foi determinado pela equação 2.4:

$$t = \frac{2 (n_1 + n_2 - n_{12})}{(n_1 + n_2) \cdot n_{12}} \quad (2.4)$$

onde:

- (1)  $t$  = Tempo morto;
- (2)  $n_1$  = Contagem fonte 1;
- (3)  $n_2$  = Contagem fonte 2;
- (4)  $n_{12}$  = Contagem fonte 1 e 2 simultaneamente.

Com os valores de contagem obtidos, calculou-se o valor do tempo morto pela equação 2.4. Para fazer a correção das contagens, devido ao fator tempo morto, deve-se empregar a seguinte equação:

$$n' = \frac{n}{1 - nt} \quad (2.5)$$

onde:

- (1)  $n'$  = Número de contagens já corrigidas;
- (2)  $n$  = Número de contagens registradas no contador;
- (3)  $t$  = Tempo morto.

#### 2.4 - DETERMINAÇÃO DA MEIA-VIDA DE UM RADIOISÓTOPO

A ativação de um elemento estável por nêutrons produzidos em um reator origina um radioisótopo, que pode ser identificado pelo tipo de emissão (alfa, beta e gama), energia da partícula ou do raio gama emitido e pela meia-vida do radioisótopo. O conjunto destas três propriedades possibilita a análise qualitativa do radioisótopo. Para certificar que o radionuclídeo de interesse está isento de outros radioisótopos interferentes, há necessidade de determinar a meia-vida do radionuclídeo.

Para tanto, procede-se à contagem da amostra durante vários dias de resfriamento.

Após serem feitas as contagens e as devidas correções para tempo morto, constrói-se um gráfico atividade em função do tempo de decaimento, em papel semilog. A reta é ajustada pelo método dos mínimos quadrados, e a meia-vida é obtida pela inclinação da reta, sendo o valor experimental comparado ao

valor teórico.

## 2.5 - RETA DE CALIBRAÇÃO

Para a análise instrumental do fósforo, três diferentes padrões com diferentes massas foram irradiados simultaneamente com a amostra em análise.

As contagens obtidas para cada padrão foram corrigidas para o tempo morto (equação 2.5) e tempo de decaimento (equação 2.3). A seguir, construiu-se o gráfico da contagem obtida para cada padrão em função da massa de fósforo, obtendo-se a reta de calibração, definida pela equação 2.6:

$$y = a + bx \quad (2.6)$$

onde:

y = Contagem do fósforo no padrão em cpm;

x = Massa do fósforo do padrão em mg.

Ajustou-se a reta pelo método dos mínimos quadrados, e obtiveram-se os valores das constantes a e b.

Sendo conhecidos os valores das constantes a e b, e a atividade do fósforo na amostra em análise, determina-se, por meio da equação 2.6, a massa de fósforo presente na matriz de

interesse.

## 2.6 - TESTES ESTATÍSTICOS

Para avaliar a precisão dos resultados obtidos na análise, faz-se necessário o cálculo de alguns parâmetros estatísticos, como a média e o desvio padrão<sup>(50)</sup>. As fórmulas são apresentadas a seguir:

$$\text{Valor Médio } (\bar{x}): \bar{x} = \frac{\sum_{i=0}^n x_i}{n} \quad (2.7)$$

onde:

- (1)  $\bar{x}$  = Valor Médio;
- (2)  $x_i$  = Valor obtido em cada determinação;
- (3)  $n$  = Número de determinações.

$$\text{Desvio Padrão } (S_x): S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2.8)$$

onde:

- (1)  $S_x$  = Desvio Padrão;
- (2)  $x_i$  = Valor obtido em cada determinação;
- (3)  $\bar{x}$  = Valor Médio;
- (4)  $n$  = Número de determinações.

Para verificar a hipótese de homogeneidade de uma série de resultados, aplicou-se o teste de desvio máximo ( $r_{\text{máx}}$ ) e desvio mínimo ( $r_{\text{mín}}$ ), que são respectivamente os valores máximos e mínimos de uma série de resultados, aceitos dentro de um determinado nível de significância e  $(n - 2)$  graus de liberdade.

As expressões para os cálculos são representadas a seguir:

$$r_{\text{máx}} = \frac{|x_{\text{máx}} - \bar{x}|}{S_x \sqrt{\frac{n-1}{n}}} \quad (2.9)$$

onde:

- (1)  $r_{\text{máx}}$  = Desvio Máximo;
- (2)  $x_{\text{máx}}$  = Valor Máximo de uma série de determinações;
- (3)  $\bar{x}$  = Valor Médio;
- (4)  $S_x$  = Desvio Padrão;

(5) n = Número de determinações.

$$r_{\text{mín}} = \frac{|x_{\text{mín}} - \bar{x}|}{S_x \sqrt{\frac{n-1}{n}}} \quad (2.10)$$

onde:

- (1)  $r_{\text{mín}}$  = Desvio Mínimo;
- (2)  $x_{\text{mín}}$  = Valor Mínimo de uma série de determinações;
- (3)  $\bar{x}$  = Valor Médio;
- (4)  $S_x$  = Desvio Padrão;
- (5) n = Número de determinações.

Calculados os valores de  $r_{\text{máx}}$  e  $r_{\text{mín}}$ , se esses valores forem menores que os valores tabelados para um nível de significância p e (n - 2) graus de liberdade, aceita-se o conjunto de medidas como homogêneo.

## CAPÍTULO 3

### PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo, descrevem-se os ensaios preliminares realizados com o objetivo de estabelecer um método de análise radioquímico e instrumental para o fósforo, empregando-se o método de análise por ativação. No método radioquímico, analisam-se os fatores que influenciam a precipitação do fósforo sob a forma de fosfomolibdato de amônio e descrevem-se as etapas envolvidas na análise do fósforo em amostras de leite e osso. Todas as etapas envolvidas no procedimento foram otimizadas de forma a obter um máximo de recuperação para o fósforo. No método instrumental, estudaram-se as melhores condições para a irradiação e contagem das amostras, sendo apresentados os procedimentos experimentais envolvidos nestas etapas para as amostras de leite e osso.

### 3.1 - EQUIPAMENTOS

Utilizaram-se os seguintes equipamentos para a análise:

- a) detetor Geiger-Müller e eletrônica associada;
- b) detetor de Germânio Hiperpuro de 30 cm<sup>3</sup>, Ortec, Modelo 20190-P com resolução de 2.7 Kev para o pico de 1332 do Co<sup>60</sup>, multianalisador de raios gama de 4096 canais e

eletrônica associada. O sistema de detecção permitiu a identificação de energias entre 100 keV e 2000 keV.

### 3.2 - REAGENTES

Todos os reagentes utilizados, citados a seguir, foram de grau analítico:

- a) Ácido Nítrico Concentrado;
- b) Ácido Perclórico Concentrado;
- c) Molibdato de Amônio;
- d) Fosfato Dibásico de Amônio;
- e) Cloreto de Amônio;
- f) Sulfato de Amônio.

As soluções foram preparadas com água deionizada.

### 3.3 - PADRÕES UTILIZADOS

Neste estudo, usaram-se alguns padrões de referência. Os materiais de referência foram certificados pela IAEA.

Os padrões utilizados foram Power Milk A-11 (IAEA, teor de fósforo 0,91%) e Calcined Bone A-3/1 (IAEA, teor de fósforo 15,4%).

Como padrão de fósforo, empregou-se também o sal de fosfato dibásico de amônio.

### 3.4 - AMOSTRAS ANALISADAS

As amostras de osso animal analisadas foram de três tipos: 104, 506 e 702. Estas amostras foram fornecidas pelo CENA, de Piracicaba, e consistiu em amostras de osso da perna de bezerros, que foram secas e moídas em almofariz de ágata.

No caso do leite em pó, analisou-se leite em pó comercial, adquirido em supermercado de São Paulo.

### 3.5 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PARA ANÁLISE

#### 3.5.1- TRAÇADOR DE FÓSFORO

Pesaram-se em papel alumínio 200 mg de fosfato dibásico de amônio  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  e este foi colocado em recipiente próprio para irradiação.

Este sal foi irradiado no reator do IPEN sob um fluxo de nêutrons de  $10^{13} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$  por 8 horas. O radioisótopo que se obtém desta irradiação é o fósforo-32, um emissor beta com meia-vida de 14,3 dias e energia beta de 1.710 keV. A

quantidade de traçador utilizada nos experimentos apresentou uma contagem suficiente para acompanhar o fósforo durante o estudo do método em questão.

### **3.5.2- SOLUÇÃO DE CARREGADOR DE FÓSFORO**

O fosfato dibásico de amônio foi seco a 80°C, durante à noite, pesado e dissolvido à quente em água deionizada. Em seguida, transferiu-se quantitativamente a solução para um balão volumétrico e completou-se o volume com água, de forma a obter uma solução de fósforo com concentração de 5 mg/ml.

### **3.5.3- SOLUÇÃO DE MOLIBDATO DE AMÔNIO ACIDIFICADO**

O molibdato de amônio empregado em cada experimento foi dissolvido com água deionizada e em seguida adicionou-se ácido nítrico concentrado à solução, de forma a obter 25 ml de uma solução de molibdato com concentração final em ácido de 5,7 M. A massa de molibdato de amônio empregada variou de 50 a 1000 mg, conforme o experimento.

## **3.6 - PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO FOSFOMOLIBDATO DE AMÔNIO**

**(A.M.P.)**

Iniciou-se o procedimento experimental, com testes

preliminares de precipitação do fósforo como A.M.P, com a finalidade de determinar os fatores que poderiam influenciar na precipitação do fósforo como A.M.P e verificar se o método apresentava resultados quantitativos e reprodutíveis.

Nesta etapa, estudaram-se os vários fatores que afetam a precipitação do fósforo como A.M.P., a saber: quantidade de molibdato de amônio adicionado à solução, acidez da solução, tempo de digestão, temperatura, quantidade de carregador de fósforo e a quantidade de molibdato em função do volume da solução.

Os experimentos foram feitos como a seguir descrito.

Prepararam-se 50 ml de uma solução contendo 5 mg de carregador de fósforo e traçador radioativo de fósforo (fósforo-32), sendo a acidez final em ácido nítrico 0,7 M. A seguir, adicionaram-se os 25ml da solução de molibdato de amônio, obtendo acidez final 2,4 M.

A mistura foi aquecida até a temperatura de 70°C e efetuou-se a digestão do precipitado por 30 minutos à quente, sob a temperatura mencionada. Após o término da digestão, a mistura foi esfriada e fez-se a filtração do precipitado. O precipitado foi colocado em um recipiente próprio e contado no detetor Geiger-Müller, para verificar a quantidade de fósforo retida no precipitado.

### 3.6.1 - INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE MOLIBDATO DE AMÔNIO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.

Neste estudo, utilizou-se o procedimento descrito no item 3.6 variando-se a quantidade de molibdato de amônio de 50 a 1.000 mg. Os resultados são apresentados na Tabela 3.1.

TABELA 3.1 - Influência da quantidade de molibdato de amônio na precipitação do fósforo como A.M.P

Quantidade de Molibdato de Amônio (mg)	% P no A.M.P
50	Quantidade de molibdato insuficiente para formar o precipitado
250	zero
500	24%
750	64%
1.000	64%

Nesse estudo, observou-se que havia uma massa mínima de molibdato de amônio necessária para a precipitação do fósforo.

Os resultados apresentados mostram que, à medida que se aumenta a quantidade de molibdato de amônio na solução,

aumenta-se a porcentagem de fósforo no precipitado. Em todos os experimentos a seguir, usou-se 1 g de molibdato de amônio.

### **3.6.2 - INFLUÊNCIA DA ACIDEZ DA SOLUÇÃO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.**

A precipitação do fósforo como A.M.P ocorre em um meio ácido. Efetuaram-se experimentos, variando-se a acidez final da solução de 0,14M a 2,8 M em ácido nítrico. Os resultados obtidos mostraram que, com o aumento da acidez da solução, ocorre aumento na porcentagem de fósforo precipitado como A.M.P. Para soluções com 0,14 M em ácido nítrico, a porcentagem de fósforo precipitado é de 48%, esta porcentagem aumenta para 65% para uma solução com acidez de 1,4 M e mantém-se em 78% a partir de soluções com acidez de 2,8 M. Adotou-se, então, acidez de 2,8 M em ácido nítrico.

### **3.6.3 - INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DIGESTÃO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.**

O tempo de digestão tem grande influência na formação do precipitado. A digestão permite que ocorra um rearranjo das partículas enquanto estão na solução-mãe.

Adotou-se o procedimento experimental descrito no item 3.6, variando-se o tempo de digestão em 30 minutos, 60 minutos

e 2 horas. Os resultados são mostrados na Tabela 3.2.

TABELA 3.2 - INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DIGESTÃO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.

Tempo de Digestão	% P no Precipitado
30 min	75
60 min	82
2 h	86

Verificou-se que, com uma digestão de 2 horas, obteve-se boa porcentagem de fósforo precipitado como A.M.P., sendo este o tempo de digestão a ser usado na análise do fósforo.

#### 3.6.4 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.

Neste estudo, procedeu-se da mesma forma como descrito no item 3.6, porém variando-se a temperatura de digestão do precipitado, desde a temperatura ambiente até 90°C. O melhor resultado foi obtido à temperatura de 70°C, com valores de precipitação de fósforo próximos de 95%.

### **3.6.5 - INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE CARREGADOR DE FÓSFORO NA PRECIPITAÇÃO DO FÓSFORO COMO A.M.P.**

A execução do experimento deu-se da mesma forma que as anteriores, exceto na quantidade do carregador de fósforo utilizado. Os experimentos foram efetuados com 5 e 10 mg de carregador de fósforo.

Os resultados mostraram que em ambos os casos a precipitação do fósforo foi de 95%. Porém, ao se empregar 5 mg de carregador de fósforo, obtém-se um precipitado de A.M.P. mais fino, e com características mais adequadas para se contar o fósforo com o detetor Geiger-Müller. Entretanto, ainda se estiver numa fase intermediária do processo, os 10 mg de carregador de fósforo propiciam uma quantidade maior de precipitado, e o manuseio (transferência e dissolução) deste poderia ser feito com maior segurança.

### **3.6.6 - ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE MOLIBDATO PARA DIFERENTES VOLUMES DE SOLUÇÃO.**

Ao se fazer o estudo da relação entre a quantidade de molibdato em função do volume da solução, de modo que se tenha uma precipitação de fósforo como A.M.P maior que 90%, verificou-se que, para volumes de 75 ml, deve-se adicionar 1 g de molibdato de amônio; enquanto que, para volumes de 200 ml, são necessários 3 g de molibdato de amônio. Ao se trabalhar com

volumes maiores de solução, a precipitação de fósforo como A.M.P não foi satisfatória, mesmo na presença de maiores quantidades de molibdato de amônio.

### 3.6.7 - VERIFICAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DA PRECIPITAÇÃO DE FÓSFORO COMO A.M.P.

Após o estudo da influência dos fatores mencionados, fez-se a verificação da reprodutibilidade do método.

As condições adotadas foram as seguintes:

- a) massa do carregador de fósforo: 5 mg;
- b) acidez final da solução: 2,8 M em ácido nítrico;
- c) quantidade de molibdato de amônio: 1 g;
- d) tempo de digestão: 2 horas;
- e) temperatura de digestão: 70°C;
- f) Volume final da solução: 50 ml.

Efetuararam-se 6 experimentos, conforme a metodologia descrita no item 3.6, obtendo-se resultados reprodutíveis, e o valor médio obtido para a precipitação do fósforo foi de  $(97 \pm 5)\%$ .

### **3.7 - ANÁLISE RADIOQUÍMICA DO FÓSFORO**

Estudaram-se as condições para irradiação, dissolução, eliminação de interferência e contagem das amostras. A seguir, são descritas as condições otimizadas para cada uma dessas etapas.

#### **3.7.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA**

##### **3.7.1.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ**

Pesou-se 0,5 g de leite em pó comercial e a mesma quantidade do material de referência, Power Milk A-11 (teor de fósforo de 0,91%), em envelopes de alumínio. As amostras foram secas à 80°C durante uma noite antes de se fazer a pesagem. As amostras e padrões foram simultaneamente irradiados durante 30 minutos na estação pneumática de irradiação da Divisão de Radioquímica do IPEN, sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

##### **3.7.1.2 - DISSOLUÇÃO DAS AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ**

Na análise radioquímica, a amostra foi inicialmente dissolvida, para a seguir ser processada quimicamente para a separação do fósforo da matriz irradiada.

A matriz leite contém gordura e a primeira etapa no processo consiste na separação do fósforo da parte proteica. Este é um dos principais problemas desta análise, pois não pode haver perda de fósforo na parte protéica.

Nos estudos preliminares, tentou-se esta separação coagulando o leite com o ácido tricloro acético. Após a coagulação, filtrou-se a solução, e o fósforo presente no sobrenadante foi precipitado como A.M.P, conforme descrito no item 3.6.7.

Entretanto, verificou-se que, durante o processo, grande parte do fósforo ficava retida na parte protéica do leite.

Devido a este problema, as amostras de leite passaram a ser dissolvidas com uma mistura de ácido nítrico e perclórico concentrados, na qual a parte protéica foi totalmente destruída e não houve perda de fósforo durante o processo.

Então, após a irradiação e um tempo de resfriamento de 1 dia, as amostras de leite em pó e o padrão foram transferidos quantitativamente para béqueres individuais.

A seguir, as amostras, na presença de 5 mg de carregador de fósforo, foram dissolvidas com uma mistura de ácido nítrico concentrado (5 ml) e ácido perclórico concentrado (1 ml) à quente, permanecendo em aquecimento até a obtenção de soluções límpidas.

### 3.7.1.3 - PROCEDIMENTO PARA A ANÁLISE RADIOQUÍMICA

Após a irradiação e dissolução das amostras, procedeu-se à precipitação do fósforo como A.M.P. À amostra em análise, adicionaram-se 25 ml de solução de molibdato de amônio acidificado, contendo 1 g de molibdato, sendo a acidez final de 2,8 M. A mistura foi aquecida à temperatura de 70°C, e efetuou-se a digestão do precipitado por 2 horas à quente, sob a mesma temperatura. A seguir, esfriou-se a mistura à temperatura ambiente e realizaram-se a filtração, secagem do precipitado na estufa à 80°C, e a transferência deste para recipientes de contagem. As amostras foram contadas no detetor Geiger-Müller, sob a forma de um fino precipitado de A.M.P. Conhecendo-se a massa do fósforo no padrão, e medindo-se a atividade do fósforo na amostra e no padrão, determina-se por meio da equação 2.2 a massa de fósforo presente na amostra em análise. Verificou-se a pureza do precipitado de A.M.P por espectrometria gama, contando-se o precipitado de fósforo em um detetor de Germânio Hiperpuro. Os dados mostraram que o zinco coprecipitava junto com o fósforo. A interferência do zinco foi eliminada com o emprego do carregador de retenção deste elemento. Para tanto, na etapa de dissolução das amostras, adicionaram-se 5 mg de carregador de zinco e, a seguir, procedeu-se à precipitação do fósforo e todas as demais etapas como já descrito. Com este procedimento, eliminou-se a coprecipitação do zinco no A.M.P.

A pureza radioquímica do precipitado de A.M.P. foi verificada determinando-se a meia-vida do fósforo-32. O precipitado de fósforo foi contado em um detetor Geiger-Müller durante várias semanas, e construiu-se a reta atividade (cpm) em função do tempo de resfriamento. A partir desta reta, determinou-se experimentalmente a meia-vida do fósforo, que foi comparada com o valor teórico de 14,3 dias.

Com o conjunto de resultados obtidos, pode-se propor um esquema geral para a análise de fósforo em amostras de leite, que está indicado na Figura 2.1 (Apêndice 2).

### **3.7.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA.**

#### **3.7.2.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE OSSO**

Amostras de osso animal, códigos 104, 506 e 702, foram secas à 80°C durante uma noite, e pesadas em papel alumínio (10 mg de amostra) e irradiadas simultaneamente com material de referência Calcined Bone A-3/1 (teor de fósforo de 15,4%). A irradiação foi feita na estação pneumática da Supervisão de Radioquímica do IPEN durante 30 minutos, sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

### 3.7.2.2 - DISSOLUÇÃO DAS AMOSTRAS DE OSSO

Após a irradiação, as amostras de osso e o material de referência, na presença de 5 mg de carregador de fósforo e 5 mg de carregador de zinco, foram dissolvidos com 1 ml de ácido perclórico concentrado à quente, permanecendo em aquecimento até se obter uma solução límpida.

### 3.7.2.3 - PROCEDIMENTO PARA A ANÁLISE RADIOQUÍMICA DAS AMOSTRAS DE OSSO

Após a irradiação, procedeu-se à dissolução das amostras de osso, como descrito no item 3.7.2.2. À amostra de osso dissolvida, adicionaram-se 25 ml de solução de molibdato de amônio acidificado, contendo 1 g de molibdato, sendo a acidez final de 2,8 M em ácido nítrico. A mistura foi aquecida à 70 °C durante 2 horas.

O precipitado depois de filtrado, seco na estufa à 80°C, e transferido para os recipientes de contagem foi contado no detetor Geiger-Müller. Pela equação 2.2, determinou-se a massa de fósforo presente na amostra de osso irradiada.

A pureza radioquímica do precipitado de A.M.P. foi verificada determinando-se a meia-vida do fósforo-32.

Na Figura 2.2 (Apêndice 2), apresenta-se o esquema geral

para a análise de fósforo em amostras de osso.

### **3.8 - ANÁLISE INSTRUMENTAL DO FÓSFORO**

Com o objetivo de estabelecer um método de análise de fósforo, usando a análise por ativação instrumental, realizaram-se experimentos que definissem as condições para irradiação, contagem e eliminação das interferências.

#### **3.8.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA**

O principal problema da análise está relacionado com a contagem do fósforo-32. A contagem de um emissor beta é bastante sensível à geometria de contagem, sendo de grande importância a homogeneidade, a espessura e a taxa de contagem.

Qualquer diferença nestes parâmetros acarreta erro na análise.

Verificou-se que, devido à grande quantidade de amostra (500 mg), não se pode simplesmente colocar a amostra de leite irradiada diretamente no recipiente de contagem e obter a contagem do fósforo no detetor Geiger-Müller. Deve-se primeiro dissolver a amostra, e uma alíquota da solução deve ser seca no recipiente de contagem.

No caso da amostra de leite, os melhores resultados foram obtidos quando se dissolveram 500 mg de leite irradiado em 10 ml de água, e uma alíquota (1 ml) da solução foi seca no recipiente de contagem, sob a ação de raios infravermelhos. Desta forma, obteve-se uma camada fina e homogênea do fósforo depositado.

#### **3.8.1.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS**

Foram irradiados três padrões de fósforo (sal de fosfato de amônio com massas de 5, 10 e 15 mg em fósforo) simultaneamente com duas amostras de leite a serem analisadas (massas de 500 mg) e uma amostra de leite referência (500 mg de amostra, com teor de fósforo 0,91%). A irradiação foi feita durante 30 minutos na estação pneumática da Supervisão de Radioquímica do IPEN, sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12}$  n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

#### **3.8.1.2 - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE**

Após um tempo de resfriamento (1 dia), as amostras de leite em pó comercial, os padrões e a amostra de referência foram dissolvidos com água e diluídos para um volume de 10 ml cada.

Pipetou-se 1 ml de cada solução nos respectivos recipientes de contagem e a seguir procedeu-se as contagens no detetor Geiger-Müller, em diferentes tempos de resfriamento. No caso dos padrões de fosfato de amônio, a dissolução ocorreu na presença de 500 mg de leite não irradiado, para que o padrão fosse contado na mesma geometria que a amostra de leite.

Para cada tempo de resfriamento empregado, construiu-se a reta  $y = a + bx$ , como descrito no item 2.5. Após o cálculo dos parâmetros  $a$  e  $b$  e a medida da atividade de fósforo nas amostras irradiadas, determinou-se, por meio da equação 2.6, a quantidade de fósforo presente na amostra em análise.

O mesmo procedimento foi adotado para a amostra de leite referência, com o objetivo de verificar a exatidão do método.

Por meio da espectrometria gama, foi possível verificar a presença dos radioisótopos bromo-82 ( $t_{1/2} = 35$  horas), sódio-24 ( $t_{1/2} = 0,62$  dias) e antimônio-122 ( $t_{1/2} = 2,7$  dias). Esses radioisótopos têm meia-vida curta comparadas à do fósforo-32, e, com o decorrer do resfriamento da amostra, tem-se uma diminuição da interferência desses radioisótopos na análise do fósforo.

A Figura 2.3 (Apêndice 2) apresenta um esquema geral do método de análise sem separação radioquímica proposto neste trabalho para determinar fósforo em amostras de leite.

### **3.8.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO PELO MÉTODO INSTRUMENTAL**

Tendo como objetivo estudar as melhores condições experimentais, para a análise de fósforo em amostras de osso pelo método instrumental, estudaram-se as condições experimentais para a irradiação e a contagem das amostras.

#### **3.8.2.1 - IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS**

Após a secagem das amostras (80°C, durante toda a noite), as amostras de osso (104, 506 e 702) com massas de 10 mg foram pesadas em sacos plásticos e irradiadas simultaneamente com três padrões de osso certificado Calcined Bone A-3/1 (10, 15 e 20 mg de amostra, com teor de fósforo de 15,4%). A irradiação foi feita na estação pneumática do IPEN, durante 30 minutos sob um fluxo de nêutrons de  $10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

#### **3.8.2.2 - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE**

Após a irradiação, amostras e padrões foram colocados diretamente no recipiente próprio para contagem beta e contados com até 52 dias de resfriamento. Neste caso, devido à pequena quantidade de amostra irradiada (10 mg), não foi necessário realizar a diluição e pipetagem da amostra. O envelope plástico com a amostra irradiada foi colocado diretamente no recipiente,

e a contagem feita no detetor Geiger-Müller.

Após a contagem dos padrões de osso, determinou-se a equação da reta  $y = a + bx$ , de modo análogo ao descrito no item 2.5. A partir dos valores das constantes  $a$  e  $b$ , e da atividade de fósforo na amostra em análise, calculou-se o teor de fósforo pela equação 2.6.

Os radioisótopos interferentes foram verificados por meio da espectrometria gama, sendo encontrados sódio-24 ( $t_{1/2} = 0,62$  dias) e potássio-42 ( $t_{1/2} = 12,36$  horas). Estes radioisótopos apresentam meia-vida curta quando comparados com a do fósforo-32. Para eliminar a interferência destes elementos, é conveniente empregar um tempo de resfriamento de alguns dias para iniciar a contagem das amostras e dos padrões.

Na Figura 2.4 (Apêndice 2) tem-se o esquema geral da análise instrumental do fósforo na matriz osso.

### **3.8.3 - VERIFICAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE REAÇÕES NUCLEARES INTERFERENTES NA ANÁLISE DO FÓSFORO**

As reações nucleares interferentes na análise de fósforo, são as que também podem produzir o fósforo-32. Esta interferência dependerá da concentração do fósforo e dos interferentes nas amostras em análise, do tipo de reação nuclear e do espectro de nêutrons do reator.

Os dois parâmetros nucleares importantes para estimar a interferência de uma reação nuclear são a secção de choque e a abundância isotópica.

Como indicado na Tabela 1.2 (Apêndice 1), o radionuclídeo fósforo-32 pode ser obtido a partir do fósforo-31, enxofre-32 e cloro-35. Porém, comparando-se a secção de choque das reações de formação do fósforo-32 via enxofre e cloro com a de formação via fósforo-31, observa-se que são bastante inferiores e, dependendo do teor de enxofre e cloro nas amostras, a interferência é desprezível. Além disso, o reator do IPEN é termalizado, e a reação mais favorável à obtenção do fósforo-32 é a reação  $(n, \gamma)$ , e não  $(n, p)$  ou  $(n, \alpha)$ .

Em relação à interferência do silício, este elemento possui uma secção de choque alta, mas uma abundância isotópica extremamente baixa comparada ao fósforo-31 e, dependendo do teor de silício nas amostras, a sua interferência é desprezível.

Com o objetivo de verificar a influência do enxofre, cloro e silício na determinação do fósforo em amostras de leite, foram irradiados sais de fósforo, cloro, sulfato e silício em quantidades similares às apresentadas pelas amostras do leite referência Tabela 1.3 (Apêndice 1). As amostras foram preparadas e contadas nas mesmas condições experimentais adotadas na análise sem separação radioquímica do fósforo na matriz leite, como indicado na Figura 2.3 (Apêndice 2).

Os dados obtidos mostraram que o fósforo produz uma atividade 31 vezes maior que a do silício, 20 vezes maior que a do cloro e 14 vezes maior que a do enxofre. Portanto, prevalece a reação em que o fósforo-32 é produzido a partir do próprio fósforo, por reação  $(n, \gamma)$ , podendo-se considerar que as reações de obtenção de fósforo-32 a partir de enxofre-32, cloro-35 e silício-30 são reações interferentes desprezíveis para a matriz aqui estudada.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente capítulo, são apresentados os resultados obtidos na análise de fósforo nas amostras de leite em pó e amostras de osso, pelo método instrumental e com separação radioquímica.

#### 4.1 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM LEITE

##### 4.1.1- ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO COM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA

O método de análise de fósforo indicado na Figura 2.1 (Apêndice 2), foi aplicado em amostras de leite comercial.

A Tabela 4.1 apresenta os resultados obtidos nas diferentes análises efetuadas em um mesmo leite em pó comercial.

Aplicando-se os testes estatísticos para os dados obtidos, foi verificado que todos os resultados são homogêneos num nível de significância de 10% e o valor médio obtido para a porcentagem de fósforo nas amostras de leite em pó foi de 0,86% com um desvio padrão de 0,09%, e uma precisão de 10,5%.

Por meio da espectrometria gama, não se verificou a presença de nenhum radioisótopo interferente. O radioisótopo zinco-65 que coprecipitava com o A.M.P. e tem uma meia-vida longa ( $t_{1/2} = 245$  dias) deixou de ser interferente, ao se empregar o carregador de retenção deste elemento.

A pureza radioquímica do precipitado de A.M.P também foi verificada através da contagem beta, determinando-se a meia-vida do fósforo-32, sendo encontrado o valor de 14,9 dias, que é concordante com o valor da meia-vida tabelado para o fósforo (Figura 3.1 - Apêndice 3).

TABELA 4.1 - PORCENTAGEM DE FÓSFORO NA AMOSTRA DE LEITE COMERCIAL (MÉTODO RADIOQUÍMICO)

Porcentagem de Fósforo	
0,84	1,01
0,75	0,89
0,77	0,89
0,80	0,88
0,98	0,80
Valor Médio: 0,86%	
Desvio Padrão: 0,09%	

#### 4.1.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA

O método de análise proposto no esquema mostrado na Figura 2.3 (Apêndice 2) foi aplicado em amostras de leite em pó comercial e em amostras de leite certificado (A-11).

Por meio da análise do material de referência pode-se avaliar a exatidão do método, sendo também possível verificar o erro na análise em função do tempo de resfriamento.

As amostras foram contadas com 1, 16 e 21 dias de resfriamento. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.2. Verifica-se que para um mesmo tempo de resfriamento, os valores obtidos nas análises feitas em duplicata são bastante concordantes.

Em relação à análise do fósforo no leite certificado, verifica-se que a medida que se aumenta o tempo de resfriamento, diminui-se o erro da análise. O erro é de 10,7% para 1 dia de resfriamento, próximo a 1% para 16 dias de resfriamento e diminui para 0,7% para 21 dias de resfriamento.

TABELA 4.2 - VALORES DE FÓSFORO ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE LEITE ANALISADO EM FUNÇÃO DOS TEMPOS DE RESFRIAMENTO UTILIZADOS

Tempo de Resfriamento (dias)	% P na Amostra de Leite Comercial	Massa de P no Leite Certificado (mg)	Massa de P obtida experimentalmente (mg)	Erro Relativo na Análise (%)
1	0,92	0,90	0,504	10,7
16	0,80	0,79	0,449	1,3
21	0,81	0,82	0,452	0,7

O erro na análise está relacionado à presença de outros radioisótopos que também se formaram durante a irradiação da amostra de leite. O detetor beta não consegue discriminar energia e a contagem obtida é uma somatória de toda a radiação presente.

Os radioisótopos interferentes detectados por espectrometria gama foram bromo-82 ( $t_{1/2} = 35$  horas), sódio-24 ( $t_{1/2} = 0,62$  dias) e antimônio-122 ( $t_{1/2} = 2,7$  dias). Com o resfriamento da amostra, há o decaimento desses radioisótopos de meia-vida curta, diminuindo-se o erro na análise. Para se efetuar a análise com um erro da ordem de 1% é conveniente que se espere 15 dias de resfriamento.

#### 4.1.3 - VERIFICAÇÃO DA PRECISÃO DA ANÁLISE DE FÓSFORO EM LEITE PELO MÉTODO SEM SEPARAÇÃO RADIOQUÍMICA

Com o objetivo de verificar a precisão do método de

análise de fósforo para amostras de leite em pó, foi feita uma série de determinações, conforme indicado na Figura 2.3 (Apêndice 2), adotando-se um tempo de resfriamento de 15 dias. O conjunto de resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.3.

Os valores foram homogêneos, em um nível de significância de 10%.

O valor médio obtido para a porcentagem de fósforo na amostra de leite foi de 0,89% com um desvio padrão de 0,06% e precisão de 6,7%.

TABELA 4.3 - PORCENTAGEM DE FÓSFORO NA AMOSTRA DE LEITE.  
(MÉTODO INSTRUMENTAL)

% P na Amostra de Leite	
0,86	0,84
0,81	0,82
0,90	0,93
0,97	0,98
Valor Médio : 0,89%	
Desvio Padrão : 0,06%	

## 4.2 - ANÁLISE DO FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO

### 4.2.1 - ANÁLISE RADIOQUÍMICA DO FÓSFORO EM AMOSTRAS DE OSSO

Amostras de osso de código 104 e 702 foram analisadas de acordo com o esquema apresentado na Figura 2.2 (Apêndice 2).

Os resultados obtidos nos diferentes experimentos realizados são apresentados na Tabela 4.4.

Realizaram-se contagens no detetor de Germânio hiperpuro para verificar a presença de elementos interferentes. Através dos dados apresentados pela contagem das amostras, foi possível verificar que o fósforo foi isolado puro.

A pureza radioquímica do precipitado de A.M.P., foi comprovada também fazendo-se contagens no detetor Geiger-Müller determinando-se a meia-vida do fósforo-32, sendo encontrados os valores de 14,1 dias e 14,4 dias para as amostras de osso 104 e 702, respectivamente, valores esses concordantes com a meia-vida do fósforo que é de 14,3 dias (Figura 3.2 - Apêndice 3).

Aplicando-se o teste  $r_{\text{máx}}$  e  $r_{\text{mín}}$  para os resultados obtidos na análise de fósforo nas amostras de osso-104 e 702 verificou-se que os resultados são homogêneos num nível de significância de 10%, sendo obtidos os valores de 16,5% de teor de fósforo com desvio padrão de 1,9% e precisão de 11,5% para a

amostra de osso-104, e 13,5% de teor de fósforo com desvio padrão de 1,0% e precisão de 7,4% para a amostra de osso-702.

TABELA 4.4 - PORCENTAGEM DE FÓSFORO NAS AMOSTRAS DE OSSO-104 E OSSO-702 (MÉTODO RADIOQUÍMICO)

% P na Amostra Osso-104		% P na Amostra Osso-702	
16,8	14,4	13,8	11,9
16,4	13,8	14,0	12,6
15,5	18,8	14,2	12,5
14,7	18,7	14,8	13,3
18,6	17,4	14,8	13,0
Valor Médio : 16,5%		Valor Médio:13,5%	
Desvio Padrão: 1,9%		Desvio Padrão:1,0%	

#### 4.2.2 - ANÁLISE DE FÓSFORO NAS AMOSTRAS DE OSSO PELO MÉTODO INSTRUMENTAL.

Para a análise instrumental do fósforo, foram usadas amostras de osso de código 104, 506 e 702, e o procedimento adotado está indicado na Figura 2.4. A Tabela 4.5 apresenta os resultados obtidos, para os diferentes tempos de resfriamento empregados.

A presença de elementos interferentes foi constatada por meio da espectrometria gama, sendo encontrados os elementos sódio-24 ( $t_{1/2} = 0,62$  dias) e potássio-42 ( $t_{1/2} = 12,36$  horas).

Portanto, há necessidade da espera do tempo de decaimento desses radionuclídeos, para efetuar a contagem do fósforo-32.

Isto é confirmado pelos dados da Tabela 4.5. Para 3 dias de resfriamento tem-se em todas as análises efetuadas um valor menor para o teor de fósforo, em relação aos demais tempos de resfriamento, quando ocorre o decaimento dos elementos interferentes. Após 10 dias de resfriamento, os resultados obtidos nas análises são bastante reproduzíveis.

TABELA 4.5 - PORCENTAGEM DE FÓSFORO NAS AMOSTRAS DE OSSO

tr	% P Osso-104		% P Osso-506		% P Osso-702	
3	14,5	14,5	11,1	10,7	14,5	14,2
10	16,6	16,9	12,4	12,3	15,1	16,5
17	16,3	16,5	13,3	12,1	11,2	15,6
24	16,7	16,7	13,3	12,6	17,6	16,1
38	16,2	16,4	12,8	12,6	17,7	15,0
45	16,5	16,8	12,5	12,5	17,8	15,0
52	16,4	16,3	-	-	17,6	15,2

Realizaram-se novas análises de fósforo nas amostras de osso conforme descrito na Figura 2.4 (Apêndice 2), efetuando-se a contagem da amostra, após 10 dias de resfriamento. Os

resultados são apresentados na Tabela 4.6. Para cada amostra analisada, aplicou-se o teste  $r_{m\acute{a}x}$  e  $r_{m\acute{i}n}$  e foi verificado que todos os resultados eram homogêneos, dentro de um nível de significância de 10% obtendo-se um valor médio de 16,4% de teor de fósforo com desvio padrão de 1,0% e precisão de 6,0% para amostras de osso-104, para as amostras de osso-506 foi obtido 12,7% de teor de fósforo com um desvio padrão de 0,5% e precisão de 3,9% e para as amostras de osso-702 obteve-se um valor médio de 15,9% de teor de fósforo com um desvio padrão de 0,9% e precisão de 5,7%.

TABELA 4.6 - PORCENTAGEM DE FÓSFORO NAS AMOSTRAS DE OSSO (MÉTODO INSTRUMENTAL)

% P Osso-104			% P Osso-506			% P Osso-702		
17,3	16,5	16,9	11,9	12,4	12,2	17,8	16,4	15,2
16,1	17,7	15,7	12,8	12,6	13,7	17,7	15,4	15,7
16,4	14,4	15,7	13,3	12,8	13,3	15,9	15,0	15,1
18,1	16,2	15,5	12,4	12,5	12,4	15,1	15,4	15,8
Valor Médio: 16,4%			Valor Médio: 12,7%			Valor Médio: 15,9%		
Desvio Padrão: 1,0%			Desvio Padrão: 0,5%			Desvio Padrão: 0,9%		

## CAPÍTULO 5

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo, relatam-se alguns resultados obtidos nos estudos preliminares, antes de estabelecer os procedimentos de análise aqui apresentados.

No método radioquímico, os primeiros experimentos foram realizados empregando-se amostras de leite em pó, amostras de leite referência A-11 (IAEA) e usando o sal de fosfato dibásico de amônio como padrão de fósforo.

Os resultados mostraram que o sal de fosfato dibásico de amônio não pode ser usado como padrão para o fósforo na determinação deste em amostras de leite pelo método radioquímico, porque acarreta resultados não reproduzíveis.

Na análise das amostras de leite em pó pelo método sem separação radioquímica, os resultados obtidos na análise empregando o sal fosfato dibásico de amônio como padrão de fósforo foram bastante concordantes com os obtidos ao se empregar o material de referência A-11. Neste caso, adicionou-se aos padrões de fósforo na etapa de dissolução, o leite não-irradiado, para obter a mesma geometria de contagem.

Para a análise com ou sem separação radioquímica do fósforo em amostras de osso, os experimentos iniciais foram feitos empregando-se, como padrão de fósforo, os sais de hidrogênio fosfato de cálcio e fosfato dibásico de amônio.

Os valores obtidos do teor de fósforo nas amostras de osso a partir destes sais não foram concordantes com os obtidos quando se empregou como padrão o material de referência calcined bovine (A-3/1).

Desta forma, a análise das amostras de osso 104, 506 e 702 foi feita empregando-se como padrão o material certificado de osso.

Em relação à análise de fósforo em amostras de leite empregando o método radioquímico, obteve-se um teor de fósforo de 0,86% com desvio padrão de 0,09%, não sendo necessário esperar o decaimento de radionuclídeos de meias-vidas curtas antes de processar a amostra.

No método sem separação radioquímica, o teor de fósforo obtido para o leite foi de 0,89% com um desvio padrão de 0,06%, quando se espera um resfriamento de 15 dias. Com tempos de resfriamento menores, ocorre a interferência dos radionuclídeos bromo-82, sódio-24 e antimônio-122. O método foi aplicado em amostras de leite referência, e, após a espera de 15 dias de resfriamento, os valores obtidos foram bastante exatos.

Os teores de fósforo obtidos para o leite pelos métodos com e sem separação radioquímica foram concordantes.

O método sem separação radioquímica, embora simples, requer tempo de decaimento dos interferentes de cerca de 15 dias. O método radioquímico é laborioso, mas possibilita resultados rápidos.

Na análise de fósforo em amostras de osso empregando-se o método radioquímico, obteve-se um teor de fósforo de 16,5% com desvio padrão de 1,9% e precisão de 11,5% para a amostra osso-104, um teor de 13,5% com desvio padrão de 1,0% e precisão de 7,4% para a amostra osso-702.

Aplicando-se o método instrumental, obteve-se 16,4% de teor de fósforo com desvio-padrão de 1,0% e precisão de 6,0% para amostras de osso-104. No caso das amostras de osso-506, obteve-se um teor de 12,7%, com um desvio padrão de 0,5% e precisão de 3,9%, para as amostras de osso-702, teor de 15,9% com um desvio padrão de 0,9% e precisão de 5,7%.

A análise do fósforo em amostras de osso pelo método com separação química e instrumental apresentou resultados concordantes. Nesta matriz, em que o teor de fósforo é alto, e as impurezas presentes têm interferência menor que na matriz leite, não há necessidade de esperar tempo de decaimento tão longo como para o leite para a eliminação dos interferentes.

Neste caso, a melhor opção seria empregar o método instrumental que é bastante simples.

O limite de detecção (LOD) foi calculado a partir do valor da contagem de radiação de fundo e de seu desvio padrão<sup>(51)</sup>. LOD é definido como o mais baixo nível de concentração que pode ser determinado estatisticamente diferente do branco. O valor recomendado de LOD é  $3\sigma$ , para um nível de confiança de 99%.

Para transformar o valor de LOD expresso em cpm, para unidade de massa de fósforo, este valor foi comparado com a atividade do fósforo na amostra referência.

Na irradiação de 500 mg de leite, durante 30 minutos, os limites de detecção de fósforo foram de 14  $\mu\text{g}$  em ambos os métodos de análise. Para as amostras de osso, irradiando-se 10 mg de osso durante 30 minutos, obtiveram-se os valores de 26  $\mu\text{g}$  e 10  $\mu\text{g}$  nos métodos radioquímico e instrumental, respectivamente. A diferença nos valores se deve à diferença na geometria de contagem do fósforo-32, o que acarreta uma diferença no valor da eficiência de contagem do equipamento.

Neste trabalho, pôde-se empregar um Geiger-Müller comum. Para a análise de amostras que apresentem teores de fósforo abaixo do atual limite de detecção, a Supervisão de Radioquímica dispõe de um contador beta com baixa radiação, que tem uma radiação de fundo 150 vezes menor e uma eficiência de contagem 3 vezes maior que o contador utilizado neste

trabalho, e com isto melhoraria em muito o limite de detecção.

Neste trabalho, optou-se pela análise do fósforo pela formação do radionuclídeo fósforo-32; pois, em um reator termalizado, como é o caso do reator do IPEN, a análise do fósforo via alumínio-28 só é possível em casos especiais, em que haja alto teor de fósforo na amostra em relação ao teor de alumínio.

Irradiando-se as amostras de osso em um reator termalizado, para que a reação  $^{31}\text{P} (n, \alpha) ^{28}\text{Al}$  seja favorecida, tem-se que irradiar uma quantidade maior de amostra (100 a 200mg) que a utilizada para análise via fósforo-32 (10mg). Neste trabalho, não se dispunha da quantidade de amostra necessária para a ativação do alumínio-28, por tratar-se de um estudo de diagnose em animal vivo.

No caso da matriz leite (teor de fósforo 0,91%), para obter uma atividade adequada de alumínio-28 para análise, ter-se-ia de irradiar uma massa grande de amostra (500mg) por, no mínimo, 20 minutos. Nestas condições, por problemas de proteção radiológica, não se poderia manusear a amostra em tempo hábil para contar o alumínio-28, que tem meia-vida de 2,3 minutos.

Portanto, os métodos de análise de fósforo, via fósforo-32 instrumental ou com separação radioquímica, são importantes

quando se dispõe de pouco material para análise ou quando a análise de fósforo via alumínio é inviável.

Antes deste trabalho ser desenvolvido, não se dispunha de um método de análise de fósforo que pudesse ser aplicado para qualquer matriz, independente do teor de fósforo, das interferências presentes, da relação fósforo e alumínio presente na amostra e também da quantidade de material disponível para a análise.

Na análise de fósforo em osso pelo método instrumental, cabe ressaltar a simplicidade do método, que envolve somente irradiação simultânea de amostra e padrão e contagem direta da amostra, sem qualquer reprocessamento químico nesta.

Outro estudo importante, no qual às vezes se dispõe de pouco material para análise, é o da estrutura de um determinado cristal para verificar a presença de fósforo no retículo cristalino. Pode-se aplicar o método instrumental ou radioquímico e determinar a meia-vida do fósforo e confirmar a presença ou ausência do elemento na estrutura do cristal.

Cita-se uma análise feita para o Instituto de Física, que tinha como objetivo verificar a presença de fósforo em um determinado cristal. O fósforo poderia estar presente devido à impureza dos reagentes utilizados para a formação do cristal. Como se dispunha de pouco material para a análise, optou-se pela análise instrumental e procedeu-se a análise do mesmo modo

que para as amostras de osso. Após a contagem do material no detetor Geiger-Müller durante alguns dias, pôde-se constatar a ausência do fósforo no retículo do cristal.

Outro aspecto importante a ser considerado refere-se à análise do fósforo, empregando-se o método radioquímico.

Este método é importante não só para a própria análise do fósforo, como também para a análise de outros elementos em material biológico, onde o fósforo é um interferente devido à interação da sua radiação beta com o cristal do detetor, e a radiação produzida pelo fósforo-32 mascara alguns picos de radioisótopos com energia até 1,7 Mev.

Para comprovar esta interferência, fez-se um experimento irradiando-se uma amostra de osso (10mg) a um fluxo de nêutrons de  $10^{12}$ .n.cm<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, durante 30 minutos. Após 1 dia de resfriamento, a amostra foi contada no detetor de Germânio Hiperpuro. O espectro gama obtido mostra um espectro característico devido à presença do fósforo, não sendo possível identificar alguns radioisótopos (Figura 3.3).

A seguir, fez-se a separação radioquímica do fósforo da matriz osso, como indicado na Figura 2.2, e, após a remoção do fósforo, fez-se nova contagem da amostra no mesmo detetor, e no espectro gama obtido (Figura 3.3) pôde ser verificada a presença de picos de elementos tais como Gadolínio-153, Bário-131, Ferro-59, Escândio-47, Európio-152, Háfnio-181 e

Zinco-65 que, antes do processamento químico, eram mascarados pelo *bremsstrahlung* do fósforo.

A remoção do fósforo como A.M.P. é eficiente, permitindo precipitação maior que 95% do fósforo e, além disto, é seletiva, ou seja, não arrasta outros elementos presentes na amostra. Com isto, pôde-se empregar esse método para a limpeza de um espectro e posterior análise dos elementos de interesse.

Os métodos aqui apresentados contribuem sobremaneira com os métodos de análise de fósforo em amostras biológicas, como também possibilitam a análise de outros elementos que antes eram mascarados pelo fósforo.

## CAPÍTULO 6

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HUGHES, M .N . *THE Inorganic Chemistry of Biological Processes*. 2 ed., NY, Jonh Wiley & Sons, 1981.
2. OLIVEIRA, J .E .D .; SANTOS, A .C .; WILSON, E.D. *Nutrição Básica* Servier Editora de Livros Médicos Ltda., 1989, p.106-08.
3. BORCHARDT, P. ; DINDIAL, W. ; METTENLEITER, M.A. Rapid semimicromethod for the determination of phosphorus and barium in biologic preparations. *Clin.Chem.*, 7 (4):264-67, 1961.
4. PERRIN, C.H. A Gravimetric modification of the Wilson method for the determination of phosphorus. *J.A.O.A.C.*, 41 (4), 1958.
5. HENDERSON, P. The determination of phosphorus in rocks and minerals by activation analysis. *Anal.Chim.Acta*, 39 : 512-5, 1967.

6. ELWELL, W.T.; WILSON, H.N. The colorimetric determination of phosphorus in steel and copper-base alloys. *Analyst*, 81 (136):136-48, 1956.
7. KITSON, R.E.; MELLON, M.G. Colorimetric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 16 (379), 1944.
8. MATAR, A.E.; GARABED, S.; RIAHI, S.; MAZID, A. Comparison of four soiltest procedures for determination of available phosphorus in calcareous soils of the Mediterranean region. *Comm. Soil Sci. Plant. Anal.*, 19 (2) : 127 - 140, Feb. 1988.
9. BERTI, G.; FOSSATI, P.; TARENGHI, G.; MUSITELLI, C.; MELZID'ERIL, G.V. Enzymic colorimetric method for the determination of inorganic phosphorus in serum and urine. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 26 (6): 399 - 404, Jun. 1988.
10. BOLTZ, D.F. *Colorimetric determination of nonmetals*. Interscience, London, New York, 1958.
11. DÁVID, R.E. Haematoxylin, a novel indicator by the determination of phosphorus. *Mickrochim. Acta*, 387-91, 1989 I.

12. BINKOWSKI, J. & RUTKOWSKI, P. Elemental analysis of organic phosphorus compounds Schöniger flask method of phosphorus. *Mikrochim. Acta*, 245-47, 1986 I.
13. APUD: *Anal. Abstr.*, 56 (4) 1994. YANG, H.; LIU, S. Determination of phosphorus in phosphate rocks. *Yankuang Ceshi*, 7 (4):291 - 93, 1988.
14. CHEN, P.Y.; CHEN, J.S.; SUN, H.J.; YANG, M.H. A radioreagent method for determination of traces of traces of phosphorus in high-purity silicon. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Art.*, 90/2: 239-45, 1985.
15. KENNEY, J.E.; MENON, M.P. Determination of traces of phosphorus by a radiomolybdenum method. *Anal. Chem.*, 44 (12): 2093-95, Oct. 1972.
16. HAMITI, N.; JAFFREZIC-RENAULT, N.; REVEL, G.; POITRENAUD, C. Study of the extraction of phosphomolybdic acid by radiotracers and application to the tritiation of phosphorus in steels. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Art.*, 90 (1): 77-89, 1985.
17. RAMAKRISHNA, T.V.; ROBINSON, J.W.; WEST, P.W. Determination of phosphorus, arsenic or silicon by atomic absorption spectrometry of molybdenum heteropoly acids. *Anal. Chim. Acta*, 45: 43-9, 1969.

18. KIRKBRIGHT, G.F.; SMITH, A.M.; WEST, T.S. An indirect sequential determination of phosphorus and silicon by atomic absorption spectrophotometry. *Analyst*, 92 (1096): 411-16, Jul. 1967.
19. WOOD, L.; KEYNES, M. Analysis of iron ores. VI Methods for the determinations of phosphorus content. *BRITISH STANDARD*, Section 6.2:1993, Oct. 1993.
20. HERNANDIS, V.; MACIA, L.; SALA, J.V. Spectrophotometric determination of germanium and phosphorus in siliceous materials after hydrofluoric and distillation. *ANALYST*, 112 (7): 1007-9, Jul. 1987.
21. JASKÓSKA, H.; ROWÍNSKA, L. Determination of phosphorus in semiconductor grade silicon by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.*, 26 : 31-7, 1975.
22. GOETHALS, P.; VANDECASTEELE, C.; HOSTE, J. Helium-4 and neutron activation analysis for phosphorus in aluminium-silicon alloys. *Anal. Chim. Acta*, 101: 63-70, 1978.
23. LOOS-NESKOVIC, C.; FEDOROFF, M. Radiochemical studies of some separation methods for phosphorus. *J. Radioanal. Chem.*, 80 (1-2): 97-108, 1983.

24. HAMITI, N.; JAFFREZIC-RENAULT, N.; REVEL, G.; POITRENAUD, C. A study of the extraction of phosphovanadomolybdic acid and application to the neutron activation analysis of phosphorus in steels. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Art.*, 92 (1): 113-22, 1985.
25. LICKLY, T.D.; QUINN, T.; BLANCHARD, F.A.; MURPHY, P.G. Determination of migration of phosphorus - based additives from food-packaging material into food-simulating solvents by neutron activation - Cerenkov counting. *J. Appl. Radiat. Isot.*, 39 (6): 465-70, Jun. 1988.
26. LAVI, N.; LUX, F.; ALFASSI, Z.B. Determination of magnesium, aluminium, phosphorus, copper and manganese in biological fluids by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 129 (1): 93-101, Jan. 1989.
27. AL-JOBORI, S.M.; ITAWI, R.K.; SAAD, A.; SHINAB, K.M.; JALIL, M.; FARHAN, S.S. Analysis of natural milk and milk powder samples by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, 144 (3): 229-39, 1990.
28. KUEPPERS, G.; ERDTMANN, G. Determination of traces of phosphorus in gallium arsenide by radiochemical neutron

- activation analysis. *J.RADIOANAL.NUCL.CHEM.*, 168 (2): 457-64, Feb.1993.
- 29.KOLOTOV, V.P.; SADYKOV, I.I.; DOGADKIN, N.N.; Nekrosova, N.N. Radiochemical neutron activation determination of phosphorus in highly pure germanium. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*, 168 (2): 465-70, Feb.1993.
- 30.GARG, A.N.; WEGINWAR, R.G.; CHUTKE, N.L. Comparative study of minor and trace elements in human, animal and commercial milk samples by neutron activation analysis. *J.Radioanal.Nucl.Chem.*, 172 (1): 125-35, Aug.1993.
- 31.SPYROU, N.M.; SHARAF, J.M.; SARKAR, S. Elemental analysis of biological matrices using tomographic techniques. In : International conference on modern trends in activation analysis on ... held in Vienna, 16-20 September, 1991, v.167 (2) : *J.Radioanal. Nucl.Chem.* P.453-65.
- 32.WEIZHI, P.L.T. INAA of RM IAEA-155 Whey Powder. *Nucl.Sci. Techn.*, 4 (2): 108-13, May 1993.
- 33.SAMUDRALWAR, D.L.; GARG, A.N. Multielemental neutron activation analysis of blood samples by short term reactor irradiation. In : Radiochemistry and Radiation Chemistry Symposium at ... held in Tiraputi, 13-17

December, 1986. P.529.

34. ALFASSI, Z.V.; LAVI, N. Simultaneous determination of sodium, magnesium, aluminium, silicon and phosphorus by instrumental neutron-activation analysis using reactor and epithermal neutrons. *Analyst*, 109; 959-62, J. 1984.
35. WAYMAN, C.H. Simultaneous determination of sulfur and phosphorus in water by neutron activation analysis. *Anal.Chem.*, 36(3): 665-6, 1964.
36. WOITTEZ, J.R.W. & DAS, H.A. Determination of calcium, phosphorus and fluorine in bone by instrumental fast neutron activation analysis. *J.Radioanal.Chem.*, 59 (1): 213-19, 1980.
37. SAMSAHL, K.; BRUNE, D.; WESTER, P.O. Simultaneous determination of 30 trace elements in cancerous and non-cancerous human tissue samples by neutron activation analysis. *Int.J.Applied Radiation Isot.*, 16: 273-81, 1965.
38. SLOOT, H.A. VAN DER WALS, G.D.; WEERS, C.A. Simultaneous elimination of sodium-24, potassium-42, bromium-82 and phosphorus-32 in the determination of traces elements in biological materials by neutron activation analysis. *Anal.Chem.*, 52:112-17, 1980.

- 39.KAFALA, S.I.; ANISIMOV, B.V.; TOLKACHEV, I.V. Automatic activation analysis of fertilizers and plant samples by fast neutrons. *J.Radioanal.Nucl.Chem.Art.*, 97(2): 341-45, 1986.
- 40.STEINNES, E. Simultaneous determination of rubidium, cesium, chromium and phosphorus in rocks by neutron activation and a simple group separation. *J.Radioanal.Chem.* 10: 65-73, 1972.
- 41.ROSSBACH, M. Multielement prompt gamma cold neutron activation analysis of organic matter. In : International topical conference on methods and applications of radioanalytical chemistry II (Marc-2) : second international conference on methods and applications of radioanalytical chemistry abstracts on ... held in Kona, 21-27 April, 1991. P. 51.
- 42.GAUDRY, A.; MAZIERE, B.; COMAR, D. Multi-element analysis of biological samples after intense neutron activation an fast chemical separation. *J.Radioanal.Chem.*, 29: 77-87, 1986.
- 43.CORTE, De F.; SPEECKE, A.; HOSTE, J. Activation analysis of high-purity silicon. *J.Radioanal.Chem.*, 8: 277-85, 1971.
- 44.BOWEN, H.J.M.; CAWSE, P. Determination of sodium,

potassium and phosphorus in biological materials by radioactivation. *Anal.Chem.*, 86 : 506-11, August, 1961.

45.SOULIOTIS, A.G. Combined radiochemical-neutron activation analysis method for the determination of sulfur and phosphorus in high-purity paper. *Anal. Chem.*, 36 (4): 811-14, April, 1964.

46.BOUTEN, P.; HOSTE, J. The determination of sulfur and phosphorus in steel by neutron activation analysis. *Anal.Chim.Acta*, 27 : 315-19, 1962.

47.WEGINWAR, R.G.; SAMUDRALVAR, D.L.; GARG, A .N . Determination of phosphorus in biological samples by thermal neutron activation followed by  $\beta^-$  counting. *J.Radioanal.Nucl.Chem.Art.*, 133 (2): 317-24, 1989.

48.BAJO, S. & WYTENBACH, A. Instrumental neutron activation determination of phosphorus in biological materials by bremsstrahlung measurement. *Talanta*, 35 (10): 741-51, 1988.

49.DAMSGAARD, E. & HEYDORN, K. Synthesis of precision for the certification of phosphorus in biological materials by INNA. *J.Radioanal.Nucl.Chem.Art.*, 113 (1): 267-73, 1987.

50. NALIMOV, V.V. *The application of mathematical statistics to chemical analysis.* Massachusetts, Addison-Wesley, Reading, 1963.

51. KEITH, L.H.; CRUMMETT, W.; Jr. DEEGAN J.; LIBBY, R.A.; TAYLOR, K.J.; WENTLER, G. Principles of environmental improvement. *Anal. Chem.*, 55 : 2210 - 2218, 1983.

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1

TABELA 1.1- Reações Nucleares do Fósforo

Isótopo Estável	Abundância Isotópica(%)	Reações Nucleares	Isótopos Produzidos	Secção de Choque (mb)	Meia-Vida
P-31	100	(n, $\gamma$ )	P-32	282,0	14,3d
		(n, p)	Si-31	80,0	2,62h
		(n, $\alpha$ )	Al-28	140,0	2,31m
		(n, 2n)	P-30	10,0	2,50m

TABELA 1.2 - Reações Nucleares Interferentes

Reações	Secção de Choque (barn)	Abundância Isotópica(%)	T <sub>1/2</sub> (dias)	E <sub>máx</sub> ( $\beta^-$ ) keV
$^{31}\text{P}(n, \gamma)^{32}\text{P}$	0,180	100	14,3	1710
$^{32}\text{S}(n, p)^{32}\text{P}$	0,069	95	14,3	1710
$^{35}\text{Cl}(n, \alpha)^{32}\text{P}$	0,0088	75	14,3	1710
$^{30}\text{Si}(n, \gamma)^{31}\text{Si} \xrightarrow{\beta^-} ^{31}\text{P}(n, \gamma)^{32}\text{P}$	0,105	3,05	14,3	1710

TABELA 1.3 - Teor dos Elementos na Amostra de leite  
referência Power Milk A-11

Elemento	Teor (Wt. %)	Teor (ng/g)	Teor ( $\mu\text{g/g}$ )
P	0,910 $\pm$ 0,102	-	-
S	1,8	-	-
Cl	0,908 $\pm$ 0,174	-	-
Na	0,442 $\pm$ 0,03	-	-
K	1,72 $\pm$ 0,10	-	-
Si	-	-	34
Sb	-	1,4	-
Br	-	14	-

TABELA 1.4 - Teor dos Elementos na Amostra de Osso  
Referência Calcined Bovine A-3/1

Elemento	Teor (mg/g)
P	154,0 $\pm$ 1,0
Na	11,0 $\pm$ 0,2
Cl	2,20 $\pm$ 0,15

APÊNDICE 2

FIGURA 2.1 - PROCEDIMENTO PARA A ANÁLISE RADIOQUÍMICA DE FÓSFORO NA MATRIZ LEITE

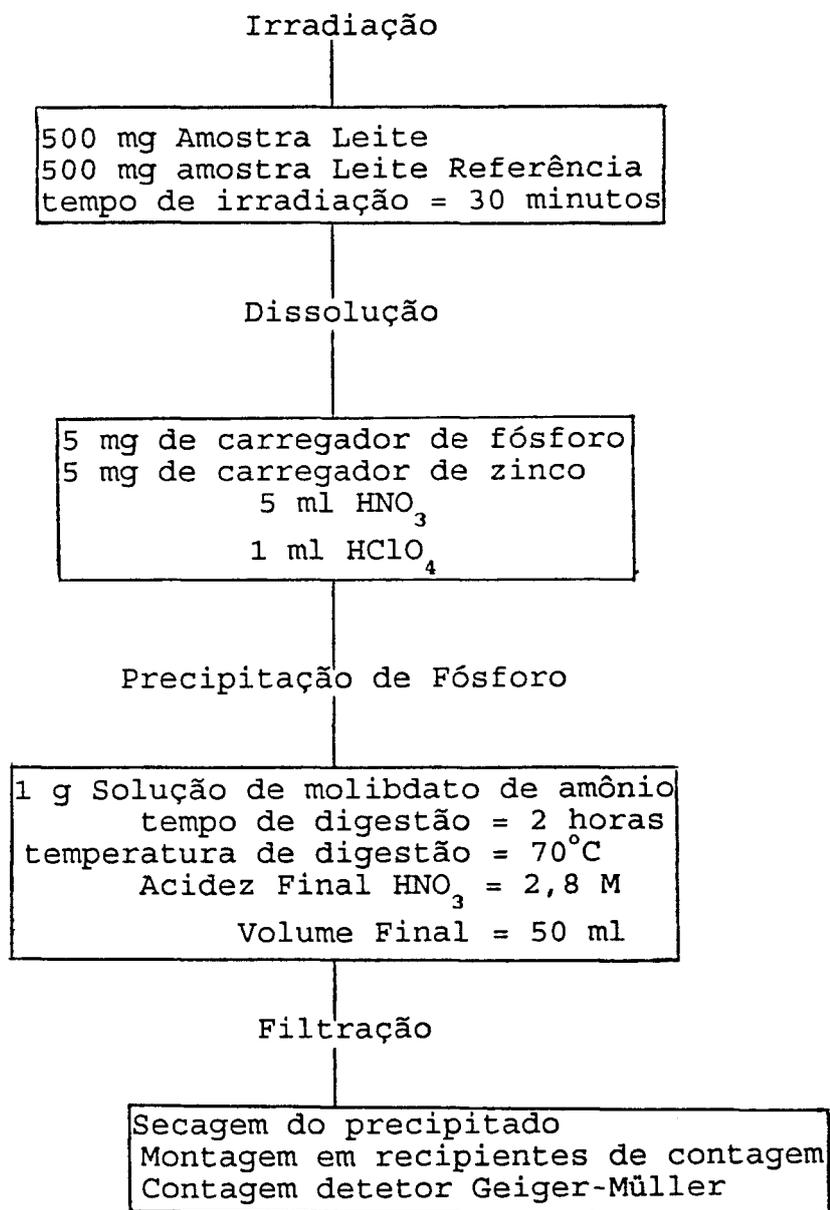


FIGURA 2.2 - PROCEDIMENTO PARA ANÁLISE RADIOQUÍMICA DO FÓSFORO NA MATRIZ OSSO

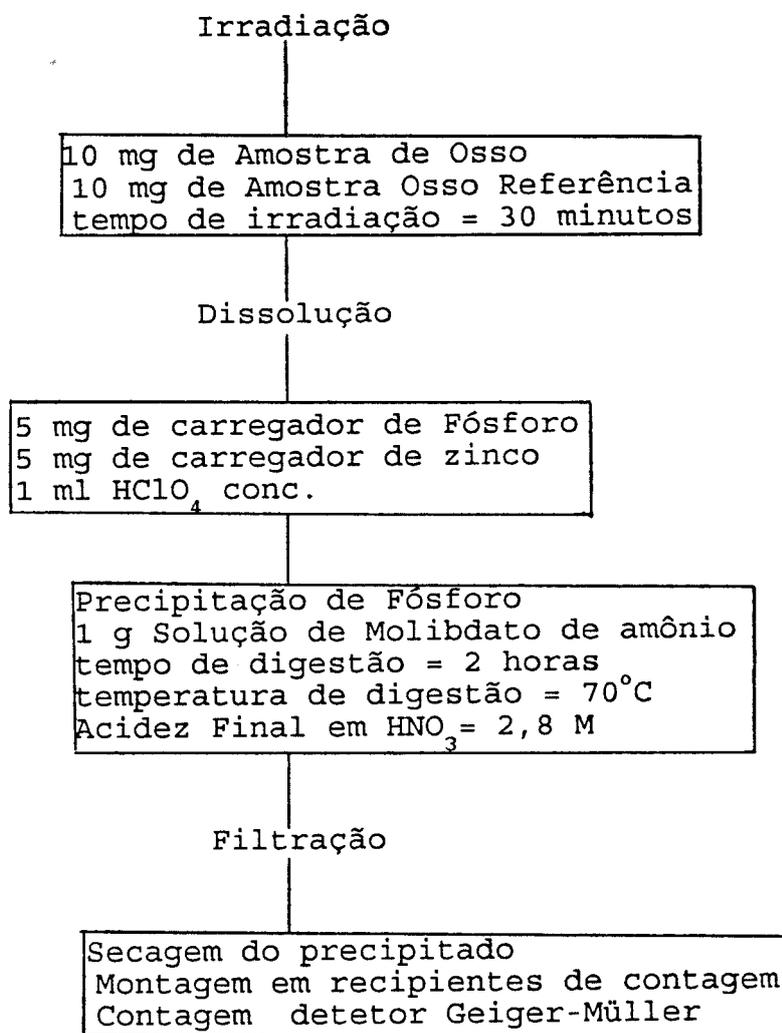


FIGURA 2.3 - PROCEDIMENTO PARA ANÁLISE SEM SEPARAÇÃO  
RADIOQUÍMICA DE FÓSFORO NA MATRIZ LEITE

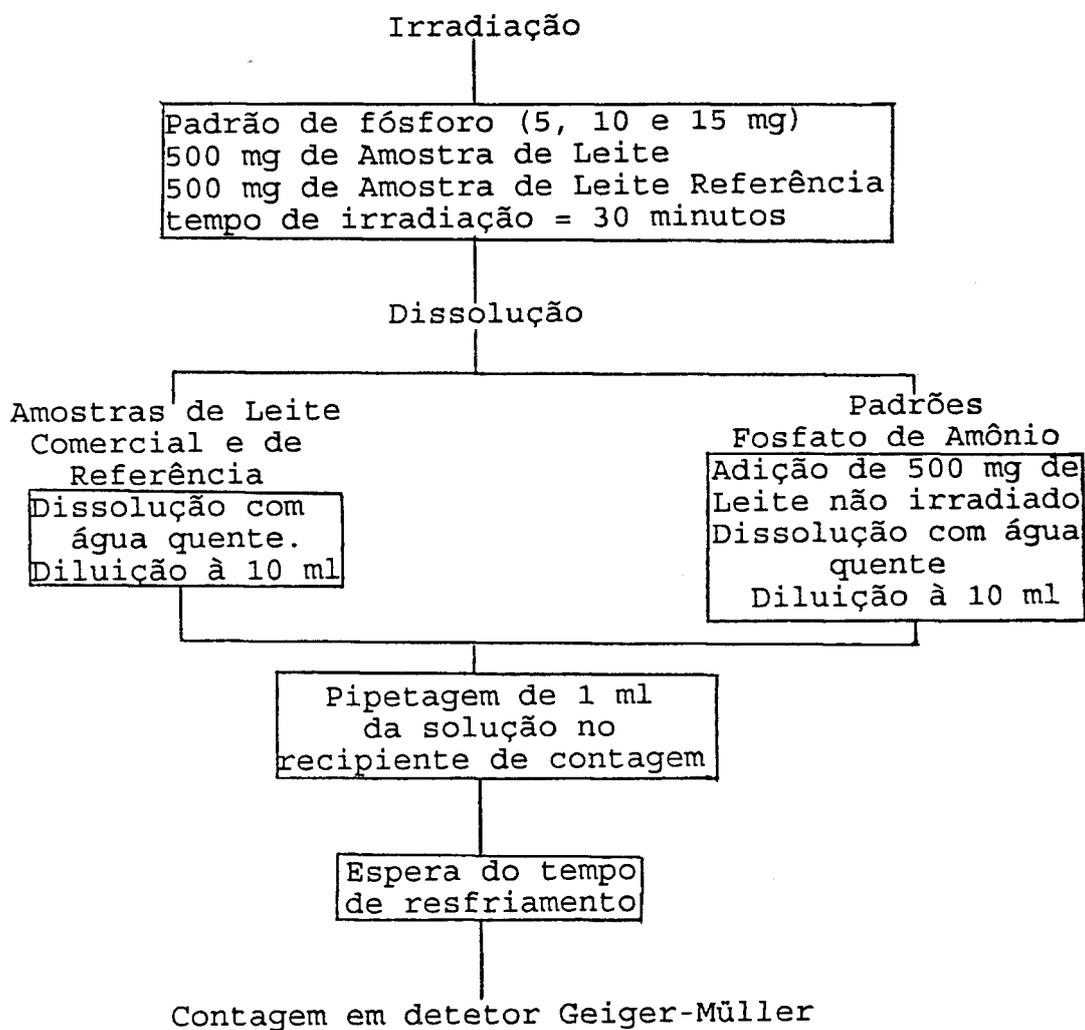
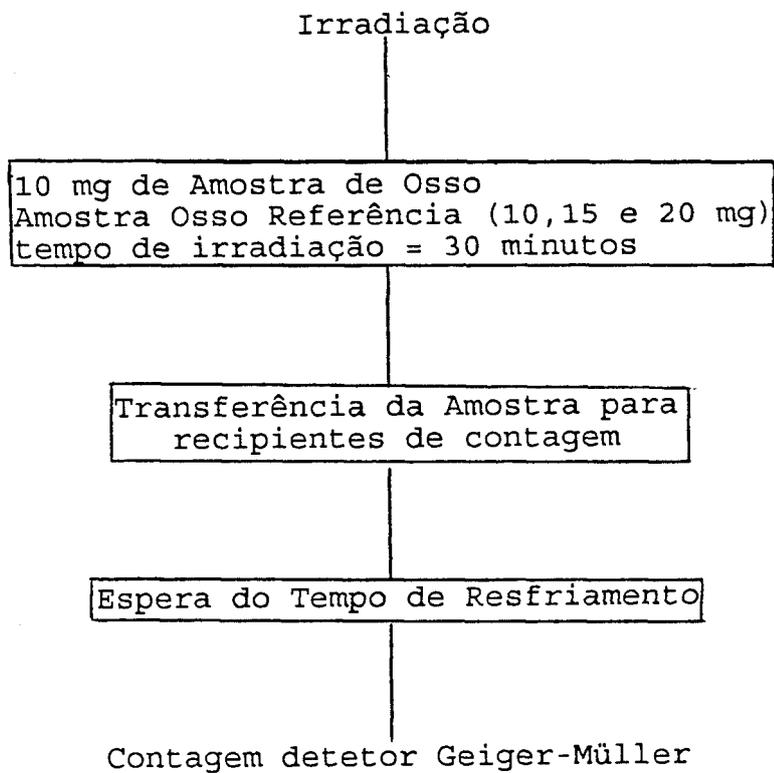


FIGURA 2.4 - PROCEDIMENTO PARA A ANÁLISE INSTRUMENTAL DE FÓSFORO NA MATRIZ OSSO



APÊNDICE 3

FIGURA 3.1 - Determinação da meia-vida do radionuclídeo fósforo-32 na amostra de leite.

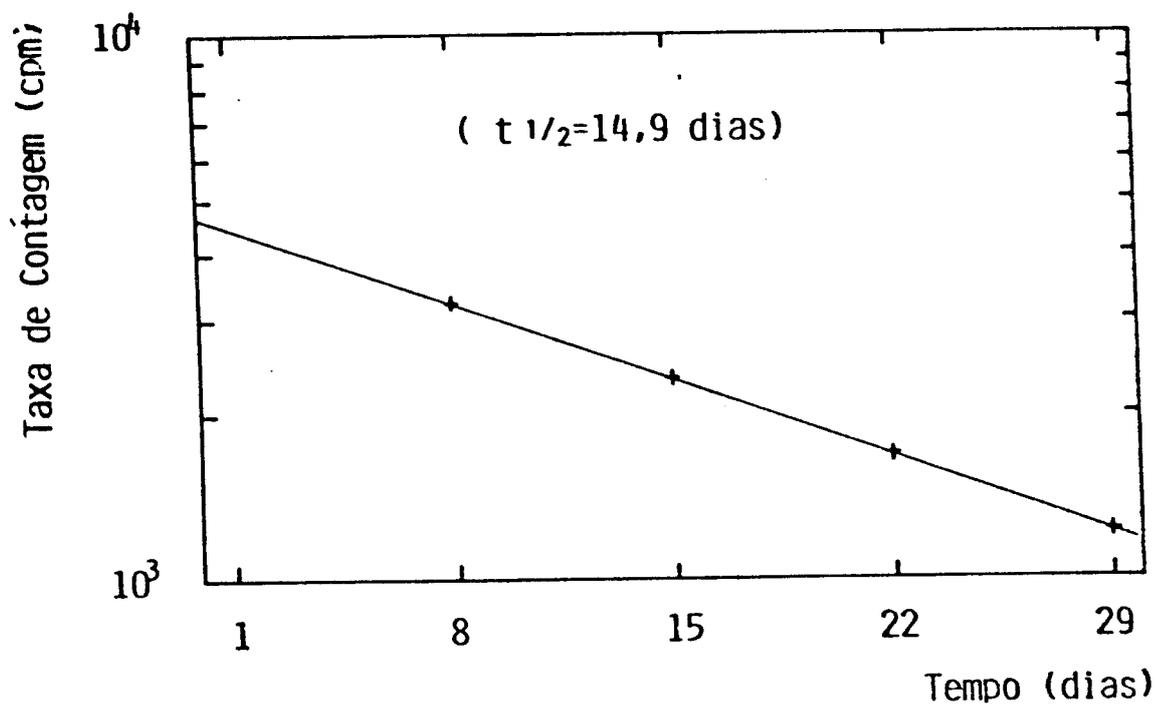


FIGURA 3.2 - Determinação da meia-vida do radionuclídeo fósforo-32 em amostras de osso.

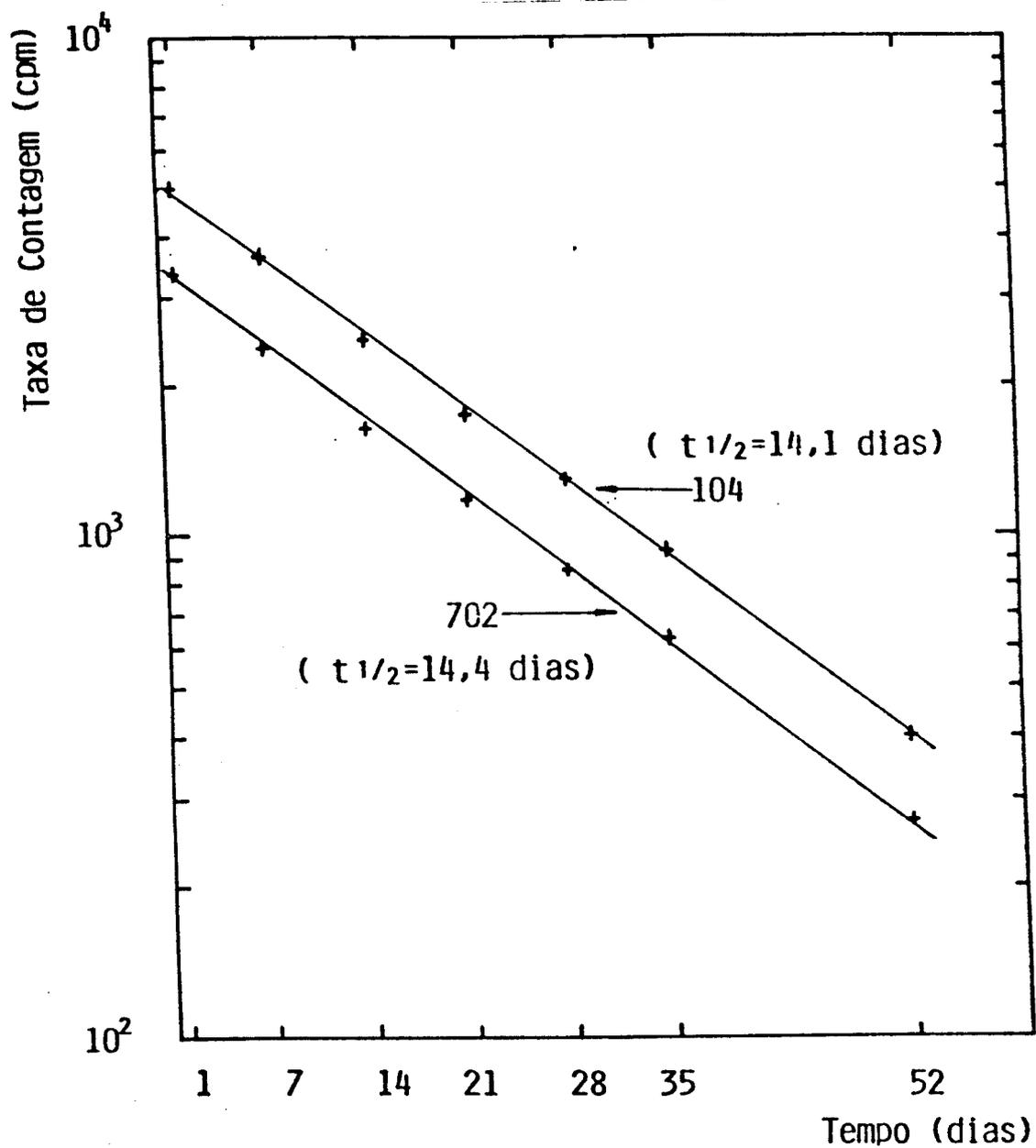


FIGURA 3.3 - Espectro da matriz osso antes<sup>(a)</sup> e após<sup>(b)</sup> o processamento químico

