

ANÁLISE DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA BONE MEAL (NIST 1486) E BONE ASH (NIST 1400) PELO MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Marcelo K. Takata*, Mítiko Saiki* e Aurélio Borelli**

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP
Caixa Postal 11049
05422-970, São Paulo, SP, Brasil

**Faculdade de Medicina da USP
Av. Dr. Arnaldo 455
01246-903, São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

Neste trabalho o método instrumental de análise por ativação com nêutrons foi aplicado a determinação de elementos Ba, Ca, Cl, Cr, Fe, Mg, Mn, Na, P, Sb, Sc, Sr e Zn em dois materiais biológicos de referência: “Bone Meal”(NIST 1486) e “Bone Ash” (NIST 1400). O objetivo deste trabalho foi avaliar a precisão e a exatidão dos resultados bem como dar uma contribuição na certificação desses materiais. As interferências encontradas na determinação de alguns elementos neste tipo de matriz foram também discutidas.

Palavras Chaves: análise por ativação com nêutrons, osso, materiais biológicos de referência

I. INTRODUÇÃO

As análises elementares em ossos humanos são de grande interesse na área médica para avaliar o papel dos elementos no estudo de sua fragilidade, para o estudo das doenças metabólicas decorrentes dos efeitos da mineralização e para os exames dos ossos nas interfaces com os materiais metálicos dos implantes.

Consequentemente o controle de qualidade dos resultados pela análise de materiais de referência de ossos torna-se uma etapa de grande importância para estabelecimento de metodologias adequadas para obtenção de resultados confiáveis.

O trabalho publicado por Tandon e colaboradores[1] salienta sobre a dificuldade encontrada na análise deste tipo de matriz devido aos problemas na amostragem e na coleta quando se trata de ossos humanos por causa das questões éticas.

Por outro lado os materiais de referência certificados têm sido de grande utilidade para a verificação da precisão e exatidão dos métodos analíticos. Para a matriz de tecidos ósseos são disponíveis atualmente os materiais de referência “Bone Meal” 1486 e “Bone Ash” 1400, ambos procedentes do National Institute of Standards and Technology (NIST), USA. Para a análise de tecidos ósseos várias técnicas têm sido desenvolvidas inclusive as análises por meio de testes “in vivo” e “in vitro”. Dentre os métodos “in vitro” utilizados na análise

de ossos destaca-se a fluorescência de raios X[2], a espectrometria de emissão de raios X por partículas[3], análise por emissão de raios gama por prótons[4] e método de ativação com nêutrons[5,6].

O método instrumental de análise por ativação com nêutrons tem desempenhado um importante papel na certificação de materiais de referência devido a alta sensibilidade desta técnica, exatidão e precisão dos resultados e também devido ao seu caráter não destrutivo e multielementar.

Neste trabalho, o método de análise por ativação foi aplicado para análise de materiais de referência “Bone Meal”- NIST 1486 e “Bone Ash”- NIST 1400 com o objetivo de avaliar a exatidão e a precisão dos resultados bem como obter os valores para os elementos não determinados visando uma contribuição na sua certificação.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Preparação das soluções padrões dos elementos. As soluções padrões dos elementos foram preparadas através da dissolução dos elementos nas formas metálicas, óxido ou sal com reagentes apropriados e usando água destilada para diluição. Para o caso do padrão de Ba, foi utilizada a solução adquirida já pronta da Spex Industries, Inc. e para o padrão de P foi utilizado o sal $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (dihidrogeno

fosfato de amônio), Puratronic 99,998% da Jonhson Matthey Chemical Limited. A partir das soluções padrões estoques foram preparadas as soluções mais diluídas contendo um ou mais elementos as quais foram guardadas em frascos de polietileno na geladeira.

Os padrões dos elementos para ativação no reator foram preparados pipetando-se alíquotas de 50 µL destas soluções sobre tiras de papel de filtro Whatman No.40 as quais foram colocadas num dessecador para a secagem. Posteriormente estas tiras foram colocadas em invólucros de polietileno que foram selados com auxílio de ferro elétrico para solda.

Na Tabela 1 são apresentadas as massas dos elementos utilizados na irradiação.

TABELA 1. Massas dos Elementos nos Padrões

Elemento	Massa (µg)
Ba	49,9
Ca	800,0
Cl	100,0
Cr	1,6
Fe	271,0
Mg	1000,0
Mn	1,8
Na	64,8
P	15000
Sb	0,600
Sc	0,0559
Sr	505,814
Zn	34,6

Procedimento para análise por ativação. Cerca de 200 mg de cada um dos materiais de referência pesados em invólucros de polietileno foram irradiados juntamente com os padrões dos elementos sob fluxo de nêutrons térmicos de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ do reator nuclear de pesquisa IEA-R1m. Os tempos de irradiação utilizados foram de 1 minuto para análise de elementos cujos radioisótopos correspondentes apresentam meias-vidas curtas e de 8 horas para análise de elementos de meias-vidas longas.

Na irradiação curta, os padrões e as amostras foram colocados num mesmo invólucro de polietileno e acondicionados em um “coelho” de PVC.

Na irradiação longa, os invólucros de polietileno com os padrões e as amostras foram envoltos com folhas de alumínio e colocados em dispositivo “coelho” de alumínio.

Após adequados tempos de decaimento as medidas das atividades gama induzidas das amostras e padrões

fixados em pranchetas (panelinhas) de aço inoxidável foram feitas no detector de Ge hiperpuro da EG & G Ortec ligado ao cartão ACE8K, a um microcomputador e sistema eletrônico associado.

Para a determinação do P, foram feitas as medidas da atividade beta (β) de 1,71 MeV do ^{32}P de $T_{1/2} = 14,28$ dias num contador Geiger Müller, após um período de decaimento de aproximadamente 14 dias. Pelas contagens das atividades beta das amostras obtidas para diferentes tempos de decaimento foi feita a determinação da meia-vida e foi verificada que não há interferência de outros radioisótopos emissores beta na análise do ^{32}P .

A análise dos espectros gama foi feita usando programa VISPECT2 em linguagem TURBO BASIC. A identificação dos radioisótopos foi feita pelas energias dos raios gama e pelas meias-vidas. Na Tabela 2 são apresentadas as características nucleares dos radioisótopos medidos.

TABELA 2. Características Nucleares dos Radioisótopos

Ele-mento	Radioisóto-po medido	Meia-Vida	Energia dos Raios Gama (keV)
Ba	^{139}Ba	84,6 min	165,8
Ca	^{47}Ca	4,54 d	159,4/1297
	^{49}Ca	8,7 min	3084,5
Cl	^{38}Cl	37,2 min	1642,69
Cr	^{51}Cr	27,7 d	320,08
Fe	^{59}Fe	44,5 d	1099,2/1291,6
Mg	^{27}Mg	9,46 min	843,76/1014,4
Mn	^{56}Mn	2,58 h	846,76/1810,7
Na	^{24}Na	14,96 h	1368,6
P	^{32}P	14,3 d	1700 (beta)
Sb	^{124}Sb	60,2 d	602,73/1692
	^{122}Sb	2,70 d	564,2
Sc	^{46}Sc	83,81 d	889,3
Sr	^{85}Sr	64,84 d	514,0
	$^{87\text{m}}\text{Sr}$	2,81 h	388,4
Zn	^{65}Zn	243,6 d	1115,6

As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo utilizando-se o programa de computação ESPECTRO que utiliza a seguinte relação:

$$C_a = A_a m_p e^{\lambda(t_a - t_p)} / A_p M_a \quad (1)$$

onde os índices $\underline{a}$ e $\underline{p}$ se referem a amostra e padrão, respectivamente.

A = taxa de contagens

m_p = massa do elemento no padrão

M_a = massa total da amostra

λ = constante de decaimento = $0,693 / T_{1/2}$

$T_{1/2}$ = meia-vida do radioisótopo medido

t = tempo de decaimento do radioisótopo

C_a = concentração do elemento na amostra

marca FABBE-PRIMAR, modelo 219, à temperatura de 80°C por um período de cerca de 15h. Foram efetuadas as pesagens do material antes e após a secagem e os valores da porcentagem de perda dos materiais foram utilizadas para se obter os teores dos elementos na sua base seca. Na secagem foram obtidos os seguintes valores para porcentagem de perda média: 0,262% para Bone Ash e 2,71% para o Bone Meal.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 3 e 4 estão respectivamente os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência Bone Meal e Bone Ash juntamente com os valores dos certificados.

TABELA 3. Análise do Material de Referência Bone Meal (NIST 1486).

Elemento	n	$X \pm s$	s_r (%)	E_r (%)	Ref [7]
Ba ($\mu\text{g/g}$)	6	$247,8 \pm 30,5$	12,3		
Ca (%)	7	$26,3 \pm 1,9$	7,2	0,6	$26,50 \pm 0,24$
Cl ($\mu\text{g/g}$)	7	$196,3 \pm 20,5$	10,4		
Fe ($\mu\text{g/g}$)	4	$88,2 \pm 14,0$	15,9	10,9	99 ± 8
Mn ($\mu\text{g/kg}$)	5	$1017,8 \pm 116,6$	11,5		1000 (N)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	5	$4530,0 \pm 205,8$	4,5	11,6	4060 ± 19
Na ($\mu\text{g/g}$)	7	$4508,0 \pm 241,4$	5,4		5000 (N)
P (%)	4	$11,9 \pm 0,6$	4,7	3,6	$12,30 \pm 0,25$
Sr ($\mu\text{g/g}$)	7	$232,5 \pm 27,7$	11,9	11,9	264 ± 8
Zn ($\mu\text{g/g}$)	4	$135,1 \pm 9,0$	6,6	8,1	147 ± 16

(N) – indica valor informativo

n = número de determinações, X = média aritmética; s = desvio padrão individual; s_r = desvio padrão relativo

E_r = porcentagem de erro relativo

TABELA 4. Análise do Material de Referência Bone Ash (NIST 1400).

Elemento	n	$X \pm s$	s_r (%)	E_r (%)	Ref [8]
Ba ($\mu\text{g/g}$)	5	$230,2 \pm 19,8$	8,6		
Ca (%)	6	$35,9 \pm 2,4$	6,6	5,9	$38,1800 \pm 0,0000$
Cl ($\mu\text{g/g}$)	5	$209,0 \pm 23,3$	11,1		
Cr ($\mu\text{g/g}$)	4	$2,9 \pm 0,6$	19,5		
Fe ($\mu\text{g/g}$)	4	$594,5 \pm 32,0$	5,4	9,9	660 ± 27
Mn ($\mu\text{g/kg}$)	5	$17,3 \pm 0,7$	4,0		17 (N)
Mg ($\mu\text{g/g}$)	5	$6384,0 \pm 300,5$	4,7	6,7	6840 ± 137
Na ($\mu\text{g/g}$)	4	$4925,0 \pm 287,2$	5,8		6000 (N)
P (%)	2	$17,3 \pm 0,9$	5,2	3,2	$17,910 \pm 0,179$
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	4	$558,4 \pm 41,3$	7,4		
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	3	$60,2 \pm 1,4$	2,3		
Sr ($\mu\text{g/g}$)	4	$219,7 \pm 22,5$	10,2	11,8	249 ± 7

Zn (µg/g)	4	167,0 ± 12,9	7,7	7,7	181 ± 3
-----------	---	--------------	-----	-----	---------

Foram determinadas as concentrações dos elementos Ba, Ca, Cl, Cr, Fe, Mn, Mg, Na, P, Sb, Sc, Sr e Zn e os resultados obtidos apresentaram, em geral, uma boa precisão com desvios padrões relativos variando de 4 a 12%. Os resultados menos precisos foram obtidos para Fe no material de referência Bone Meal 1486 e Cr no material Bone Ash 1400 pois foram obtidos desvios padrões de 15,9 e 19,5%, respectivamente. Na análise do Fe as baixas taxas de contagens obtidas para os fotopicos de 1099 e 1292 keV do ^{59}Fe e a alta atividade do ^{32}P contribuíram na baixa reprodutibilidade da análise deste elemento. A alta atividade do ^{32}P impediu a medida das amostras próximo ao detector e além disso as partículas beta emitidas pelo ^{32}P devido ao efeito “bremsstrahlung” (radiação de frenagem) produziram um espectro contínuo que mascarou os fotopicos dos radioisótopos de interesse. Os resultados obtidos para Cr foram menos precisos devido ao baixo teor deste elemento no material Bone Ash. No material de referência Bone Meal o Cr não foi detectado.

As análises de P foram também realizadas pela medida gama do ^{28}Al formada na reação nuclear $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$. Entretanto os resultados obtidos não foram reprodutíveis e exatos. Foram obtidos resultados mais elevados de P do que os valores apresentados no certificado. Esta discrepância se deve provavelmente a alta atividade do ^{32}P e a do ^{24}Na que mascara os fotopicos menos intensos e a presença dos elementos Al e Si nestes materiais analisados. O ^{28}Al medido na análise do P se forma também nas reações $^{27}\text{Al}(n,\gamma)^{28}\text{Al}$ e $^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$. Por outro lado as interferências induzidas pelas reações $^{32}\text{S}(n,p)^{32}\text{P}$ e $^{35}\text{Cl}(n,\alpha)^{32}\text{P}$ puderam ser desprezadas devido aos baixos teores de S e Cl nestas amostras em comparação ao do P.

A comparação dos resultados obtidos com os valores certificados indicam, em geral, uma boa concordância com percentagens de erros relativos inferiores a 12%. Os resultados obtidos para Ba, Cl, Mn, Na no material Bone Meal e para Ba, Cl, Cr, Mn, Sb e Sc no Bone Ash constituem uma contribuição do presente trabalho para a sua certificação.

Pelos resultados obtidos conclui-se que a análise por ativação com nêutrons é um método bastante viável para análise de tecidos ósseos.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP e a CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

[1] Tandon, L. , Iyengar, G.V. , Parr, R.M., **A Review of Radiologically Important Trace Elements in Human Bones**, Submetido para publicação na revista Appl. Rad. Isot.

[2] Zaichick, V.Y. **Instrumental Activation and x ray fluorescent analysis of human bone in health and disease**. J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 179, n.2, p. 295-303, 1994.

[3] Hyvönen-Dabek, M. , Räisänen, J. , Dabek, J.T., **Trace Element Study of Human Bone by X Ray Emission Analysis Using an External Protom Beam**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 63, n. 1, p. 163-175, 1981.

[4] Hyvönen-Dabek, M., **Proton Induced Prompt Gamma Ray Emission for Determination of Light Elements in Human Bone**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 63, n. 2, p. 367-378, 1981.

[5] El-Amri, F.A. , El-Kabroun, M.A.R., **Trace Element Concentrations in Human Bone Using Instrumental Neutron Activation Analysis**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 217, n. 2, p. 205-207, 1997.

[6] Porte, N. , Mauerhofer, E. , Denschlag, H.O., **Determination of Phosphorus by Instrumental Neutron Activation and Bremsstrahlung Measurement in Bone Samples**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 217, n. 2, p. 3-7, 1997.

[7] **National Institute of Standards & Technology**, Certificate of analysis, Standard Reference Material 1486 Bone Meal, 1992.

[8] **National Institute of Standards & Technology**, Certificate of analysis, Standard Reference Material 1400 Bone Ash, 1992.

ABSTRACT

In this work instrumental neutron activation analysis has been applied to determine Ba, Ca, Cl, Cr, Fe, Mg, Mn, Na, P, Sb, Sc, Sr and Zn in two biological reference materials NIST 1486 Bone Meal and NIST 1400 Bone Ash. The purpose of this work was to evaluate the precision and the accuracy of the results as well as to give a contribution to certificate these materials. Interferences found in the determination of some elements were also discussed.

