

ANÁLISE DE FÓSFORO EM AMOSTRAS DE LEITE PELO MÉTODO DE
ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NEUTRONS

Rosângela M. de Oliveira e Ieda I. L. Cunha

Divisão de Radioquímica

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - CNEN-SP

Caixa Postal 11049 - São Paulo - Brasil

RESUMO - Apresenta-se neste trabalho a determinação de fósforo em amostras de leite pelo método da análise por ativação instrumental com neutrons térmicos. O procedimento envolve uma irradiação curta de amostras e padrões no reator do IPEN e medida da radiação beta emitida pelo fósforo - 32, após um tempo de decaimento. Foram estudadas as possíveis fontes de erro na análise e após o estabelecimento do método este foi aplicado em materiais de referência com teor de fósforo conhecido.

ABSTRACT - The determination of phosphorus in milk samples by instrumental thermal neutron activation analysis is described. The procedure involves a short irradiation in a nuclear reactor and measurement of the beta radiation emitted by phosphorus - 32 after a suitable decay period. The sources of error were studied and the established method was applied to standard reference materials of known phosphorus content.

1. INTRODUÇÃO

A determinação de fósforo em amostras biológicas tais como produtos alimentícios, tecidos do corpo humano e plantas é de grande importância devida ao seu papel vital em vários processos biológicos. A necessidade da determinação de elementos traços em amostras de mais variados tipos de materiais, fez com que os métodos analíticos se desenvolvessem no sentido instrumental, para evitar separações laboriosas e de execução demorada. Dentre estes métodos destaca-se a análise por ativação com neutrons.

A análise por ativação com neutrons térmicos é um método eficiente para a determinação de pequenas quantidades de fósforo e tem sido amplamente usada na análise de fósforo para os diversos tipos de amostras /1-5/.

O método se baseia na irradiação simultânea de amostras e padrões com neutrons térmicos, com a formação do radioisótopo fósforo - 32, por meio da reação $^{31}\text{P} (n, \gamma) ^{32}\text{P}$.

Após a irradiação, as amostras e padrões são colocados em recipientes próprios para a contagem beta. Os elementos interferentes na análise podem ser eliminados com o decaimento dos radioisótopos de meias vidas curtas ou com o emprego de absorvedores de alumínio que captam as radiações betas de energia menor que as emitidas pela radioisótopo fósforo - 32 ($E_{\beta} = 1.7 \text{ MeV}$).

Weginwar e colaboradores /2/ determinaram fósforo em vários padrões do AIEA e NBS e em amostras biológicas, tais como sangue, folhas de planta e leite. O método emprega a irradiação térmica seguida de contagem beta do fósforo - 32, usando absorvedores de alumínio com diferentes espessuras. Os elementos considerados interferentes são o enxofre, cálcio, sódio, potássio e rubídio. Bajo e Wyttenbach /3/ estudaram as fontes de erro associadas a análise instrumental do fósforo em materiais biológicos, por meio da análise por ativação. A seguir, procederam à determinação do fósforo em 10 materiais certificados.

Steinnes /4/ procedeu à determinação de fósforo em amostras de rochas, fazendo inicialmente uma análise qualitativa. Constatou-se que 26 elementos podem interferir e estes podem ser eliminados pelo decaimento dos radionuclídeos de meia vida curta ou contando-se a amostra com absorvedores de alumínio.

Lavi e colaboradores /5/ determinaram as concentrações de magnésio, alumínio, fósforo, cobre e manganês em amostras de soro de sangue e leite. As amostras foram pipetadas sobre uma folha de mylar, secas no dessecador, colocadas em cápsulas de polietileno e seladas. Após a irradiação as amostras foram contadas usando o detector Geiger-Müller.

Este trabalho tem como objetivo determinar o teor de fósforo em amostras de leite, usando o método de análise por ativação instrumental com neutrons térmicos. As amostras de leite foram irradiadas juntamente com padrões de fósforo (fosfato de amônio). A contagem foi feita em diferentes tempos de resfriamento, usando um detector Geiger-Müller. Os elementos interferentes que são emissores gama foram determinados contando-se amostra em um detector Ge-Li.

Após o estabelecimento do procedimento de análise, este foi aplicado em padrões de referência e com os resultados obtidos pode-se estimar os erros associados à análise.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Irradiação das Amostras

Amostras de leite e padrões de fósforo (fosfato de amônio) foram pesados em sacos plásticos e colocados dentro de um mesmo recipiente de irradiação. A seguir, foram irradiados durante 30 minutos no reator do IPEN sob um fluxo de neutrons de $10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \text{ .s}^{-1}$.

2.2 - Contagem das Amostras

O fósforo-32 sendo um emissor beta foi detectado empregando-se um contador Geiger-Müller. As amostras foram colocadas em recipientes próprios para a contagem (bandeja de alumínio, diâmetro de 2,5 cm).

2.3 - Preparo das Amostras para Contagem

O principal problema da análise está relacionado à contagem do fósforo-32. A contagem de um emissor beta é bastante sensível a geometria de contagem, sendo de grande importância a homogeneidade, a espessura e a taxa de contagem apresentadas pela amostra. Qualquer diferença nestes parâmetros acarreta erro na análise.

Foram feitos vários experimentos para verificar qual seria o melhor modo para preparar a amostra e o padrão para contagem.

Foi verificado que não se pode simplesmente colocar as amostras irradiadas (com ou sem envelopes plásticos) diretamente na bandeja de alumínio. Deve-se primeiro dissolver a amostra e esta ser seca na bandeja de alumínio.

No caso da amostra de leite, os melhores resultados foram obtidos quando se dissolveu o leite em água e uma alíquota da solução foi aeca na bandeja de alumínio, sob a ação de raios infra-vermelhos. Desta forma, obteve-se uma camada fina e homogênea do fósforo depositado.

Para o padrão de fósforo, deve-se seguir este mesmo procedimento, porém a dissolução do sal deve ser feita na presença de leite não irradiado, para que o padrão seja contado na mesma geometria que a amostra de leite.

2.4 - Procedimento para a Análise Instrumental de Fósforo

Foram irradiados 3 padrões de fósforo (com massas de 5, 10 e 15 mg em fósforo) simultaneamente com 2 amostras de leite a serem analisadas (massas de 500 mg) e uma amostra de referência (500 mg de amostra, com massa de fósforo conhecida).

As amostras e padrões foram dissolvidos com água e diluídos para um volume de 10 ml cada. No caso dos padrões, esses foram dissolvidos na presença de 500 mg de leite não irradiados.

Pipetou-se 1 ml de cada solução nas respectivas bandejas e a seguir fez-se as contagens no detector Geiger-Müller empregando-se diferentes tempos de resfriamento.

Foram feitas correções nas contagens devido ao tempo morto, tempo de contagem e tempo de resfriamento durante a contagem.

A atividade (contagem) do fósforo-32 é diretamente proporcional a massa de fósforo presente na amostra. Portanto, com os valores das massas de fósforo presente nos padrões e seus respectivos valores de contagens, construiu-se a reta atividade em função da massa de fósforo. Pelo método dos mínimos quadrados, obteve-se a equação da reta (1) e os valores das constantes a e b.

$$y = a + bx \quad (1)$$

onde

y = atividade do fósforo em cpm

x = massa do fósforo em mg

Nota: Obteve-se uma equação da reta para cada tempo de resfriamento empregado.

Sendo conhecidos os valores das constantes a e b e a contagem de fósforo na amostra de leite em análise, determinou-se por meio da equação (1) a massa de fósforo presente no leite.

De modo análogo, procedeu-se à determinação do fósforo na amostra de leite referência. O valor encontrado experimentalmente foi comparado com o valor de referência e o erro percentual foi calculado pela equação (2).

$$\text{Erro Percentual } \% = \frac{\text{Valor Referência} - \text{Valor encontrado}}{\text{Valor Referência}} \times 100 \quad (2)$$

2.5 - Análise Instrumental do Fósforo

Após terem sido definidos os parâmetros experimentais para a análise do fósforo, procedeu-se a análise do fósforo como descrito no item 2.4.

As amostras foram contadas com 1, 16 e 21 dias de resfriamento. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

As amostras A_1 e A_2 são diferentes porções de um mesmo leite. Verifica-se que para um mesmo tempo de resfriamento, os valores obtidos para a contagem de fósforo na amostra 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 e diminui para 0,7% para 21 dias de resfriamento.

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

Por meio da espectrometria gama, foi possível verificar a presença dos radioisótopos bromo-82, sódio-24 e antimônio-122. Esses radioisótopos têm meias vidas curtíssimas e com o decorrer do resfriamento da amostra, diminui a interferência desses radioisótopos na análise do fósforo.

Conclui-se então, que é conveniente que se espere um tempo de resfriamento de pelo menos 15 dias para se obter um menor erro na análise.

2.6 - Verificação da Reprodutibilidade da Análise Instrumental do Fósforo na Matriz Leite

Com objetivo de verificar se o método instrumental de análise de fósforo descrito no item 2.4 é reprodutível, foi feita uma série de quatro irradiações, que consistiu na irradiação simultânea de três padrões de fósforo e duas amostras de um mesmo leite durante 30 minutos. As amostras e padrões foram dissolvidos e preparados para contagem conforme descrito no item 2.4. Após um tempo de resfriamento de 21 dias, procedeu-se à contagem das amostras. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

2.7 - Verificação da Homogeneidade dos Resultados

A verificação da homogeneidade dos resultados foi feita aplicando-se o teste $r_{\text{máx}}$ e $r_{\text{mín}}$.

Os valores $r_{\text{máx}}$ e $r_{\text{mín}}$ foram determinados pelas equações (3) e (4) respectivamente.

$$r_{\text{máx}} = \frac{x_{\text{máx}} - \bar{x}}{s_x \sqrt{\frac{(n-1)}{n}}} \quad (3)$$

$$r_{\min} = \frac{\bar{x} - x_{\min}}{S_x \sqrt{\frac{(n-1)}{n}}} \quad (4), \quad \text{onde}$$

x_{\max} e x_{\min} são respectivamente os valores máximo e mínimo de uma série de resultados.

\bar{x} é a média aritmética dos resultados

S_x é o desvio padrão

n é o número de determinações efetuadas

Resultados Obtidos:

Valor médio	$(\bar{X}) = 0,89$
Desvio padrão	$(S_x) = 0,066$
r máximo	= 1,458
r mínimo	= 1,295
n	= 8

Segundo Nalinov /6/, para um nível de significância de 10% e $n-2$ graus de liberdade ($f = n-2 = 6$), o valor de r tabelado é de 2,041. Portanto, como os valores de r_{\max} e r_{\min} calculados são menores que o valor tabelado, conclui-se que o conjunto de resultados apresentados na Tabela 2 é homogêneo. O valor médio obtido para a porcentagem de fósforo na amostra de leite é de 0,89%, com um desvio padrão de 6,6%.

3. CONCLUSÃO

O método de análise estabelecido é simples, possibilitando resultados com boa exatidão e reprodutibilidade.

O método pode ser aplicado em análises rotineiras de determinação do teor de fósforo em amostras de leite, sem que se recorra a separação radioquímica do fósforo da matriz proteica do leite e dos demais elementos presentes na amostra irradiada.

4. REFERENCIAS

- /1/ Henderson, P. The Determination of Phosphorus in Rocks and Minerals by Activation Analysis. In: Anal. Chim. Acta, 39 : 512-5, 1967
- /2/ Weginwar, R. G.; Samudralwar, D.L.; Garg, A.N. Determination of Phosphorus in Biological Sample by Thermal Neutron Activation Followed by β - counting. In: J. Radioanal. Nucl. Chem; Articles, 133 : 317-24, 1989.
- /3/ Bajo, S.; Wyttenbach. Instrumental Neutron-Activation Analysis in the Determination of Phosphorus in Biological Materials by Bremsstrahlung Measurement. EIR - Bericht Nr 607, 1986.
- /4/ Steinnnes, E. Determination of Phosphorus in Silicate Rocks by Neutron Activation and Direct β Counting. In Anal Chim. Acta, 57: 451-56, 1971.
- /5/ Lavi, N.; Lux, F.; Alfassi, Z.B. Determination of Mg, Al, P, Cu and Mn in Biological Fluids by Neutron Activation Analysis. In J. Radioanal. Nucl. Chem, Articles, 129 : 93-101, 1989.
- /6/ Nalimov, V. The Application of Mathematical Statistics to Chemical Analysis. Addison - Wesley Publishing Company, INC Reading, Massachusetts, 1963.

TABELA 1 - ANÁLISE INSTRUMENTAL DE FÓSFORO

Tempo de Resfriamento (dias)	% P na Amostra de Leite Analisado		Massa de P no Leite Certificado (mg)	% Erro na Análise
	A-1	A-2		
1	0,92	0,90	0,503	10,7
16	0,80	0,79	0,449	1,3
21	0,81	0,82	0,452	0,7

valor médio: 0,84 Valor Certificado:
 desvio padrão: 5,5% do: 0,455 mg

TABELA 2 - VERIFICAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DA ANÁLISE INSTRUMENTAL DO FÓSFORO NA MATRIZ LEITE

% DE P NA AMOSTRA DE LEITE ANALISADA		
AMOSTRA A1	AMOSTRA A2	
0,86	0,84	primeira irradiação
0,81	0,82	segunda irradiação
0,90	0,93	terceira irradiação
0,97	0,98	quarta irradiação

valor médio : 0,89
 desvio padrão : 6,6%