

DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO EM MATERIAIS BIOLÓGICOS POR ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS INSTRUMENTAL USANDO O RADIOISÓTOPO ^{77m}Se

Marina B. A. Vasconcellos*, Edson G. Moreira*, Marília G. M. Catharino*, Alexandra M. Tokura* e Mitiko Saiki*

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

RESUMO

O selênio é um elemento essencial na dieta humana por estar ligado à proteção contra substâncias cancerígenas, problemas de coração, hipertensão, melhora da atividade sexual, entre outros. Neste trabalho foram determinadas as concentrações de Se em amostras dos materiais de referência biológicos "Human Hair" BCR-CRM 397, "Spiked Human Hair" IAEA-085, "Unspiked Human Hair" IAEA-086; "Dogfish Liver" DOLT-1 e "Dogfish Muscle" DORM-1 com o intuito de otimizar o método de análise por ativação com nêutrons instrumental, AANI, utilizando-se o radioisótopo ^{77m}Se . O uso do método permite análise de grande número de amostras com tempo de experimento e custos reduzidos. Os melhores resultados foram obtidos com o reator a 5 MW e tempo de irradiação de 10 a 20 s. Nessas condições foram obtidos desvios-padrão relativos e erros relativos em geral menores que 10%.

Palavras-chave: análise por ativação, materiais biológicos, selênio.

I. INTRODUÇÃO

O selênio é um elemento traço essencial na dieta humana. Ainda que o papel metabólico desempenhado pelo elemento não esteja totalmente esclarecido, sua essencialidade provém do fato de atuar como componente de enzimas oxidativas como a glutathione peroxidase, que neutralizam espécies ativas de oxigênio como H_2O_2 e $\text{O}_2^{\cdot-}$. [1,2]. Sua ação está ligada à proteção contra substâncias cancerígenas; contra problemas do coração; melhora da atividade sexual; hipertensão; entre outros. O intervalo ótimo de consumo parece ser restrito e assim, se na concentração ideal é essencial à saúde, em quantidades mais elevadas pode ser bastante tóxico e dar origem a diversas disfunções metabólicas como danos aos rins, fígado, cérebro e ao sistema nervoso central. Níveis elevados de Se podem refletir exposições ocupacionais ou ambientais [3].

A distribuição do selênio é desigual na biosfera e sua concentração, espécies químicas e biodisponibilidade em alimentos dependem em grande parte do ambiente geoquímico onde estes são cultivados. Por esta razão, há interesse crescente no monitoramento dos níveis de selênio em alimentos, águas, solos e em tecidos e fluidos humanos.

O método que está sendo aplicado no presente trabalho para a determinação do teor de Se é a análise por ativação com nêutrons instrumental, AANI, que consiste

em tornar radioativos isótopos do elemento a ser determinado por meio da captura de partícula ativadora e em seguida medir a atividade deste radioisótopo, geralmente em espectrômetros de raios gama. A vantagem da AANI é a capacidade de determinação de muitos elementos com alta sensibilidade, precisão e exatidão, em concentrações da ordem de partes por milhão a partes por bilhão.

O selênio apresenta seis isótopos estáveis que podem produzir sete nuclídeos pela ativação com nêutrons. Destes, o radioisótopo ^{75}Se , com meia-vida de 119,8 dias é o mais utilizado, com o qual podem-se obter bons resultados. Porém, sua baixa atividade é mascarada pelas atividades de radioisótopos mais abundantes como ^{24}Na , ^{38}Cl e ^{82}Br e assim, tempos de irradiação, de decaimento e de medição dever ser longos para melhorar a sensibilidade, o que torna o procedimento demorado e caro podendo não ser adequado para análises de rotina de grandes quantidades de amostras com Se [2,4].

O uso do radioisótopo ^{77m}Se , de meia-vida 17,45 s e pico de energia em 161,9 keV permite análises com tempo de experimento e custos relativamente reduzidos, possibilitando a análise de número bem maior de alíquotas para amostras biológicas ou ambientais. Por outro lado, as condições experimentais como tempo de irradiação, tempo de decaimento e tempo de medição da radiação gama

emitida devem ser conhecidas e cuidadosamente controladas [2].

O presente trabalho tem como objetivo a otimização do método de AANI para determinação de Se por intermédio do radioisótopo de meia-vida curta ^{77m}Se com uso do reator nuclear IEA-R1m. Para isto, irradiaram-se os materiais de referência biológicos “Human Hair” BCR-CRM 397, “Spiked Human Hair” IAEA-085, “Unspiked Human Hair” IAEA-086; “Dogfish Liver” DOLT-1 e “Dogfish Muscle” DORM-1, de forma a se obter dados sobre a precisão e exatidão do método. Devido às alterações na potência do reator nuclear IEA-R1m de 5 para 2 MW durante a execução deste trabalho, as condições experimentais foram variadas e estudadas.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Materiais de Referência. Na Tabela 1 estão apresentados os materiais de referência certificados utilizados neste trabalho, bem como as respectivas concentrações de Se. No caso dos padrões IAEA-085 e IAEA-086, as concentrações fornecidas não são certificadas para Se, mas apenas “de informação”, sendo os valores em parênteses os intervalos de confiança.

TABELA 1. Materiais de Referência Utilizados

Material de Referência	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)
“Human Hair” BCR-CRM 397	2,00
“Spiked Human Hair” IAEA-085	1,1 (0,9 - 1,2)
“Unspiked Humna Hair” IAEA-086	1,0 (0,8 - 1,2)
“Dogfish Liver” DOLT-1	7,34
“Dogfish Muscle” DORM-1	1,62

Padrões Pipetados. Irradiaram-se juntamente com os materiais de referência, padrões de Se preparados ao se pipetar alíquotas de 100 μL de soluções padrão de Se em tiras de papel de filtro Whatman n° 40. Após secas, as tiras foram dobradas e colocadas em invólucros de polietileno de forma a manter a mesma geometria dos invólucros dos materiais de referência. Foram utilizadas duas soluções padrão de Se: solução padrão certificada adquirida da Spex Chemical, na forma nitrato, de concentração 1,000 mg/mL e solução de concentração 2,009 mg/mL preparada pela dissolução de Se em pó da May & Baker Ltd. em HNO_3 concentrado com posterior dissolução com água destilada.

Irradiação dos Materiais de Referência. Cerca de 100 a 200 mg dos materiais de referência foram pesados em invólucros de polietileno lavados com HNO_3 diluído e água

destilada. Os padrões foram irradiados juntamente com os padrões pipetados na estação pneumática n° 4 por períodos que variaram entre 10 a 30 s sob fluxo de nêutrons térmicos de 10^{11} ou 10^{12} n cm^{-2} s^{-1} , dependendo da potência do reator nuclear IEA-R1m.

Determinação de Se por AANI. Para cada recipiente de irradiação, uma alíquota de material de referência e uma de padrão pipetado foram enviados simultaneamente ao reator. Imediatamente após a irradiação as atividades gama induzidas foram medidas usando detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GX2020 acoplado à sistema multicanal e à eletrônica associada também da marca CANBERRA. Foi utilizado o radioisótopo ^{77m}Se de meia-vida de 17,45 s, energia de raio gama 161,9 keV e que é formado na reação $^{76}\text{Se} (n,\gamma) ^{77m}\text{Se}$.

A aquisição dos espectros gama foi feita utilizando-se o programa VERSÃO II que fornece os valores das taxas de contagem e as energias dos raios gama. A concentração de Se foi calculada pelo método comparativo da AAN, utilizando-se o programa PAKI, próprio para irradiações curtas.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas de 1 a 6 estão apresentadas as concentrações de Se obtidas para os diversos padrões certificados utilizando-se padrões pipetados de selênio como padrão de comparação, ao se variar as condições de irradiação (tempo de irradiação e potência do reator). Os erros apresentados se referem ao erro estatístico das medidas de atividade, que representa a maior fonte de imprecisão em AAN.

Na Tabela 7 estão apresentados de forma concisa os resultados obtidos neste trabalho. Os valores de desvio-padrão e desvio-padrão relativo foram obtidos empregando-se a expressão clássica da Estatística. Já os resultados em parênteses foram obtidos como desvio-padrão da média por propagação dos erros das concentrações de Se de cada alíquota [5]. A primeira representa a dispersão dos resultados, enquanto a segunda fornece informações sobre a imprecisão dos resultados apresentados. Em alguns casos a diferença observada entre os dois desvios é bastante significativa, indicando que possivelmente algum fator durante o procedimento precisa ser otimizado para melhorar a reprodutibilidade. O erro relativo é utilizado na avaliação da exatidão do método utilizado.

Os resultados obtidos para o erro relativo são mais baixos com o reator a 5 MW. Isto ocorre pois pode-se irradiar por períodos de tempo menores, ficando assim favorecida a medição da atividade de radioisótopos de meia-vida curta como o ^{77m}Se , em detrimento de outros constituintes da matriz que se ativam bastante. Ainda que em pequenos períodos de irradiação. Além disso, os resultados mostram que existe tempo de irradiação ótimo

para cada potência do reator que garante resultados de desvio-padrão e erro relativos menores.

Também é possível observar que a constituição da matriz da amostra é muito importante. No caso dos padrões de cabelo analisados (BCR397, IAEA-085 e IAEA-086), o BCR-397 foi o que apresentou maior desvio-padrão. Isto ocorre porque este padrão apresenta teores elevados de Al e Mn que levam à formação dos picos de 1778,99 keV para o radioisótopo ^{28}Al (meia-vida de 2,24 min) e 846,76 keV para o ^{56}Mn (meia-vida de 2,58 horas) o que dificulta a análise do Se.

Nas amostras de origem marinha (DORT-1 e DORM-1), tanto o desvio-padrão quanto o erro relativo são altos se comparados com os obtidos para os padrões de cabelo pois a matriz destas amostras são bem mais complexas e possuem teores elevados de radioisótopos de meia-vida curta (^{24}Na , 1368,6 keV; meia-vida de 14,96 horas e ^{38}Cl , 1642,7 keV; meia-vida de 37,24 min) que interferem nos resultados obtidos para Se.

TABELA 2. Resultados para o Padrão IAEA-085

Material de Referência	Potência/Tempo de irradiação	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)
IAEA-085	5 MW / 20s	1,03 \pm 0,08
		1,10 \pm 0,11
		1,05 \pm 0,11
		1,17 \pm 0,11
		0,95 \pm 0,08
		1,03 \pm 0,10
	2 MW / 30s	1,34 \pm 0,20
		1,40 \pm 0,14
		1,03 \pm 0,13
		1,13 \pm 0,12
		0,96 \pm 0,11
		1,16 \pm 0,11

TABELA 3. Resultados para o Padrão IAEA-086

Material de Referência	Potência/Tempo de irradiação	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)
IAEA-086	5 MW / 20s	1,23 \pm 0,09
		1,06 \pm 0,09
		1,03 \pm 0,10
		1,35 \pm 0,15
		1,33 \pm 0,17
		1,28 \pm 0,14
	2 MW / 30s	1,49 \pm 0,20
		1,24 \pm 0,16
		0,89 \pm 0,13
		1,34 \pm 0,14
		1,32 \pm 0,14

1,72 \pm 0,20

TABELA 4. Resultados para o Padrão BCR-CRM 397

Material de Referência	Potência/Tempo de irradiação	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)	
BCR 397	5MW/20s	1,72 \pm 0,14	
		1,52 \pm 0,15	
		2,82 \pm 0,23	
		2,06 \pm 0,23	
		1,98 \pm 0,27	
		2,78 \pm 0,27	
		3,22 \pm 0,24	
		2,66 \pm 0,16	
		2,77 \pm 0,26	
		3,01 \pm 0,22	
		3,32 \pm 0,26	
		5MW/15s	2,46 \pm 0,21
			2,78 \pm 0,46
			2,63 \pm 0,18
	3,06 \pm 0,27		
	2,79 \pm 0,27		
	2,51 \pm 0,25		
	2,48 \pm 0,32		
	2,07 \pm 0,25		
	5MW/10s		2,53 \pm 0,24
			2,21 \pm 0,26
			2,74 \pm 0,28
			2,20 \pm 0,18
			2,44 \pm 0,25
			1,42 \pm 0,38
			2,53 \pm 0,81
			1,92 \pm 0,76
		1,17 \pm 0,45	
		2,54 \pm 0,20	
	2MW/30s	2,35 \pm 0,20	
2,24 \pm 0,20			
2,07 \pm 0,37			
1,93 \pm 0,23			
2,93 \pm 0,30			
2,59 \pm 0,34			
2,07 \pm 0,30			
1,64 \pm 0,29			
1,42 \pm 0,40			
2,41 \pm 0,32			

TABELA 5. Resultados para o Padrão DOLT-1

Material de Referência	Potência/Tempo de irradiação	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)
DOLT-1	5 MW / 20s	8,82 \pm 0,65
		9,26 \pm 0,55
		9,11 \pm 0,89
		7,56 \pm 1,80
		7,22 \pm 0,63
	5 MW / 10s	7,21 \pm 0,38
		6,92 \pm 0,45
		8,33 \pm 0,77
		7,88 \pm 0,47
		7,04 \pm 0,37
		7,27 \pm 0,47
		7,07 \pm 0,52
	2 MW / 20s	6,60 \pm 0,45
		8,26 \pm 0,58
		8,10 \pm 0,47
		8,96 \pm 0,61
		8,37 \pm 0,52
		6,94 \pm 0,67
		6,83 \pm 0,60
		6,71 \pm 0,74
7,62 \pm 0,82		
8,79 \pm 0,76		

TABELA 6. Resultados para o Padrão DORM-1

Material de Referência	Potência/Tempo de irradiação	Concentração de Se ($\mu\text{g/g}$)
DORM-1	5 MW / 10s	2,47 \pm 0,32
		2,13 \pm 0,30
		1,73 \pm 0,33
		2,04 \pm 0,31
		2,00 \pm 0,41
		2,78 \pm 0,45
	2 MW / 20s	2,02 \pm 0,25
		1,92 \pm 0,29
		1,78 \pm 0,21
		1,91 \pm 0,57
		2,26 \pm 0,70
		1,84 \pm 0,36
		2,16 \pm 0,43

TABELA 7. Resumo dos resultado obtidos para os materiais de Referência Utilizados

Material de Referência	Potência/Tempo	\bar{x} ($\mu\text{g/g}$)	s^a	S_{Rel}^a (%)	$E_{\text{relat.}}$ (%)
BCR 397	5MW/20s	2,53	0,61 (0,07)	24,1 (2,8)	26,5
	5MW/15s	2,16	0,44 (0,11)	20,4 (5,1)	8
	5MW/10s	2,60	0,29 (0,10)	11,2 (3,8)	30
	2MW/30s	1,82	0,52 (0,19)	28,6 (10,4)	9,0
IAEA-085	5MW/20s	1,05	0,07 (0,04)	6,7 (3,8)	4,6
	2MW/30s	1,17	0,17 (0,12)	14,5 (10,3)	6,4
IAEA-086	5MW/20s	1,21	0,13 (0,05)	10,7 (4,1)	21,0
	2MW/30s	1,33	0,27 (0,16)	20,3 (12,0)	33,0
DOLT-1	5MW/20s	8,40	0,94 (0,35)	11,2 (4,2)	14,4
	5MW/10s	7,29	0,56 (0,18)	7,7 (2,5)	0,7
	2MW/20s	7,84	0,26 (0,22)	11,0 (2,8)	6,8
DORM-1	5MW/10s	2,19	0,37 (0,15)	16,9 (6,8)	35,0
	2MW/20s	2,11	0,41 (0,17)	19,4 (8,1)	30,2

^a valores entre parênteses: resultados com propagação de erros dos valores individuais.

IV. CONCLUSÕES

Os melhores resultados foram obtidos com o reator a 5 MW e tempo de irradiação de 10 a 20 s. Nessas condições foram obtidos desvios-padrão relativos e erros relativos em geral menores que 10%. Ainda que a determinação de Se pelo método de AANI com uso do radioisótopo de meia-vida curta ^{77m}Se esteja em fase de otimização devido à

mudança de potência do reator nuclear IEA-R1m, trata-se de método promissor ao estudo de materiais biológicos e de interesse ambiental com precisão e rapidez.

using ^{77m}Se radioisotope. The application of this method allows the analysis of a large number of samples with reduced time of experiment and cost. The best results were obtained with the reactor operating at 5 MW and time of irradiation between 10 and 20 s. In these experimental conditions the relative standard deviation and error were generally lower than 10%.

V. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, à FAPESP e à IAEA pelo suporte financeiro que tornou possível a elaboração deste trabalho.

VI. REFERÊNCIAS

- [1] Tadjiki, S., Erten, H. N. e Erten, J., **Instrumental Neutron Activation Analysis of Blood Serum**, Journal of Radiochemical and Nuclear Chemistry, Letters, vol. 199 (4), p 309-316, 1995.
- [2] Zhang, W. e Chatt A., **A Quality Assurance Programme for de Determination of Selenium in Foods by Instrumental Activation Analysis**, Proceedings of an International Symposium on Harmonization of Health Related Environmental Measurements Using Nuclear and Isotopic Techniques, Hyderabad, India, 4-7/11/1996 .
- [3] Katts, S. A. e Chatt, A., **Hair Analysis - Application in the Biomedical and Environmental Sciences**, VCR Publishers Inc., Halifax (1988).
- [4] Lavi, N. e Alfassi, Z. R., **Determination of Trace Amounts of Copper and Selenium in Biological Samples by Chemical Separation Prior to Neutron Activation Analysis**, Journal of Radiochemical and Nuclear Chemistry, Letters, vol. 201 (1), p 13-23, 1995.
- [5] Atalla, L. T., **Interpretação Quantitativa de Resultados Experimentais**, Informação IEA-60, São Paulo, 1978.

VII. ABSTRACT

Selenium is an essential element in human diet due to its relation to the protection against carcinogenic substances, heart diseases, hypertension, sexual performance enhancement, and others. In this work Se concentration in samples of the biological certificate reference materials "Human Hair" BCR-CRM 397, "Spiked Human Hair" IAEA-085, "Unspiked Human Hair" IAEA-086; "Dogfish Liver" DOLT-1 and "Dogfish Muscle" DORM-1 were determined in order to improve the instrumental neutron activation analysis, INAA, method