

INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
ul. Radzikowskiego 152, 31-342 Kraków, Poland.

www.ifj.edu.pl/reports/2000.html
Kraków, grudzień 2000

Raport Nr 1864/C

**OZNACZANIE ŚLADOWYCH ZAWARTOŚCI
WYBRANYCH METALI W TKANCE RYBY
RÓŻNYMI METODAMI: PIXE, XRF ORAZ TRXRF**

B. Kubica, W.M. Kwiatek, E.M. Dutkiewicz, W. Polak

*Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych
Grant Nr 8 T11E 017 16*

Streszczenie

Celem prezentowanej pracy było oznaczenie stężeń wybranych metali w tkance ryby. Analizy wykonano różnymi metodami analitycznymi PIXE (Proton Induced X-ray Emission), TRXRF (Total Reflection X-ray Fluorescence) i XRF (X-Ray Fluorescence) w celu potwierdzenia otrzymanych wyników oraz stwierdzenia wpływu techniki preparatyki tarcz pomiarowych na poziom oznaczania stężeń. W przedstawionej pracy do przygotowania tarcz pomiarowych zastosowano dwie techniki:

- a) bez wstępnej obróbki chemicznej poprzez homogenizację materiału biologicznego, wysuszenie i sprasowanie do formy pastylki,
- b) poprzez mineralizowanie próbek i obróbkę chemiczną.

Otrzymane wyniki różnymi metodami pomiarowymi wykazują zgodność tylko dla niektórych pierwiastków. Proces mineralizacji próbek ma wpływ na zwiększenie czułości metod oznaczania stężeń tylko dla niektórych pierwiastków śladowych (np. Cu, Zn). W pozostałych przypadkach zaobserwowano obniżenie wyznaczanych stężeń pierwiastków w stosunku do próbek nieminerlizowanych (Fe, Ni, Co).

Summary

The aim of this study was determination of selected element concentrations in fish tissues. The analysis was performed with PIXE (Proton Induced X-ray Emission), TRXRF (Total Reflection X-Ray Fluorescence), and XRF (X-Ray Fluorescence) techniques in order to confirm the results obtained and in order to determine the influence of target preparation procedure to the level of elemental concentrations determination. Two methods of sample preparations were applied in this work:

- a) without chemical treatment – the samples were dried, homogenized and pressed into pellet,
- b) with chemical treatment – the samples were mineralized.

The results obtained show a good agreement only for some elements. The mineralization process increases the sensitivity of elemental determination only for selected elements (Cu, and Zn). In other cases one could observe decreasing of elemental concentration in respect to not mineralized samples.

Wstęp

Oznaczenie poziomu zawartości pierwiastków śladowych w materiałach biologicznych ma duże znaczenie w określeniu przebiegu procesów metabolicznych i mechanizmów chorobotwórczych. Określenie ilościowe i jakościowe zawartości śladowych pierwiastków w materiałach biologicznych napotyka jednak na duże trudności ze względu na niski poziom ich stężeń oraz wysoki poziom stężeń lekkich pierwiastków takich jak: P, S, Cl, K wchodzących w skład matrycy [1, 2, 3, 4, 5].

Do analiz zawartości mikroskopowych ilości pierwiastków stosuje się różne metody i techniki instrumentalne. Metody analiz spektroskopowych charakteryzują się dużą czułością i pozwalają na oznaczanie stężeń na poziomie nawet poniżej 1 $\mu\text{g/g}$. Dość często stosowanymi technikami są: metoda PIXE (Proton Induced X-ray Emission), AAS (Atomic Absorption Spectroscopy), XRF (X-Ray Fluorescence), oraz TRXRF (Total Reflection X-ray Fluorescence) [6].

Celem niniejszej pracy było porównanie oznaczeń stężeń wybranych pierwiastków w materiale biologicznym przygotowanym do analiz różnymi technikami preparatyki tarcz pomiarowych oraz analizowanymi wyżej wymienionymi technikami. Do pomiarów użyto tkanek ryby. Obniżenia czynnika MDL (Minimum Detectable Limit) [4] dla niektórych pierwiastków osiągnięto poprzez zastosowanie różnych sposobów przygotowania tarcz pomiarowych [7].

Część doświadczalna

Analiza fluoroscencyjna jest bardzo czułą metodą analityczną znajdującą szerokie zastosowanie w badaniach biomedycznych. Tradycyjne metody chemiczne służące do określania jakościowego i ilościowego składu pierwiastkowego różnych materiałów znalazły silną konkurencję w metodach fizyki atomowej i jądrowej. Jedną z tych metod jest analiza fluoroscencyjna polegająca na rejestracji charakterystycznego promieniowania X emitowanego z atomów na skutek jonizacji ich wewnętrznych powłok elektronowych. W zależności od sposobu wzbudzania atomów mamy do czynienia między innymi z takimi metodami jak: PIXE, XRF czy TRXRF.

Metody te polegają na pomiarze energii i natężenia charakterystycznego promieniowania X atomów wzbudzonych przez naświetlanie tarczy badanej próbki wiązką protonów o energii 2.5 MeV pochodzącą z akceleratora typu Van de Graaff'a w przypadku metody PIXE lub

wiązką promieniowania X pochodzącej z lampy rentgenowskiej w przypadku metod XRF i TRXRF. Rejestrowanie charakterystycznych widm promieniowania X odbywa się przy użyciu detektora Si(Li) (w tej pracy użyto detektora Canberra o zdolności rozdzielczej 160 eV dla energii 5.9 keV). Metoda TRXRF jest metodą wykorzystującą zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia promieniowania X wzbudzającego tarcze pomiarowe. Metoda ta znajduje duże zastosowanie do analiz składu pierwiastkowego cienkich, jednorodnych tarcz pomiarowych. Jest to metoda czuła pozwalająca na detekcję pierwiastków na poziomie stężeń ppb (10^{-9} g/1g).

Analiza fluorescencyjna należy do metod pozwalających na oznaczenie szerokiego spektrum pierwiastków. Ogromną zaletą tej metody jest to, że nie powoduje one zniszczenia analizowanego materiału. Wspomniane metody pozwalają na wykonanie analizy jakościowej i ilościowej.

W przedstawionej pracy do przygotowania tarcz pomiarowych zastosowano dwie techniki:

- a) bez wstępnej obróbki chemicznej poprzez homogenizację materiału biologicznego, wysuszenie i sprasowanie w formie pastylki,
- b) poprzez mineralizowanie próbki i obróbkę chemiczną.

Materiał badawczy i przygotowanie próbek

Przedstawiona praca miała na celu określenie optymalnych warunków oznaczania śladowych zawartości metali III grupy analitycznej (pierwiastków bloku d), przy zastosowaniu wstępnej obróbki chemicznej i bez jej udziału. Do badań użyto próbek tkanki ryby oraz standardu ryby otrzymanego z Międzynarodowej Agencji Energii Atomowej we Wiedniu – MA-A-2. Materiał badawczy przygotowywano w formie pastylki o grubości ok. 0.5 mm i umieszczono ją na taśmie typu Scotch oraz w formie osadu na filtrze po wstępnej obróbce chemicznej tj. mineralizacji mikrofalowej i strąceniu trudno rozpuszczalnych siarczków. Otrzymane próbki w formie pastylek i osadów na filtrach analizowano metodami PIXE oraz XRF, natomiast dodatkowo przeprowadzono analizy mineralizatu metodą TRXRF.

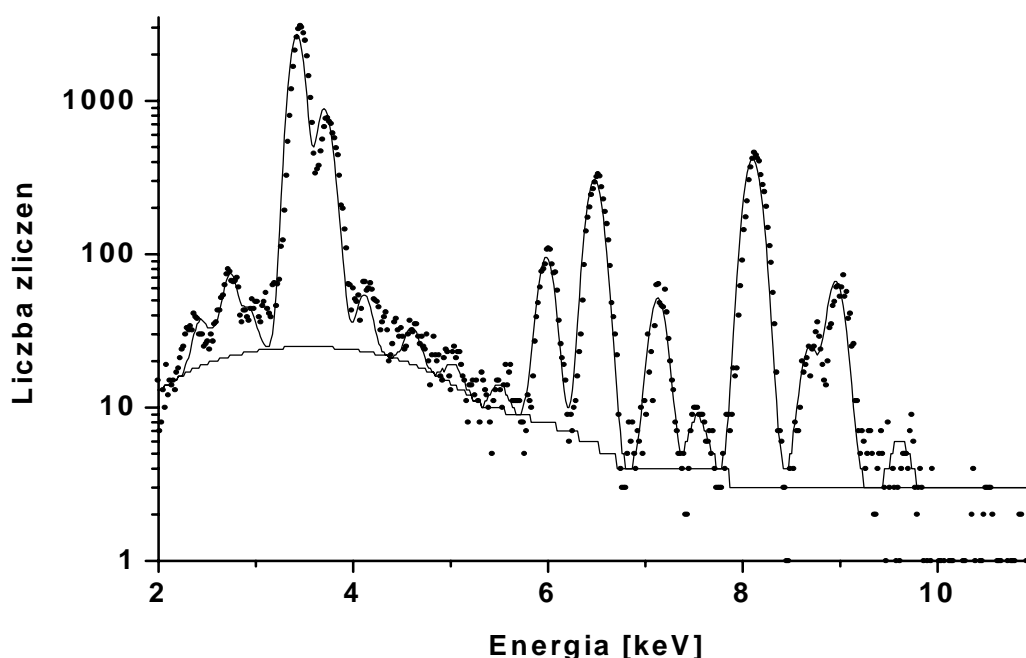
Do badań używano handlowych odczynników klasy cz.d.a. (HNO_3 , H_2O_2 – firmy POCh) oraz APDC (amonowego dwukarbaminianu pirolidyny) – firmy Fluk. Kwas azotowy dodatkowo czyszczony był na drodze destylacji. Przygotowany do pomiaru preparat w formie kompleksów z APDC osadzano na miliporfiltrach typu GVWP 22. Mineralizacji próbek dokonywano dwoma technikami: mokrą i przy pomocy mineralizatora mikrofalowego w

oparciu o normy zalecane przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej w Wiedniu. Próbkę roztwarzano w mieszaninie HNO_3 i H_2O_2 z roztworu w czasie 20 minut.

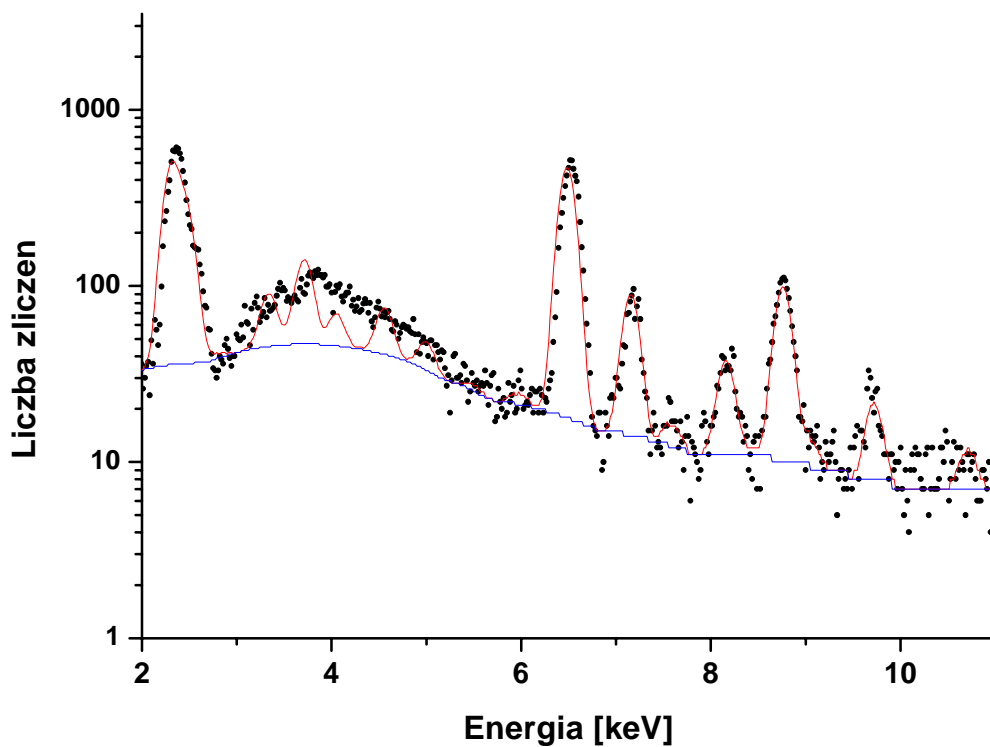
Po całkowitym zmineralizowaniu metodą moką i metodą z użyciem promieniowania mikrofalowego roztwory poddawano dalszej obróbce do oznaczeń metodami PIXE i TRXRF. Do pomiarów metodą TRXRF pobierano 5 μl roztworu i nakładano go na kwarcową podkładkę, po czym naświetlano promieniowaniem X z lampy rentgenowskiej z anodą molibdenową. Do pomiarów metodami PIXE oraz XRF jony metali III grupy analitycznej przeprowadzano do osadu w postaci trudno rozpuszczalnych kompleksów z APDC, a następnie osadzano na filtrach GVWP 22. Tak spreparowany filtr ze względu na swoją strukturę i dogodność w przygotowaniu stanowił wygodną w użyciu tarczę pomiarową.

Rezultaty i dyskusja.

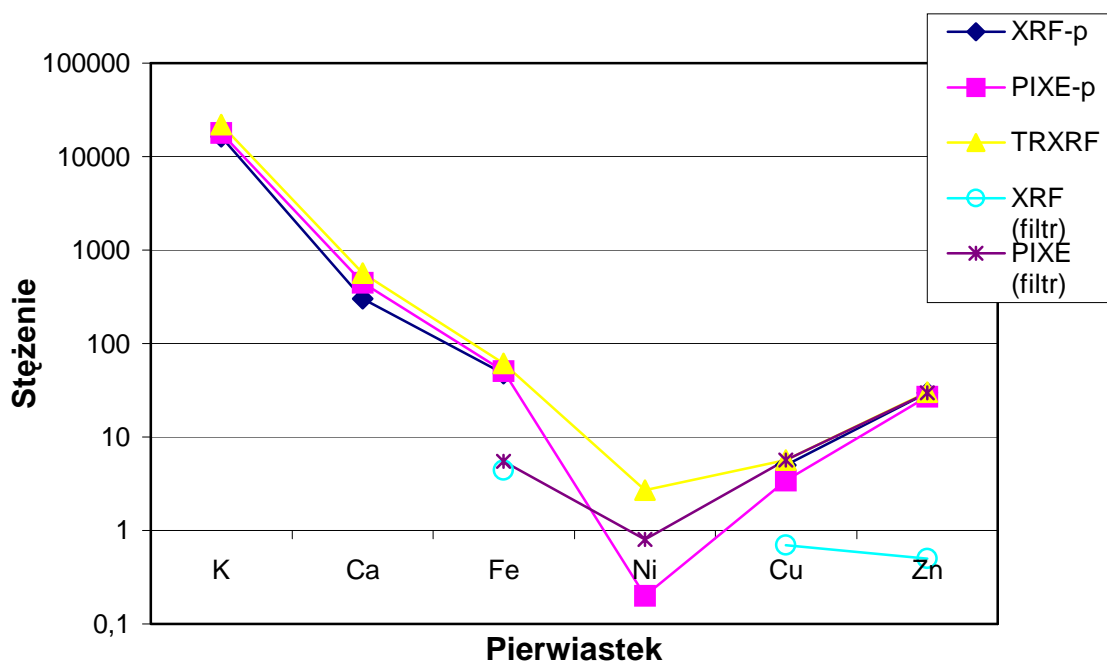
Na rys. 1 przedstawiono przykładowe widma PIXE dla standardu MA-A-2 otrzymane z próbki przygotowanej w formie pastylki (rys. 1a) oraz w formie osadu zdeponowanego na filtrze GVWP 22 po mineralizacji próbki (rys. 1b).



Rys. 1a Przykładowe widmo PIXE standardu MA-A-2 otrzymane z próbki przygotowanej w formie pastylki.

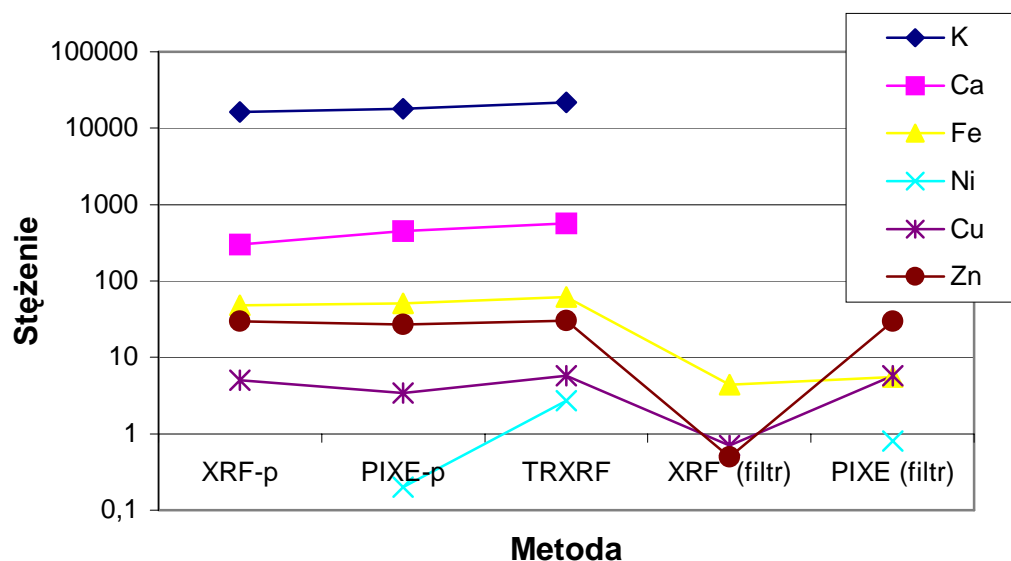


Rys 1b Przykładowe widma PIXE dla standardu MA-A-2 otrzymane z próbki przygotowanej w formie osadu zdeponowanego na filtrze GVWP 22 po mineralizacji próbki.



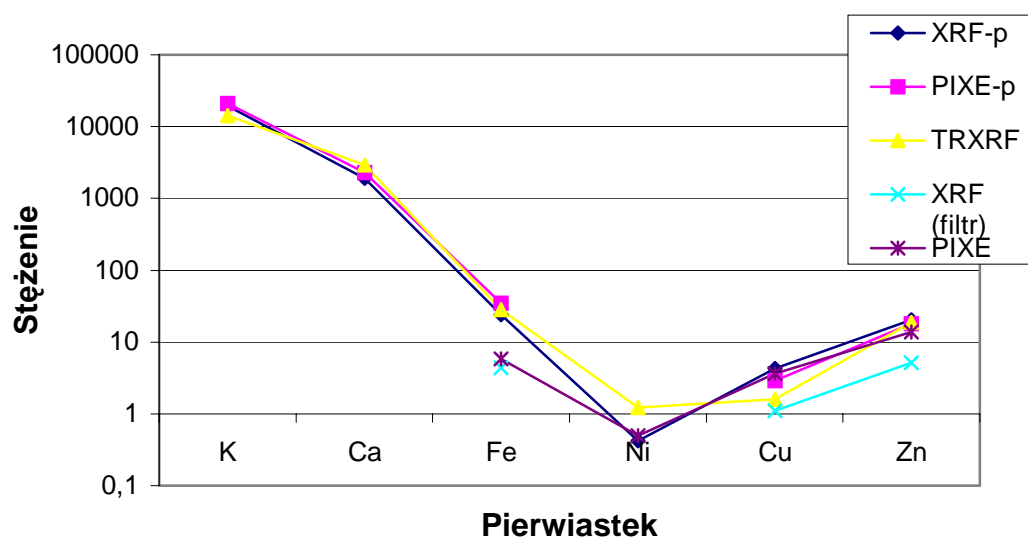
Rys.2a Wartości stężeń dla wybranych kationów w tkance standardu ryby w zależności od stosowanej metody analitycznej.

Na rys. 2a i rys. 2b przedstawiono wartości oznaczonych stężeń badanych pierwiastków w zależności od wybranej metody i sposobu przygotowania próbki do analizy. Jak widać Fe z dobrą zgodnością oznacza się stosując metodę TRXRF oraz PIXE i XRF (materiał bez obróbki chemicznej).



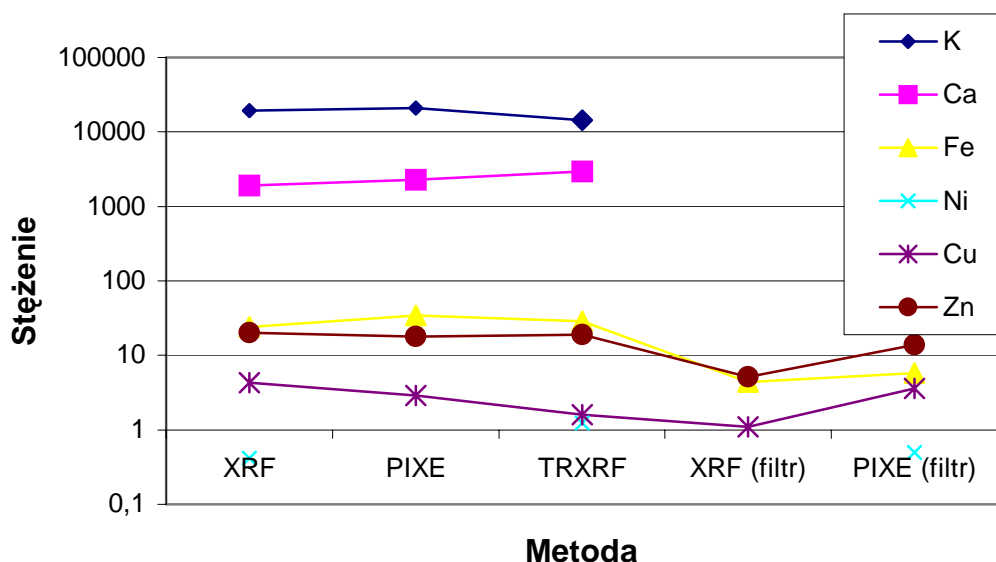
Rys.2b Wartości stężeń kationów w tkance standardu ryby w zależności od stosowanej metody analitycznej.

Po zmineralizowaniu próbki i przeprowadzeniu żelaza w formę trudno rozpuszczalnych siarczków, wyniki są znacznie zaniżone. W przypadku oznaczeń niklu metodą XRF w ogóle nie zidentyfikowano obecności tego pierwiastka na filtrach ani w pastylkach. Dla filtrów mierzonych metodą PIXE wartości stężeń oznaczanych pierwiastków były zbliżone



Rys.3a Wartości stężeń dla wybranych kationów w tkance ryby w zależności od stosowanej metody analitycznej.

do wartości referencyjnych. Natomiast dla metody TRXRF wartości stężeń oznaczanych pierwiastków były zdecydowanie zawyżone. Stężenia pierwiastków oznaczane metodą PIXE w pastylkach wykazały bardzo zaniżone wartości w stosunku do wartości referencyjnych. Miedź źle oznaczana jest na filtrze metodą XRF, podobnie zresztą jak Zn, natomiast oba te pierwiastki dobrze oznaczają się pozostałymi metodami.



Rys.3b Wartości stężeń dla wybranych kationów w tkance ryby w zależności od stosowanej metody analitycznej.

Dla próbek tkanek ryby pozyskanych drogą komercyjną i badanych tymi samymi metodami otrzymano prawie identyczne rezultaty co pokazano na kolejnych rysunkach. Dla porównania przeprowadzono oznaczenia tymi samymi metodami analitycznymi dla K i Ca [8]. W tych warunkach K i Ca oznaczają się z bardzo dobrą zgodnością metodami PIXE-pastylka, XRF-pastylka i TRXRF. Nie można tych pierwiastków zobaczyć na filtrach ponieważ nie tworzą one trudno rozpuszczalnych związków z APDC. Stosując metodę współstrącania udało się oznaczyć wapń na filtrze metodą PIXE ale jest przedmiotem innej pracy.

Jak widać metody analizy fluorescencyjnej są niezwykle czułymi metodami analitycznymi pozwalającymi na oznaczanie śladowych ilości poszukiwanych kationów. Przedstawiona praca może pozwolić na wybór metody analitycznej do oznaczania niektórych pierwiastków. Np. metoda PIXE z zastosowaniem filtrów pozwala na oznaczenie śladowych ilości np. Ni lub innych pierwiastków które w materiale tarczowym są praktycznie niewidoczne. Metoda PIXE wykorzystywana do analiz składu pierwiastkowego próbek

przygotowanych w formie pastylek, pozwala na określenie szerokiego spektrum pierwiastków bez uszkodzenia materiału badawczego.

Metoda TRXRF pozwala na określenie dużej liczby pierwiastków nawet bardzo niewielkich ich stężeń lecz niestety próbka musi być poddana mineralizacji i ulega zniszczeniu.

Piśmiennictwo

- [1] J. Prochaska, *Physiological Rev.* 67, 858 (1987)
- [2] R. Scott, B.W. East, J. Janczyszyn, K. Boddy, A.J. Yates - *Urolog. Res.* 8, 167 (1980)
- [3] *Trace Elements in Health*, Ed. J. Rose, Butterworth Co. Ltd. London 1983.
- [4] L.A. Curie, -*Anal.Chemistry* ,40 (1968) 586.
- [5] E.Rokita, A.Wróbel, W.M.Kwiatek, E.Dutkiewicz. - *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res. B* 109/110 (1996) 109
- [6] Praca zbiorowa pod red.A.Hrynkiewicza i E.Rokity – *Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska*, PWN 1999
- [7] B. Kubica, W. M. Kwiatek, E. M.Dutkiewicz, M. Lekka- *Sample Preparation Procedure for PIXE Elemental Analysis on Soft Tissue* - *J.Radioanal.Nucl.Chem., Letters*
- [8] J.Minczewski, Z.Marczenko - *Chemia Analityczna* PWN 1999