

## Potenzialità e limiti dei metodi di analisi per attivazione neutronica nella determinazione di elementi di interesse tossicologico e ambientale

Mario GALLORINI

*Centro di Radiochimica ed Analisi per Attivazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pavia*

**Riassunto.** - I meriti e i limiti dell'analisi per attivazione neutronica vengono esaminati in relazione alle diverse tipologie di matrici biologiche ed ambientali ed in dipendenza degli elementi da determinare. Sono poi discussi in dettaglio in questo contesto i casi del mercurio, del cadmio, del rame, dell'arsenico, del cromo e dello iodio con evidenziazione delle più probabili interferenze analitiche e dei problemi procedurali nel pretrattamento dei campioni.

*Parole chiave:* analisi per attivazione neutronica, mercurio, cadmio, rame, arsenico, cromo, iodio.

**Summary** (*Advantages and drawbacks of neutron activation analysis for the determination of elements of toxicological and environmental interest*). - Merits and limits of neutron activation analysis are presented for the various classes of biological and environmental matrices and depending on the analytes to be quantified. In this framework the cases of mercury, cadmium, copper, arsenic, chromium, iodine are discussed in detail with particular reference to the most frequent analytical interferences and procedural pitfalls in sample pretreatment.

*Key words:* neutron activation analysis, mercury, cadmium, copper, arsenic, chromium, iodine.

### Introduzione

In questo lavoro vengono presentati e discussi alcuni aspetti relativi alla determinazione di elementi in traccia in campioni di interesse tossicologico ed ambientale mediante l'analisi per attivazione neutronica. Da oltre vent'anni questa tecnica analitica occupa un posto di primaria importanza nel settore degli elementi in traccia, per molti dei quali può essere considerata come metodo analitico di riferimento. Per alcuni elementi, tuttavia, pur offrendo un'ottima sensibilità e selettività, essa soffre di interferenze (di matrice e/o spettrali) che possono drasticamente diminuire l'accuratezza e la precisione. Questo è di particolare rilievo quando, dato il suo carattere multielementare, la tecnica viene utilizzata per la determinazione di più elementi nello stesso campione. In questo caso, in dipendenza della matrice da analizzare e degli elementi da determinare, non è sempre possibile ottenere il massimo di sensibilità, accuratezza e precisione per tutti gli elementi analizzati.

Non è quindi sufficiente "irraggiare e contare", come spesso viene creduto da coloro che hanno solo una certa familiarità con questa tecnica, per avere dei buoni risultati a livello di tracce. In particolare, nei campioni biologici, molti elementi di interesse tossicologico non possono venire determinati a tali livelli, mediante l'analisi

strumentale, con adeguata precisione. Infatti, in questo tipo di matrici, la spettrometria gamma sul campione irraggiato non solamente è di difficile interpretazione, ma, spesso, non è assolutamente applicabile. Più precisamente ciò si verifica nei casi in cui si devono utilizzare: a) radionuclidi con linee analitiche gamma a bassa energia (regione di energia dei raggi X da 30 a 100 keV) che sono coperte dal segnale di fondo (continuum background) derivante dalla presenza di radionuclidi ad energia maggiore; b) radionuclidi con linee analitiche gamma che hanno la stessa energia di altri radioelementi o ad essa molto vicina; c) radionuclidi con tempo di dimezzamento (semivita) breve o medio breve, che devono essere contati in presenza di una elevata radioattività di fondo proveniente dalla matrice irraggiata.

In questi casi sono necessarie opportune tecniche di separazione radiochimica che, selettivamente, isolano i radionuclidi di interesse analitico dalla matrice radioattiva. Il metodo analitico diventa così l'analisi per attivazione neutronica radiochimica (RNAA) che prevede il trattamento chimico e/o chimico-fisico del campione dopo l'irraggiamento e prima del conteggio gamma. Tale procedura è caratterizzata, inoltre, dalle seguenti prerogative: a) assoluta impossibilità di contaminare il campione durante le varie fasi (dissoluzione, separazione, trattamenti chimici) successive all'irraggiamento; b)

**Tabella 1.** - Radionuclidi e relative energie gamma nell'analisi per attivazione neutronica di alcuni elementi in campioni biologici

Elementi in traccia			
Elemento	Radionuclide	Picco analitico (keV)	Semivita (T <sub>1/2</sub> )
As	<sup>76</sup> As	559, 657	26,4 h
Cd	<sup>115</sup> Cd	530	53,5 h
	<sup>115m</sup> In	335	4,5 h
Cr	<sup>51</sup> Cr	320	27,8 d
Cu	<sup>64</sup> Cu	511	12,8 h
Hg	<sup>197</sup> Hg	68, 77	65 h
	<sup>203</sup> Hg	279	46,9 d
I	<sup>128</sup> I	441	25 min
Elementi interferenti			
Na	<sup>24</sup> Na	1369, 2754 511 effetto Compton (picco annichilazione)	15 h
P	<sup>32</sup> P	β emettitore radiazione Bremsstrahlung	14,3 d
Br	<sup>82</sup> Br	555, 619, 698, 771, 828, 1044, 1317	35,3 h
Cl	<sup>38</sup> Cl	1600, 2170 effetto Compton	37,3 min

**Tabella 2.** - Determinazione di Hg in campioni biologici. Separazione radiochimica: combustione - distillazione

Materiali SRM analizzati	Valore certificato (ng g <sup>-1</sup> )	Valore trovato (ng g <sup>-1</sup> )
<b>NIST</b>		
1577a, New bovine liver	4 ± 2	3 ± 0,2
1566, Oyster tissue	57 ± 15	56 ± 5
1572, Citrus leaves	80 ± 20	77 ± 3
1567, Wheat flour	1,0 ± 0,8	1,08 ± 0,15
1568, Rice flour	6,0 ± 0,7	6,4 ± 0,5
<b>SMT</b>		
60, Lagarosiphon	340 ± 40	374 ± 11
61, Plathynidium	230 ± 20	243 ± 19
63, Milk	-	1,23 ± 0,21
150, Milk	-	6,62 ± 0,33
151, Milk	-	116 ± 6

possibilità di aggiungere, dopo l'irraggiamento, quantità note degli elementi da determinare (carriers) ai campioni in esame in modo da facilitare e rendere quantitative le separazioni radiochimiche; c) ottenere specifiche geometrie di conteggio (precipitazione, deposizione su strato sottile, ecc.) migliorando la statistica di conteggio; d) possibilità di saggiare le procedure di separazione mediante l'uso di radiotraccianti degli elementi di cui si richiede la determinazione.

Tra gli elementi di maggior interesse ecotossicologico, la cui determinazione non può prescindere dall'uso della RNAA, vengono in questo lavoro esaminati i seguenti: As, Cd, Cr, Cu, Hg e I. Per molti di questi la quanto più esatta conoscenza delle concentrazioni in campioni di interesse ambientale e clinico-tossicologico è di fondamentale importanza per gli studi relativi al loro impatto sulla salute dell'uomo. Laddove il limite tra essenzialità e tossicità è strettamente correlato, oltre che alle forme chimiche, anche ai valori-soglia messi in gioco, la corretta determinazione delle quantità assolute (spesso dell'ordine di poche parti per miliardo) sia basali che in campioni "contaminati" rappresenta il punto di partenza delle ricerche in questo settore.

## Applicazioni

Il problema principale incontrato nell'analisi di campioni biologici mediante attivazione neutronica consiste nell'interferenza spettrale causata dall'attività di fondo del campione irraggiato. Più precisamente, le maggiori interferenze derivano da: a)  $^{32}\text{P}$  proveniente da fosforo contenuto nella matrice in esame e che, essendo un emettitore puro di radiazioni beta, copre la zona di energie dello spettro gamma con un fondo continuo (Bremsstrahlung) da pochi keV fino a 600 keV. Ne consegue che la determinazione di isotopi come  $^{76}\text{As}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{197}\text{Hg}$ ,  $^{115\text{m}}\text{In}$  e  $^{75}\text{Se}$  viene drasticamente limitata; b)  $^{24}\text{Na}$  che si forma dal sodio sempre abbondantemente presente in ogni campione biologico e che rende proibitiva l'analisi di molti elementi in traccia in campioni quali sangue, siero, urina, saliva, tessuti umani ed animali, organismi marini, vegetali, ecc. La maggior interferenza consiste nell'elevata attività di fondo (effetto Compton) e nel suo picco gamma di annichilazione a 511 keV che coincide con il picco analitico del rame ( $^{64}\text{Cu}$ ). E' assolutamente impossibile determinare in questo modo As, Cd, Cu, Hg e I a livello di  $\text{ng g}^{-1}$ ; c)  $^{82}\text{Br}$  che si forma dal bromo contenuto in moltissime matrici biologiche, specialmente quelle di origine marina e vegetale. La presenza di  $^{82}\text{Br}$  rende molto difficoltosa la spettrometria gamma di  $^{78}\text{As}$ ,  $^{122}\text{Sb}$  e  $^{128}\text{I}$  a causa delle sue molte linee gamma, alcune delle quali cadono nell'intorno di quelle relative agli elementi da analizzare.

Come detto nell'introduzione, la massima sensibilità e accuratezza nell'analisi di queste matrici può essere ottenuta solo se vengono applicate specifiche separazioni radiochimiche. Qui di seguito, per ogni elemento, vengono suggeriti i metodi che offrono maggior garanzia di selettività, resa quantitativa e riproducibilità. Tutte le informazioni relative e i parametri tecnici sono riportati nei lavori citati in bibliografia. Nella Tab. 1 vengono elencati i radionuclidi e le rispettive energie gamma utilizzate per l'analisi degli elementi oggetto di questa discussione.

## Mercurio

Il radionuclide che offre maggior sensibilità per l'analisi del mercurio mediante attivazione neutronica è il  $^{197}\text{Hg}$  ( $T_{1/2} = 65 \text{ h}$ ) con due linee gamma a 68 e 77 keV rispettivamente. L'altro radionuclide ottenibile è il  $^{203}\text{Hg}$  che, pur essendo favorito da una semivita molto più lunga (46,6 d), ha una sensibilità di circa 100 volte inferiore ed inoltre il suo picco analitico gamma a 279 keV è inquinato da quello a 279,5 keV del  $^{75}\text{Se}$  ( $T_{1/2} = 118 \text{ d}$ ).

La separazione radiochimica più efficiente è quella basata sulla sua distillazione, facilitata dall'aggiunta di carrier, ottenuta bruciando direttamente la matrice in corrente di ossigeno ed intrappolando i vapori di Hg in azoto liquido. Il  $^{197}\text{Hg}$  così separato viene successivamente recuperato, precipitato come solfuro e

**Tabella 3.** - Determinazione di Hg su 300-500 mg di campione NIST SRM 1577, New bovine liver

n. campione	Peso (mg)	Contenuto di Hg ( $\text{ng g}^{-1}$ )	Certificazione finale ( $\text{ng g}^{-1}$ )
1	405	3,1	-
2	423	3,5	-
3	375	2,8	-
4	454	3,1	$4 \pm 2$
5	506	2,9	-
Media		3,1	
DS		$\pm 0,3$	

**Tabella 4.** - Determinazione di Hg in alcuni SRM di interesse ambientale e tossicologico. Separazione radiochimica: combustione e distillazione

Materiali SRM analizzati	Valore certificato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore trovato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<b>NIST</b>		
1632, Coal	$0,12 \pm 0,01$	$0,1 \pm 0,01$
1632a, Coal	$0,13 \pm 0,03$	$0,129 \pm 0,02$
1633, Fly ash	$0,145 \pm 0,01$	$0,145 \pm 0,006$
1634, Fuel oil	(0,0023)	$0,0023 \pm 0,0002$
1645, River sediment	$1,1 \pm 0,5$	$0,937 \pm 0,36$
<b>SMT</b>		
38, Fly ash	$2,1 \pm 0,15$	$2,13 \pm 0,06$
141, Soil 2	$0,055 \pm 0,005$	$0,053 \pm 0,003$
142, Soil 3	$0,105 \pm 0,010$	$0,115 \pm 0,011$
143, Soil 6	$3,93 \pm 0,40$	$4,45 \pm 0,30$
145, Sludge 2	$8,42 \pm 0,88$	$7,28 \pm 0,54$
146, Sludge 3	$9,22 \pm 0,80$	$10,87 \pm 0,46$
144, Sludge 4	$1,46 \pm 0,17$	$1,79 \pm 0,1$

sottoposto a spettrometria gamma. Il metodo è molto semplice; non ha bisogno della dissoluzione del campione e offre una eccellente geometria di conteggio con irrilevante autoassorbimento che, alle basse energie (77 keV), può pesantemente influire sull'efficienza e sulla statistica di conteggio [1-3].

Nelle Tab. 2-4 vengono presentati i risultati ottenuti nelle analisi per la certificazione di questo elemento in campioni standard di riferimento sia del National Institute of Standards and Technology (NIST) che dello Standards, Measurements and Testing Programme (SMT, in precedenza BCR).

### Cadmio e rame

Questi due elementi rivestono particolare importanza nelle ricerche relative all'impatto dei metalli in tracce sulla salute dell'uomo. Da una parte è ampiamente riconosciuta la tossicità del cadmio specialmente come nefrotossico, dall'altra, il rame gioca un ruolo di essenzialità nel metabolismo umano. Anche in questo caso l'analisi per attivazione strumentale non è utilizzabile per la loro determinazione a bassi livelli. Il cadmio non offre una buona sensibilità attraverso il suo diretto radionuclide  $^{115}\text{Cd}$  ( $T_{1/2} = 53,5$  h) a 530 keV e viene normalmente determinato attraverso il molto più sensibile  $^{115\text{m}}\text{In}$  ( $T_{1/2} = 4,5$  h) a 335 keV con cui è in equilibrio attraverso decadimento  $\beta$ . In entrambi i casi i picchi gamma da valutare cadono nella zona spettrale più contaminata. Nel caso poi del rame, determinabile attraverso il  $^{64}\text{Cu}$  ( $T_{1/2} = 12,8$  h) a 511 keV, va ricordato che la presenza di  $^{24}\text{Na}$  ( $T_{1/2} = 14,9$  h) con il picco di annichilazione ne impedisce la determinazione anche a livelli di diversi  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

Entrambi gli elementi però possono essere selettivamente e quantitativamente separati mediante estrazione con solvente, utilizzando come complessanti i dietilditiocarbammati di bismuto per il rame e di zinco per il cadmio [4, 5]. Per il rame, inoltre, si possono convenientemente usare specifici scambiatori inorganici come  $\text{CuCl}_2$  e  $\text{CuS}$  [6]. Nelle Tab. 5 e 6 vengono riportati i valori di questi due elementi determinati in diversi materiali di riferimento. In particolare il metodo è stato utilizzato nella certificazione degli SRM 1568, 1577 e 1648 del NIST. Nella Tab. 7 sono paragonati i risultati ottenuti nell'analisi del rame con diverse procedure radiochimiche.

### Arsenico e cromo

Per questi due elementi i maggiori problemi analitici provengono dalle interferenze di  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{24}\text{Na}$  e  $^{32}\text{P}$ . La migliore riga gamma per l'arsenico è quella a 559 keV dell' $^{76}\text{As}$  ( $T_{1/2} = 26$  h) che subisce l'interferenza di quelle del  $^{82}\text{Br}$  ( $T_{1/2} = 35$  h) a 555 keV e dell'effetto Compton da parte del  $^{24}\text{Na}$ . Per il cromo, che può essere determinato solo attraverso il picco gamma a 320 keV del  $^{51}\text{Cr}$  ( $T_{1/2} = 27,7$  d), è possibile evitare l'interferenza da  $^{24}\text{Na}$  utilizzando un periodo di "raffreddamento" di circa 10 d durante il quale decade l'attività del sodio. La presenza di  $^{32}\text{P}$  ( $T_{1/2} = 14,3$  d) però copre, con uno spettro continuo (Bremsstrahlung), la regione a 320 keV rendendo impossibile la determinazione del cromo a livello di tracce [7].

Anche in questo caso, dopo l'irraggiamento e la successiva dissoluzione del campione, si esegue una separazione radiochimica specifica. A questo proposito si sono rivelati molto efficaci alcuni scambiatori

**Tabella 5.** - Determinazione di cadmio in campioni biologici ed ecotossicologici NIST SRM. Separazione radiochimica: estrazione con  $\text{Zn}(\text{DDC})_2$  in  $\text{CHCl}_3$

Materiali SRM analizzati	Valore certificato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore trovato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1571, Orchard leaves	$0,11 \pm 0,01$	$0,116 \pm 0,008$
1575, Pine needles	0,5	$0,194 \pm 0,009$
1577, Bovine liver	$0,27 \pm 0,04$	$0,295 \pm 0,015$
1568, Rice flour	$0,029 \pm 0,004$	$0,029 \pm 0,005$
1567, Wheat flour	$0,032 \pm 0,007$	$0,030 \pm 0,005$
1635, Subbituminous coal	$0,030 \pm 0,01$	$0,030 \pm 0,002$
1645, River sediment	$10,2 \pm 1,5$	$10,2 \pm 0,4$
1648, Urban particulate	$74 \pm 7$	$71,2 \pm 3,7$

**Tabella 6.** - Determinazione di Cu in campioni biologici NIST SRM. Separazione radiochimica: estrazione con  $\text{Bi}(\text{DDC})_3$  in  $\text{CHCl}_3$

Materiali SRM analizzati	Valore certificato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore trovato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1571, Orchard leaves	$12 \pm 1$	$11,6 \pm 0,4$
1575, Pine needles	$3,0 \pm 0,3$	$3,04 \pm 0,16$
1577, Bovine liver	$193 \pm 10$	$185 \pm 7$
1568, Rice flour	$2,2 \pm 0,3$	$2,12 \pm 0,09$
1567, Wheat flour	$2,0 \pm 0,3$	$2,21 \pm 0,10$
1635, Subbituminous coal	$3,6 \pm 0,3$	$3,56 \pm 0,18$

inorganici come il TDO (Tin Dioxide) e l'HMD (Hydrated Manganese Dioxide). Nella Tab. 8 sono elencati i valori trovati nell'analisi di diversi standard biologici per i contenuti di As e Cr. In special modo, l'utilizzo dell'HMD ha permesso la certificazione del cromo nei campioni NIST Bovine liver, Wheat flour e Rice flour.

### Iodio

Lo iodio è un elemento la cui determinazione a livello di tracce in campioni biologici presenta notevoli difficoltà analitiche virtualmente con tutte le tecniche. Non esistono infatti ancora materiali di riferimento con valore certificato, sebbene questo elemento rivesta un notevole interesse dal punto di vista medico. Nell'analisi per attivazione neutronica il suo picco analitico è quello dello  $^{128}\text{I}$  ( $T_{1/2} = 25$  min) con energia gamma a 443 keV. Oltre alla solita interferenza del  $^{24}\text{Na}$  il problema più consistente è dovuto all'attività di fondo prodotta dal  $^{38}\text{Cl}$  ( $T_{1/2} = 37,3$  min).

**Tabella 7.** - Determinazione di Cu in campioni biologici. Confronto tra diversi metodi di separazione radiochimica

Tecnica radiochimica	Matrici NIST SRM	n. misure	$\mu\text{g g}^{-1}$
Estrazione con $\text{Bi}(\text{DDC})_3$ in cloroformio	Orchard leaves	8	$11,6 \pm 0,4$
	Pine needles	8	$3,04 \pm 0,16$
	Bovine liver	5	$185 \pm 7$
CuCl e TDO	Orchard leaves	8	$11,8 \pm 0,3$
	Pine needles	8	$2,98 \pm 0,16$
	Bovine liver	-	NA
TDO e HMD in HCl 11 M	Orchard leaves	5	$11 \pm 0,8$
	Pine needles	-	NA
	Bovine liver	5	$195 \pm 14$

NA = non analizzato

**Tabella 8.** - Determinazione di As e Cr in campioni biologici SRM. Separazione radiochimica: cromatografia su colonna di HMD con  $\text{HNO}_3$ 

Materiali SRM	As		Cr	
	Valore trovato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore certificato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore trovato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Valore certificato ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<b>NIST</b>				
Orchard leaves	$9,7 + 0,4$	$10 + 2$	$2,67 + 0,15$	$2,60 + 0,01$
Bovine liver	$0,054 + 0,004$	$(0,055)^*$	$0,085 + 0,01$	$0,09 + 0,01$
Wheat flour	$0,005 + 0,001$	$(0,006)^*$	ND	-
Rice flour	$0,41 + 0,02$	$0,41 + 0,05$	ND	-
Pine needles	$0,24 + 0,02$	$0,21 + 0,04$	$1,48 + 0,08$	-
<b>SMT</b>				
Lagorsiphon Major	$8,1 + 0,56$	-	NA	-
Platihydnium R.	$5,86 + 0,50$	-	$306 + 6$	-

\* I valori in parentesi sono valori informativi NIST. ND = non determinabile. NA = non analizzato.

Una buona separazione da questi interferenti si ottiene utilizzando un procedimento di combustione-distillazione dove lo iodio viene distillato e convenientemente intrappolato su lana di quarzo con argento. Il cloro, anch'esso distillato, è precedentemente separato con una trappola contenente HMD a circa  $300^\circ\text{C}$  [8]. Nella Tab. 9 sono riportati i risultati ottenuti nell'analisi di diversi campioni di latte proposti come materiali di riferimento dal Programma SMT.

### Conclusioni

Per la determinazione a livello di tracce degli elementi discussi in questo lavoro, non è possibile ottenere dati con garanzia di controllo di qualità (data quality assurance) utilizzando l'analisi per attivazione neutronica

**Tabella 9.** - Analisi del contenuto di I in campioni di latte proposto come SRM dal Programma SMT. Separazione radiochimica: combustione, distillazione, separazione del  $^{38}\text{Cl}$ 

Campione	SMT 63 Latte ( $\text{ng g}^{-1}$ )	SMT 150 Latte addizionato con I ( $\text{ng g}^{-1}$ )
1	265	1650
2	330	1448
3	315	1437
4	282	1718
media	298	1573
DS	$\pm 30$	132

strumentale in matrici biologiche e di interesse tossicologico e ambientale. Per questo, devono essere impiegate opportune tecniche di separazione radiochimica che permettano di raggiungere il massimo di sensibilità e di precisione tipiche dell'analisi per attivazione. In questo modo è possibile analizzare questi elementi spesso a livello di ultratracce con elevata accuratezza e precisione [9, 10]. Un esempio tipico è rappresentato dalle certificazioni di mercurio e di arsenico nello SRM Wheat flour a livello di 1 e 5 ng g<sup>-1</sup>, rispettivamente.

Lavoro presentato su invito.  
Accettato il 10 gennaio 1995.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ROOK, H.L., GILLS, T. E. & LA FLEUR, P.D. 1972. Method for the determination of mercury in biological materials by neutron activation analysis. *Anal. Chem.* **44**: 1114-1117.
2. GILLS, T.E., GALLORINI, M. & ROOK, H.L. 1978. The determination of trace elements in new food grain SRM's using neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.* **46**: 21-27.
3. GALLORINI, M., ORVINI, E., ROLLA, A. & BURDISO, M. 1981. Destructive neutron activation analysis of toxic elements in suspended materials released from refuse incinerators. *Analyst* **106**: 328-333.
4. GREENBERG, R.R., GALLORINI, M. & GILLS, T.E. 1979. Cadmium analysis by radiochemical neutron activation analysis. *Environ. Health Perspect.* **28**: 1-9.
5. GALLORINI, M., GREENBERG, R.R. & GILLS, T.E. 1978. Simultaneous determination of arsenic, antimony, cadmium, chromium, copper and selenium in environmental material by radiochemical neutron activation analysis. *Anal. Chem.* **50**: 1479-1482.
6. GALLORINI, M. & ORVINI, E. 1980. The role of radiochemical neutron activation analysis in certifying selected trace elements content in biological related materials. In: *Trace element analytical chemistry in medicine and biology*. P. Bratter & P. Schramel (Eds). Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York. p. 675-695.
7. PIETRA, R., SABBIONI, E., GALLORINI, M. & ORVINI, E. 1986. Environmental, toxicological and biomedical research on trace metals: radiochemical separation for neutron activation analysis. *J. Radioanal. Chem.* **102**: 69-98.
8. DELFANTI, R., DI CASA, M., GALLORINI, M. & ORVINI, E. 1984. Five years activity in determining trace elements for the certification of standard reference materials by neutron activation analysis. *Mikrochim. Acta* **1**: 239-250.
9. DAS, H.A. & WOITTEZ, J.R.W. 1995. Neutron activation analysis and radiotracer methods in bioinorganic chemistry. In: *Element speciation in bioinorganic chemistry*. S. Caroli (Ed.). Wiley, New York. (in press).
10. PIETRA, R., FORTANER, S., SABBIONI, E. & GALLORINI, M. 1993. Use of CHELEX-100 resin in preconcentration and radiochemical separation neutron activation analysis applied to environmental toxicology and biomedical research. *J. Trace Microprobe Techn.* **11**: 235-250.