

Optimización y validación del método para la determinación de actínidos en muestras ambientales y biológicas*

M. L. Cerchietti^{1,2}, M. G. Argüelles¹

¹ Comisión Nacional de Energía Atómica, Centro Atómico Ezeiza, Laboratorio de Dosimetría Personal y de Área, Presbítero Juan González y Aragón N° 15, (B1802AYA), Ezeiza, Buenos Aires, República Argentina.

² Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Buenos Aires, Dirección de Estudios de Posgrado. Avenida Medrano 951, Buenos Aires (C1179AAQ), Argentina.

E-mail: cerchiet@cae.cnea.gov.ar

Resumen

Las características químicas, físicas, radiotóxicas y biocinéticas del plutonio, y el incremento en su uso en la industria nuclear, lo convierten en representativo de su grupo.

El control de la exposición ocupacional y los riesgos de la incorporación del plutonio son una de las mayores dificultades que debe enfrentar la práctica de la protección radiológica.

Debido a su bajo límite permitido de incorporación es usual que su medición se base en métodos indirectos hechos en muestras de orina (bioensayos). El método puede subdividirse en tres pasos, los que se optimizaron modificando las condiciones de trabajo y cuantificando su influencia en la recuperación del elemento de interés; la selección se basó en practicabilidad y alta recuperación. Los pasos son: concentración de la muestra (coprecipitación), separación y purificación del plutonio y preparación de la fuente por electrodeposición. Fueron calculados parámetros tales como límite crítico, mínima actividad detectable e incertidumbre expandida.

Abstract

The chemical, physical, radiotoxic and biokinetic characteristics of plutonium, and its increasing use in the nuclear industry, makes it representative of its group.

The control of occupational exposure and the risks for incorporation of plutonium are one of the biggest difficulties to be faced the practice of radiological protection.

Due to its low acceptable limit of incorporation its usual measurement is based on indirect methods done with urine samples (bioassays). The method was subdivided in three stages, which were optimized by modifying the working conditions and quantifying its influence in the recovery of the element of interest; the selection was based on higher yield and practicality. These are: concentration of the sample (coprecipitation), separation and purification of plutonium and preparation of the source by electroplating. Parameters such as critical limit, minimal detectable activity and expanded uncertainty were calculated.

* Trabajo realizado sobre la base de la tesis presentada por M. L. Cerchietti para optar al grado de Magister en Radioquímica, bajo la dirección de M. G. Argüelles

Introducción

El objetivo general del trabajo es desarrollar, optimizar y validar un método radioquímico que permita determinar actínidos en muestras ambientales y biológicas. Actualmente, las exigencias sobre los resultados analíticos emitidos por los laboratorios son numerosas. Tales resultados inducen las decisiones a tomar, y más aún en el marco de regulaciones nacionales e internacionales con respecto a las condiciones laborales y ambientales, que sin duda, son factores relevantes en la salud y en la calidad de vida de las personas.

En el marco de la protección radiológica el control de las características del ambiente se realiza en forma directa o indirecta. En particular, los trabajadores que manipulan actínidos se encuentran potencialmente expuestos a su incorporación, y son monitoreados rutinariamente por medio de bioensayos. Este tipo de análisis es habitual cuando se evalúa la contaminación interna de emisores alfa en forma rutinaria y en el caso de situaciones atípicas o especiales en combinación con otros métodos.

Dentro de los actínidos, el plutonio tiene características químicas, nucleares, radiotóxicas y biocinéticas que lo hacen representativo de su grupo. El plutonio no es un elemento simple y convencional de la tabla periódica, con una historia de descubrimiento, desarrollo y utilización en plazos razonables, sino que a partir de su descubrimiento ha sido inmediatamente utilizado en todo tipo de actividades tanto civiles como militares. El control de la exposición ocupacional y de los riesgos de la incorporación de plutonio no evolucionó en igual medida e incluso aún hoy es una de las mayores dificultades que debe enfrentar la práctica de la protección radiológica. El monitoreo individual, con el propósito de la evaluación dosimétrica interna experimental, puede llevarse a cabo por mediciones de actividad del cuerpo y de los órganos (in vivo, o mediciones directas), por bioensayos (in vitro, o mediciones indirectas), por muestreo ambiental, o por una combinación de éstas (IAEA, 1999; DOE- STD- 1128-98).

La elección de una adecuada técnica de medición depende de varios factores tales como el tipo de energía emitida por las radiaciones, el comportamiento biocinético del contaminante y el decaimiento radiactivo, la sensibilidad, las posibilidades y conveniencia de la técnica. Durante los últimos años, numerosas aplicaciones de plutonio y otros elementos transuránicos han determinado un incremento del número de trabajadores expuestos al riesgo de una contaminación interna.

El monitoreo de los trabajadores es necesario, no sólo para asegurar la detección inmediata de una posible incorporación, evaluando el resultado de la dosis interna, sino también para confirmar la integridad del sistema de barreras ingenieriles y asegurar la eficiencia del programa global de protección. Para esto se requiere una completa información del escenario de la contaminación, así como las actividades llevadas a cabo por las personas, elementos de protección adoptados, compuestos comúnmente manipulados y sus formas químicas.

Hay varias características del plutonio que hacen que su contaminación sea única. Esta contaminación puede deberse a distintas formas físicas y químicas. Una de las características que lo hacen único es su habilidad de migrar y su alta radiotoxicidad, dando como resultado límites aceptables de incorporación muy bajos, lo que hace difícil su detección en el cuerpo humano. En el presente, el monitoreo de la contaminación interna del plutonio se realiza en forma indirecta por medio de bioensayos, debido a la baja penetración de la radiación alfa que impide ser detectada directamente desde el cuerpo. Las muestras colectadas son de orina en la que se estima la dosis, y la interpretación de estos bioensayos se realiza en función de los órganos y los tejidos sensibles para lo cual se requiere conocer exactamente el metabolismo del plutonio.

El plutonio posee una química analítica variada y compleja; las múltiples necesidades de control analítico que requieren los trabajos con plutonio, ya sea en investigaciones o en procesos de planta, hacen que se necesite un método analítico diferente debido a los distintos requerimientos en precisión y exactitud, rango de concentración a medir, matrices más o menos complejas, etc.

Por otro lado, los laboratorios analíticos actualmente se ven sujetos a exigencias en cuanto a la implementación de los programas de calidad para evidenciar el desempeño y normalizar las tareas, siendo una herramienta muy útil para adquirir las evidencias necesarias para revelar la competencia técnica de los laboratorios, (Boqué, 2002; IRAM 301, 2000).

La inmediata evaluación de las dosis es importante y se logra demostrando competencia técnica con estándares, dando información a los trabajadores, estableciendo un historial de cada uno de ellos, y emitiendo una respuesta frente a situaciones especiales. En consecuencia, los datos analíticos provenientes del método radioquímico conducen a la toma de decisiones en el plano dosimétrico, por lo que el objetivo general de este trabajo involucra una completa evaluación de cada una de las etapas que lo componen y una intensa caracterización de los sistemas de medición.

En lo que se refiere al método radioquímico, deben establecerse los parámetros básicos derivados exclusivamente de los valores experimentales, pese a que no todos los parámetros exigidos por el plan de calidad aplicado pueden abordarse experimentalmente; se propone un nuevo enfoque de selección, basándose por un lado, en las metodologías rigurosas propuestas por los organismos internacionales que aportan normas y por otro lado, en la relevancia práctica dentro del plano dosimétrico. De esta manera se obtienen y se documentan las evidencias de que el sistema evaluado funciona según lo esperado.

Un objetivo concomitante es la mejora continua, por lo que el método analítico se somete a una evaluación integral para conocer la recuperación en cada etapa y con ello el cálculo de las pérdidas y su influencia sobre los resultados finales. La recuperación global del método indica la sensibilidad y determinará su empleo según las características de la muestra; por otro lado, más relevante que el conocimiento de los rendimientos parciales son las pérdidas de cada etapa que indican el camino a seguir frente a las posibles mejoras, marcando los puntos principales que deben ser modificados. Con la metodología empleada se identifican claramente los puntos a modificar y se proyectan los futuros cambios.

Parte Experimental

La técnica se basa en las características de un bioensayo convencional en busca de elementos en trazas, por lo que requiere de los siguientes pasos:

1. Preparación de la muestra, separando al elemento de la matriz multielemental y variable, por medio de una co-precipitación.
2. El segundo paso es separar y purificar estas trazas de posibles interferencias químicas y radioquímicas que pudieran estar presentes; se realiza a través de columnas de intercambio iónico con resinas acondicionadas para tal fin.
3. El tercer paso es la medición de radiactividad, que incluye la preparación de la fuente para la medición por espectrometría alfa a través de una electrodeposición con soluciones electrolíticas específicas y libre de cualquier interferencia, para obtener la fuente en las condiciones requeridas para su medición.
4. Interpretación de los resultados y, en particular, estimación de la dosis.

La optimización del método se realiza modificando los parámetros y cuantificando la influencia de los mismos en cada una de las tres etapas en las que se dividió. Cada parámetro se evalúa en forma independiente, de tal manera que el resto de las condiciones de la técnica permanece constante y sólo cambia el parámetro seleccionado. El criterio de selección de las condiciones óptimas de trabajo se basa en obtener la mayor recuperación.

Para la evaluación de las pérdidas se contaminan las muestras con Pu-242 como trazador, antes de cada etapa, y se completa todo el método. Las muestras se miden por LSC (contador de centelleo líquido Wallac and EG&G Company 1414 WinSpectral™ α/β) y con detectores de tipo PIPS para espectrometría alfa

(EG&G ORTEC ULTRA™ ^{AS}Ion Implanted Si Charged Particle Detector). Los cálculos estadísticos se realizan con el programa Statistix 7.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA, 2000).

Preparación de la muestra

Este procedimiento es realizado para homogeneizar y preparar la muestra para sucesivos procesos químicos, (Vera Tomé y colaboradores, 1994). En efecto, cada bioensayo contiene una muy pequeña cantidad del radionucleido de interés, normalmente junto a una matriz compleja que contiene otros constituyentes químicos que deben ser eliminados (Luciani, 2002; Miura, 2001).

La separación inicial se realiza a través de una coprecipitación, y en ella se evalúa:

- La influencia de temperatura con un total de 24 muestras, en un rango de 19 °C a 80 °C (cada 20 °C);
 - La masa del agente precipitante para una mejor precipitación; para ello se analizaron 27 muestras, y una solución de 100 mg/mL de CaHPO₄ en HNO₃ 8M utilizando un rango de volumen de 1 mL hasta 5 mL.
- Finalmente todas las muestras se disponen para su medición por LSC, previa calificación del instrumental bajo las condiciones operativas específicas.

Purificación por columnas de intercambio iónico

Una vez que el radionucleido ha sido separado de la matriz de la muestra, se llevan a cabo los procesos de purificación para separarlo de otras impurezas químicas que están presentes en las muestras biológicas y de otros radionucleidos que podrían interferir en la fase de medición de actividad. Los parámetros a evaluar son:

- El tipo de resina; de los cuatro tipos de resinas disponibles solamente se pudieron cuantificar 2 grupos de la misma resina AG 1x8 Cl⁻ de 100-200 mesh y de 50-100 mesh (n = 113);
- La longitud de la columna (diámetro de 1 cm)(n = 71) en un rango de 4 cm a 10 cm;
- La composición y el volumen de la solución eluyente;
- La reutilización de la columna;
- La verificación de ausencia de analito en los lavados antes de la elución.

Finalmente todas las muestras se miden por LSC, con la correspondiente calificación del instrumental.

Preparación de la fuente para su medición por electrodeposición

Una vez purificada, la muestra debe ser preparada en una forma adecuada para medir la actividad del radionucleido. Las partículas alfa son partículas cargadas y pesadas y ceden su energía durante la interacción con la materia provocando procesos de ionización y excitación, pudiendo ser atenuadas o absorbidas completamente en unos pocos micrómetros de tejido biológico o unos pocos centímetros de aire. Cualquier interacción podría disminuir el número de partículas que llegan al detector, causando pérdidas de la eficiencia en el sistema de detección. Idealmente, la fuente debe consistir de una capa monoatómica de emisores alfa con ausencia de toda materia extraña que podría atenuar la radiación, causando con ello pérdida de la resolución. Además, la fuente debe manejarse sin excesivos problemas, ser químicamente estable y contener un depósito uniforme y delgado para su medición en un soporte fijo.

Una de las técnicas más conocidas para este propósito es la electrodeposición. Este proceso se realiza en una celda electrolítica donde el cátodo es un disco de acero inoxidable con una cara expuesta a los electrolitos y el ánodo un electrodo de platino. Por medio del proceso de electrólisis el radionucleido es depositado sobre el cátodo, según el método convencional de Talvitie (1972) para deposición de actínidos.

En búsqueda de las condiciones óptimas se analizaron 82 muestras, con distintas soluciones electrolíticas y tiempos de electrodeposición entre 40 minutos y 120 minutos, en intervalos de 20 minutos. Debido a que la acidez de la solución es un factor crítico en el desempeño del proceso, se evaluó el pH

de la misma en un ámbito de 1,5 a 2,9 (cada 0,5 unidades). Una vez finalizada la electrólisis, una capa muy delgada del radionucleido de interés queda depositada en el cátodo: este depósito representa la muestra radiactiva capaz de someterse a los pasos de un análisis por espectrometría alfa.

Preparación del instrumental de medición

Medición por centelleo líquido (LSC)

El uso del trazador de Pu-242 certificado, con la composición isotópica detallada, posibilita la medición por centelleo líquido; sin embargo, la presencia de emisores alfas y betas en el trazador implica la correcta separación entre los eventos alfa y los eventos beta. El cóctel de centelleo utilizado es biodegradable, de los llamados "lentos" y con base en DIN.

Para la optimización y calibración del contador se incluyó lo siguiente:

- Optimización de la discriminación de los pulsos alfa/beta (α/β) usando PSA (Pulse Shape Analysis)
- Optimización de la relación muestra/centellador
- Calibración en eficiencia del detector
- Optimización de la zona de interés
- Determinación del fondo instrumental y de los límites mínimos de concentración detectable.

Medición por espectrometría alfa

Los detectores de sílice con iones implantados para determinar partículas alfa conforman un nuevo grupo de detectores que tienen algunas ventajas como por ejemplo: estabilidad, buena resolución alfa, bajo ruido, ventanas finas, menor cantidad de pérdidas, mejor resolución y estabilidad frente a los cambios por fenómenos externos (L'Annunziata, 1998). Para la espectrometría alfa son necesarios tres requisitos: alta resolución, alta sensibilidad y bajo fondo.

Los factores que influyen en la eficiencia y en la resolución son: (Knoll, 1989):

- La distancia fuente-detector: Toda partícula alfa que ingresa al área activa del detector es contada. La eficiencia del conteo es obtenida así por la eficiencia geométrica, que depende del ángulo sólido bajo el cual el detector sostiene a la fuente. Puede ser muy variable, especialmente con distancias fuente-detector pequeñas, debido a factores como la autoabsorción de la fuente. En este caso en particular, las fuentes certificadas (Isotope Products Laboratories, Burnbank, California) se colocan a distancias preestablecidas, en intervalos de 4 mm, con una distancia máxima de 44 mm. Se determina la medición en el plato 3 correspondiente a una distancia fuente-detector de 12 mm, con una eficiencia (media) de 4,6%.
- El radio de la fuente según las condiciones de preparación, es de $8,5 \pm 0,5$ mm, similar al radio del detector. Las fuentes deben ser homogéneas y finas para disminuir la autoabsorción, que es proporcional al espesor e inversamente proporcional a la actividad específica.

Cálculo de recuperación y pérdidas

Una vez obtenidas las condiciones óptimas de cada etapa del método radioquímico se evalúa el método en general conociendo el rendimiento y las pérdidas, para tal caso, se preparan muestras a partir de un patrón certificado con actividades tales que puedan ser fácilmente identificables más allá de sufrir grandes pérdidas. Son agregadas a las muestras de 1000 mL de orina blanco (de personal no expuesto) en las diferentes etapas del procedimiento: antes de la coprecipitación, antes de la separación por intercambio iónico y antes de la electrodeposición, con el objetivo de determinar la recuperación en cada paso del procedimiento radioquímico global. En todos los casos, se completa el mismo procedimiento y se mide por PIPS.

Conociendo las áreas correspondientes, se calcula la recuperación aparente según las actividades colocadas en cada etapa. La incertidumbre en los porcentajes se calcula usando la propagación de errores. La solución patrón posee una incertidumbre total, al 99% de NC, igual a $\pm 3,7\%$ de la actividad total de Pu-242 ($0,1840 \mu\text{Ci/g}$).

Las recuperaciones en cada muestra se denotan según Vera Tomé y colaboradores (1994):

Y(CIE) = recuperación (coprecipitación + intercambio iónico + electrodeposición)

Y(IE) = recuperación (intercambio iónico + electrodeposición)

Y(E) = recuperación (electrodeposición)

Y las recuperaciones en cada etapa serán: YC, YI, YE.

Globalmente pueden expresarse como:

$Y(CIE) = YC * YI * YE$

$Y(IE) = YI * YE$

$Y(E) = YE$

Es de mayor importancia analítica cuantificar las pérdidas de actividad en cada fase, éstas se denotan como LC, LI y LE, relativas a la actividad total presente antes del proceso de concentración. Un nuevo grupo de ecuaciones aparece, permitiendo los cálculos de estas pérdidas:

$LC = 1 - YC$

$LI = YC * (1 - YI)$

$LE = YC * YI * (1 - YE)$

Obteniéndose:

$C + LI + LE + Y(CIE) = 1$

(la fracción de las pérdidas de actividad en cada etapa y la recuperación total es igual a la unidad).

Resultados

Optimización de las condiciones

En la etapa de concentración inicial, coprecipitación con $CaHPO_4$, del estudio de la temperatura y de la cantidad de precipitante, sobre un total de 51 muestras, se determinaron las siguientes condiciones:

- Temperatura 60 °C ($94,5\% \pm 4,35\%$) (Figura 1). Las muestras se contaminaron con Pu-242 y se calcularon los rendimientos (recuperación) a distintas temperaturas de coprecipitación. En la figura se observa la mediana y los cuartos con el 50% de los datos de cada serie. Se comparan las temperaturas 40 °C (n = 5); 60 °C (n = 6), $p = 0,7837$ (NS), y entre 60 °C (n = 6) y 80 °C (n = 6), $p = 0,0898$ (NS).

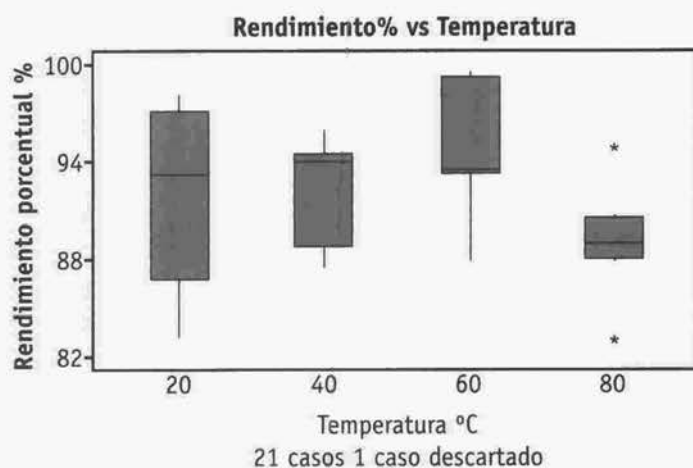


Figura 1. Distribución de las medianas

Para el nivel de significación seleccionado, los p-valores son mayores a 0,05, por lo que las medianas de cada serie comparadas entre sí no difieren significativamente. Cabe notar que el menor valor de p en la

comparación de 60-80 °C indica que puede considerarse a las medianas diferentes a un nivel del 9%. Se selecciona la temperatura 60 °C por presentar mayor porcentaje de recuperación y el menor desvío estándar en sus resultados (es decir, menor dispersión muestral).

- 2 mL de CaHPO_4 100 mg/mL en HNO_3 8M ($88,9\% \pm 4,66\%$) (Figura 2).

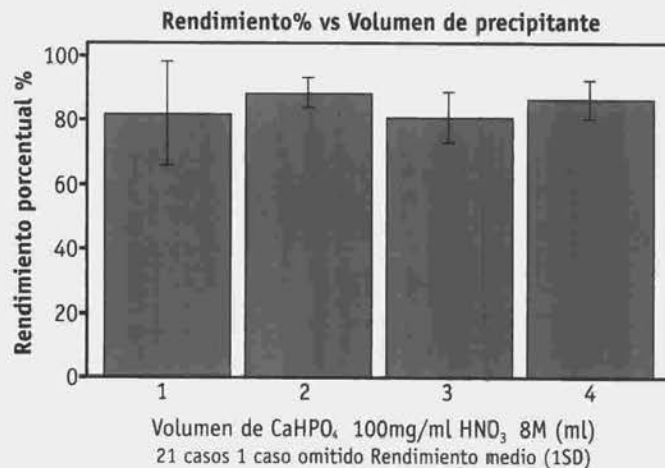


Figura 2. Rendimientos medios y desvío estándar de las muestras contaminadas con Pu-242 a distintos volúmenes de precipitante.

Las comparaciones se realizaron entre 2 mL ($n = 6$) - 3 mL ($n = 6$), $p = 0,0678$ y entre 2 mL ($n = 6$) - 4 mL ($n = 6$), $p = 0,5027$. De acuerdo a los datos anteriores, no hay diferencia significativa al 5% en ningún caso, pero se observa que al 7% de nivel de significación hay diferencia entre las medias de las series de 2 mL y de 3 mL. El criterio aplicado para la selección del volumen utilizado como precipitante, es la menor cantidad requerida de volumen cuando se obtienen porcentajes de recuperación similares.

En la etapa de separación por intercambio iónico, se obtienen los siguientes resultados, basándose en el análisis de 113 muestras contaminadas:

- Las columnas son utilizadas con resinas AG 1x8 Cl^- 50-100 mesh ($n = 29$), dando una media de $68,9\% \pm 13,5\%$, y 100-200 mesh ($n = 39$) con una media de $73,7\% \pm 10,3\%$ (Figura 3).

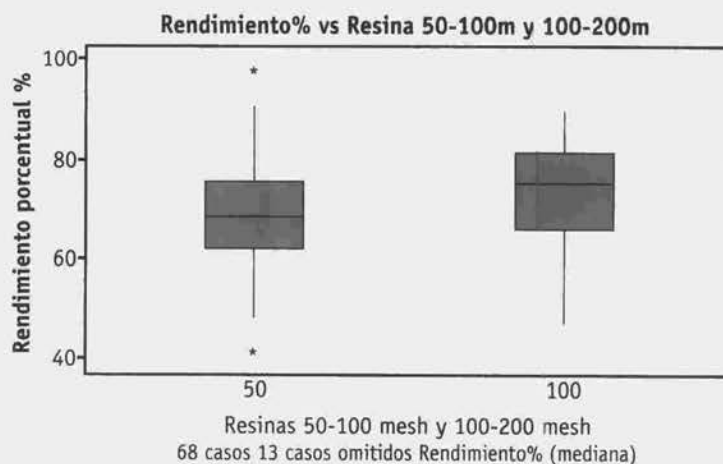


Figura 3. Comparación de la mediana de los rendimientos obtenidos para muestras contaminadas con Pu-242 separadas por intercambio iónico.

Los resultados obtenidos no arrojan diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) con un valor $p = 0,1045$.

- La longitud de la columna (de 1 cm de diámetro) no es un parámetro crítico, y se selecciona entre 4,5 cm y 9,5 cm.
- El volumen mínimo para recuperar el máximo de plutonio de las columnas es 3/4 de la longitud de la misma, y entonces el adecuado y suficiente es 1,50 de la longitud de la columna tanto para de resinas de 100-200 mesh como de 50-100 mesh. En la figura 4 se presentan los datos crudos para los dos tipos de resina usados.

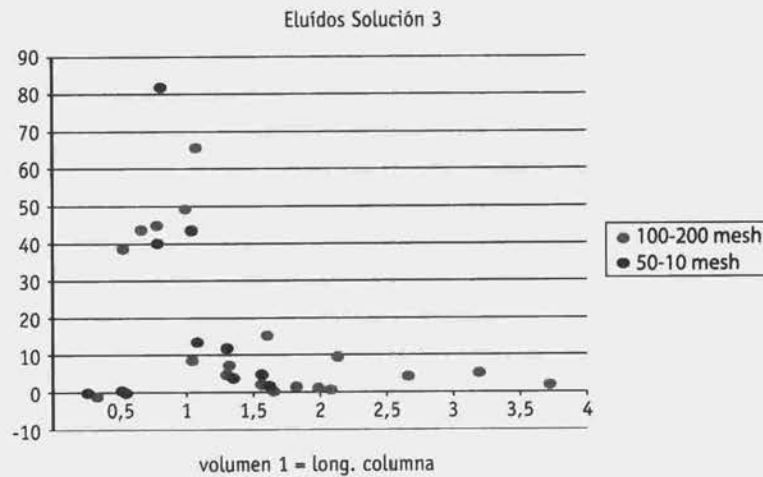


Figura 4. Rendimiento de las fracciones de eluido en función de la longitud de la columna

- Mínimas alteraciones en la composición de la solución eluyente no alteran significativamente los rendimientos (95% de NC). En la figura 5 se presentan los resultados obtenidos utilizando las siguientes soluciones eluyentes.
 - (0,3 N de hidroxilamina en 2 N de ácido clorhídrico),
 - (0,06 N de hidroxilamina en 2 N de ácido clorhídrico),
 - (0,1 N de hidroxilamina en 0,2 N de ácido clorhídrico).

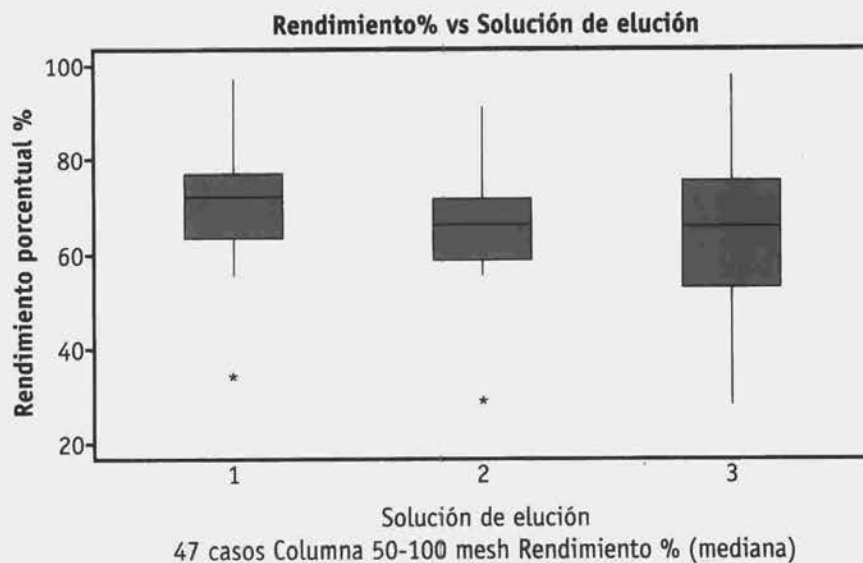


Figura 5. Rendimientos porcentuales (mediana) obtenidos de muestras contaminadas con Pu-242 (n = 47) evaluadas en columnas de 50-100 mesh con distintas soluciones eluyentes

Los ensayos se evaluaron a un nivel de significación del 5% ($\alpha = 0,05$); la comparación de a pares arrojó lo siguiente:

- solución a (n = 9) - solución b (n = 8), p-valor = 0,5631 (NS)
- solución a (n = 9) - solución b (n = 30), p-valor = 0,5395 (NS)
- solución b (n = 8) - solución c (n = 30), p-valor = 0,8869 (NS)

- Las resinas de 100-200 mesh presentan una disminución importante en su desempeño (~30%) en las primeras reutilizaciones; de igual manera, las resinas de 50-100 mesh muestran una tendencia a disminuir, no siendo marcadamente significativa como las anteriores por su bajo punto inicial de rendimiento, y la longitud de la columna no parece tener influencia sobre la tendencia presentada.

- No hay pérdidas de plutonio durante los lavados de las columnas ($1,31\% \pm 0,70\%$), y además no hay pérdidas significativas durante el proceso de evaporación en plancha a $80\text{ }^\circ\text{C}$ ($92,3\% \pm 3,30\%$) en las etapas intermedias.

Durante la electrodeposición se analizaron un total de 82 muestras contaminadas, con un volumen de solución electrolítica de 12 mL y una corriente de trabajo de $0,95\text{A}$. La evaluación de la solución electrolítica involucró tres tipos, cada una con un tiempo de 40, 60, 80, 100 y 120 minutos, y las condiciones óptimas para cada solución fueron (Figura 6):

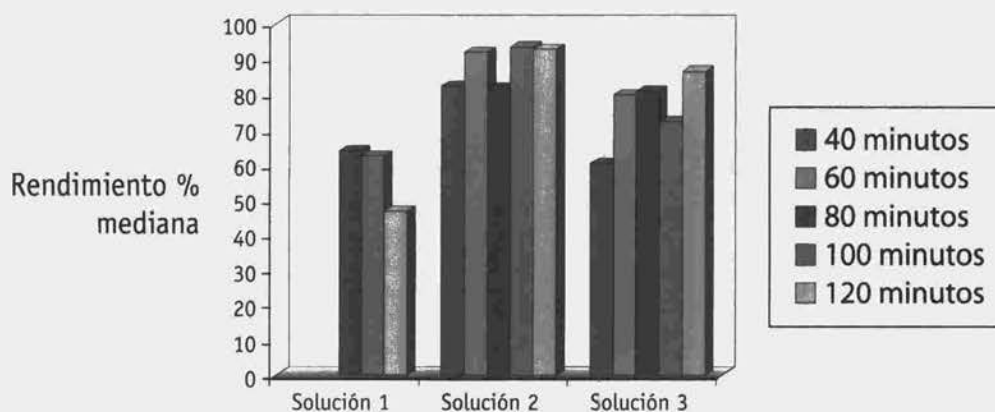


Figura 6. Rendimientos medios de las soluciones electrolíticas evaluadas en función del tiempo de electrodeposición de muestras contaminadas con Pu-242 (n = 57) a 950 mA .

- Solución 1: DTPA, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ (n = 9) pH 1,8, 63,9%; IC (47,0%-88,3%); tiempo de electrodeposición 80 minutos.
- Solución 2: NH_4OH , H_2SO_4 (n = 33) pH 2,18; 93,3%; IC (67,8%-98,8%), tiempo de 100 minutos.
- Solución 3: NH_4OH , H_2SO_4 preparada in situ (n = 15) pH 2,2-2,4; 86,5%; IC (70,4%-90,7%), tiempo de 120 minutos.

Las soluciones 2 y 3 no presentan diferencias significativas entre sus medianas al 5%.

Sobre la base de los valores anteriores, se selecciona la solución de trabajo del tipo NH_4OH , H_2SO_4 , que se prepara previamente o en el momento según el número de muestras a ensayar, teniendo en cuenta que no presentan diferencias significativas entre sus medianas al 5%.

Asimismo, se estudió la influencia del pH de la solución electrolítica sobre un total de 26 muestras. Se demostró que es posible trabajar en un rango de pH de 2,0-2,8 sin alterar significativamente el rendimiento de la electrodeposición (Figura 7).

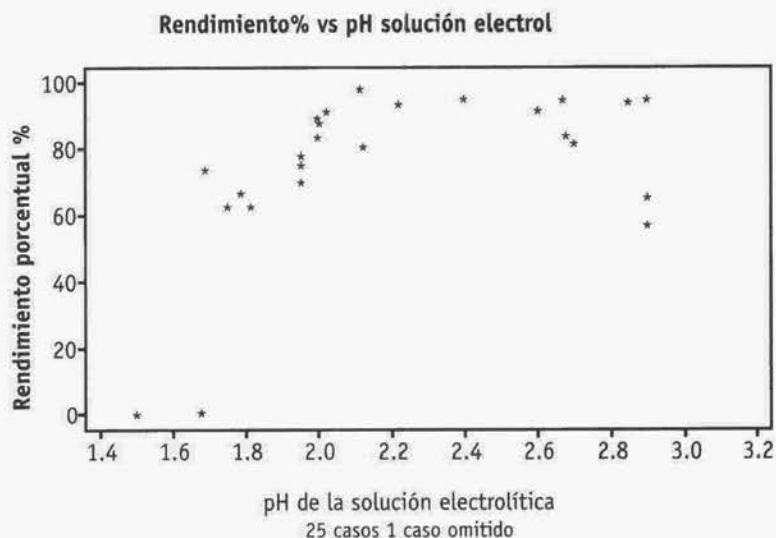


Figura 7: Rendimientos obtenidos de muestras contaminadas con Pu-242 y electrodepositadas en una solución de $\text{NH}_4\text{OH-H}_2\text{SO}_4$ a 100 minutos, con corriente de 1.Á, modificando el pH.

Estudio de las pérdidas en cada etapa

Los datos previos de optimización indican una recuperación media porcentual de $91,7\% \pm 4,51\%$ (IC 87,2%- 96,2%), N=51 en la coprecipitación, mientras que en la etapa de separación una recuperación media porcentual de $71,3\% \pm 11,9\%$ (IC 59,4%-83,2%) N = 113, y finalmente en la preparación de la fuente, se obtuvo una recuperación porcentual (mediana) de 93,3% IC (67,8%-98,8% (método de Altman)) N = 82.

Para estudiar las pérdidas se tomaron 24 muestras blanco (matriz sin analito) de 800 mL a las que se les adicionó el trazador de Pu-242 antes de cada etapa, en todos los casos se completó el método y se midió por espectrometría alfa.

Los valores de las pérdidas fueron calculados con las ecuaciones citadas anteriormente y se presentan en la Tabla 1, siendo LC la pérdida en la coprecipitación, LI en el intercambio iónico y LE en la electrodeposición. Los resultados están expresados como $\% \pm$ incertidumbre asociada (fueron calculados con las ecuaciones detalladas en el punto 2.4.3).

Tabla 1. Porcentajes de pérdidas de actividad

| Pu | LC % | LI % | LE % | Y(CIE) % |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Orina | $59,5 \pm 20,5$ | $29,9 \pm 6,73$ | $4,16 \pm 1,68$ | $6,52 \pm 1,25$ |

Se observa que el paso que involucra pérdidas mayores al 50% es la coprecipitación, constituyendo una etapa crítica en el método para ser evaluada y controlada.

Preparación del instrumental de medición

La evaluación de los sistemas de medición (centelleo líquido (LSC) y espectrometría alfa), es un punto clave para avalar los resultados obtenidos, y con mayor importancia en aquellas determinaciones con matrices y con fondos de medición influyentes y de alta variabilidad. Una vez que se establecen las condiciones de medición específicas para cada instrumental, se infiere que:

- Las muestras patrones medidas por LSC de coprecipitación (eficiencia $96,7\% \pm 2,2\%$) y de intercambio iónico (eficiencia $78,4\% \pm 9,5\%$) no difieren significativamente ($\alpha=0,05$) del valor tomado como referencia, por lo que son aceptados como exactos para ambas matrices.

- Las curvas de calibración, tanto para las muestras de coprecipitación como para las de intercambio iónico, muestran linealidad dentro del ámbito de trabajo.
- Los desvíos estándares relativos (RSD) obtenidos en las mediciones para las muestras de coprecipitación (RSD 2,28%) y para las muestras de intercambio iónico (RSD 10,7%), indican la precisión en las mediciones.
- La diferencia de los valores de RSD entre las muestras de distintas fases puede ser atribuible a la diferencia de actividad de material certificado utilizado en cada una, como así también a la matriz de la medición.
- Las muestras de espectrometría alfa presentan un RSD = 13,5%; este valor representa cuantitativamente la variabilidad principalmente del sistema de preparación de la fuente y con menor influencia la dispersión de la medición en sí. Por lo tanto, las muestras son medidas en condiciones de exactitud y precisión dentro de un ámbito lineal de trabajo, tanto para LSC como para espectrometría alfa.

El empleo de espectrometría alfa y de centelleo líquido para la determinación de emisores alfa se encuentra muy bien diferenciado según el propósito final. El LSC es una útil herramienta para evaluaciones donde se conoce el radionucleido a medir, de screening, por lo que se utiliza efectivamente para cuantificar las recuperaciones de cada paso de la técnica. Por otro lado, la espectrometría alfa se ajusta perfectamente a los ensayos que requieren alta sensibilidad y una completa caracterización de los isótopos que se encuentran en la muestra, pese a la desventaja que presenta la preparación de la fuente.

Comparación de los parámetros de desempeño

La Tabla 2 resume las condiciones operativas de los dos métodos utilizados para la medición de las muestras provenientes de los diferentes pasos de la optimización del proceso analítico. Los datos corresponden a las soluciones preparadas en la matriz utilizada en la medición con Pu-242 certificado. La selección del método de medición de las muestras se realiza bajo los criterios de facilidad operativa, de economía de tiempo y de disponibilidad de equipos y reactivos.

Tabla 2. Condiciones operativas para cada técnica en la matriz correspondiente según la etapa de evaluación

| Medición de Pu-242 ^a | LSC | LSC | Espectrometría alfa |
|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------|
| | Matriz de Coprecipitación | Matriz de Intercambio iónico | |
| Fondo (cpm) | 4,18 ± 0,72 (0,861) ^c | 2,06 ± 1,23 | 0,003 ± 0,002 |
| Eficiencia de conteo (%) | 96,7 ± 2,20 | 78,4 ± 9,54 | 4,60 |
| Tiempo de medición (seg) | 120 | 120 | 65969,1 |
| Preparación de la fuente | No | No | Si |
| Figura de mérito (E2/bg) ^b | 2237,1 | 2983,8 | 7053,3 |

^a Para las condiciones particulares de las muestras

^b Figura de mérito = proporción entre el cuadrado de la eficiencia y las cuentas por minuto del fondo

^c Correspondiente al fondo medido con discriminación alfa/beta (PSA).

Discusión

Incertidumbre

La evaluación de la incertidumbre asociada a un resultado es una parte esencial de cualquier análisis cuantitativo. La incertidumbre es definida como "un parámetro asociado al resultado de una medición, que se caracteriza por la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mesurando" (BIPM, 1993).

Cálculo de la incertidumbre del método

i. Identificación de las fuentes de incertidumbre del método

Calibración del instrumental

Efecto de la matriz de las muestras

Error de apreciación en los instrumentos analógicos

Error de apreciación en la lectura de material volumétrico

Incertidumbre de los materiales utilizados como referencia (certificados)

Efectos de los blancos de reactivos

Condiciones ambientales

ii. Cuantificación de los componentes de la incertidumbre

Calibración del instrumental con fuentes de referencia certificadas: $\pm 3\%$

Solución de referencia (plutonio-242) 3,7% (99 % NC) del certificado, las soluciones preparadas: $\pm 6\%$

Efecto de la matriz: $\pm 5\%$

Error de apreciación de los instrumentos analógicos: $\pm 0,1\%$

iii. Conversión a incertidumbre estándar

Incertidumbre sistemática (de tipo B): seleccionando una distribución rectangular, donde la incertidumbre es igual a la incertidumbre dada por el fabricante dividido la raíz cuadrada de tres: $\pm 4\%$

Incertidumbre azarosa (de tipo A, estadístico): calculada por medio de la propagación de errores del método utilizando los datos de desvío estándar de cada etapa de pretratamiento de la muestra: $\pm 14\%$

iv. Cálculo de la incertidumbre combinada

Por medio de la propagación de errores: $\pm 15\%$

v. Cálculo de la incertidumbre expandida

Se multiplica a la incertidumbre combinada por un factor de cobertura k . En este caso se selecciona un valor de 2 que provee un 95% de nivel de confianza (NC) bajo distribución normal. El valor de la incertidumbre es $\pm 30\%$ al NC 95%, que para los criterios de selección optados se consideran dentro del rango de lo esperado, debido a que se trabaja con muestras biológicas y con material radiactivo presente en bajos niveles de concentración.

Límites de decisión y de detección - Relevancia dosimétrica

Una de las causas principales por la que se requiere una completa caracterización del sistema de medición de radiactividad es que las muestras son medidas siempre en presencia de un fondo de radiación, limitando la detección de la contribución de la muestra. Dos cantidades son introducidas: el umbral de decisión que se indicará como L_c , que permite establecer si hay una contribución de la muestra en las cuentas medidas, y el límite de detección (L_d) que permite evaluar la mínima contribución de la muestra que puede ser realmente detectada (Altshuler, 1963).

Estos conceptos fueron presentados primariamente por Currie (1968, 1972) y desarrollados por las autoridades de estandarización nacionales e internacionales (Long, 1983). Básicamente la determinación del umbral de decisión y el límite de detección se funda en la hipótesis estadística acerca de la igualdad de distribuciones de las cuentas de la muestra y del fondo. Si N_0 son las cuentas del fondo y N_b son las cuentas de la muestra, es $N_n = N_b - N_0$. El L_c (de decisión) se define como el valor crítico de un test estadístico de hipótesis nula, $H_0: \nu_0 = \nu_b$.

El valor crítico del test estadístico, L_c , es definido como la probabilidad $P(N_n > L_c) = \alpha$, donde α es un

nivel preseleccionado entre 0 y 1, y calculado sobre la distribución de las cuentas del fondo. Si un número de cuentas medido N_n es mayor que L_c entonces la nulidad de la hipótesis es rechazada y se puede concluir que es una contribución de la muestra. La probabilidad que la hipótesis nula sea equivocadamente rechazada (error de tipo 1) es α .

El límite de detección L_d es considerado cuando la hipótesis nula es equivocadamente aceptada. Si la muestra en realidad contribuye a la señal pero se decide que no, es un error tipo 2, la probabilidad es β , $P(N_n < L_d)$. Así, si N_n excede L_d , la probabilidad de rechazar equivocadamente una contribución de la muestra sería β .

Cabe notar que sobre este aspecto existe numerosa bibliografía y con ello una gran cantidad de mecanismos y criterios empleados para el cálculo de estos límites. Se presentarán aquellos de mayor difusión para luego poder comparar los resultados analíticos y seleccionar un criterio único de trabajo enfocado en la aplicación estrictamente dosimétrica de los datos (Prasad, 2000).

Cálculo del Límite de Decisión, del Límite de Detección y de la Mínima Actividad Detectable (MDA) del Método

Se seleccionan los límites de decisión, de detección y la mínima actividad detectable como parámetros cuantitativos de alta relevancia para caracterizar al método de determinación, teniendo en cuenta la importancia y alcance de las decisiones tomadas a partir de los resultados en cuanto a la protección radiológica (Rucker, 2001).

Se analizaron 12 muestras de 800 mL de orina blanco (libre de analito) con el método optimizado. El mismo se dividió en tres etapas: el paso inicial de concentración por medio de coprecipitación, la etapa de separación y purificación mediante columnas de intercambio iónico, y finalmente la preparación de la fuente por electrodeposición para espectrometría alfa. Las muestras se midieron con detectores PIPS durante 24 horas y se ajustaron los datos según la eficiencia de conteo. Los resultados obtenidos son:

$N = 12$ muestras blanco

n (número de grados de libertad) = 11

media aritmética de las cuentas = 31,42

$s = 12,35$ cuentas

media del tiempo de medición = 84473,86 segundos

eficiencia media de conteo = 0,0462

Con los datos anteriores, se calcula por medio de cuatro mecanismos muy similares y que se encuentran altamente distribuidos en la bibliografía actual los L_c y L_d (DIN 225 482, 1992; ISO/11929, 1994).

Para el caso de la mínima actividad detectable, como requiere el dato de rendimiento global del método, se tomaron los valores más bajos obtenidos. En esta instancia, cabe notar que en todos los casos cuando el límite de detección se encuentra expresado en Bq/unidad de masa, representa a la mínima actividad detectable. Los resultados se muestran en la Tabla 3, para cada uno de los medios. Los cálculos se realizaron según los tres métodos (Currie, ecuación global y DIN) y se presentan en la tabla como vía 1, 2 y 3. Además, los valores se calcularon con el mínimo rendimiento porcentual obtenido optimizado de plutonio en orina.

Tabla 3. Valores de límite de decisión y límite de detección para el método radioquímico

| Vía | L_c (cuentas) | L_c (mBq/l) | L_d (cuentas) | L_d (mBq/l) = MAD |
|-----|-----------------|---------------|-----------------|---------------------|
| 1 | 22,18 | 95,87 | 47,59 | 205,7 |
| 2 | 23,70 | 102,4 | 50,36 | 217,7 |
| 3 | 20,32 | 87,80 | 40,76 | 176,18 |

Las fórmulas utilizadas fueron las siguientes:

$$1 \quad L_d = t^2 + 2ts_o$$

$$L_c = \frac{ts_o}{E R IDF W}$$

$$2 \quad L_c = \frac{k_{1-\alpha}^2}{2} + k_{1-\alpha} \sqrt{N_o + s_o^2} + \frac{k_{1-\alpha}^2}{4}$$

$$L_d = \frac{(k_{1-\alpha} + k_{1-\beta})^2}{2} + (k_{1-\alpha} + k_{1-\beta}) \sqrt{N_o + s_o^2} + \frac{(k_{1-\alpha} + k_{1-\beta})^2}{4}$$

$$3 \quad L_c = 1,645 s_o$$

$$L_d = 3,3 s_o^2$$

Los valores del límite de decisión (L_c) y del límite de detección (L_d) o Mínima Actividad Detectable (MAD) son parámetros de mayor interés en la caracterización del método (L'Annunziata, 1998; Knoll, 1989; Vera Tomé y colaboradores, 1994).

A partir de los cálculos y su comparación, el criterio seleccionado, basado estrictamente en la importancia práctica con enfoque dosimétrico, es el cálculo propuesto por la metodología DIN. Los valores obtenidos fueron $L_c = 0,1024$ Bq/L y $MAD = 0,2177$ Bq/L de orina. Este enfoque incluye tanto los errores tipo 1 y tipo 2 (falsos positivos y falsos negativos en un nivel menor al 5%), como así también la incertidumbre global del método.

La importancia radiológica de los resultados anteriores se muestra a través de los correspondientes valores dosimétricos derivados de los datos experimentales: actividad incorporada de Pu-239 tipo M 5 μm (seleccionado como estándar) de 1126 Bq/día, es decir 36 mSv. Esto indica que, en casos especiales, puede utilizarse la técnica. Teniendo en cuenta que los valores se calcularon con los más bajos rendimientos obtenidos, resulta aceptable su uso en forma rutinaria. Sin embargo, en ese caso se deberían establecer algunas condiciones tales como la frecuencia del muestreo, el volumen de la muestra, los isótopos y su forma química, todo lo cual se decidiría en forma conjunta con la instalación a controlar.

Conclusiones

La articulación de los enfoques de calidad, con los criterios claros y definidos de protección radiológica y con el método radioquímico, dio como resultado metodologías de validación transferibles a otras técnicas similares, y fundamentalmente, un método indirecto de monitoreo de trabajadores expuestos a una posible incorporación de isótopos de plutonio, que provee datos confiables y seguros, con evidencias objetivas, que se implementó como parte del programa de protección radiológica en la Comisión Nacional de Energía Atómica.

Referencias

- ALTSHULER, B.; PASTERNAK, B. (1963) Health Physics 9, 293.
- BOQUÉ, R.; MAROTO, A.; RIV, J.; RIUS, F. (2002) Grasas y Aceites 53, 128.
- CURRIE, L. A. (1972) Nucl. Inst. Meth. 387.
- CURRIE, L. A. (1968) Anal. Chem. 40, 586.
- DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. NACHWEISGRENZE UND ERKENNUNGSGRENZE BEI KERNSTRAHLUNGSMESSUNGEN (1992) DIN 25 482
- DOE (1998) Guide of Good Practices for Occupational Radiological Protection in Plutonium Facilities. DOE- STD- 1128-98.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (1998) Safe Handling and Storage of Plutonium. Safety Reports Series N° 9, IAEA, Vienna, Austria.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (1999) Assessment of Occupational Exposure due to Intakes of Radionuclides. Safety Standards Series, Safety Guide N RS-6-1.2, IAEA, Vienna, Austria.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION (1997-2001) Individual Monitoring for Internal Exposure of Workers. Publication 78. Replacement of ICRP Publication 54-1988. Pergamon Press, Oxford.
- IRAM (2000) Requisitos generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración. IRAM 301:2000, Guía ISO/IEC 17025 (1999).
- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION (1994) Determination of the Lower Limits of Detection and Decision for Ionizing Radiation Measurements. Part 1, 2, 3. ISO/11929.
- KNOLL, G. F. (1989) Radiation Detection and Measurement, 2nd. Ed. John Wiley & Sons, New York.
- L'ANNUNZIATA, M. (1998) Handbook of Radioactivity Analysis. Chapter I, L'Annunziata, M.; Chapter III, Fettweis, P.; Schwenn, H.; Chapter IV, L'Annunziata, M.; Kessler, M; Chapter V, Cook, G.; Passo, C.; Carter, B.; Academic Press.
- LUCIANI, A. (2002) Plutonium Biokinetics in Human Body, Hauptabteilung Sicherheit, Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe.
- LONG, G.; WINEFORDNER, J. (1983) Anal. Chem. 55 712.
- MIURA, T.; OIKAWA, S.; BANBA, S.; MORIMOTO, T. (2001) J. Radioanal. Nucl. Chem. 250, 449.
- PRASAD, M. V. (2000) J. Radioanal. Nucl. Chem. 246, 719.
- RUCKER, T. L. (2001) J. Radioanal. Nucl. Chem. 248, 191.
- TALVITIE, N. A. (1972) Anal. Chem. 44, 280.
- VERA TOMÉ, F.; JURADO VARGAS, M.; MARTÍN SÁNCHEZ, A. (1994) Appl. Radiat. Isot. 45, 449.