

VI° SEMINARIO NACIONAL Y II° LATINOAMERICANO DE ANÁLISIS POR TÉCNICAS DE RAYOS X

Comité Nacional de Espectroscopia de Rayos X
Noviembre - 1987

Bahía Blanca - Buenos Aires - Argentina

ANÁLISIS POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X DEL CONTENIDO DE SELENIO EN SANGRE

Raúl T. Mainardi
Fa.M.A.F. - U.N.Cba.
Laprida 854 - 5000 Córdoba.

RESUMEN

La presencia de ciertos y determinados elementos químicos en pequeñas concentraciones (trazas) en el organismo humano, tiene fundamental importancia en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades. Se ha demostrado que bajos niveles de selenio en sangre están asociados a la ocurrencia de la distrofia miotónica, enfermedad de origen muscular que afecta a un considerable porcentaje de la población.

Esta nota describe un procedimiento simple de determinación de selenio en suero por medio del análisis por fluorescencia de rayos x dispersivo en energías. La cuantificación se logra por medio del agregado de titanio a modo de estándar interno.

INTRODUCCION

La presencia de elementos inorgánicos en el organismo humano en trazas es de fundamental importancia para la salud. La Organización Mundial de la Salud reconoce catorce elementos químicos que juegan roles bien específicos, de los cuales siete son tradicionalmente conocidos (I, Ca, K, P, Fe, Cu y Zn), mientras que otros siete son de más reciente introducción (Se, Cr, Sn, V, F, Si y Ni). El selenio es un elemento que está presente en sangre en concentraciones del orden de $0,1 \mu\text{g}/\text{ml}$ (100ppm) y se ha descubierto hace muy pocos años (G. Orndahl y colab. 1982) que tiene una influencia decisiva en el tratamiento de la Distrofia Miotónica, ya que su administración interna permite recuperar la tonicidad muscular a niveles normales en pocos meses de tratamiento.

En el presente trabajo se describe brevemente la detección de selenio en sangre, por fluorescencia de rayos x dispersiva en energías (Bertin 1975), aunque un gran número de otras técnicas son aplicables (I.S. Koh 1987).

DESARROLLO EXPERIMENTAL

La muestra utilizada consiste de 5 ml de suero extraído de sangre humana por centrifugación, la que fue provista por la cátedra de Clínica Médica del Hospital Nacional de Clínicas de Córdoba. Para realizar la medición se utilizó un equipo de fluorescencia de rayos x construido en el grupo de Espectroscopia Atómica y Nuclear de la Facultad de Matemática, Astronomía y Física. Este consiste en un tubo de rayos x con anticátodo de tungsteno, un detector de estado sólido (germanio hiperpuro) de alta resolución, un multicanal para adquisición de datos y una microcomputadora para análisis de dichos datos. El portamuestra utilizado en las mediciones se construyó especialmente, a partir de un bloque de aluminio aleado de $5 \times 5 \times 7$ cm el que fue seccionado y perforado de manera tal que permite ser montado a la salida del tubo de rayos x. Además permite que se interponga un fluorescente secundario (niobio o molibdeno) en el camino del haz de rayos x, para una más eficiente excitación del selenio y finalmente, que se coloque el portamuestra de la muestra líquida (suero) inmediatamente sobre la ventana de berilio del detector de estado sólido. La trayectoria de los haces incidente, secundario y fluorescente forman ángulos de 90° entre cada uno de ellos, para reducir el fondo de radiación debajo de los picos de interés (Standzenieks y Selin, 1979). La figura 1 muestra un dibujo del aparato experimental.

Comunicación de Actividades

A los efectos de cuantificar la presencia de selenio en sangre, se pesó precisamente la cantidad de suero en el portamuestra y se le agregó una alícuota de titanio en solución, proveniente de una dilución de un tritisol Merck, para que actúe como estándar interno. En determinaciones que realizaremos en el futuro se agregará también itrio y se buscará de liofilizar la muestra. Una corrida típica con una identificación cualitativa de los elementos presentes en el suero analizado se muestra en la figura 2.

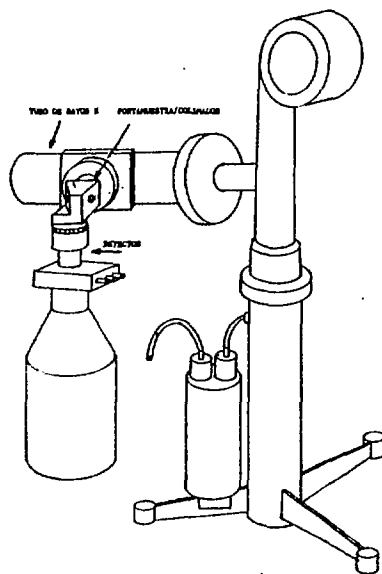


Figura 1 Principales elementos constitutivos del espectrómetro por fluorescencia de rayos X. La torre vertical es parte del equipo de refrigeración del tubo de rayos X.

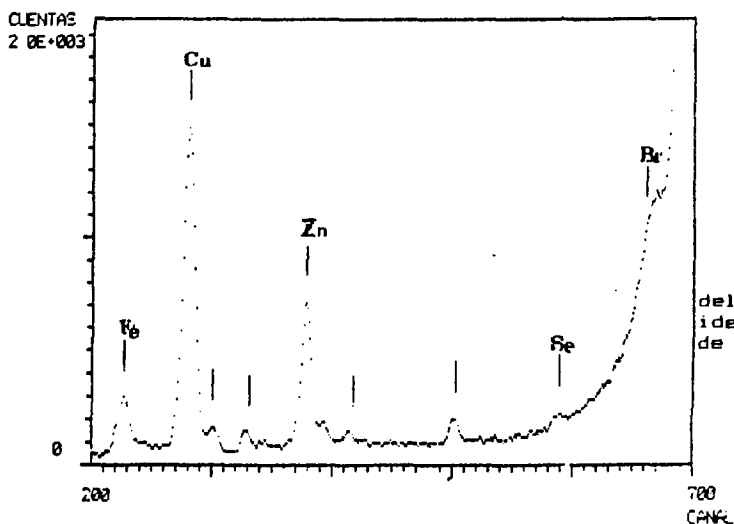


Figura 2. Corrida típica del espectrómetro con identificación automática de los picos.

CONCLUSIONES

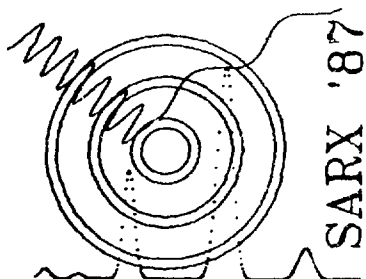
Este informe de actividades persigue los objetivos de comunicar sobre este tipo de determinaciones y en lo posible interesar sobre la determinación de selenio en sangre con otros métodos analíticos o procedimientos, o en otros puntos del país.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Jacob Levstein por sugerir la realización de este trabajo y por facilitarme valiosa información al respecto.

REFERENCIAS

- E.P. Bertin. "Principles and Practice of X-Ray Spectrochemical Analysis". (Plenum Press, 1975)
- T.S. Koh. Anal. Chem. 59(1987)1597
- G. Orndahl, A. Rindby and E. Selin. Acta Ned. Scand. 211(1982)493
- P. Standzenieks and. E. Selin. Nucl. Instr. and Meth. 165(1979)63



VI° SEMINARIO NACIONAL Y II° LATINOAMERICANO
DE ANÁLISIS POR TÉCNICAS DE RAYOS X

Comité Nacional de Espectroscopia de Rayos X
Noviembre - 1987

Bahía Blanca - Buenos Aires - Argentina

DETERMINACION DE CERIO EN FERROSILICIO POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X DISPERSIVO EN ENERGÍAS

Ema R. Marbec

INTI - CC 157 - 1650 San Martín - Pcia de Buenos Aires

Se determinó Cerio en muestras de Ferrosilicio utilizando la técnica de Fluorescencia de Rayos X dispersivo en energías con un blanco secundario de Gadolinio.

Los métodos utilizados fueron: comparación y regresión lineal con materiales de referencia de concentración de Cerio entre 0,4 y 1,0 %.

Las muestras se prepararon en forma de pastillas y los resultados analíticos se informan como promedio de cinco determinaciones con un intervalo de confianza al nivel del 95 %.

INTRODUCCION

El ferrosilicio-cerio es utilizado en la industria como agente nodulizante para la obtención de fundición gris. La composición química aproximada de este material es 45 % de Hierro, 45 % de silicio y el resto Magnesio, Calcio y Cerio. El Cerio en general se encuentra en estas aleaciones en una proporción de 0,4 a 2 %.

La determinación de este elemento por métodos de vía húmeda en este tipo de materiales implica generalmente un tiempo considerable, ya que estos métodos requieren una difícil puesta en solución y técnicas separativas previas a la determinación en sí. En consecuencia, éstos se tornan inaplicables en casos de urgencia de resultados y además, elevan considerablemente los costos de análisis. Por esta razón, hemos encarado la determinación de este elemento por Fluorescencia de Rayos X. Esta técnica instrumental es un método cuantitativo que permite trabajar con las muestras sólidas directamente, acortando y simplificando el tiempo y los refuerzos empleados en el proceso.

Si bien no es frecuente pero es continuo el requerimiento de la determinación de este elemento en nuestros laboratorios. Para cumplir con estas solicitudes se decidió poner a punto la determinación de Cerio en aleaciones de Ferro-silicio. Para ello, primero se analizan diversas aleaciones con distintos contenidos de Cerio para ser utilizados como material de referencia en el análisis por Fluorescencia de Rayos X (Della Morte, 1987).

Este trabajo se refiere al desarrollo del método de determinación de Cerio por Fluorescencia de Rayos X.

Equipos y Materiales

Se utilizó un equipo marca Kevex 0700, con generador de baja potencia con sistema de análisis 7000, detector de Si (Li) refrigerado con nitrógeno líquido, computadora 4SI-11 dedicada, con tres sistemas periféricos de salida: terminal de video en colores, teletipo y hard-copy.

Las condiciones de excitación fueron las siguientes: blanco secundario de Gadolinio, tensión 60 Kv, corriente 1,4 mA y tiempo de adquisición 200 S y se trabajó en vacío.

El material de Referencia se molió que pasara malla 100 (149 μm). Las pastillas se prepararon con una mezcla de 8 g de material y 0,400 g de un polivinil alcohol denominado comercialmente Mowiol (Hoechst), la mezcla fue homogeneizada a mano hasta uniformidad de color y luego en un molino a discos tipo Shatterbox, Marca Spex modelo N° 8510 durante 3 minutos. Las pastillas se prepararon con una prensa Angstrom aplicando una presión de 276 M.Pa (40.000 lb/in²) durante un minuto.

El contenido de Cerio en los materiales de referencia era: 0,37; 0,73 y 1,10 %.

Nota Técnica

Parte experimental

Se prepararon las muestras de la misma manera que el material de referencia.

Los datos se obtuvieron de los espectros de los materiales de referencia y de las muestras en las condiciones descritas en el párrafo anterior. En cada caso se obtuvo la intensidad neta de la línea CeK_α con un programa preparado para descontar automáticamente el fondo.

Para estimar la homogeneidad en la preparación de las muestras se prepararon tres pastillas de una misma aleación y se obtuvieron cinco espectros de cada una.

En la tabla I se observa las lecturas obtenidas

LECTURAS	PASTILLAS			TOTAL
	X	4	Z	
1	519,0	504,5	525,3	
2	508,7	528,0	511,4	
3	509,7	509,5	501,2	
4	513,9	518,0	529,5	
5	525,3	528,9	525,8	
Suma de cuadrados *	1231,98	2058,22	2301,73	5591,63
Cuadrado de las sumas	5291,10	7919,22	8663,88	
Determinaciones	5	5	5	
Cociente	1058,22	1583,8	1732,77	4374,83
Cuadrado de la suma total/15 =				4328,5
SW ² = 101	12 grados de libertad			
Sb ² = 23	2 grados de libertad			

* Se restó un valor constante de 500 a cada dato para facilitar los cálculos.

Tabla I - Estimación de la homogeneidad en la preparación de las muestras.

Las fórmulas generales empleadas son las siguientes:

$$S_w^2 = \text{varianza dentro de los grupos}$$

$$S_w^2 = \frac{E(X_i)^2 - \frac{(EX_i)^2}{n} + E(Y_i)^2 - \frac{(EY_i)^2}{m} + E(Z_i)^2 - \frac{(EZ_i)^2}{p}}{(n-1)(m-1)(p-1)}$$

$$S_b^2 = \text{varianza entre los grupos}$$

$$S_b^2 = \frac{\frac{(EX_i)^2}{n} + \frac{(EY_i)^2}{m} + \frac{(EZ_i)^2}{p} - \frac{(EX_i + EY_i + EZ_i)^2}{n+m+p}}{k-1}$$

donde k = número de grupos

y n, m, p = número de determinaciones en cada grupo.

$$F = \frac{S_b^2}{S_w^2}$$

Si S_b^2 es menor que S_w^2 no se utiliza F, se concluye directamente que no hay diferencia significativa entre los grupos.

En este caso experimental, por lo tanto, no se aplicó el test F y se puede concluir con certeza que las tres pastillas pertenecen a un sistema homogéneo.

Para obtener los resultados del contenido de Cerio en las aleaciones de ferro-silicio se emplearon dos métodos:

- . Comparación con un material de referencia y
- . Curva de calibración con tres materiales de referencia.

Se construyó una curva de calibración con los patrones secundarios disponibles.

Cerio (g/100g)	Intensidad $Ce_{K\alpha}$ (c/s)
0,37	278,8
0,73	434,5
1,10	683,5

Tabla II

La recta calculada resultante

$$I_{Ce} = 603,09 \% Ce + 17,5$$

en todos los casos las lecturas fueron adquiridas por quintuplicado y promediadas para los cálculos posteriores.

Se evaluó la ordenada al origen mediante la prueba de t

$$S_a = 28 ; t = 0,62 \quad t_{.95} = 12,7$$

Siendo el valor de t mucho menor que el tabulado para un nivel de confianza del 95 %, se puede afirmar que la curva de calibración pasa por el origen.

A su vez se calcularon las mismas muestras tomando el punto de 0,73 % de contenido de Cerio como referencia.

Los resultados de ambos métodos se dan en la tabla III.

MUESTRAS	VH	a	C E R I O (g/100g)	
			FRX	
			0,73 b	0,37 b
A	0,77	0,75	0,77	0,61
B	0,68	0,65	0,68	0,54
C	0,96	0,94	0,98	0,77
D	0,63	0,59	0,61	0,48

V.H. = vía húmeda

a = curva de calibración

b = comparación directa con la referencia de concentración indicada

Tabla III

En la última columna de la tabla se dan los resultados de las muestras calculadas con el patrón de menor contenido de Cerio únicamente a título ilustrativo.

Los resultados obtenidos por ambos métodos de FRX se los comparó con los obtenidos por vía húmeda utilizando la técnica analítica anteriormente citada (Della Morte, 1987).

A los efectos de confirmar la buena concordancia, de los resultados de cada método con respecto a los obtenidos por vía húmeda, se los evaluó por comparación con una recta teórica de pendiente 1 y ordenada al origen cero (Youden, 1961)

<u>METODO</u>	<u>COMPARATIVO</u>	<u>CURVA DE CALIBRACION</u>
<u>Ecuación de la recta</u>	$y = 1.0125x - 0,00763$	$y = 1.1248x - 0,1167$
Sa	0,015	0,042
ta	0,52	2,72
Sb	0,036	0,079
tw	0,35	1,58
t _{.95} teórico	4,30	4,30
Coefficiente Correlación	0,9993	0,9999

Tabla IV

Conclusiones

De estos datos surge que hay una buena concordancia entre los resultados obtenidos por ambos métodos con respecto a los de vía húmeda, técnica que se consideró como referencia en estos casos. Es válido entonces, emplear cualquiera de los dos, teniendo la precaución de utilizar un material de referencia similar al contenido de Cerio esperado, ya que por la comparación con la referencia de 0,37 % de Cerio, la calidad de los resultados es inaceptable.

Agradecimiento

Se agradece la colaboración del Lic. A.O. Della Morte en las determinaciones por vía húmeda.

Bibliografía

Della Morte, A.O. "Determinación de Cerio en muestras de ferrosilicio para ser utilizadas como material de referencia en Análisis Instrumental" - XVIII Congreso Argentino de Química, 1987.

Youden, W.J. Statistical methods for Chemists, 29- 32, 40 - 54, 1961.