

ANÁLISIS POR ACTIVACIÓN NEUTRÓNICA APLICADO A LA DETERMINACIÓN DE SELENIO EN PLASMA BOVINO.

Hevia, S¹. ; Dallorso, M.³; Resnizky, S.¹; Gil, S².; Pawlak, E².

1- Comisión Nacional de Energía Atómica. Centro Atómico Ezeiza. U. A. Radioquímica.

2-. Comisión Nacional de Energía Atómica. Centro Atómico Ezeiza. U.A. Agropecuaria.

3- Universidad Nacional de Lomas de Zamora

Objetivos

El objeto de este trabajo es presentar las experiencias realizadas para la determinación de selenio en plasma bovino. Las muestras pertenecen a animales afectados por una calcinosis conocida en Argentina como Entequo Seco, producida por la ingestión de una maleza tóxica. La deficiencia de selenio es uno de los factores que se considera predisponente para la aparición de la enfermedad.

Las determinaciones se llevaron a cabo en el Grupo Técnicas Analíticas Nucleares del Centro Atómico Ezeiza (CAE), utilizando la técnica de análisis por activación neutrónica con separación radioquímica. El trabajo está relacionado con la investigación realizada en forma conjunta por el Grupo Pecuario del CAE y la Universidad Nacional de Lomas de Zamora, sobre la incidencia del Entequo Seco, el cual afecta importantes áreas ganaderas de cría bovina de nuestro país.

Los trabajos en los cuales se han determinado estados deficitarios de Se en ganado bovino han utilizado la medición de la enzima Glutathion Peroxidasa, la cual correlaciona en forma directa con los niveles sanguíneos de Se. Con la técnica de activación neutrónica se están analizando directamente los niveles plasmáticos del elemento.

Dado que los niveles en plasma se encuentran en el orden de los ng/ml se hace necesario utilizar una técnica para trazas. La técnica que se presenta fue desarrollada y puesta a punto en el laboratorio sobre muestras de plasma de animales normales. Los resultados obtenidos en este caso se encuentran en un rango de 40-70 ng/ml, (media 60±12 ng/ml), coincidiendo con los valores de bibliografía.

Procedimiento

Muestreo y preparación de muestras: las muestras de plasma provienen de vacas que pastorean en zonas donde se presenta la enfermedad.

Porciones de 2 ml de plasma fueron liofilizados durante 24 horas. Los viales fueron pesados previa y posteriormente a la liofilización. De este modo se pudo relacionar los valores de concentración obtenidos en ppm con su expresión en ng/ml de plasma, dado que esta es la forma más frecuente de informar valores en este tipo de muestras.

Masas de plasma liofilizado en un rango de 60 a 150 mg fueron envasadas en ampollas de cuarzo y acondicionadas en cápsulas de aluminio para su irradiación en el reactor RA-3 del CAE.

La concentración de selenio se calculó utilizando un patrón líquido de concentración conocida. Para el chequeo del proceso se enviaron junto con las muestras, Materiales de Referencia Certificados (MRC) de origen biológico, cuyas masas fueron de

aproximadamente 150mg.

Irradiación y decaimiento: muestras, patrones líquidos y MRC fueron irradiados bajo un flujo aproximado de neutrones térmicos de $3.10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ seg}^{-1}$, durante 5 horas. Después de un tiempo de decaimiento de 2 a 3 semanas las muestras fueron procesadas.

Separación radioquímica: las muestras fueron destruidas por calentamiento a reflujo en medio $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4$, en forma conjunta con los portadores de precipitación de Se y Hg y portadores de retención apropiados (Na y Br). Luego fueron llevadas a medio 5N en H_2SO_4 y finalmente se agregaron Clorhidrato de Hidroxilamina y Tioacetamida para precipitar HgS sobre el que coprecipita el Se. Los precipitados fueron filtrados y acondicionados para su medición.

Medición: las mediciones se realizaron utilizando un detector de GeHP (30% de eficiencia, resolución 1.8 keV para el pico de 1332 keV de ^{60}Co), acoplado a un sistema analizador multicanal Canberra Series 85. Se determinó ^{75}Se ($T_{1/2}=120\text{d}$) a través de la medición de sus energías características (136; 264; 400 keV).

Resultados

Se analizaron hasta el momento 21 muestras de plasma de animales expuestos, tomadas a lo largo de un año de muestreo. Para la validación del método se utilizaron los siguientes materiales de referencia certificados: IAEA A-13 CRM, Animal Blood; NRCC Tort-1; y IAEA H-8 RM, Horse Kidney, obteniéndose buena concordancia con los resultados certificados.

La totalidad de los valores obtenidos fue sometida al test estadístico de “t para una Muestra”, comparándose con la media normal de 60ng/ml. Para la comparación entre fechas de muestreo se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Los resultados obtenidos por la aplicación de esta técnica a las muestras de plasma analizadas se encuentran detallados en la Tabla 1. En la misma se observan las fechas de muestreo, las concentraciones en ng/ml y su incertidumbre (DS), el promedio por fecha y el promedio de todas las muestras analizadas.

Conclusiones

La aplicación del análisis por activación neutrónica sobre muestras biológicas, revela una vez más la utilidad de la técnica para el abordaje de problemas relacionados con la determinación de elementos traza.

Los valores encontrados en éstas muestras (promedio = 12.9 ± 2.8 ng/ml) son significativamente menores a los valores normales (media 60 ± 12 ng/ml), resultando un valor de $p=0.0000$ al analizarse los datos mediante el test estadístico de “t para una Muestra” y compararse con la media normal. El análisis estadístico no Paramétrico muestra diferencias significativas de los niveles de selenio entre las fechas de muestreo ($p=0.0107$). Estos valores confirman deficiencia de selenio coexistente con el Entoque Seco en zonas enzoóticas de la enfermedad.

Estos resultados permitirían planificar trabajos futuros tendientes a esclarecer particularidades de la etiología y patogenia de la enfermedad. Un aspecto interesante podría ser relacionar la deficiencia de Se con su etiología (determinación de Se en suelos, pastos y agua de bebida) y con el nivel de ocurrencia de Entoque Seco en los campos bajos donde la planta tóxica está presente.

Tabla 1

Resultados de Se (ng/ml) en plasmas de animales afectados por Entequo Seco.

FECHA	[C] ng/ml	DS ng/ml	Promedio por fecha ng/ml
4/09/92	15.8	0.3	15.2±1.6
	13.3	0.2	
	17.1	0.3	
	14.7	0.3	
6/11/92	10.4	0.2	8.8±1.5
	9.6	0.2	
	7.8	0.3	
	7.3	0.2	
10/12/92	11.1	0.3	10.2±1.6
	11.2	0.3	
	8.4	0.3	
19/01/93	14.7	0.2	14.7±0.5
	14.0	0.3	
	14.9	0.3	
	15.3	0.3	
19/02/93	14.3	0.2	13.6±1.0
	12.9	0.2	
11/06/93	14.3	0.2	14.5±0.6
	15.0	0.2	
	13.8	0.2	
	14.9	0.3	

Promedio total = 12.9 ± 2.8