

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS FISICO-MATEMATICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

**Análisis por Activación con Neutrones
en la
Cuantificación de Proteínas
en Bajas Concentraciones**

T E S I S

QUE EN OPCION AL TITULO DE
**M. EN C. CON ESPECIALIDAD EN
INGENIERIA NUCLEAR**

PRESENTA

Luis Felipe Fernández Martínez

MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE 1986

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061

14900061



1020071029

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
NUEVO LEON**

FACULTAD DE CIENCIAS FISICO-MATEMATICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

**Análisis por Activación con Neutrones
en la
Cuantificación de Proteínas
en Bajas Concentraciones**

T E S I S

**QUE EN OPCION AL TITULO DE
M. EN C. CON ESPECIALIDAD EN
INGENIERIA NUCLEAR**

PRESENTA

Luis Felipe Fernández Martínez



MONTERREY, N. L.

SEPTIEMBRE 1986

TM
Z6651
FCFM
1986
F4.



137944

INDICE

RESUMEN

OBJETIVO

INTRODUCCION

I. DESCRIPCION DE LA PRUEBA DE LOWRY

II. ANALISIS POR ACTIVACION

III. METODOS

IV. MATERIALES Y EQUIPOS

V. RESULTADOS

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

APENDICE A

BIBLIOGRAFIA

RECONOCIMIENTOS

Quisiera agradecer las muestras de apoyo y confianza que recibí de los siguientes maestros durante la licenciatura:

Lic. Juan José Quintero, Lic. Victor Manuel Aguilera, Lic. Carlos Flores y Lic. Edgar Treviño, maestros que siempre han puesto lo mejor de sí; conservo, en el estilo de cada uno grato recuerdo. A los Lic. Flores y Treviño por lo que aprendí de ellos también en los estudios de Maestría.

Al Dr. Federico A. Rodríguez por el apoyo, la confianza y la dirección de este trabajo, así como su dedicación por que esto saliera adelante; de él aprendí algo más que Ingeniería Nuclear... gracias.

Al Dr. Manuel Rodríguez por dar las facilidades necesarias para que este trabajo se llevara a cabo en la Universidad de Texas en Austin Tx. Al Dr. Mario C. Salinas por su atención en la discusión de la información acerca de este trabajo y que caía fuera de nuestro alcance.

A los Drs. Bahuer e Iskander de la Universidad de Texas por su asesoría y facilidades de equipo al desarrollar este trabajo en los Laboratorios de la Escuela de Ingeniería de dicha Universidad.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León en particular a la Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas, de donde salí y con quien quedo en deuda.

Luis Felipe Fernández Mtz.

INDICE

RESUMEN

OBJETIVO

INTRODUCCION

I. DESCRIPCION DE LA PRUEBA DE LOWRY

II. ANALISIS POR ACTIVACION

III. METODOS

IV. MATERIALES Y EQUIPOS

V. RESULTADOS

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

APENDICE A

BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

En esta investigación, el método de Análisis por Activación de Neutrones (AAN) ha sido utilizado para determinar bajas concentraciones de cobre en albúminas sérica bovina y consecuentemente la cuantificación de éstas. Siendo que los niveles de concentración de cobre en este trabajo fueron del orden de microgramos, se verificó experimentalmente que este método (AAN) podría ser usado para determinar niveles de concentración aún más bajos.

Los resultados mostrados en la figura No. 1 son excelentes, en los cuales se demuestra en forma evidente la gran sensibilidad del cobre a activarse con los neutrones. Es aquí donde esta técnica nuclear sustituye en forma por demás contundente al método de Lowry en la cuantificación de proteínas.

OBJETIVO

El objetivo fundamental de esta investigación es el de establecer un método analítico para determinar bajas concentraciones de cobre ligadas a proteínas, y con ello poder cuantificarlas en los niveles en donde el método de Lowry no las puede detectar.

El método propuesto en esta investigación es el de Análisis por Activación de Neutrones (AAN). Este método tiene la ventaja de hacer las determinaciones de elementos en forma no destructiva, teniendo una característica adicional de que hay muchos elementos que son sensibles a la activación de neutrones.

INTRODUCCION

Un método que ha sido tradicional por más de 15 años en las Ciencias Biológicas para cuantificar proteínas, es el método de Lowry. Este método no es sensible cuando la medición requiere de concentración de proteínas menores o iguales a 0.1 microgramos/mililitro.

Al analizar el método de Lowry¹, nos encontramos que éste consiste en aprovechar una reacción de coloración² al agregar ciertos compuestos, entre ellos $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, a una concentración conocida de proteínas. Tomando en cuenta esta situación, el hecho de que las proteínas están ligadas al elemento cobres³ y de que este elemento es muy sensible a la técnica analítica de activación nuclear por medio de neutrones, hacen que esta técnica sea muy poderosa en el estudio de la cuantificación de proteínas a bajas concentraciones.

I

DESCRIPCION DE LA PRUEBA DE LOWRY¹

La prueba consiste en aprovechar una reacción de coloración que se presenta al agregar ciertos reactivos (ver tabla 1) a una cantidad conocida de proteína, la coloración es una función de la concentración de proteína en cada tubo de ensayo; en estos tubos se evalúa la absorbancia con un espectrofotometro.

Se traza una gráfica de Absorbancia VS. Concentración que llamaremos curva patrón. Para encontrar la concentración de proteína en nuestro problema se trata igual que los demás tubos y se lee la absorbancia en el espectrofotometro a 660 nm, comparando con la curva patrón se interpreta la cantidad de proteína que contiene.

El problema como se explico antes está en que a bajas concentraciones el método no es confiable.

TABLA 1

REACTIVO A	Na_2CO_3 al 2% de NaOH
REACTIVO B	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 5% encitrato de Na al 1%
REACTIVO C	Tomar 1 ml. de reactivo B con 50 ml. de A
REACTIVO D	REACTIVO DE FOLIN (diluido 1:3)

PROCEDIMIENTO

- 1.- Preparar una serie de tubos testigos con la proteina
 - 2.- Agregar reactivo A y mezclar.
 - 3.- Agregar reactivo C.
 - 4.- Mezclar bien e incubar 10 min. a temperatura ambiente.
 - 5.- Agregar reactivo D (0.5 ml.) tubo por tubo y agitar.
 - 6.- Incubar 30 min. a temperatura ambiente.
 - 7.- Leer a 660 nm.
 - 8.- Ajustar con el tubo 6.
-

TABLA 1 CONT.

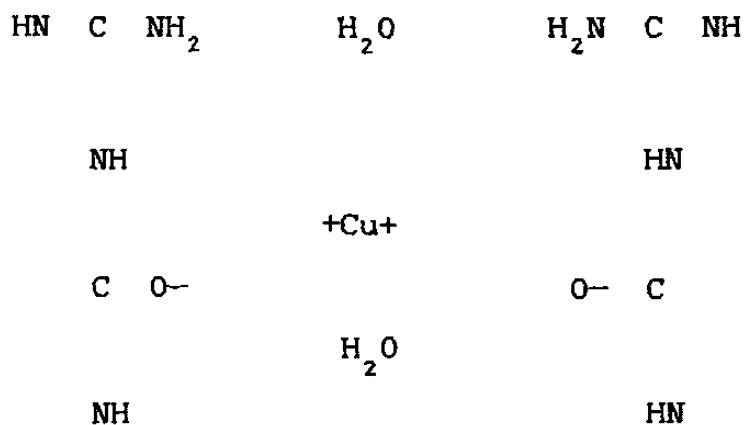
TUBO	PROT.TESTIGO(ml)	REACT A(ml)	REACT C(ml)	REACT D(ml)
1	0.1	0.4	5.0	0.5
2	0.2	0.3	5.0	0.5
3	0.3	0.2	5.0	0.5
4	0.4	0.1	5.0	0.5
5	0.5	0.0	5.0	0.5
6	0.0	0.5	5.0	0.5

Las proteínas constituyen la clase de compuestos bioquímicos más característicos del protoplasma y la vida.

Todas las proteínas contienen carbono, hidrógeno, oxígeno nitrógeno y azufre, además ciertas proteínas contienen fósforo, yodo, hierro, cobre, zinc u otros elementos.

Si se trata una solución de proteínas con iones Cu^{++} en un medio moderadamente alcalino se forma complejo quelato coloreado de composición descolorida entre el ión Cu^{++} y los grupos carbonilo.

La estructura sugerida es:



Esta estructura muestra que iones de cobre se ligan a la proteína; si se logra detectar una relación entre el cobre ligado y la cantidad de proteína se puede construir una gráfica patrón en la cual por comparación se conocería la cantidad de proteína a un problema dado.

II

ANALISIS POR ACTIVACION

Los principios básicos del análisis por activación no son nuevos, fueron aplicados por primera vez en 1936 por Hevesy y

Levi¹⁷ quienes determinaron la cantidad de DYSPROSIUM en una muestra de YTTRITIUM. El DYSPROSIUM en la muestra se activó cuando fue bombardeado con neutrones de una fuente Ra-Be.

El análisis por activación a causa de su alta sensibilidad es una herramienta indispensable en un amplia variedad de campos como la Ciencia e Ingeniería, Industria, Exploración de Minerales, Medicina, Monitoreo de Medio Ambiente y Ciencias Forensicas.

El método de análisis por activación consiste de los siguientes pasos principales:

- + Selección de una reacción nuclear óptima .

- + Preparación de la muestra para irradiación.

- + Irradiación de la muestra.
- + Conteo de la muestra irradiada.
- + Análisis de los resultados.

SELECCION DE UNA REACCION NUCLEAR OPTIMA

La reacción nuclear elegida depende no solo del isótopo y de la partícula de bombardeo, sino también de la muestra que va a ser analizada. Por ejemplo, la reacción

$Al_{27}(n,\gamma)Al_{28}$ puede ser la mejor para la detección de aluminio en una muestra dada; sin embargo, si la muestra contiene silicio junto con el aluminio, la reacción

$Si_{28}(n,p)Al_{28}$ causaría interferencia en la medición. En este caso, será mejor utilizar la reacción $Al_{27}(n,p)Mg_{27}$ o $Al_{27}(n,\alpha)Na_{24}$.

La reacción más utilizada es (n,γ) la cual ocurre con la mayoría de los isótopos aunque con diferentes probabilidades de que se lleven a cabo.

Existen otras reacciones tales como (n,α) , (n,p) , $(n,2n)$ que pueden utilizarse; excepto para las pocas reacciones exotérmicas (n,α) las otras tienen un umbral, por lo cual solo ocurren con neutrones rápidos.

Las reacciones con partículas cargadas (α,n) , (p,γ) , (d,p) así como la fotoactivación (γ,n) complementan el análisis por activación. La primera tiene desventajas con respecto a los neutrones, son endotérmicas y tienen umbral; con respecto a la fotoactivación en algunos casos es mejor que utilizar neutrones; por ejemplo, si el isótopo producido es de vida media muy corta, o emite solo betas o rayos-x de muy baja energía. La probabilidad para reacciones fotonucleares es generalmente más pequeña que para reacciones con neutrones o partículas cargadas.

La tabla 2 muestra una comparación para nuestro caso con los tres tipos de reacciones:

TABLA 2

REACCION	UMBRAL(Mev)	VIDA MEDIA	EMISION(Mev)	SECC. EFICAZ
$\text{Cu}^{63}(\text{n}, 2\text{n})\text{Cu}^{62}$	11.01	9.76 min	$\gamma(0.511)$	
$\text{Cu}^{63}(\text{n}, \gamma)\text{Cu}^{64}$	--	12.8 h	$\gamma(0.51)$	4.5 b
$\text{Cu}^{63}(\alpha, \text{n})\text{Ga}^{66}$	7.69	9.45 h		
$\text{Cu}^{65}(\gamma, \text{n})\text{Cu}^{64}$	9.9	24 min	$\beta^+, \gamma(0.511)$	

PREPARACION DE LA MUESTRA PARA IRRADIACION

La muestra debe de ser preparada adecuadamente y puesta en un contenedor antes de ser irradiada. La persona que prepare la muestra debe extremar precauciones para no contaminarla; este método de análisis por activación es tan sensible que puede detectar trazas de elementos no detectables por métodos químicos. Si la muestra es manejada en lugares donde exista polvo, este puede actuar como contaminante, de la misma manera, si la muestra se maneja con las manos éstas pueden contaminarla con sal de manera que muestre presencia de sodio y cloro. Para evitar contaminación, la preparación debe de hacerse en cuartos limpios utilizando instrumentos libres de cualquier contaminante y guantes de plástico.

El contenedor en el que se pondrá la muestra debe cumplir los siguientes requisitos:

- 1) Alta resistencia térmica como la radiación.
- 2) Bajo contenido en elementos que se vuelvan radioactivos.
- 3) Fácil de manejar.

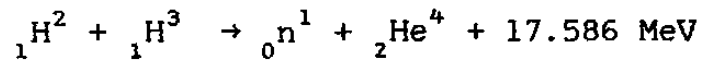
Los materiales utilizados frecuentemente son polietileno, sílica y placas de aluminio.

Se utilizaron tubos de plástico como contenedores de las muestras de proteínas a ser irradiadas. Estos tubos fueron sellados con calor para evitar que la solución que contiene la proteína se fugara del tubo. Luego de ser sellados son introducidos en un tubo mucho más grande junto con un monitor de sodio para hacer correcciones por variaciones de flujo.

FUENTES DE IRRADIACION

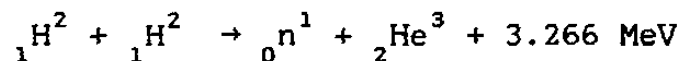
Las fuentes de neutrones incluyen reactores, aceleradores y fuentes isotópicas. Los reactores nucleares son por mucho el equipo más usado en irradiación, éstos proveen altos flujos (10^{18} neutrones/m²·s) de neutrones térmicos ($E < 1$ eV). También se dispone de neutrones rápidos en el rango de KeV pero a niveles de flujo bajo.

Los aceleradores producen neutrones rápidos como producto de reacciones con partículas cargadas. Estos aparatos se denominan generadores de neutrones que operan con la reacción:



La sección eficaz para esta reacción es de 5 barn con una energía de 120 KeV del deuterón. La energía del neutrón producido es de aproximadamente 14 MeV y un flujo máximo de 10^{12} n/m²·s.

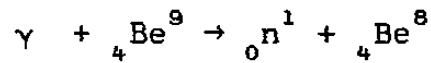
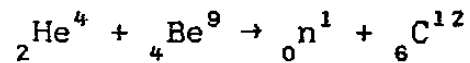
Neutrones con un promedio de energía de 2.5 Mev son producidos por la reacción (d,d):



La sección eficaz para esta reacción es de cerca a 100 mb y una energía del deuterón de 2 MeV. Esta reacción ofrece un flujo de 10^9 n/m²·s.

Es importante señalar que estas reacciones producen neutrones monoenergéticos. Fuentes isotópicas de neutrones son basadas sobre reacciones (α,n) y (γ,n) así como fisión espontánea de Cf-252, todas producen neutrones rápidos.

Ejemplos de estas reacciones son:



Aparte de ciertos radioisótopos emisores- α , los aceleradores son las únicas fuentes prácticas de partículas cargadas. Pueden proveer cualquier partícula cargada o ión para bombardear un blanco en un amplio rango de energías.

Las partículas más comunmente usadas como proyectiles son protones, deuterones y alfas.

Las fuentes de fotones incluyen radioisótopos, reacciones nucleares y radiación de frenado. Los radioisótopos más usados:

ISOTOPOS ⁺	VIDA MEDIA	EMITE	ENERGIA (Mev)
Na ²⁴	15.0 h	γ	1.37 y 2.75
Co ⁶⁰	5.3 yr	γ	1.17 y 1.3
Sb ¹²⁴	60 d	γ	1.71, 2.1 y 2.3

+ No estables.

IRRADIACION DE LA MUESTRA

Las muestras de proteínas que contenían cobre fueron preparadas en el Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Estas muestras se dializaron, con el objeto de eliminar los restos de cobre que no reaccionaron, y de estas muestras se tomó un mililitro de solución de cada una, que contenía albúmina sérica bovina con una pureza de 99.99%.

En la irradiación de las muestras y el estándar, se utilizó el soporte giratorio de muestras del reactor, el cual estaba sujeto a un flujo de neutrones de aproximadamente 1.8×10^{12} neut/cm²/seg. (250 Kw), el tiempo de irradiación fue de 3 minutos cada una.

Durante la irradiación con neutrones térmicos de las muestras y el estándar de cobre, los siguientes isótopos están siendo producidos (ver tabla 3).

TABLA 3

 ACTIVIDAD DE LOS RADIOISOTOPOS DEL COBRE

Reacción Nuclear -----	Vida Media -----
$\text{Cu}^{63}(n,\gamma)\text{Cu}^{64}$	12.8 h
$\text{Cu}^{65}(n,\gamma)\text{Cu}^{66}$	5.1 m

CONTEO DE LA MUESTRA IRRADIADA

Los factores que incluyen en la actividad final de una muestra están dados en la siguiente ecuación:

$$A = N\sigma\phi(1-e^{-\lambda t_i})$$

donde:

$$\lambda = \frac{.693}{T_{1/2}}$$

A = Actividad inducida presente al final de la irradiación.

N = Número de átomos blanco presentes.

σ = Sección eficaz (cm²).

ϕ = Flujo de irradiación (n₀/cm²·seg).

t_i = Tiempo de irradiación.

T_{1/2} = Período de semidesintegración.

λ = Constante de semidesintegración.

La actividad inducida en la muestra al ser irradiada es proporcional a la cantidad de átomos del elemento que se activó y que nos interesa conocer.

En la ecuación anterior $(1-e^{-\lambda t})$ se denomina factor de saturación y da la mínima actividad que una muestra puede alcanzar.

Esta máxima actividad se denomina actividad de saturación siendo esta:

$$A = N\sigma\phi$$

En esta ecuación los parámetros σ (sección eficaz) y ϕ (flujo neutrónico) son determinados: el primero, por el elemento en cuestión y el segundo, por el equipo, en este caso el flujo disponible en el reactor nuclear.

La ecuación se puede utilizar para determinar N (número de átomos) conociendo la actividad inducida, el flujo y la sección eficaz. Este método se llama determinación absoluta.

Esta forma de hacer determinaciones de elementos presenta poca exactitud debido a que el flujo neutrónico en un reactor no es conocido con precisión o existen variaciones durante el tiempo de irradiación, suponiendo que la sección eficaz es conocida con buena aproximación.

Una alternativa que elimina la incertidumbre de la determinación absoluta es la técnica comparativa; que consiste en irradiar simultáneamente la muestra a analizar junto con un estandar en estado puro y de peso conocido del elemento a estudiar llevandose a cabo la irradiación por el mismo tiempo.

Bajo estas condiciones, las actividades específicas (razón de desintegración/peso de elemento) de la muestra y el estandar son las mismas. Esto es:

$$\frac{W_x}{D_x} = \frac{W_s}{D_s}$$

Así

$$W_x = \frac{W_s}{D_s} D_x$$

Donde:

W_x = Peso del elemento x en la muestra.

W_s = Peso del elemento x en el estandar.

D_x = Razón de desintegración del elemento x
en la muestra.

D_s = Razón de desintegración del elemento x
en el estandar.

Los esquemas de desintegración están dados en el Apéndice A.

III

METODOS

El método de Análisis por Activación de Neutrones (AAN) es una técnica analítica, que ofrece muchas ventajas en el análisis cualitativo y cuantitativo de una gran cantidad de elementos que pueden estar en estado sólido o líquido.

Existen tres formas principales⁴ para el Análisis por Activación de Neutrones:

1) Instrumental.

Esta forma es preferida cuando es aplicable, puesto que es rápida y no destructiva. Se requiere que los fotopicos de interés sean discernibles en el espectro obtenido de la muestra.

2) Análisis Computacional de Espectros Complejos de Rayos-Gamma⁵ .

El método lineal de los Mínimos-Cuadrados para el Análisis de los Espectros Complejos de Rayos-Gamma, ofrece una alternativa a la forma anterior. Esta forma determina

elementos en los espectros complejos en forma rápida y precisa.

3) Separación Radioquímicas-12.

Las formas anteriores ofrecen un análisis no destructivo de la muestra. Sin embargo, cuando estos métodos no pueden ser aplicados para resolver un problema particular debido a interferencias, se justifican las separaciones radioquímicas.

Con los flujos de neutrones disponibles en reactores nucleares, el método AAN puede ser usado para determinar cantidades muy pequeñas de elementos, y en muchos casos a niveles de nanogramos¹³. Sin embargo, flujos de neutrones grandes, así como tiempos de irradiación largos son a veces requeridos para obtener razones de conteo apreciables, dependiendo por supuesto sobre la sensibilidad^{14,15} del elemento que está sujeto a la irradiación.

SENSIBILIDAD DEL METODO ANALISIS POR ACTIVACION

La sensibilidad de esta técnica^{14,15,16} depende tanto de factores teóricos como prácticos:

- + Sección eficaz del blanco para la reacción.
- + Vida media del isótopo radiactivo producido.
- + Tiempo disponible de radiación.
- + Flujo de neutrones a que es expuesto el blanco.
- + Rapidez con que se haga las mediciones del decaimiento y la eficiencia de éstas.
- + Posible interferencia debido a la presencia de radiación.

En nuestro problema tenemos como blanco el cobre, los datos referentes a este elemento se encuentran en la tabla 4 y 5.

La cantidad de cobre detectable por este método sin interferencia es de 0.0001 μgr o menos.

Para nuestro propósito debemos recordar que las proteínas se componen de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno; estos elementos no producen interferencia en nuestra prueba. La tabla 6 da un relación de la probabilidad de que ocurra una reacción (n,γ) . Sin embargo, la proteína al ser tratada con los reactivos se le agrega sodio (Na), el cual presenta interferencia en el espectro de rayos Gamma.

Para tratar de eliminar esta interferencia las muestras fueron dializadas en agua tridestilada. Para hacer esto las muestras de proteínas se pusieron en membranas en forma de tubo y se sumergieron en agua tridestilada con el fin de que el sodio y los iones de cobre que no se adhirieron a la proteína fueran retirados de la solución, pasando a través de la membrana, dejando solo la proteína y los iones de cobre adheridos a ella. Esto se llevó a cabo por 48 horas. Con este proceso se evita tener Na en cantidades que presentaran interferencia al espectro del isótopo radioactivo del cobre; así como obtener una medición de cantidad de cobre que no

Leve
aprobada

correspondiera exactamente a la atrapada por la proteína.

TABLA 4

ISOTOPOS	ABUNDANCIA	SECCION EFICAZ (B)
Cu - 63	69.1%	4.5 (σ_{th})
Cu - 65	30.9%	2.3 (σ_{th})

TABLA 5+

ISOTOPO RADIOACTIVO	ENERGIA GAMMA (Mev)	FOTOPICO
Cu - 64	0.51	6.2X10 ⁹ cpm/gr
Cu - 66	1.04	7.2X10 ⁹ cpm/gr

+ Datos tomando en cuenta un flujo

$$\phi = 3.5 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2\text{-seg.}$$

A 250 kw, por un tiempo de irradiación de 1 hora.

TABLA 620

ELEMENTO	SECCION EFICAZ (σ_{th})
O	< 0.2 mb
C	3.4 \pm 0.3 mb
N	1.75 \pm 0.02 b
H	332 \pm 2 mb

VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN EL METODO DE ANALISIS POR ACTIVACION

Una de las grandes ventajas de este método es la capacidad para detectar muchos de los isótopos con una sensibilidad extremadamente alta. Otras ventajas son:

- 1.- Prueba no destructiva.
- 2.- Muestras con una masa muy pequeña.
- 3.- Se pueden detectar más de un elemento a la vez.
- 4.- Se pueden identificar diferentes isótopos de un mismo elemento.

5.- Resultados rápidos.

6.- No es afectado por la forma química del elemento de interés.

De las desventajas la principal es que se requiere de un equipo bastante caro para su aplicación.

IV

MATERIALES Y EQUIPOS

1. Muestras de albúmina sérica bovina con diferentes concentraciones.
2. Muestra estándar de 100 microgramos de Cu.
3. Las muestras se prepararon en el Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina de la UANL.
4. El equipo utilizado en este trabajo de investigación, fue el reactor nuclear utilizado fue el TRIGA Mark I de la Universidad de Texas. El sistema de espectrometría de rayos-gamma utilizado para obtener el espectro de los rayos-gamma del Cu-66, consiste de un cristal de Ge (Li) acoplado al Analizador Multicanal ORTEC GEM-20180-S, que contiene a su vez, un programa de computadora para calcular las cantidades de los elementos a determinar.

RESULTADOS

Los resultados de la medición del cobre en proteínas son mostrados en la tabla 7 (ver figura No. 1).

TABLA 7

Contenido de Cu ----- (μgr)	Concentración de Proteínas ----- ($\mu\text{gr/ml}$)
3.45	5×10^{-3}
5.40	8.3×10^{-3}
29.55	50.0×10^{-3}
43.64	83.0×10^{-3}

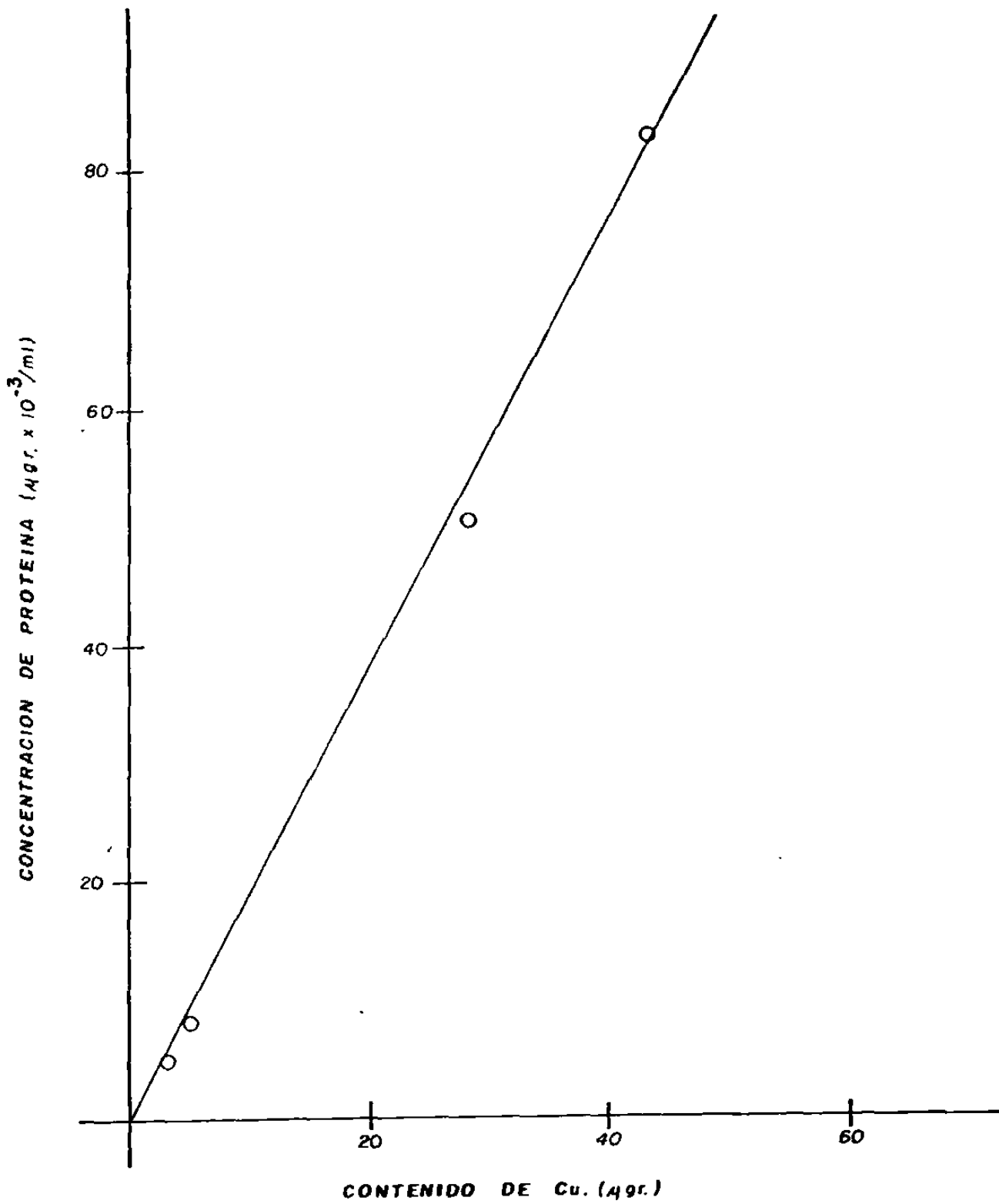


Figura 1.- Valores medidos de cobre en las muestras de Albúmina Sérica Bovina, usando el Reactor - Triga como fuente de neutrones térmicos.

El contenido de cobre de cada una de las muestras se determinó utilizando el método Instrumental del Análisis por Activación de Neutrones, para esto se determinó el área del fotopico del rayo gamma de 1.04 Mev del Cu-66 arriba del Continuo de Compton, y se comparó con el área del fotopico correspondiente del estándar.

Para calcular las áreas debajo del fotopico, se utilizó un programa de computadora, el cual contiene correcciones del tiempo, es decir, tiempo de irradiación si fue diferente, tiempo de espera (tiempo entre salida del reactor y el comienzo del conteo), tiempo de decaimiento del elemento radiactivo, también calcula el porcentaje de error de las mediciones entre otras variables.

Debido a que las muestras se irradiaron en el reactor de una por una, estuvieron expuestas a pequeñas variaciones de flujo de neutrones y para corregir éstas, se colocó junto a cada una de las muestras un elemento (sodio) monitor.

Los datos de la medición del cobre en proteínas son mostrados en la figura No. 1.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El método de Análisis por Activación de Neutrones es una técnica que es sensible en la determinación de muchos elementos, que se encuentran en bajas concentraciones en una gran variedad de materiales. Un conocimiento adecuado de esta técnica es necesario para poder obtener todo el potencial que ella ofrece.

Los resultados mostrados en la figura No. 1 son excelentes, ya que el error estadístico (una desviación estándar) de las determinaciones del cobre en el laboratorio del reactor nuclear, fueron menores que el $\pm 5\%$.

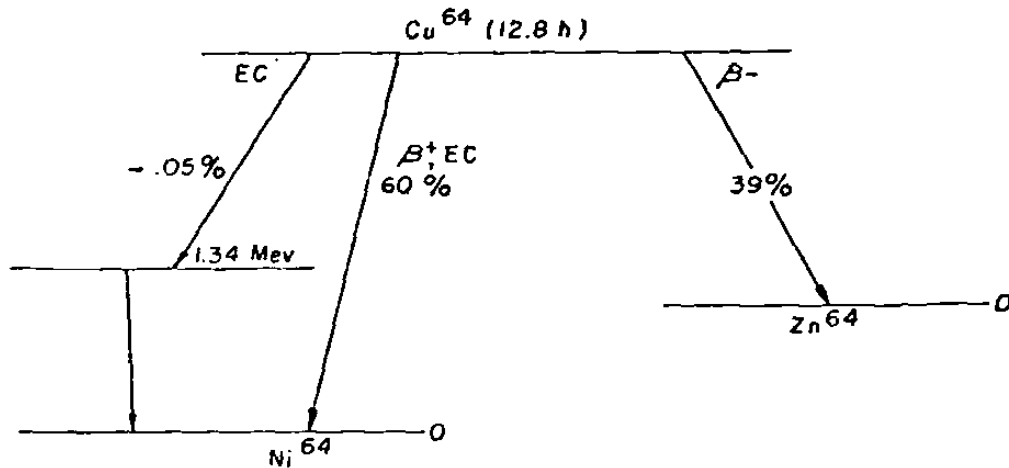
Estos resultados representan un avance significativo, ya que permiten incrementar la sensibilidad en varios órdenes de magnitud, comparado con el método de Lowry.

La determinación de proteínas de importancia biológica, cuya cuantificación se hace sólo por medición de su efecto biológico, por ejemplo: interferón, interleucinas, linfocinas, etc. se podría cuantificar en forma objetiva, exacta y precisa, utilizando esta técnica analítica.

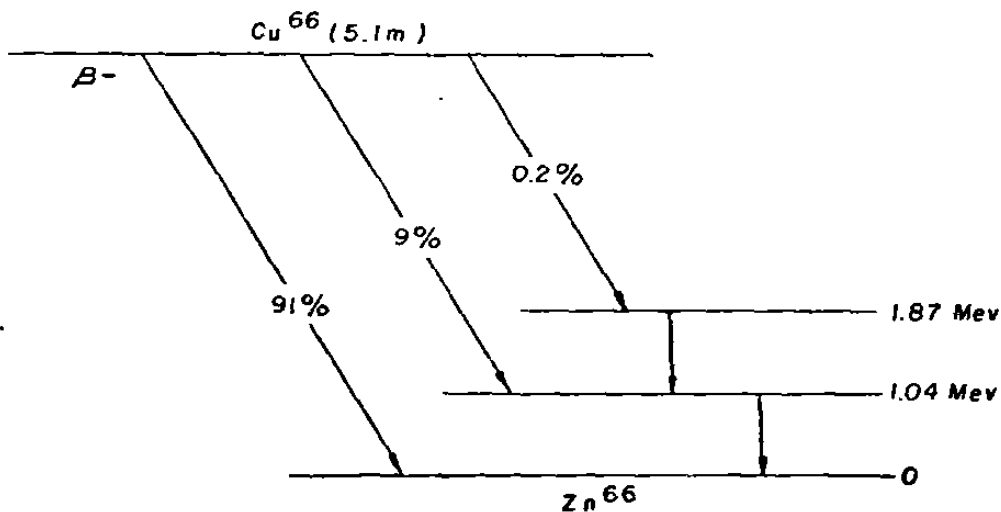
APÉNDICE A

ESQUEMAS DE DESINTEGRACIÓN DEL Cu^{64} Y DEL Cu^{66} .

[DE: D. STROMINGER, J.M. HOLLANDER, AND G.T. SEABORG, TABLE OF ISOTOPES, REVS. MODERN PHYS. 30, 585 (1958) - R.C. HAWKINGS, W.J. EDWARDS AND MISS E.M. MCLEOD, TABLES OF GAMMA RAYS FROM THE DECAY OF RADIONUCLIDES, REPORT AECL-1225 (1961)]



ESQUEMA DE DESINTEGRACION DE Cu^{64}



ESQUEMA DE DESINTEGRACION DE Cu^{66}

BIBLIOGRAFIA

- 1.- O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall,
J.Biol. Chem., 193:265,1951.
- 2.- M.M. Rising and P.S. Yang, The Biuret Reaction; J. Biol.
Chem., 99;755 (1932-33).
- 3.- J.W. Mehl, E. Pacovska, and R.J. Winzler, the Amount
of Copper Bound by Protein in the Biuret Reaction, J.
Biol. Chem., 177,13 (1949).
- 4.- F.A. Rodriguez, Application of Neutron Activation
Analysis to the Study of Interstitial Solid Solution
of Oxygen in Niobium and in Niobium-Titanium Alloys,
Ph.D. Dissert, the University of Texas at Austin (1970).
- 5.- E. Schonfeld "Alpha-M-An Improved Computer Program
for Determining Radioisotopes by Least-Squared Resolution
of the Gamma Ray Spectra" ORNL-3975, Oak Ridge National
Laboratory (1966).
- 6.- W.L. Lyon, Jr., Ed., Guide to Activation Analysis,
D. Van Nostrand Co., Inc. (1964).
- 7.- V.P. Guinn, Activation Analysis, Encyclopedia of
Industrial Chemical Analysis, Vol. 1, 1966.

- 8.- G.H. Morrison, Ed., Trace Analysis (Physical Methods) Interscience Publishers (1965).
 - 9.- R.S. Maddock, and W.W. Meinke, Editors, Activation Analysis; Nuclear Chemical Research; Radiochemical Separations, ANCU-4438, the University of Michigan (1959).
 - 10.- J.M.A. Lenihan, and S.J. Thomson, Editors, Activation Analysis Principles and Applications, Proceedings of a Nato Advanced Study Institute Held in Glasgow. Academic Press (1965).
 - 11.- M.E. Pruitt, Sue H. Prestwood, and H.A. Parker, Some Practical Applications of Gamma-Ray Spectral Resolution to Radionuclide Determination, Nuclear Application 5, 253 (1968).
 - 12.- Y. Kusaka, et al, Rapid Radiochemical Separations, NAS-NS 3104 University of Michigan (1961).
 - 13.- G.H. Morrison, Trace Analysis (Physical Methods) Interscience Publisher, John Wiley and Sons (1965).
 - 14.- D. Taylor, Neutron Irradition and Activation Analysis, D. Van Nostrand Co., Inc.
 - 15.- R.C. Koch, Activation Analysis Handbook, Academic Press.
 - 16.- B. Keisia, The Atomic Finger Print: NAA, U.S. Energy
-

Research and Development Administration.

- 17.- Hevesy G., and Levi H.,K. Danske Vidensk, Seis. MAT-FVS
14:5 (1936).
- 18.- N. Tsoufanidis, Measurement and Detection of Radiation,
Mc Graw Hill Series Nuclear Engineering.
- 19.- H.M. Rising, P.S. Yang, The Biuret Reaction, J. Biol.
Chem., 99, 755 (1932-33).
- 20.- H. Etherington, Nuclear Engineering Handbook, Mc. Graw
Hill.
- 21.- Edgar Treviño, Determinación de Elementos de Cuatro
Muestras de Minas por NAA, Tesis Maestría Fac. Ciencias
Físico Mat. Div. Estudios Superiores Universidad Autónoma
de Nuevo León (1985).

