



Universitat
de les Illes Balears



**Centro de Investigación en
Materiales Avanzados, S.C.**

**TESIS DOCTORAL
2016**

**AUTOMATIZACIÓN DE MÉTODOS
RADIOQUÍMICOS PARA LA SEPARACIÓN Y
PRECONCENTRACIÓN DE RADIONÚCLIDOS EN
MUESTRAS AMBIENTALES**

Rogelio Rodríguez Maese



Universitat
de les Illes Balears



**Centro de Investigación en
Materiales Avanzados, S.C.**

**TESIS DOCTORAL
2016**

**Programa de Doctorado en Ciencia y Tecnología
Ambiental (CIMAV)**

**AUTOMATIZACIÓN DE MÉTODOS
RADIOQUÍMICOS PARA LA SEPARACIÓN Y
PRECONCENTRACIÓN DE RADIONÚCLIDOS EN
MUESTRAS AMBIENTALES**

Rogelio Rodríguez Maese

Directores:

Dra. Luz Olivia Leal Quezada (CIMAV)

**Dra. Laura Ferrer Trovato y Dr. Víctor Cerdà Martín
(UIB)**

**Doctor por el Centro de Investigación en
Materiales Avanzados**



Universitat
de les Illes Balears



**Centro de Investigación en
Materiales Avanzados, S.C.**

**TESIS DOCTORAL
2016**

**Programa de Doctorado en Ciencia y Tecnología
Química**

**AUTOMATIZACIÓN DE MÉTODOS
RADIOQUÍMICOS PARA LA SEPARACIÓN Y
PRECONCENTRACIÓN DE RADIONÚCLIDOS EN
MUESTRAS AMBIENTALES**

Rogelio Rodríguez Maese

Directores:

**Dra. Laura Ferrer Trovato y Dr. Víctor Cerdà Martín
(UIB)**

Dra. Luz Olivia Leal Quezada (CIMAV)

Doctor por la Universitat de les Illes Balears (UIB)

TESIS DOCTORAL POR COMPENDIO DE PUBLICACIONES

AUTOMATIZACIÓN DE MÉTODOS RADIOQUÍMICOS PARA LA SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE RADIONÚCLIDOS EN MUESTRAS AMBIENTALES

Rogelio Rodríguez Maese

Listado de publicaciones que constituyen el núcleo de la tesis:

1. Automated total and radioactive strontium separation and preconcentration in samples of environmental interest exploiting a lab-on-valve system. R. Rodríguez, J. Avivar, L. Ferrer, L.O. Leal, V. Cerdà. Talanta 96 (2012) 96–101.

Factor de impacto (2012): 3,498. Q1: Primer cuartil del área de química analítica (12/75).

2. Automation of ⁹⁹Tc extraction by LOV prior ICP-MS detection: Application to environmental samples. R. Rodríguez, L. Leal, S. Miranda, L. Ferrer, J. Avivar, A. García, V. Cerdà. Talanta 133 (2015): 88–93.

Factor de impacto (2014): 3,545. Q1: Primer cuartil del área de química analítica (11/74).

3. Uranium monitoring tool for rapid analysis of environmental samples based on automated liquid-liquid microextraction. R. Rodríguez, J. Avivar, L. Ferrer, L.O. Leal, V. Cerdà. Talanta 134 (2015): 674–680.

Factor de impacto (2014): 3,545. Q1: Primer cuartil del área de química analítica (11/74).

4. MSFIA-LOV system for ²²⁶Ra isolation and pre-concentration from water samples previous radiometric detection. R. Rodríguez, A. Borràs, L. Leal, V. Cerdà, L. Ferrer. Analytica Chimica Acta 911 (2016): 75–81.

Factor de impacto (2014): 4,513. Q1: Primer cuartil del área de química analítica (5/74).

5. Strategies for automating solid-phase extraction and liquid-liquid extraction in radiochemical analysis. R. Rodríguez, J. Avivar, L.O. Leal, V. Cerdà, L. Ferrer. Trends in Analytical Chemistry 76 (2016): 145–152.

Factor de impacto (2014): 6,472. Q1: Primer cuartil del área de química analítica (2/74).

Esta Tesis, titulada “*Automatización de métodos radioquímicos para la separación y preconcentración de radionúclidos en muestras ambientales*”, se llevó a cabo en el marco del Convenio de Doble Titulación de Doctorado firmado entre la Universitat de les Illes Balears (UIB), España, y el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), México.

El doctorando *Rogelio Rodríguez Maese*, realizó los trabajos de investigación en el Laboratorio de Radiactividad Ambiental (LaboRA) de la UIB, y en el Laboratorio de Automatización de Técnicas Analíticas del Departamento de Medioambiente y Energía del CIMAV, bajo la tutorización de los directores de Tesis, el Dr. Víctor Cerdà, la Dra. Luz Leal Quezada y la Dra. Laura Ferrer, quienes firman este documento a los 7 días del mes de marzo de 2016.

Fdo.: Víctor Cerdà Martín

Fdo.: Luz Leal Quezada

Fdo.: Laura Ferrer Trovato

AGRADECIMIENTOS

Quiero tomarme el derecho de abrir un breve paréntesis para dar a conocer mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que con su ayuda y soporte tanto científico como humano han contribuido en el desarrollo y realización de este proyecto de investigación.

Quiero darle las gracias en primera instancia a las instituciones que han permitido la realización de este trabajo cuyo resultado se plasma a través de esta tesis, por el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) que a través de las becas proporcionadas (beca nacional y mixta) hicieron posible la experiencia de trabajar y contribuir en el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV, México) y en la Universidad de las Islas Baleares (UIB, España), instituciones a quienes agradezco su apoyo y motivación y de las cuales me considero que formo parte.

De forma muy especial quiero agradecer a mis tutores y directores de tesis, al Dr. Víctor Cerdà, la Dra. Laura Ferrer y la Dra. Luz Leal que gracias a sus consejos y acertadas críticas proporcionaron el soporte y la confianza necesaria para que el desarrollo de este trabajo tuviera un final exitoso que es reflejado en la presente tesis.

De igual forma quiero expresar mi más sincero agradecimiento al personal de los laboratorios y soporte técnico, a Silvia Miranda y a Alejandro Benavides (CIMAV, México) y a José González (UIB, España) que contribuyeron notablemente al proceso de madurez de este proyecto.

De mis compañeros de doctorado, agradezco especialmente a mi compañera y mejor amiga la Dra. Jessica Avivar Cerezo, por sus buenos consejos, sus aportaciones científicas y sobre todo su amistad. Al Dr. Lindomar Portugal y al Dr. Antoni Borràs, por la ayuda en la formulación y tratamiento numérico de los datos experimentales. Agradezco a los amigos y compañeros de doctorado por su simpatía y calidez humana: Irene, María, David, Toni Serra, Fernando, Camelia, Ruth, Sabrina, Esteve, Edwin, Melisa, Abraham, Carlos Calderilla y Carlos Palomino. Y desde luego no dejo de lado a mis amigos y hermanos Alba González y Alfonso Perera.

Y finalmente agradezco a mi familia, por su comprensión, tiempo, apoyo y comunicación constante desde Chihuahua, México.

A mis padres Margarita y Jesús
Y a mis hermanos Verónica y Ricardo

ABREVIACIONES

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometría de Absorción Atómica)
AMD	Actividad Mínima Detectable
AS	<i>Autosampler</i> (muestrador automático)
ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i> (Agencia para las Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades)
BI	<i>Bead Injection</i> (inyección de perlas en procedimientos de extracción en fase sólida)
CCD	<i>Charge-Coupled Device</i> (Dispositivo de carga acoplada)
CSN	Consejo de Seguridad Nuclear
DLL	<i>Dynamic Link Library</i> (Librería de Enlace Dinámico)
DLLME	<i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i> (Microextracción Dispersiva Líquido-Líquido)
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> (Agencia de Protección Ambiental)
EURATOM	Comunidad Europea de Energía Atómica
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i> (Análisis por Inyección en Flujo)
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente)
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> (Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada)
LBPC	<i>Low Background Proportional Counter</i> (Contador Proporcional de Bajo Fondo)
LIS	<i>Lab-In-Syringe</i> (Laboratorio en Jeringa)
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> (Extracción Líquido-Líquido)
LLME	<i>Liquid-Liquid Microextraction</i> (Microextracción Líquido-Líquido)
LOD	<i>Limit of Detection</i> (Límite de Detección)
LOV	<i>Lab-on-valve</i> (Laboratorio sobre Válvula)
LSC	<i>Liquid Scintillation Counter</i> (Contador de Centelleo Líquido)
LWCC	<i>Liquid Waveguide Capillary Cell</i> (Celda Capilar de Largo Paso Óptico)
MB	<i>Multisyringe Burette</i> (Bureta multijeringa)
MCFIA	<i>Multicommutated Flow Injection Analysis</i> (Análisis por Inyección en Flujo Multiconmutado)
MSA	<i>Magnetic Stirring Assited</i> (Agitación Magnéticamente Asistida)
MSFIA	<i>Multisyringe Flow Injection Analysis</i> (Análisis por Inyección en Flujo Multijeringa)
NORM	<i>Naturally Occurring Radioactive Materials</i> (Materiales Radioactivos de Ocurrencia Natural)
NR	Niveles de Referencia

OMS	Organización Mundial de la Salud
PLI	<i>Pulse Length Index</i> (Índice de Longitud de Pulso)
PMMA	Poli-metil-metacrilato
PR-10	Mezcla de argón (90%) y metano (10%)
PTFE	Politetrafluoroetileno
SIA	<i>Sequential Injection Analysis</i> (Análisis por Inyección Secuencial)
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extracción en Fase Sólida)
Sr-resin®	Resina comercial para la extracción de estroncio
TBP	Tri-n-butil fosfato
TDCR	<i>Triple-to-Double Coincidence Ratio</i>
TEVA-resin®	Resina comercial para la extracción de elementos actínidos y tecnecio
TFM	Tubo fotomultiplicador
TRU-resin®	Resina comercial para la extracción de transuránidos
UNSCEAR	<i>United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation</i> (Comité Científico de las Naciones Unidas sobre los Efectos de la Radiación Atómica)
UTEVA-resin®	Resina comercial para la extracción de elementos tetravalentes y uranio

INDICE

INDICE DE FIGURAS.....	XIII
INDICE DE TABLAS.....	XIV
RESUMEN.....	1
RESUM.....	2
ABSTRACT.....	3
CAPITULO 1.....	5
INTRODUCCION GENERAL.....	5
1.1. Radiaciones ionizantes.....	7
1.1.1. Radiaciones alfa, beta y gamma.....	8
1.1.2. Ley de decaimiento radiactivo.....	11
1.2. La radioactividad en el medio ambiente.....	15
1.2.1. Radioactividad natural.....	16
1.2.2. Radioactividad artificial.....	18
1.2.3. Radionúclidos estudiados.....	19
Uranio.....	19
Radio.....	21
Estroncio.....	22
Tecnecio.....	24
1.2.4 Normatividad.....	26
Bibliografía.....	28
CAPITULO 2.....	33
TECNICAS DE ANALISIS POR INYECCION EN FLUJO, DE SEPARACION Y DE DETECCIÓN EMPLEADAS.....	33
2.1 Técnicas de análisis por inyección en flujo empleadas.....	35
2.1.1 Análisis de inyección en flujo multijeringa.....	36
2.1.2 Lab-on-valve.....	36
2.1.3 Lab-in-syringe asistida con agitación magnética.....	37
2.2 Técnicas de separación empleadas.....	39
2.2.1 Extracción en fase sólida.....	39
2.2.2 Microextracción líquido-líquido.....	43
2.3 Técnicas de detección empleadas.....	44
2.3.1 Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente..	46
2.3.2 Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo.....	47
2.3.3 Detección espectrofotométrica.....	52
2.3.4 Contador proporcional de bajo fondo.....	53
2.3.5 Contador de centelleo líquido.....	56
Bibliografía.....	60
CAPITULO 3.....	67
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	67
3.1 Hipótesis.....	69
3.2 Objetivo general.....	69
3.2.1 Objetivos específicos.....	69
CAPITULO 4.....	71
MATERIALES Y METODOS.....	71
4.1 Configuración de los sistemas de flujo.....	73
4.1.1 Bureta multijeringa.....	73
4.1.2 Válvulas solenoides.....	75
4.1.3 Módulos de válvulas de selección/inyección.....	76
4.1.4 Módulos LOV.....	77
4.1.5 Lab-in-Syringe con agitación magnética.....	79
4.1.6 Tubería y conectores.....	80
4.1.7 Componentes ópticos.....	81
4.2 Software.....	81

4.2.1	Configuración del sistema	82
4.2.2	Edición de los métodos	83
4.2.3	Procesamiento de datos.....	84
4.3	Cálculos para la cuantificación de actividades.....	86
4.3.1	Alfa total.....	86
4.3.2	Beta total.....	87
4.3.3	Ecuación de Bateman para ^{226}Ra	89
4.3.4	Ecuación de Bateman para ^{90}Sr	90
4.4	Optimización multivariante	90
4.4.1	Análisis de cribado de datos o screening	92
4.4.2	Superficie de respuesta.....	93
4.4.3	Optimización de respuesta y función deseabilidad	94
	Bibliografía.....	97
	CAPITULO 5.....	99
	ESTRATEGIAS DE AUTOMATIZACIÓN PARA LAS EXTRACCIONES EN FASE SÓLIDA Y LÍQUIDO-LÍQUIDO EN EL ANÁLISIS RADIOQUÍMICO	99
5.1	Introducción	101
5.2	Artículo original	103
	CAPITULO 6.....	113
	SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN TOTALMENTE AUTOMATIZADA DE ESTRONCIO TOTAL Y RADIOACTIVO EN MUESTRAS DE INTERÉS AMBIENTAL EXPLOTANDO EL USO DE UN SISTEMA LAB-ON-VALVE	113
6.1	Introducción	115
6.2	Artículo original	117
6.3	Información adicional sobre la optimización	125
6.3.1	Análisis de cribado o screening.....	126
6.3.2	Análisis de superficie de respuesta	128
6.3.3	Resultados de la optimización.....	130
	CAPITULO 7.....	133
	EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA DE ^{99}Tc MEDIANTE UN SISTEMA LOV PREVIA A LA DETECCIÓN POR ICP-MS: APLICACIÓN A MUESTRAS AMBIENTALES.....	133
7.1	Introducción	135
7.2	Artículo original	137
7.3	Información adicional sobre la optimización	145
7.3.1	Análisis de superficie de respuesta	145
7.3.2	Resultados de la optimización.....	147
	CAPITULO 8.....	149
	HERRAMIENTA PARA EL MONITOREO RÁPIDO DE URANIO EN EL ANÁLISIS DE MUESTRAS AMBIENTALES, MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO AUTOMÁTICA	149
8.1	Introducción	151
8.2	Artículo original	153
8.3	Información adicional sobre la optimización	161
8.3.1	Análisis estadístico de cribado o screening.....	161
8.3.2	Análisis de superficie de respuesta	164
	CAPITULO 9.....	167
	SISTEMA MSFIA-LOV PARA LA SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE ^{226}Ra DE MUESTRAS DE AGUA PARA SU POSTERIOR DETECCIÓN RADIOMÉTRICA.....	167
9.1	Introducción	169
9.2	Artículo original	171
9.3	Material suplementario	179
	CAPITULO 10.....	183
	CONCLUSIONES	183
	ANEXO	187

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Variabilidad de la actividad con el paso del tiempo.	14
Figura 1.2. Contribución de las diferentes fuentes de radiación.	16
Figura 1.3. Esquema de desintegración del ⁹⁹ Mo.	25
Figura 2.1. LIS-MSA-DLLME, esquema general de su funcionamiento.	38
Figura 2.2. Componentes de una resina de extracción cromatográfica.	40
Figura 2.3. Resina Sr-Spec, equilibrio de extracción y molécula.	41
Figura 2.4. Resina TEVA.	42
Figura 2.5. Cyanex 272, estructura y composición molecular.	44
Figura 2.6. Imagen del detector ICP-OES empleado.	46
Figura 2.7. Fotografía de un ICP-MS XSERIES II, Thermo Scientific.	49
Figura 2.8. Introducción de muestra: a) bombeo y b) nebulizador.	50
Figura 2.9. Detector ICP-MS, filtro cuadrupolar de masas.	51
Figura 2.10. LWCC, esquema de la trayectoria de la luz.	52
Figura 2.11. Esquema del funcionamiento general de un detector gaseoso.	53
Figura 2.12. Vista del detector LBPC Canberra LB4200 utilizado.	54
Figura 2.13. Geometría de un detector del LBPC.	55
Figura 2.14. TFM, esquema representativo de su detección radiométrica.	57
Figura 2.15. Fotografía del detector de centelleo líquido Hidex 300SL.	58
Figura 2.16. Estructura general de un detector LSC Hidex 300SL.	59
Figura 4.1. Bureta multijeringa Crison 4S, detalle de su funcionamiento.	74
Figura 4.2. Bureta multijeringa, vista de la parte posterior.	75
Figura 4.3. Válvula solenoide externa Takasago.	76
Figura 4.4. Imagen correspondiente a un módulo de válvulas mixto.	77
Figura 4.5. Diseño y de detalle de una pieza LOV de 8 puertos.	78
Figura 4.6. Esquema, partes que conforman la microcolumna de un LOV.	78
Figura 4.7. Sistema de agitación magnética, representación esquemática.	79
Figura 4.8. Imágenes de tuberías y conectores utilizados.	81
Figura 4.9. Menú del hardware, configuración de los instrumentos.	83
Figura 4.10. Ventana de AutoAnalysis: método e instrucciones.	84
Figura 4.11. Ventana con un diagrama representativo, AutoAnalysis.	85
Figura 4.12. Diseño central compuesto para tres variables.	94
Figura 6.1. Gráfico de Pareto. Detalle que muestra además las interacciones de los factores a un nivel de confianza del 95%.	128
Figura 6.2. Distribución normal de los residuos.	130
Figura 6.3. Comportamiento de los valores predichos y deseables.	131
Figura 7.1. Gráfica de probabilidad de los residuos.	147
Figura 7.2. Comportamiento de los valores predichos vs. los deseables.	148
Figura 8.1. Gráfico de deseabilidad aplicado al análisis de cribado.	162
Figure 9.1. Surface-response for NH ₂ OH·HCl volume and concentration.	180
Figure 9.2. Pareto chart of the screening for factors affecting coprecipitation and dissolution of ²²⁶ Ra.	181
Figure 9.3. Prediction and desirability profiles for factors affecting coprecipitation and dissolution of ²²⁶ Ra.	181

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Características principales de cada radiación.	10
Tabla 1.2. Características de los isótopos de uranio.	20
Tabla 1.3. Normatividad, niveles permisibles de los analitos bajo estudio.....	27
Tabla 6.1. Factores a optimizar.....	125
Tabla 6.2. Orden de los experimentos, niveles estudiados y respuesta.	126
Tabla 6.3. <i>P-Value</i> de los efectos de los factores	127
Tabla 6.4. Rango de valores de superficie de respuesta.....	129
Tabla 6.5. Orden y respuesta de los experimentos.	129
Tabla 6.6. Valores óptimos de operación.....	131
Tabla 7.1. Rango de valores a evaluar para la optimización	145
Tabla 7.2. Orden y respuesta de los experimentos	146
Tabla 7.3. Valores óptimos de operación para el sistema propuesto	148
Tabla 8.1. Factores a optimizar.....	161
Tabla 8.2. Factores significativos y no significativos del estudio estadístico	164
Tabla 8.3. Condiciones óptimas de trabajo.	165
Table 9.1. Experimental domain and critical values found for the variables affecting elution using a face centered central composite design, section 3.2.1.	179
Table 9.2. The studied factors affecting coprecipitation and dissolution of ²²⁶ Ra using screening assay followed by surface-response optimization, section 3.2.2.	180

RESUMEN

Las concentraciones de radionúclidos en el medio ambiente, tanto artificiales como naturales, se han incrementado de forma significativa como consecuencia de las diferentes actividades humanas, convirtiéndose en un aspecto de interés ambiental y para la salud humana.

La automatización de los métodos radioquímicos empleados para la determinación de radionúclidos en el medio ambiente mediante técnicas de análisis por inyección en flujo, simplifica de forma considerable los procesos de extracción del radionúclido de interés con un importante ahorro de reactivos, disminuyendo así de forma considerable la generación de residuos. Además, permite una mayor frecuencia de análisis, con la consecuente reducción de costo y tiempos de respuesta.

Los métodos propuestos son altamente reproducibles, precisos y robustos, alcanzando un alto grado de automatización, lo que aumenta la seguridad del analista, por lo que constituyen una importante aportación en materia científica y tecnológica.

En esta tesis se han desarrollado cuatro métodos analíticos que permiten la separación y preconcentración de forma automática de ^{90}Sr , ^{99}Tc , uranio natural y ^{226}Ra en muestras ambientales (diferentes tipos de agua y suelo) con bajas actividades. Para lograr la automatización de estos métodos radioquímicos se emplearon técnicas de análisis por inyección en flujo multiconmutadas, y un software que permitió el control instrumental y el desarrollo del protocolo analítico.

Se propone un sistema Lab-On-Valve (LOV), que permite el pre-tratamiento automático de muestras de agua, logrando la correcta determinación del estroncio total y radioactivo. En el caso del ^{99}Tc , se presenta un sistema LOV para su extracción y preconcentración automática en muestras ambientales, que permite explotar al máximo las ventajas de determinación ofrecidas por un ICP-MS. Para el caso de la determinación de niveles traza de uranio natural, se ha diseñado un sistema completamente automatizado que a través de la agitación asistida magnéticamente dentro de la jeringa, permite la microextracción líquido-líquido para la determinación de U(VI), explotando la detección espectrofotométrica en línea gracias al acoplamiento de una celda capilar de largo paso óptico. Finalmente, se presenta un sistema basado en el análisis por inyección en flujo multijeringa y LOV diseñado para la separación y preconcentración de ^{226}Ra en muestras de agua natural y potable.

Además, se presenta una revisión bibliográfica sobre la automatización de las metodologías basadas en extracción en fase sólida y extracción líquido-líquido para separar y preconcentrar radionúclidos en diferentes matrices ambientales.

RESUM

Les concentracions de radionúclids en el medi ambient, tant artificials com naturals, s'han incrementat de forma significativa com a conseqüència de les diferents activitats humanes, convertint-se en un aspecte d'interès ambiental i per a la salut humana.

L'automatització dels mètodes radioquímics emprats per a la determinació de radionúclids en el medi ambient mitjançant tècniques d'anàlisi per injecció en flux, simplifica de forma considerable els processos d'extracció del radionúclid d'interès amb un important estalvi de reactius, disminuint així de forma considerable la generació de residus. A més a més, permet una major freqüència d'anàlisi, amb la conseqüent reducció de cost i temps de resposta.

Els mètodes proposats són altament reproduïbles, precisos i robustos, aconseguint un alt grau d'automatització, el que augmenta la seguretat de l'analista, per la qual cosa constitueixen una important aportació en matèria científica i tecnològica.

En aquesta tesi s'han desenvolupat quatre mètodes analítics que permeten la separació i preconcentració de forma automàtica de ^{90}Sr , ^{99}Tc , urani natural i ^{226}Ra en mostres ambientals (diferents tipus d'aigua i sòl) amb baixes activitats. Per aconseguir l'automatització d'aquests mètodes radioquímics es van emprar tècniques d'anàlisi per injecció en flux multiconmutades, i un software que va permetre el control instrumental i el desenvolupament del protocol analític.

Es proposa un sistema Lab-On-Valve (LOV), que permet el pretractament automàtic de mostres d'aigua, aconseguint la correcta determinació de l'estrónci total i radioactiu. En el cas del ^{99}Tc , es presenta un sistema LOV per a la seva extracció i preconcentració automàtica en mostres ambientals, que permet explotar al màxim els avantatges de determinació ofertes per un ICP-MS. Per al cas de la determinació de nivells traça d'urani natural, s'ha dissenyat un sistema completament automatitzat que a través de l'agitació assistida magnèticament dins de la xeringa, permet la microextracció líquid-líquid per a la determinació de U(VI), explotant la detecció espectrofotomètrica en línia gràcies a l'acoblament de una cel·la capil·lar de llarg pas òptic. Finalment, es presenta un sistema basat en l'anàlisi per injecció en flux multixeringa i LOV dissenyat per a la separació i preconcentració de ^{226}Ra en mostres d'aigua natural i potable.

Es presenta també una revisió bibliogràfica sobre l'automatització de les metodologies basades en l'extracció en fase sòlida i l'extracció líquid-líquid per separar i preconcentrar radionúclids en diferents matrius ambientals.

ABSTRACT

In recent decades, the concentrations of natural and artificial radionuclides in the environment have been significantly increase, due to different human activities, becoming an aspect of environmental and human health concern.

The automation of radiochemical methods used for radionuclides determination in the environment through flow injection analysis techniques, considerably simplifies the extraction process of the radionuclide of interest with a significant saving of reagents, thus reducing considerably the waste generation. Furthermore, it allows a higher frequency of analysis, with the consequent cost reduction and times of response.

The proposed methods are highly reproducible, accurate and robust, reaching a high degree of automation, which increase the analyst security, and therefore constitute an important contribution to science and technology.

In this thesis, four analytical automatic methods to separate and preconcentrate ^{90}Sr , ^{99}Tc , natural uranium and ^{226}Ra in environmental samples (water and soil) with low activities were fully developed. To achieve the automation of radiochemical methods of separation and preconcentration, multicommutated flow injection analysis techniques and a software that allowed the instrument control and development of analytical protocol were used.

A Lab-On-Valve System (LOV) is proposed, which allows the automatic pre-treatment of water samples (drinking and seawater), achieving the correct determination of total and radioactive strontium. For ^{99}Tc , a LOV system is presented allowing its automatic extraction and preconcentration in environmental samples and where advantages offered by ICP-MS determination are fully exploited. In the case of the determination of trace levels of uranium, a fully automated in-syringe magnetic stirring assisted liquid-liquid microextraction method for uranium(VI) determination was developed, exploiting a long path-length liquid waveguide capillary cell with spectrophotometric detection. Finally, an automatic system based on multisyringe flow injection analysis and LOV flow techniques for separation and preconcentration of ^{226}Ra from drinking and natural water samples has been developed.

Furthermore, a bibliographic review of automated methodologies using solid phase extraction and liquid-liquid extraction for radionuclides in various environmental matrices was stated.

CAPITULO 1

INTRODUCCION GENERAL

1.1. Radiaciones ionizantes

La proporción entre los neutrones y protones dentro del núcleo determina la estabilidad de un átomo. Si hay demasiados o muy pocos neutrones, el núcleo es inestable, y el átomo es radioactivo. La descompensación entre el número de neutrones y protones y las fuerzas de atracción y repulsión de las partículas que forman el núcleo atómico hace que exista una inestabilidad. El decaimiento nuclear sucede cuando hay un exceso de masa-energía en el núcleo, haciendo que los núcleos inestables modifiquen su composición para transformarse en núcleos estables. Para ello se desintegran espontáneamente emitiendo partículas o energía en forma de radiación electromagnética, que son las radiaciones ionizantes. Este fenómeno recibe el nombre de desintegración radiactiva y los núcleos que la producen se denominan *radionúclidos* [1].

Un átomo puede ser naturalmente radioactivo o bien puede generarse de forma artificial debido a la acción humana. Los materiales radioactivos naturales como el ^{40}K y el ^{238}U han existido desde que se formó el planeta. Otros materiales radioactivos naturales como el ^{14}C y el ^3H (tritio) se forman cuando la radiación proveniente del sol y las estrellas bombardea la atmósfera de la tierra. Los elementos más pesados que el plomo son naturalmente radioactivos porque originalmente se formaron con demasiados neutrones. La industria genera materiales radioactivos a través de dos procesos. En el primero, un átomo de uranio o plutonio captura un neutrón y se divide (por fisión nuclear) en dos fragmentos radioactivos liberando dos o tres neutrones. En un reactor nuclear, uno de estos neutrones es capturado por otro átomo de uranio, y el proceso de fisión se repite sucesivamente. En el segundo proceso, átomos estables son bombardeados por neutrones o protones a los que se les confiere una cantidad alta de energía en un acelerador de partículas. Los átomos estables capturan estas partículas y se hacen radioactivos. Por ejemplo, el ^{59}Co estable, que se encuentra en el acero que rodea a un reactor nuclear es golpeado por neutrones provenientes del reactor y puede transformarse en ^{60}Co radioactivo [2].

Así, una radiación ionizante se refiere a la energía transportada por varios tipos de partículas y rayos emitidos por un material radioactivo. Este tipo de radiación incluye a las partículas alfa, partículas beta, rayos X y rayos gamma. Las partículas alfa y beta son esencialmente pequeños fragmentos de átomos

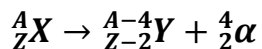
que se mueven rápidamente, mientras que los rayos X y los rayos gamma son tipos de radiación electromagnética. Estas partículas y rayos poseen una cantidad tal de energía que pueden desplazar electrones desde las moléculas con las que interactúan, como por ejemplo, en el agua, en proteínas, y en ácidos nucleicos. Este proceso se conoce con el nombre de ionización, de donde viene el nombre de radiación ionizante [3].

1.1.1. Radiaciones alfa, beta y gamma

Las sustancias radiactivas se desintegran de diferentes maneras, emitiendo radiación corpuscular (partículas α y β) o radiación electromagnética (radiación γ). En las desintegraciones α y β , el núcleo que sufre el proceso o núcleo padre, se transforma en un nuevo núcleo llamado núcleo hijo. Por su parte, la radiación gamma es un proceso en el cual el núcleo excitado pasa a un estado de menor energía mediante la emisión de radiación electromagnética, y en este caso el núcleo progenitor o núcleo padre no pierde su identidad.

- Radiación alfa (α)

Las partículas α se consideran como núcleos de helio, su masa es de 4 uma y su carga equivale al doble de la del protón. Están formadas por dos neutrones asociados con dos protones, por lo que el núcleo que la emite se transformará en otro de diferente masa y diferente carga, desarrollándose la reacción nuclear representada por la siguiente ecuación:



Ecuación 1

Debido a la enorme masa y carga eléctrica, las partículas alfa ionizan fuertemente al tejido biológico. Si la partícula alfa proviene de un material radioactivo fuera del cuerpo, perderá toda su energía antes de atravesar la capa más externa de la piel. Mientras que su efecto biológico y peligrosidad a efectos de contaminación interna es alta [1-4].

- Radiación beta (β)

Las partículas beta son electrones de alta energía emitidos por los núcleos cuando se transforman. Dependiendo del radionúclido que las genera, pueden tener una carga positiva o una carga negativa.

a) Negatrón (β^-): Partícula β de carga negativa igual a 1. Es una partícula similar a los electrones, emitida por el núcleo que aumenta una unidad su carga positiva al transformar un neutrón en protón, y su masa es prácticamente la misma. La reacción nuclear de descomposición del neutrón es la indicada por la siguiente ecuación:



Donde $\bar{\nu}$ es un antineutrino (radiación de alta penetración, con masa despreciable y sin carga).

b) Positrón (β^+): Partícula β de carga positiva igual a 1. Se emite por el núcleo cuando un protón se transforma en neutrón. El número atómico decrece una unidad. En este caso el protón se descompone según la reacción nuclear representada por la siguiente ecuación:

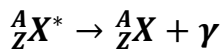


La mayoría de las partículas beta están cargadas negativamente. Son mucho más livianas y penetrantes que las partículas alfa. La mayoría tiene suficiente energía como para atravesar la capa externa de la piel e irradiar el tejido biológico que está debajo.

Una partícula beta pierde su energía cuando excita y ioniza a los átomos que encuentra en su camino. Cuando ha usado toda su energía cinética, una partícula beta negativa se transforma en un electrón común y no tiene ningún efecto en el cuerpo. Una partícula beta positiva choca con un electrón con carga negativa de la cercanía y este par, electrón/positrón, se convierte en un par de rayos gamma llamados radiación de aniquilamiento, que puede interactuar con otras moléculas en el cuerpo [1-3].

- Radiación gamma (γ)

La radiación gamma es de naturaleza electromagnética, idéntica que los rayos X, que no posee carga. La emisión gamma se produce cuando un núcleo en estado excitado se libera de energía para pasar a su estado fundamental o a otro de menor energía, emitiendo fotones. Las radiaciones γ , a diferencia de las α y las β , producen ionización indirecta pudiendo liberar los electrones de los átomos con los que interaccionan, ionizándolos indirectamente, mediante efecto fotoeléctrico, efecto Compton o creación de pares. En este caso el poder de penetración es grande, y la radiación sólo puede ser frenada con materiales de número atómico alto.



Ecuación 4

Un rayo gamma puede atravesar el cuerpo sin hacer contacto con nada, o puede que choque con un átomo y le dé al átomo toda o parte de su energía. Normalmente esto remueve un electrón del átomo (y lo ioniza). Este electrón usa la energía que recibió del rayo gamma para ionizar a otros átomos removiendo también electrones de ellos. Debido a que un rayo gamma es puramente energía, una vez que pierde toda su energía, deja de existir [1-4].

En la **Tabla 1.1** se resumen los diferentes comportamientos de cada tipo de radiación atendiendo a su poder de ionización y a la capacidad de penetración.

Tabla 1.1. Características principales de cada radiación.

Radiación	Naturaleza	Carga	Penetración en el aire	Penetración en sólidos
α	Núcleo de He (2p y 2n)	+2e	~ centímetro	~ micrómetros
β	Electrones rápidos	-e	~ metros	~ milímetros
γ	Radiación electromagnética	0	~ 100 metros	~ centímetros/metros

1.1.2. Ley de decaimiento radiactivo

El decaimiento radiactivo es un proceso de degradación del núcleo que consiste en la emisión de partículas cargadas y de ondas electromagnéticas por un núcleo atómico. El proceso es espontáneo, al azar e independiente de factores externos, distintos de núcleos vecinos, del estado químico de los átomos y de sus condiciones físicas.

Cualquier núcleo radiactivo de un radionúclido particular tiene la misma probabilidad de desintegración por unidad de tiempo. Esta probabilidad se mide por la constante de decaimiento o desintegración λ , característica para cada radionúclido. A un tiempo t_0 existen N átomos radiactivos, y dN de estos átomos decaen en un tiempo dt , según:

$$dN/dt = -\lambda N \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde: dN/dt = número de núcleos radiactivos que decaen por unidad de tiempo emitiendo radiaciones, o la velocidad de desintegración o decaimiento, denominada actividad.

La ecuación 5 es la ecuación fundamental de decaimiento radiactivo, donde el signo negativo indica que N disminuye con el tiempo. Despejando e integrando:

$$dN/dt = -\lambda dt \quad \text{que al integrar da}$$

$$\ln(N) = -\lambda t + K$$

Si $t = 0$, $N = N_0$ y $\ln(N_0) = K$, entonces:

$$\ln(N) = -\lambda t + \ln(N_0) \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde N y t son variables, N_0 y λ son constantes.

Si se representa $\ln(N)$ frente a t , se obtiene una línea recta cuya pendiente es $-\lambda$ constante de decaimiento (ecuación 6), característica de cada radionúclido. Despejando la ecuación 6:

$$\ln(N/N_0) = -\lambda t$$

$$N/N_0 = e^{-\lambda t}$$

$$N = N_0 e^{-\lambda t}$$

Ecuación 7

La ecuación 7 es la expresión matemática de la ley de decaimiento radiactivo. Donde t es el tiempo que transcurre desde $t = 0$ hasta el momento en que se realiza la determinación y λ es la constante de desintegración radiactiva característica de cada radionúclido y de cada tipo de decaimiento y representa la probabilidad de que un núcleo dado se desintegre en la unidad de tiempo siendo independiente del instante de vida considerado. Muchos radionúclidos se desintegran siguiendo un único proceso, pero también hay un número importante de ellos que pueden desintegrarse por dos o incluso por tres modos diferentes, como en el caso del ^{226}Ra . A este proceso se le denomina ramificación y en este caso la constante de desintegración total se define como la suma de las constantes de desintegración parciales, $\lambda = \sum \lambda_i$. El valor de $N_0 - N$ corresponderá por tanto al número total de núcleos desintegrados.

Durante el proceso de desintegración radiactiva el número de átomos de un determinado radionúclido disminuye paulatinamente hasta llegar a un punto en que su valor inicial se reduce a la mitad. Al tiempo que ha de transcurrir para que el número inicial de átomos radiactivos se reduzca a la mitad ($N = N_0/2$) se le llama período de semidesintegración y se suele simbolizar por $t_{1/2}$ y, al igual que la constante de desintegración, es característico de cada radionúclido. Los períodos de semidesintegración varían desde la millonésima de segundo hasta millones de años.

$$N = N_0 e^{-\lambda t_{1/2}}$$

$$t_{1/2} = \ln 2 / \lambda \quad \text{Ecuación 8}$$

Otro parámetro que también se utiliza para caracterizar la evolución temporal de una sustancia radiactiva es la vida media (τ), y matemáticamente se define como el valor medio de la vida de un núcleo radiactivo [4].

$$\tau = 1/\lambda \quad \text{Ecuación 9}$$

La velocidad de desintegración o actividad radiactiva de un radionúclido (A) se define como el número desintegraciones nucleares espontáneas que ocurren por unidad de tiempo y se expresa como:

$$A = -dN/dt \quad \text{Ecuación 10}$$

El número de desintegraciones en el intervalo de tiempo comprendido entre t y $t + dt$ es proporcional al número de núcleos existentes sin desintegrar N y a dt , como queda expresado en la ecuación 5.

Siendo N el número de desintegraciones nucleares espontáneas que ocurren en el intervalo de tiempo dt . Combinando las ecuaciones 5 y 10 se obtiene también que la actividad de una muestra radiactiva decrece exponencialmente con el tiempo,

$$A = A_0 e^{-\lambda t} \quad \text{Ecuación 11}$$

siendo $A_0 = \lambda N_0$

Así, para un valor dado de N_0 , la actividad es mayor o menor, según sea el valor de la constante de desintegración radiactiva. Si λ es grande, el decaimiento es rápido y si es pequeña, el decaimiento es lento, **Figura 1.1**.

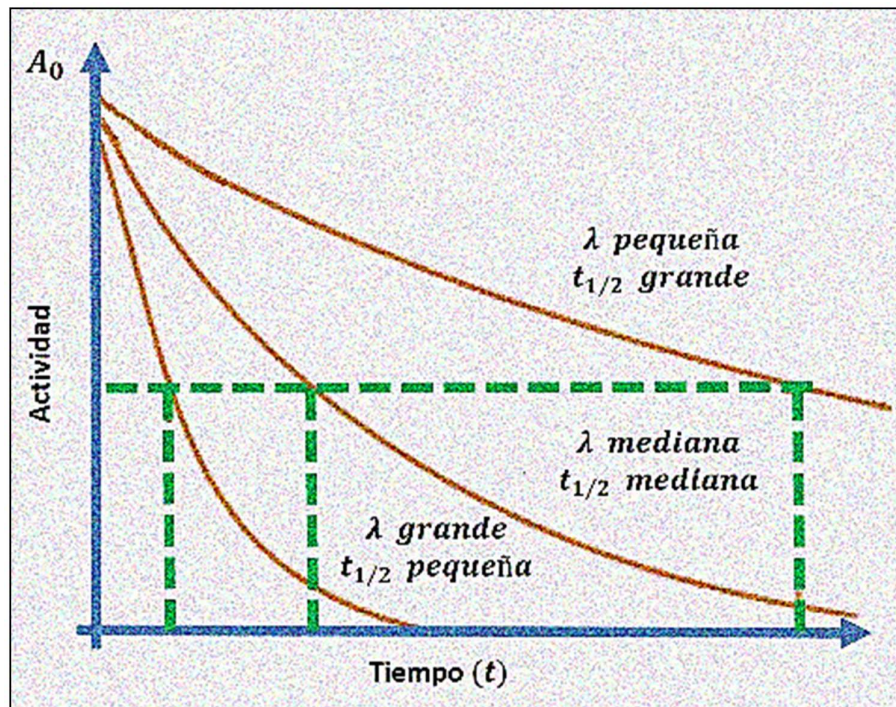


Figura 1.1. Variabilidad de la actividad con el paso del tiempo.

Como medida de la radiactividad se mide la cantidad de material radiactivo que se descompone por unidad de tiempo, y se utilizan las siguientes unidades de actividad:

- Becquerelio (Bq): Constituye la unidad de actividad en el SI donde $1 Bq = 1$ desintegración por segundo (dps).
- Curie o Curio (Ci): siendo $1 Ci = 3,7 \times 10^{10} Bq$. Se utilizan varios múltiplos y submúltiplos: kilocurie, milicurie y microcurie. Esta unidad equivale a la velocidad de decaimiento de 1g de radio.

El concepto actividad específica (A_{esp}) se introduce para dar cuenta de la masa o del volumen del material radiactivo en el que se producen las transformaciones radiactivas y se expresará, por ejemplo, en $Bq kg^{-1}$ o $Bq m^{-3}$ [2-4].

1.2. La radioactividad en el medio ambiente

La radiactividad ha estado presente en nuestro planeta desde la formación del Sistema Solar (aprox. 5 mil millones de años atrás). Desde entonces, el planeta Tierra es bombardeado continuamente por partículas procedentes de nuestra galaxia, así como de otras alejadas millones de años luz. Pero no toda la radiación recibida en la superficie de la Tierra procede del exterior, ya que en su interior y en su superficie existen radionúclidos que, desde que se formaron al crearse el Sistema Solar, emiten espontáneamente diferentes formas de radiación, formando parte de nuestro entorno al estar presentes en el aire que respiramos, en los alimentos, en el agua, en los materiales de construcción, etc., e incluso algunos de ellos forman parte de nuestro organismo, como por ejemplo el ^3H , ^{14}C y el ^{40}K [2].

Desde comienzos del siglo XX, los avances científicos y tecnológicos han dado lugar a que a la radiación natural o radiación de fondo se le haya sumado una nueva contribución, la radiación que el ser humano produce para satisfacer sus necesidades al hacer uso de diversos radionúclidos en distintos ámbitos, tales como: la medicina, la industria, la investigación, la producción de energía eléctrica y los ensayos con armas nucleares. Por último, debemos considerar que todas estas actividades generan residuos, los cuales van a contener radionúclidos en distintas concentraciones, contribuyendo entonces a una posible contaminación [5].

En la **Figura 1.2**, se puede observar la contribución promedio que recibe la población humana desde distintas fuentes de exposición, correspondiéndole a la radiación natural el 79% del total y a las fuentes artificiales el 21 % [6].

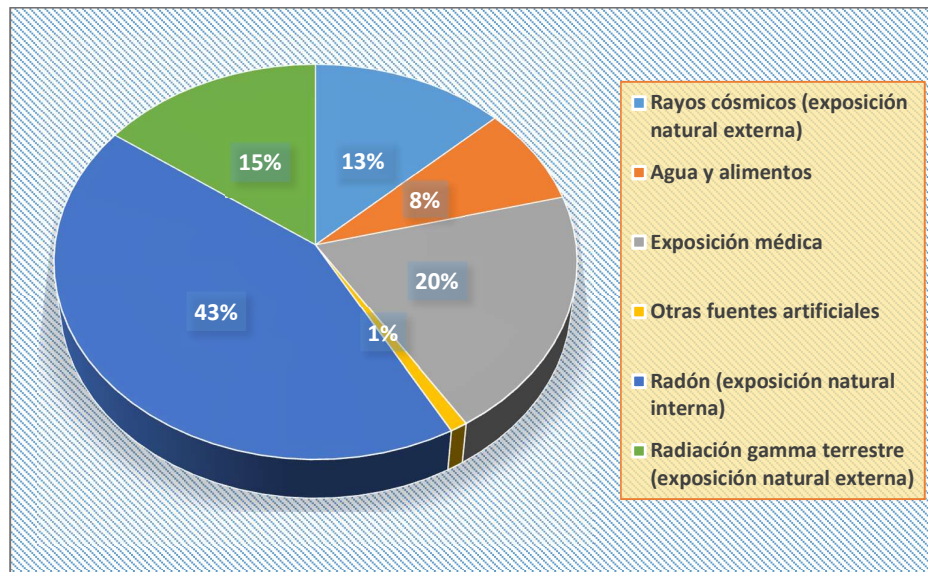


Figura 1.2. Contribución de las diferentes fuentes de radiación.

La contaminación proveniente de los radionúclidos se considera altamente peligrosa ya que su toxicidad radiológica y su vida media pueden conducir a una presencia a largo plazo en el medio ambiente. Por lo tanto, las consecuencias podrían ser muy severas para la salud, incluso a muy pequeñas concentraciones de radionúclidos, ya que algunos pueden ser extremadamente radiotóxicos [7,8].

Las actividades humanas relacionadas con la minería, la molienda y trituración de minerales, las armas nucleares, la fabricación de combustible nuclear y de catalizadores, la quema de combustibles fósiles (petróleo y carbón) y la elaboración y uso de fertilizantes de fosfato han causado una contaminación del medio ambiente, por radionúclidos naturales y artificiales. Además, muchos radionúclidos son extensamente usados en procesos industriales y en medicina, tanto para diagnóstico como para tratamientos [7]. La gestión de estas actividades es una preocupación en muchos países donde causa problemas de contaminación en diferentes compartimentos del medio ambiente [9].

1.2.1. Radioactividad natural

Se define como radioactividad natural a aquella radiación procedente de fuentes naturales ajenas a la actividad humana, que como se ha mencionado

anteriormente, son las que más contribuyen a la exposición recibida por el hombre, y de aquí la importancia de su estudio.

Siempre hemos estado expuestos a radiaciones de baja intensidad, provenientes del sol y del espacio interestelar, de la corteza terrestre y de los diferentes compartimentos del ambiente. A esta radiación que proviene de diferentes fuentes naturales, se la conoce como radiación natural o de fondo y se divide básicamente en:

- a) Radiación cósmica. Es aquella proveniente del espacio exterior fuera de nuestro sistema solar (protones, partículas alfa, neutrones). Es radiación de alta energía (2000 MeV), con una capacidad de penetración hasta más de 1 kilómetro bajo la superficie de la tierra.
- b) Radionúclidos cosmogénicos. Son aquellos formados por la interacción entre la radiación cósmica y nuestra atmósfera y las aguas naturales, llegando a formar del orden de 12 radionúclidos donde los más importantes son el ^{14}C , ^7Be , ^{10}Be , ^{22}Na y ^3H .
- c) Radiación terrestre. Es aquella proveniente de los elementos radiactivos presentes en las aguas y corteza terrestre desde la formación del planeta (series o familias radiactivas del ^{238}U , ^{232}Th y ^{228}Ac). Cabe destacar que todos ellos tienen un período de semidesintegración mayor a 100 millones de años por lo que son llamados primordiales.

Otra fuente importante de radiación natural es la exposición debida a los productos de decaimiento de las series radiactivas como la del ^{238}U , que tiene entre sus “hijos” radiactivos al ^{226}Ra y al ^{222}Rn , éste último por ser un gas está permanentemente emanando de la corteza terrestre y de los materiales de construcción de nuestros hogares y edificios.

En resumen, dependiendo de la latitud, altitud y composición del terreno donde se realice la medición, podemos encontrar diferentes niveles de radiación natural los que forman la “radiación de fondo” que es particular para cada zona [5,10].

1.2.2. Radioactividad artificial

La exposición humana a la radiación proviene también de fuentes artificiales que van desde la generación de energía nuclear hasta el uso médico de la radiación para fines de diagnóstico o terapéuticos.

Entre los radionúclidos artificiales más habituales en el medio ambiente, se encuentran el plutonio y sus productos de fisión (^{239}Pu , ^{240}Pu , ^{241}Pu , ^{242}Pu) con períodos de semidesintegración muy largos, que provienen de la lluvia radiactiva producida por los ensayos nucleares efectuados en la década de los años 60 y de algunos accidentes ocurridos en centrales nucleares. Ambos hechos han provocado también la presencia de radionúclidos de vida media relativamente corta como es el caso del ^{90}Sr .

Entre los radionúclidos artificiales más peligrosos, caben destacar algunos transuránidos que se continúan vertiendo en las aguas como resultado de descargas autorizadas de residuos de baja actividad. El conocimiento de su comportamiento en dicho medio es de gran importancia ya que muchos de estos radionúclidos, fundamentalmente emisores alfa, tienen períodos de semidesintegración muy largos que hacen que permanezcan en el medio ambiente durante varias generaciones.

Evidentemente, toda esta actividad supone un incremento de los niveles ambientales de radioactividad. Sin embargo, el Comité Científico de las Naciones Unidas para el Estudio de los Efectos de las Radiaciones Atómicas (UNSCEAR, por sus siglas en inglés) evalúa que la mayor proporción de las dosis individuales de cualquier origen, la representan las radiaciones naturales y la utilización de rayos X en medicina. La contribución debida a los efluentes y a los residuos radiactivos de baja y media actividad procedentes del ciclo de combustible nuclear resulta despreciable (0,1%) en comparación con las dosis recibidas por las fuentes naturales o por los usos en medicina [2].

Así, la medicina nuclear desempeña un papel fundamental como fuente artificial de producción de radionúclidos, debido al uso para suministrarse en los pacientes como agentes de diagnóstico o de terapia. Los radionúclidos utilizados en este campo, deben de reunir las propiedades químicas específicas que permitan interactuar de forma bioquímica dentro del organismo humano y contribuir con el propósito médico, como es el caso del yodo, cuyos isótopos ^{131}I

y ^{123}I se aplican a pacientes para el tratamiento de la glándula tiroides, y el Tc, cuyo isótopo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ al ser un emisor gamma de corta vida media (6 h), es ideal para tratamientos de diagnóstico. Sin embargo, todas estas técnicas nucleares médicas generan una gran cantidad de descargas o residuos de tipo radioactivo. Aunque una gran variedad de radionúclidos antropogénicos se han encontrado en los desechos radiofarmacéuticos, los más importantes en lo que respecta a su impacto ambiental son el ^{99}Tc y el ^{131}I [11].

1.2.3. Radionúclidos estudiados

Uranio

El uranio es un elemento que se caracteriza por tener el mayor peso atómico de entre todos los elementos que se encuentran en la naturaleza. Puede encontrarse en el ambiente en su estado de oxidación reducido U(IV) de menor movilidad o como U(VI), más soluble y móvil.

El uranio es un elemento radiactivo natural, emisor alfa, ampliamente distribuido en la corteza terrestre. Pertenece al grupo de los actínidos con 22 isótopos conocidos, de los cuales sólo 3 ocurren de manera natural: ^{234}U , ^{235}U y ^{238}U , siendo el más abundante el ^{238}U que constituye cerca del 99% del uranio natural en masa (**Tabla 1.2**). Un gramo de uranio natural tiene una actividad de 0,67 μCi , de los cuales el 48,9% de la actividad es atribuible al ^{234}U , 2,27% al ^{235}U , y el 48,7% de la actividad corresponde al ^{238}U .

La determinación de bajas concentraciones de uranio en muestras ambientales, geológicas y biológicas es muy importante en campos como la industria nuclear, gestión de residuos radioactivos, salud, geología, geocronología y ciencias ambientales.

En la corteza terrestre, se encuentra en una concentración promedio de 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ y está presente a nivel de trazas en una gran variedad de minerales y rocas sedimentarias (0,5 – 4,7 mg L^{-1}). Su concentración en el agua de mar se encuentra alrededor de los 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ y se distribuye uniformemente en todos los océanos del mundo. En aguas superficiales (ríos y lagos), la concentración promedio es de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, y en aguas subterráneas es baja (<0,001 $\mu\text{g L}^{-1}$). La

minería del uranio y las instalaciones donde se realizan los procesos asociados a las diferentes etapas del ciclo del combustible nuclear son fuentes potenciales de emisión de este elemento al medio ambiente [12,13].

Tabla 1.2. Características de los isótopos de uranio.

Radionúclido	Semivida (años)	Masa relativa (%)
²³⁸ U	$4,47 \times 10^9$	99,3
²³⁵ U	$7,04 \times 10^8$	0,72
²³⁴ U	$2,46 \times 10^5$	0,006

Las actividades humanas como la extracción y el tratamiento de uranio, el uso de armas nucleares y la fabricación de combustible nuclear, así como el uso de catalizadores, pigmentos de coloración, la quema de combustibles fósiles (petróleo y carbón) y la fabricación y el uso de fertilizantes de fosfato que contienen uranio, han ocasionado la contaminación generalizada del medio ambiente.

La gestión de los residuos producto de la actividad antropogénica, ha sido una preocupación en muchos países, debido a la observación de que el uranio presente en el suelo puede ser transferido al agua, plantas, alimentos, suplementos alimenticios y fertilizantes afectando seriamente a los seres humanos, ya que existen estudios que muestran que los alimentos contribuyen con alrededor del 15% del uranio ingerido, mientras que el agua representa alrededor del 85% [12].

Desde que el grado de peligro reside en el tipo de radiación, cantidad y duración de la exposición, las personas que viven cerca de minas, las que trabajan en la industria del fosfato, las que comen cultivos que crecieron en suelo contaminado o las que beben agua de un lugar de vertido de uranio pueden experimentar una exposición más elevada que otras personas.

A los niveles encontrados en la naturaleza, el uranio no presenta efectos sobre la salud. Sin embargo, se pueden dar efectos después de la toma de grandes cantidades de uranio, provocando enfermedades del hígado. El

envenenamiento por uranio se caracteriza por una degradación de la salud generalizada.

El uranio tiene toxicidad tanto química como radiológica. En el cuerpo humano, el uranio tiende a concentrarse en lugares específicos afectando el funcionamiento normal del riñón, cerebro, hígado y corazón. Los efectos radiológicos son generalmente locales ya que la radiación alfa, la principal forma de descomposición del ^{238}U , tiene un alcance muy corto ocasionando el riesgo de cáncer de huesos, cáncer de hígado, y enfermedades de la sangre. El mayor riesgo para la salud causado por la toxicidad del uranio es la probabilidad de daño a la estructura de los riñones, que pueden ocasionar insuficiencia renal aguda [12].

Radio

El radio fue descubierto en Francia en el año 1898, por el matrimonio Curie y su colaborador M.G. Bémont, mientras trataban los residuos obtenidos de una variedad de uranita (pechblenda) del norte de Bohemia [14]. El Ra se encuentra en la naturaleza, principalmente en minerales de uranio, rocas, suelo y en algunas aguas minerales y subterráneas. Se le conocen 13 isótopos todos ellos radiactivos. Cuatro de ellos se encuentran en la naturaleza (^{223}Ra , ^{224}Ra , ^{226}Ra y ^{228}Ra) y se forman a partir de las series naturales del uranio ^{238}U , ^{235}U y ^{232}Th , el resto se produce artificialmente.

Entre todos los isótopos del Ra, cabe destacar el ^{226}Ra , emisor alfa y gamma, por su largo período de semidesintegración ($t_{1/2}=1600 \pm 7$ años) y su amplia distribución en el medio ambiente, razón por la que se le considera uno de los mayores contribuyentes a la dosis interna de la población [15].

El radio se ha encontrado en muy pequeñas cantidades en el suelo, el agua, las rocas, el carbón, las plantas y en los alimentos. Una cantidad típica es un picogramo de radio por gramo de suelo o roca. Los niveles de radio en el agua potable son generalmente menores a un picocurie por litro de agua, aunque se han encontrado niveles más altos (más de 5 picocuries por litro). Los niveles más altos de exposición al radio se encuentran en las minas de uranio y en las plantas de procesamiento de las minas [16].

El radio y sus compuestos tienen usos relativamente limitados. De hecho, no más de alrededor de dos kilos de radio se extraen cada año y se destinan a uso médico como una fuente de radiación para el tratamiento de enfermedades neoplásicas, o como una fuente de radón en radiografías de metales, y como fuente de neutrones para la investigación.

Hasta los años 60, el radio era un componente de las pinturas luminosas utilizadas como resaltador de las manecillas y números de relojes, paneles de instrumentos en los aviones, instrumentos militares y brújulas. Durante los primeros años de este siglo, el radio fue utilizado en pociones con supuestas propiedades curativas. Esta práctica se interrumpió a principios de la década de 1930 [16].

Como resultado de diversas actividades antropogénicas (quema de carbón y combustibles, fabricación de pinturas luminosas, usos médicos, etc.) una gran cantidad de residuos y subproductos de la industria de fosfatos, minería, extracción de gas y de carbón han incrementado los actuales niveles de ^{226}Ra en el medio ambiente, haciéndose necesario el desarrollo de metodologías analíticas que permitan determinar de manera sencilla y eficiente su contenido a niveles medio ambientales [17].

Estroncio

El estroncio es un elemento natural estable (^{84}Sr , ^{86}Sr , ^{87}Sr y ^{88}Sr) que ocurre comúnmente en el ambiente. Puede existir en dos estados de oxidación (0 y +2) bajo condiciones ambientales normales, siendo el estado de oxidación +2 el más importante para la industria.

El Sr también presenta isótopos radiactivos (^{82}Sr , ^{83}Sr , ^{85}Sr , ^{89}Sr y ^{90}Sr), siendo los más significativos en el medio ambiente el ^{89}Sr ($t_{1/2} = 50$ días) y el ^{90}Sr ($t_{1/2} = 28.9$ años), ya que ambos son productos de fisión con periodos de semidesintegración más prolongados que los de los otros radioisótopos [18]. El ^{90}Sr se forma en reactores nucleares o durante la detonación de armas de la misma denominación. La relevancia ambiental del ^{90}Sr radica en la elevada eficiencia de generación en los procesos de fisión, en su periodo de semidesintegración, en su rápido paso a la biosfera por su elevada solubilidad y

en la similitud química entre el Sr^{+2} y el Ca^{+2} [19,20]. Debido a esta última, uno de los efectos fundamentales es la incorporación del estroncio al sistema óseo debido a su semejanza química con el calcio.

El estroncio estable y sus compuestos han sido objeto de un gran número de investigaciones. En medicina, el estudio del estroncio se aplica en el tratamiento de los huesos y defectos óseos [21]. Las proporciones de isótopos del estroncio estable permiten, en arqueología, conocer la edad de las rocas, y el estudio de antiguas civilizaciones [22,23]. En la ciencia forense, permite determinar la posible región de donde proviene algún individuo, analizando sus huesos. Esta tarea ayuda a identificar patrones de antiguas migraciones, así como el origen de restos humanos en cementerios de batallas [24,25]. En la industria, las sales volátiles de estroncio se usan en pirotecnia; el carbonato de estroncio se utiliza en la fabricación de cerámica y productos de vidrio; el cromato de estroncio se usa en pigmentos (amarillos) de pinturas; el fosfato de estroncio en las luces fluorescentes, tubos de TV y monitores de computadoras (CRTs), entre otros [26].

El ^{90}Sr tiene un uso limitado en la industria para el control de calidad en cuestiones de grosor y densidad de materiales [27]. También se usa en los generadores termoeléctricos de radioisótopos en lugares remotos, como es el caso de los faros extendidos a lo largo de la antigua Unión Soviética [28,29]. En medicina es utilizado en radioterapia, para dar atención a pacientes con problemas de pterigión (crecimiento anormal de tejido sobre la córnea) [30].

La principal fuente de estroncio radiactivo en el medio ambiente han sido las pruebas atmosféricas de armas nucleares, lo que ha dado lugar a la posterior deposición de los radionúclidos, la cual es conocida como precipitación mundial [18]. Otras fuentes que se conocen como secundarias han sido la liberación de estroncio a partir del ciclo del combustible nuclear y las pruebas nucleares las cuales han contribuido a aumentar el fondo radioactivo. También los accidentes nucleares han sido partícipes del aumento de la radiactividad ambiental [31,32].

En cuestiones de salubridad, las emisiones beta del ^{90}Sr tienen una capacidad limitada para penetrar a través del tejido. Por esa razón, para que existan efectos adversos sobre la salud, el estroncio radiactivo debe ser internalizado o puesto en contacto con la piel. Por lo tanto, existe un mayor riesgo en la exposición oral y en la inhalación, pues una vez que se adentra en el

organismo, el comportamiento de “captación ósea” del estroncio es el que constituye la principal preocupación. En particular, el ^{90}Sr afecta las células óseas, la médula hematopoyética, y potencialmente los tejidos blandos que rodean los huesos especialmente en el cráneo, debido a su periodo de semidesintegración, sus emisiones beta, y además aporta las emisiones beta del ^{90}Y , su producto de desintegración.

Las poblaciones humanas expuestas accidentalmente a altos niveles de radiación de estroncio han experimentado enfermedades por radiación crónica como el aumento de la leucemia y mortalidad por cáncer en las décadas posteriores a la exposición. En estudios con animales, el alto nivel de ^{90}Sr les ocasionó la muerte en semanas debido a los daños por radiación a los tejidos hematopoyéticos. A largo plazo, los bajos niveles de exposición que superan los mecanismos de reparación genética, pueden conducir a la leucemia mieloide, el osteosarcoma y el linfoma [28].

Tecnecio

El Tc es el primer elemento obtenido de forma artificial, por lo que su nombre proviene de la palabra griega "technikos" que significa "artificial". Se trata de un metal de transición radioactivo.

Hasta el momento se han sintetizado 45 isótopos de Tc, que van desde ^{85}Tc a ^{117}Tc , y la mayoría de ellos son de cortos periodos de semidesintegración (menos de 1 h). De éstos, el ^{97}Tc ($t_{1/2} = 2,6 \times 10^6$ años), ^{98}Tc ($t_{1/2} = 4,2 \times 10^6$ años) y ^{99}Tc ($t_{1/2} = 2,1 \times 10^5$ años) son los de larga duración. Tanto el ^{97}Tc y ^{98}Tc se forman principalmente en muy pequeñas cantidades en los procesos antropogénicos nucleares. Mientras que el ^{99}Tc se produce con una abundancia relativamente alta entre los productos de fisión y como resultado de la activación de neutrones de ^{99}Mo (**Figura 1.3**) [33,34].

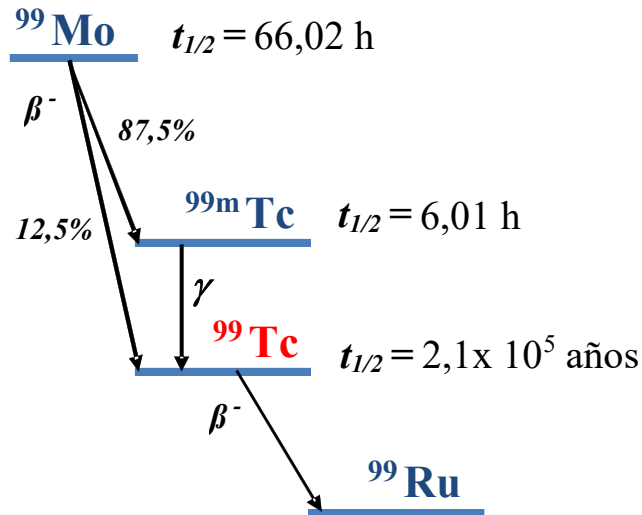


Figura 1.3. Esquema de desintegración del ^{99}Mo .

Una gran cantidad de ^{99}Tc se ha producido y liberado al medio ambiente de las instalaciones nucleares, lo que hace a este radionúclido ambientalmente importante. El interés por investigar la presencia de ^{99}Tc en muestras ambientales resulta de ser un emisor beta negativo puro (con la energía de desintegración de 0,294 MeV) y tener un periodo de semidesintegración muy largo.

En cuanto a sus aplicaciones, es un elemento que debido a sus propiedades químicas, se usa en múltiples campos. En medicina nuclear, el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (isómero nuclear metaestable) se usa principalmente como marcador radiactivo para el diagnóstico de funcionamiento de órganos y como localizador de tumores [35,36]. En oceanografía, la alta solubilidad en agua de mar como TcO_4^- , hacen del ^{99}Tc un excelente trazador para la investigación del movimiento, intercambio y circulación de las masas de agua [37].

El ^{99}Tc también puede ser producido por la fisión espontánea de ^{238}U y la fisión inducida por neutrones de ^{235}U en la Tierra [38,39]. Además, puede producirse por reacciones de rayos cósmicos con Mo, Ru y Nb en la corteza terrestre. Se ha estimado que estos dos tipos de procesos han producido alrededor de $6 \times 10^{16} \text{ Bq}$ de ^{99}Tc . En la actualidad, la mayor presencia de ^{99}Tc es el resultado de las actividades antropogénicas como las pruebas con armas

nucleares, el reprocesamiento de residuos de combustible nuclear, los accidentes nucleares, las centrales y la aplicación médica de ^{99m}Tc [40,41].

Debido a la débil absorción del pertechnetato de tecnecio (TcO_4) en el medio ambiente, el Tc es considerado uno de los radionúclidos de mayor movilidad en la naturaleza.

El ^{99}Tc representa un peligro para la salud, solamente cuando éste ingresa en el cuerpo humano; mientras que su exposición externa, no implica ningún peligro, ya que posee una desintegración beta a una muy baja energía sin radiación gamma. Para una exposición interna, la principal preocupación se centra en la posible inducción de cáncer proveniente de las partículas beta asociadas a su desintegración [42].

1.2.4 Normatividad

La puesta en marcha de la era nuclear y sus consecuentes accidentes, las pruebas con armas nucleares y en general toda actividad antropogénica, han contribuido al aumento de la contaminación radiológica ambiental y por ende del riesgo para la salud, al cual están expuestos los seres humanos.

Para realizar un control radiológico ambiental apropiado, es necesario e imprescindible conocer la radiación de fondo, es decir establecer niveles de referencia, los cuales indican los límites permisibles de un radionúclido en particular en diferentes muestras ambientales. Con base en esta información se tomarán las decisiones oportunas ante algún posible suceso catastrófico que represente un riesgo para la salud y el ambiente.

Existen diferentes niveles jerárquicos normativos que pretenden regular y salvaguardar la salud de las personas y el medioambiente. En materia radiológica existen normas internacionales y nacionales. Por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece como límite permisible para el agua de consumo humano la cantidad de $0,015 \text{ mg L}^{-1}$ de uranio natural [43]. Además, en el documento “Guías para la calidad del agua” establece los niveles de referencia (NR) correspondientes a los radionúclidos presentes en el agua de consumo entre los cuales se encuentran el ^{226}Ra , el ^{99}Tc y el ^{90}Sr (**Tabla 1.3**).

La Agencia de Protección del Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) establece que los niveles de uranio y de estroncio mineral para el agua potable no deben exceder a los 0,03 mg L⁻¹ y 4 mg L⁻¹, respectivamente, y reglamenta de forma conjunta al ²²⁶Ra y ²²⁸Ra [44].

La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés), regula a estas sustancias de la misma forma que la EPA [16,28].

Las Normas Oficiales para la calidad del agua en México (NOM-127-SSA1-1994) [45], de forma similar a lo reglamentado por parte de la OMS, establece las mismas directrices y lineamientos para las sustancias en cuestión.

El Consejo de la Unión Europea a través de la Directiva 2013/51/EURATOM establece los lineamientos necesarios para la protección sanitaria de la población en materia de sustancias radiactivas en las aguas destinadas al consumo humano [46]. De esta forma, a través de las concentraciones derivadas se establecen los valores para ²³⁸U, ²²⁶Ra y ⁹⁰Sr, calculados para una dosis de 0,1 mSv y una ingestión anual de 730 litros, mientras que el tecnecio quedaría regulado dentro de los emisores beta a través del criterio de la dosis indicativa (DI), estableciendo un valor de cribado recomendado para la actividad beta total de 1,0 Bq L⁻¹.

Tabla 1.3. Normatividad, niveles permisibles de los analitos bajo estudio. Nivel estable y radiactivo en agua potable

	Elemento (mg L ⁻¹)		Radionúclidos (Bq L ⁻¹)			
	U	Sr	⁹⁹ Tc	⁹⁰ Sr	²³⁸ U	²²⁶ Ra
Organización Mundial de la Salud	0,015	---	100 ^b	10 ^b	10 ^b	1 ^b
Agencia de Protección Ambiental	0,03	4	---	---	---	0,185 ^a
Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades	0,03	4	---	---	---	0,185 ^a
México NOM-127-SSA1-1994	0,015	---	100 ^b	10 ^b	10 ^b	1 ^b
DIRECTIVA 2013/51/EURATOM	---	---	1 ^d	4,9 ^c	3,0 ^c	0,5 ^c

^a Conjunta ²²⁶Ra y ²²⁸Ra ^b Niveles referencia ^c Concentraciones derivadas

^d Actividad beta conjunta

Bibliografía

- [1] Woodside, G. (1997). Radiation Safety. In: Environmental, Safety, and Health Engineering, John Wiley & Sons, USA (pp. 484-492).
- [2] L'Annunziata, M. F. (Ed.). (2012). Handbook of radioactivity analysis. Academic Press.
- [3] Chang, R. (2007). Química nuclear. En: Química. McGraw-Hill, China (pp. 968-994).
- [4] Duarte, C. (2003). Diseño y construcción de un prototipo para la obtención de ^{32}P (Tesis de Ingeniería). Instituto Tecnológico de Toluca. Metepec, Estado de México.
- [5] Larivière, D., Guérin, N. (2010). Natural Radioactivity. In: Atwood D. A. (Ed.), Radionuclides in the Environment, John Wiley & Sons, USA (pp. 1-17).
- [6] United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. UNSCEAR. (2000). Sources and Effects of Ionization Radiation. Report to the General Assembly Volume I: Sources, United Nations, New York.
- [7] Eisenbud, M., Gesell, T. F. (1997). Introduction. In: Environmental Radioactivity from Natural, Industrial & Military Sources, Academic press. (pp. 2-7).
- [8] Organización Mundial de la Salud, OMS (2012). Radiaciones ionizantes: efectos en la salud y medidas de protección. Nota descriptiva No. 371. Recuperado el 25 de octubre del 2015 de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs371/es/>.
- [9] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR (1999). Resumen de salud pública: Radiación Ionizante, Estados Unidos.
- [10] López, J.J. (2006). Optimización de los métodos de medida en un contador proporcional. Resultados y análisis en un programa de vigilancia radiológica ambiental (Tesis de Doctorado). Departamento de Química Orgánica, Universidad de Granada. Granada, España.
- [11] Mietelski, J.W. (2010). Anthropogenic Radioactivity. In: Atwood D. A. (Ed.), Radionuclides in the Environment, John Wiley & Sons, USA. (pp. 19 - 34).
- [12] Payne, T.E. (2010). Uranium. In: Atwood D. A. (Ed.), Radionuclides in the Environment, John Wiley & Sons, USA (pp. 261-272).

- [13] Santos J. S., Teixeira, L. S. G., dos Santos, W. N. L., Lemos, V., Godoy, J. S., Ferreira, S. L. C. (2010). Uranium determination using atomic spectrometric techniques: An overview. *Anal. Chim. Acta*, 674: 143-156.
- [14] Eisenbud, M., Gesell, T. F. (1997). Various Other Sources of Exposure. In: *Environmental Radioactivity from Natural, Industrial & Military Sources*, Academic press (pp. 317-319).
- [15] Vandenhove, H., Verrezen, F. (2010). Radium. In: Atwood D. A. (Ed.), *Radionuclides in the Environment*, John Wiley & Sons, USA (pp. 97-108).
- [16] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR (1990). Toxicological profile for Radium, USA.
- [17] Fajardo, Y., Gómez, E., Garcias, F., Cerdà, V., Casas, M. (2007). Development of an MSFIA-MPFS pretreatment method for radium determination in water samples. *Talanta*, 71: 1172–1179.
- [18] Guillén, F.J., Baeza, A., Salas A. (2010). Strontium. In: Atwood D. A. (Ed.), *Radionuclides in the Environment*, John Wiley & Sons, USA (pp. 79-95).
- [19] Aguilar R., Pujol L., de Pablo M. A. (2007). Puesta a punto de un método para la determinación de la actividad de ^{90}Sr en muestras de agua. *Ingeniería Civil*, 148: 125-134.
- [20] Llauradó, M., Vallés, I., Abelairas, A., Alonso, A., Díaz, M. F., de Lucas, M.J., García, R., Suárez-Navarro, J.A. (2005). Colección Informes Técnicos, Consejo de Seguridad Nuclear 11: 10-56.
- [21] Lam, W.M., Pan, H.B., Fong, M.K., Cheung, W.S., Wong, K.L., Li, Z.Y., Luk, K.D.K., Chan, W. K., Wong, C. T., Yang, C., Lu, W. W. (2011). In Vitro characterization of low modulus linoleic acid coated strontium substituted hydroxyapatite containing PMMA bone cement. *J. Biomed. Mater. Res.*, 96B: 76-83.
- [22] Gilli, A., Hodell, D.A., Kamenov, G.D., Brenner, M. (2009). Geological and archaeological implications of strontium isotope analysis of exposed bedrock in the Chicxulub crater basin, northwestern Yucatán, Mexico. *Geological Society of America*, 37: 723-726.
- [23] Frei, K.M., Frei, R., Mannering, U., Gleba, M., Nosch, M.L., Lyngstrøm, H. (2009). A pilot study evaluating the strontium isotope system in wool. *Archaeometry*, 51: 252-276.

-
- [24] Pérez-Cárceles, M.D., Sibón, A., Gil del Castillo, M.L., Vizcaya, M.A., Osuna, E., Casas T., Romero, J.L., Luna, A. (2008). Strontium Levels in Different Causes of Death: Diagnostic Efficacy in Drowning. *Biol Trace Elem Res.*, 126: 27-37.
- [25] Azparren, J.E., Perucha, E., Martínez, P., Muñoz, R., Vallejo, G. (2007). Factors affecting strontium absorption in drownings. *Forensic Sci. Int.*, 168: 138-142.
- [26] Ober, J. A. (1989). Strontium-uses, supply, and technology (Vol. 9213). US Dept. of the Interior, Bureau of Mines.
- [27] Bergman, C., Pettersson, B.G. (1994). Aplicaciones de las radiaciones y gestión de desechos: Adopción de medidas definitivas. *Boletín OIEA*, 1:36-40.
- [28] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. ATSDR (2004). Toxicological Profile for Strontium, USA, 1-256.
- [29] O'Brien, R.C., Ambrosi, R.M., Bannister, N.P., Howe, S.D., Atkinson, H.V. (2008). Safe radioisotope thermoelectric generators and heat sources for space applications. *J. Nucl. Mater.*, 37: 506-521.
- [30] Ali, A.M., Thariat, J., Bensadoun, R. J., Thyss, A., Rostom, Y., El-Haddad, S., Gérard, J.P. (2011). The role of radiotherapy in the treatment of pterygium: A review of the literature including more than 6000 treated lesions. *Cancer/Radiothérapie*, 15: 140-147.
- [31] United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, UNSCEAR (2008). Sources and effects of ionizing radiation, Report to the General Assembly, Vol 1, USA, (pp. 1-20).
- [32] United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. UNSCEAR. (2013). Sources, Effects and Risks of Ionization Radiation. Report to the General Assembly Volume I: Scientific Annex A, United Nations, New York.
- [33] Butterworth, J.C., Livens, F.R., Makinson, P.R. (1995). Development of a method for the determination of low levels of technetium-99. *Sci. Total Environ.*, 173/174: 293-300.

- [34] Hou, X., Jense, M., Nielsen, S.P. (2007). Use of ^{99m}Tc from a commercial $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator as yield tracer for the determination of ^{99}Tc at low levels. *Appl. Radiat. Isot.*, 65: 610-618.
- [35] Fuster, D., Duch, J., Soriano, A., García, S., Setoian, X., Bori, G., Rubí, S., Rodriguez, D., Doménech, B., Piera, C., Mensa, J., Pons, F. (2008). Potential use of bone marrow scintigraphy in suspected prosthetic hip infection evaluated with ^{99m}Tc -HMPAO-leukocytes. *Rev Esp Med Nucl.*, 6: 430-435.
- [36] De Bonilla-Damiá, A., Calvo-Morón, C., De la Riva-Peréz, P.A., Iglesias-Jerez, R. (2011). Detection by SPECT-CT Scan with ^{99m}Tc -(V) DMSA of Bone Metastases in Patient with Medullary Thyroid Cancer. *Rev. Esp. Med. Nucl.*, 30: 365-367.
- [37] Kershaw, P. J., Heldal, H.E., Arne Mork, K., Rudjord, A. L. (2004). Variability in the supply, distribution and transport of the transient tracer ^{99}Tc in the NE Atlantic. *Journal of Marine Systems*, 44: 55-81.
- [38] Wildung, R.E., McFadden, K.M., Garland, T.R. (1979). Technetium Sources and Behavior in the Environment. *J. Environ. Qual.*, 8: 156–161.
- [39] Curtis, D., Fabryka-Martin, J., Dixon, P., Cramer, J. (1999). Nature's uncommon elements: Plutonium and technetium. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 63: 275-285.
- [40] Beals, D.M. (1996). Determination of technetium-99 in aqueous samples by isotope dilution inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 204: 253-263.
- [41] García-León, M. (2005). ^{99}Tc in the Environment: Sources, Distribution and Methods. *J. Nucl. Radiochem. Sci.*, 6: 253-259.
- [42] Hu, Q. (2010). Technetium. In: Atwood D. A. (Ed.), *Radionuclides in the Environment*, John Wiley & Sons, USA (pp. 219-246).
- [43] World Health Organization (WHO) (2011), *Guidelines for drinking-water quality*, 4th ed.
- [44] Environmental Protection Agency (EPA) (2011), *Drinking Water Standards and Health Advisories*, USA.
- [45] Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-1994), *Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y*

tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación del 3 de febrero de 1995. México, D.F.

- [46] Directiva Europea 2013/51/EURATOM, Requisitos para la protección sanitaria de la población con respecto a las sustancias radiactivas en las aguas destinadas al consumo humano. Diario Oficial de la Unión Europea del 22 de octubre del 2013.

CAPITULO 2

TECNICAS DE ANALISIS POR INYECCION EN FLUJO, DE SEPARACION Y DE DETECCIÓN EMPLEADAS

2.1 Técnicas de análisis por inyección en flujo empleadas

Las técnicas de análisis por inyección en flujo permiten el desarrollo de complejos sistemas automáticos para el manejo de fluidos. Se trata de dispositivos electrónicos, instrumentos y un conjunto de tuberías y conectores, que se acoplan según las necesidades del proceso químico a desarrollar [1].

Las técnicas de análisis en flujo utilizadas como sistemas de introducción y pre-tratamiento de muestras son especialmente adaptables a la determinación de parámetros ambientales debido a algunas de sus características, tales como alta precisión, alta frecuencia de muestreo, alto grado de flexibilidad, manipulación de pequeños volúmenes de muestras y reactivos, capacidad para llevar a cabo pre-tratamientos químicos en línea y fácil automatización [2].

Así, han surgido nuevas metodologías analíticas basadas en las técnicas de análisis por inyección en flujo que permiten llevar a cabo el control continuo de un gran número de parámetros ambientales en cortos lapsos de tiempo con resultados fiables, seguros y económicos [3].

La presencia de la radioactividad natural y la creciente contaminación producto de las actividades antropogénicas han ocasionado un aumento en el interés por monitorear y medir la presencia de radionúclidos en el medio ambiente buscando tener una medida de control para salvaguardar oportunamente la seguridad humana.

Si bien la detección radiométrica, dificulta la completa automatización de los métodos aplicados a muestras ambientales, ya que éstas requieren de un largo tiempo de contaje, los pasos susceptibles de ser automatizados resultan ser los más tediosos y los que consumen y generan mayor cantidad de reactivos y residuos, respectivamente [4,5].

Además, los métodos basados en las técnicas de análisis por inyección en flujo reducen la manipulación directa de muestras y reactivos, lo que implica minimizar el riesgo para la salud del analista, tienen una mejor precisión y reproducibilidad que los métodos manuales, y disminuyen el tiempo del análisis.

Para el desarrollo de los diferentes trabajos propuestos en la presente tesis se emplearon las técnicas de análisis por inyección en flujo multiconmutadas: análisis de inyección en flujo multijeringa (MSFIA), lab-on-valve (LOV) y Lab-in-syringe (LIS).

2.1.1 Análisis de inyección en flujo multijeringa

La técnica de análisis de inyección en flujo multijeringa (MSFIA) fue desarrollada en 1999 por el grupo de Química Analítica, Automatización y Medio Ambiente del Dpto. de Química de la UIB en colaboración con Crison Instruments (Alella, Barcelona, España) [2]. El MSFIA reúne diversas ventajas de otras técnicas de análisis en flujo ya existentes, tales como la alta frecuencia ofrecida por el análisis de inyección en flujo (FIA) [6], la robustez y la versatilidad del análisis por inyección secuencial (SIA) [7] y la simplicidad de las técnica de análisis en flujo multiconmutado (MCFIA) [8].

El MSFIA utiliza bombas de pistón (jeringas) como impulsor de líquidos. En la parte superior de cada jeringa hay una válvula solenoide de tres vías que conmuta direccionando el sentido del flujo [1]. Debido al uso de tubos de vidrio o de PTFE, el MSFIA permite el uso de reactivos agresivos y disolventes orgánicos, y además evita los procedimientos de recalibración requeridos por el envejecimiento de los tubos flexibles de Tygon® de las bombas peristálticas (manteniendo la eficiencia de la mezcla radial de las zonas de muestra y reactivos de los métodos de inyección en flujo). El caudal y los volúmenes son definidos de manera precisa mediante el uso de un software que permite controlar un módulo multijeringa. El MSFIA constituye una técnica multicanal ideal para el desarrollo de cualquier proceso analítico, pues permite una alta precisión en el control del caudal [9]. La única desventaja que presenta el MSFIA frente a otras técnicas de análisis en flujo es la necesidad del llenado de las jeringas, lo que limita la frecuencia de inyección.

Recientes tendencias en el desarrollo del MSFIA han demostrado exitosamente su versatilidad y facilidad en el acoplamiento con otras técnicas, por ejemplo con Lab-on-Valve [10-12], sistemas de flujo multibomba [13,14] y con la cromatografía de baja presión usando columnas monolíticas [15-17].

2.1.2 Lab-on-valve

Con el objeto de compactar el SIA, Ruzicka y col. han propuesto un dispositivo en el que diversos elementos típicos de las técnicas de flujo se encuentran

directamente implementados sobre una válvula de selección [18]. Esta técnica denominada Lab-on-valve (LOV), ha sido concebida con el objeto de reducir aún más los niveles de consumo de reactivos, constituyendo la tercera generación de las técnicas de análisis en flujo [19].

Las mayores ventajas del LOV son su compactibilidad y la posición rígida de los canales, lo que asegura aún más la repetitividad en la manipulación de los líquidos. Además, la técnica LOV facilita de forma significativa la integración de unidades analíticas en la válvula y proporciona un gran potencial de miniaturización de toda la instrumentación [20-22].

Cabe mencionar que esta técnica no sólo maneja disoluciones homogéneas sino también heterogéneas, de hecho, su flexibilidad para manipular tanto fluidos como partículas permite desarrollar métodos en los que la renovación de la fase sólida se lleva a cabo de una forma totalmente automática (*bead injection, BI*). Esto ha impulsado el desarrollo de métodos de separación y preconcentración de analitos en presencia de matrices complejas, alcanzando un alto grado de automatización. Además, la posibilidad de transportar automáticamente materiales sólidos y renovarlos a conveniencia del analista, proporciona una gran repetitividad en los procesos de empaquetamiento y perfusión de las partículas, y por tanto de las señales analíticas.

2.1.3 Lab-in-syringe asistida con agitación magnética

Con el objeto de lograr la total automatización de la microextracción líquido-líquido (LLME, por sus siglas en inglés) se ha propuesto la técnica *Lab-in-syringe* (LIS) [23]. Esta técnica ha sido mejorada con el uso de un agitador magnético, y esta innovación ha dado origen a la LLME con agitación magnética asistida (MSA) dentro de una jeringa [24]. La técnica LIS-MSA permite una mezcla rápida, homogénea y reproducible de los reactivos y la muestra, sin la necesidad de utilizar una cámara de mezcla adicional ni el empleo de un reactivo dispersante. Esta técnica también ofrece la posibilidad de hacer otras operaciones como la adición de estándar o la preparación automática de estándares para la calibración, o el cambio de pH en línea. En la **Figura 2.1** se muestra un esquema

representativo del funcionamiento del LIS-MSA-LLME. En (I) se representa la mezcla de los reactivos para desarrollar el compuesto a extraer, y en (II), la extracción de dicho compuesto en la fase orgánica. Adicionalmente, la automatización del movimiento del imán facilita el proceso de limpieza de la jeringa reduciendo el riesgo de contaminación cruzada. La puesta en marcha y las revoluciones del agitador se controlan por computadora.

En esta tesis se explotan las ventajas y prestaciones analíticas de esta nueva variante de microextracción líquido-líquido con agitación magnética asistida dentro de la jeringa (LIS-MSA-LLME).

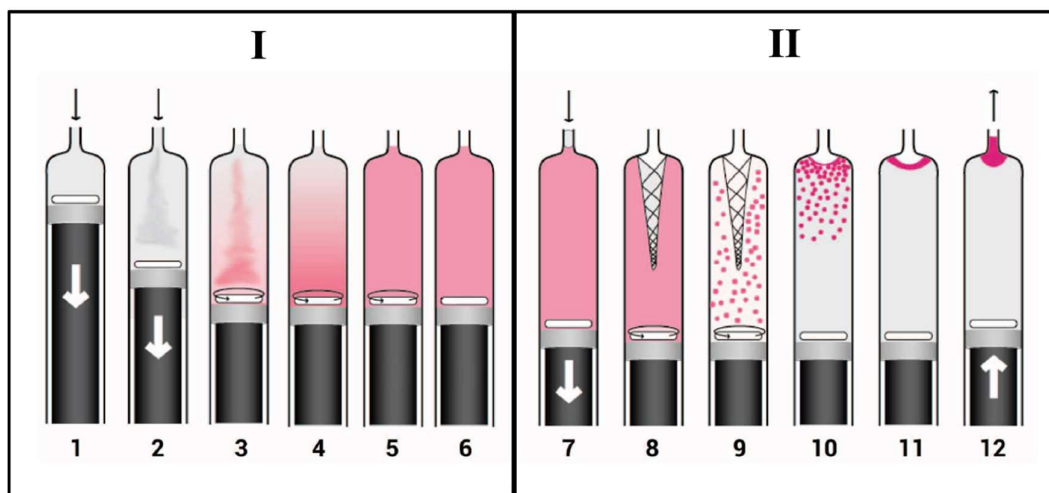


Figura 2.1. LIS-MSA-DLLME, esquema general de su funcionamiento¹.

1, Se aspira la muestra; 2, se aspiran los reactivos que forman la especie coloreada; 3, 4 y 5, comienza la agitación y reacción; ocurre una mezcla totalmente homogénea y se completa la reacción; 6, se detiene el agitador magnético; 7, se aspira el reactivo extractante seguido de un pequeño volumen de aire; 8, se inicia la agitación; 9, se dispersa la fase orgánica en gotas muy finas y ocurre la extracción; 10, se detiene el agitador, se completa la extracción y las pequeñas gotas comienzan a flotar; 11 se juntan las gotas de fase orgánica en la superficie de la fase acuosa; 12, la fase orgánica enriquecida con el analito se envía al detector.

¹ Henriquez, C. (2013). Métodos automáticos de análisis para la determinación de parámetros de interés ambiental [Figura 1.15, tesis doctoral]. Recuperado de <http://www.tesisenred.net/handle/10803/123276>.

2.2 Técnicas de separación empleadas

Los radionúclidos deben ser separados y preconcentrados antes de su medición debido a sus bajas actividades en muestras ambientales y a la presencia de otros radionúclidos y elementos interferentes. Tradicionalmente, los procesos de separación y purificación involucrados en la determinación de radionúclidos se llevan a cabo manualmente y los resultados son obtenidos luego de la aplicación de uno o varios protocolos de separación con un gran número de pasos.

En el análisis ambiental se utilizan una gran variedad de técnicas de extracción y preconcentración entre las que destacan la extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE).

2.2.1 Extracción en fase sólida

En la actualidad, la extracción en fase sólida (SPE) es la técnica de pretratamiento de muestra más utilizada, ya que los tiempos requeridos para la extracción son cortos y la manipulación de la muestra es escasa. Además, el consumo de disolventes orgánicos es reducido y a veces evitado [25,26]. Dentro de la SPE, el intercambio iónico y la extracción cromatográfica son técnicas muy populares debido a su aplicación tanto en la separación como en la preconcentración.

Las resinas de extracción cromatográfica combinan la selectividad de la extracción líquido-líquido con la rapidez de los métodos cromatográficos. Si bien estas resinas permiten la separación cromatográfica de dos o más radionúclidos, en esta tesis se han utilizado para la separación y preconcentración de un único radionúclido, y de ahí su tratamiento como SPE. La separación de los radionúclidos se basa en la distribución de los cationes de interés entre una fase orgánica y una acuosa. El extractante es absorbido por un soporte inerte que contiene la fase orgánica estacionaria (**Figura 2.2**). Dicho soporte además de ser inerte con respecto a las reacciones químicas entre la fase orgánica y los cationes retenidos, también debe ser estable ante las influencias mecánicas; comprender una gran superficie específica y además de ser esférico para que permita un mejor empaquetamiento. Mientras que el extractante, al ser el que

determina la capacidad de la resina, tiene que tener una alta selectividad y necesita ser química y físicamente estable.

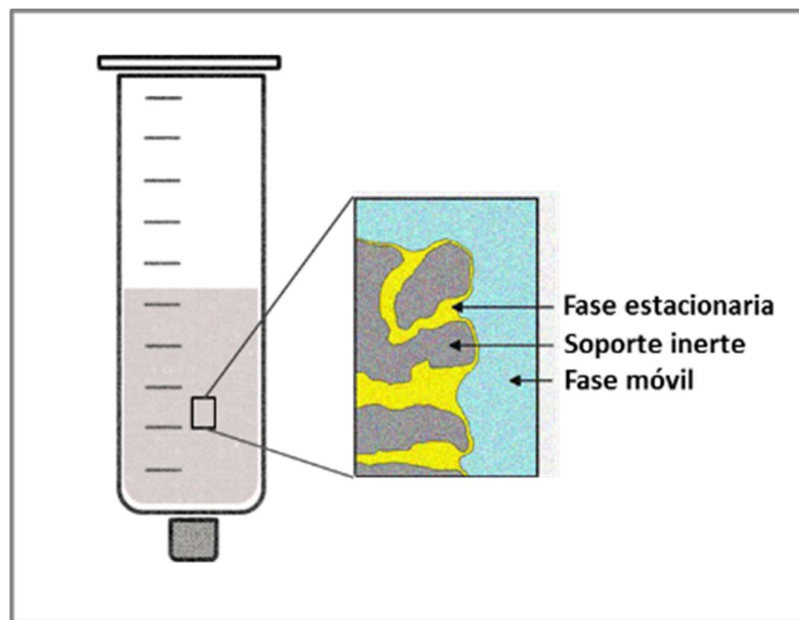


Figura 2.2. Componentes de una resina de extracción cromatográfica.

El procedimiento de SPE abarca los siguientes pasos: acondicionamiento de la fase sólida (resina); carga de la muestra para retener de forma selectiva al radionúclido de interés; un enjuague o lavado para eliminar los posibles interferentes y finalmente la elución del radionúclido separado y preconcentrado para su posterior determinación.

Se han desarrollado y comercializado resinas específicas para varios radionúclidos [27,28]. La utilización de estos materiales en procesos de separación hace que el consumo de reactivos y muestras se minimice de forma considerable, a la vez que el procedimiento analítico se hace más sencillo. La implementación de la SPE altamente selectiva junto con las técnicas de análisis de inyección en flujo, permite la automatización de una gran variedad de métodos analíticos.

Para el desarrollo de esta tesis, se utilizaron dos tipos de resina: la resina TEVA para la extracción de ^{99}Tc y la resina Sr, para la extracción de ^{90}Sr , ambas adquiridas comercialmente en TRISKEM International (Francia). La resina TEVA

es utilizada principalmente para extraer actínidos tetravalentes, y se ha elegido ya que también posee afinidad por el tecnecio en forma del ion pertechnetato. La resina Sr, se eligió por su elevada selectividad para el Sr.

Resina Sr

Con la finalidad de realizar la separación y preconcentración de estroncio en muestras ambientales, eliminando el mayor número posible de interferentes, se desarrolló en los años 90 la resina Sr-Spec (4,4'(5')-di-t-butylcyclohexano-18-crown-6) diluido en octanol e inmovilizado en un soporte polimérico inerte (**Figura 2.3**).

Equilibrio de extracción:

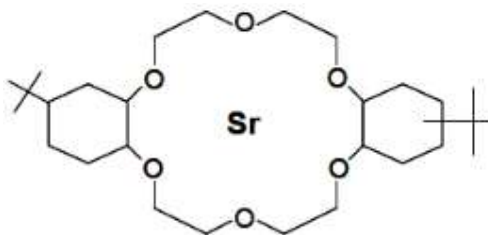
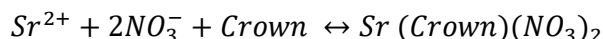


Figura 2.3. Resina Sr-Spec, equilibrio de extracción y molécula. (Sr-[Bis-t-Butil-cis-diciclohexano-18-Crown-6 (C₂₈O₆H₅₃)]).

El tamaño de la cavidad de las partículas de resina es de 2,6 a 3,2 Å ($\varnothing \text{Sr}^{2+} = 2,24 \text{ Å}$) y la concentración del éter corona en la resina es de 1 mol L⁻¹ [29]. Además se ha reportado que la capacidad experimental de la resina es de 8 mg Sr mL⁻¹ de resina [30]. Esta resina se caracteriza por presentar una elevada selectividad para el Sr y tiene como ventaja adicional su uso en disoluciones de altas concentraciones de ácido nítrico. Según las especificaciones del fabricante, la afinidad del estroncio hacia la resina se incrementa con la concentración de ácido nítrico, logrando buenos resultados en un rango entre 3 y 8 mol L⁻¹. Exceptuando al bario (afinidad en un rango de 1 a 5 mol L⁻¹ de HNO₃), todos los

metales alcalinos y los alcalino-térreos no muestran afinidad por la resina, especialmente en 8 mol L⁻¹ de concentración de ácido nítrico.

Resina TEVA

Se trata de una resina cromatográfica diseñada para extraer los actínidos tetravalentes y al tecnecio, cuya densidad es de 0,35 g mL⁻¹. El extractante (E) de la resina TEVA es una amina cuaternaria alifática que le da las propiedades de una resina de intercambio aniónico de base fuerte positivamente cargada.

La resina TEVA se acondiciona con ácido nítrico de muy baja concentración, ocasionando que el ion nitrato se ligue a la amina cuaternaria y actúe como un contraion, para el posterior intercambio aniónico con el pertecnetato. La alta retención del Tc(VII) por la resina TEVA a baja acidez es debido a la alta selectividad de las sales cuaternarias de amonio por el anión pertecnetato sobre el anión del ácido (**Figura 2.4**).

Equilibrio de extracción:

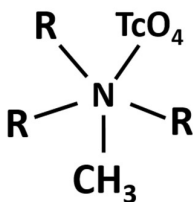
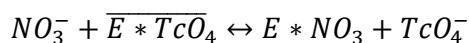


Figura 2.4. Resina TEVA.

Equilibrio de extracción del TcO₄⁻, representación molecular.

La retención del tecnecio se incrementa a medida que la concentración ácida baja. La afinidad del Tc sobre la resina decrece notablemente al incrementarse la concentración del ácido nítrico, por lo tanto altas concentraciones de nítrico son empleadas para eluir al Tc de la resina [31].

Perlas de celulosa

Para la extracción del ^{226}Ra , los principios de la SPE fueron aplicados usando como soporte inerte pequeñas perlas macroporosas de celulosa, fabricadas por la empresa Iontosorb de la República Checa. Sobre el soporte sólido de celulosa se adsorbe el MnO_2 , constituyendo el principio activo para extraer los iones de radio desde una muestra líquida. Una vez retenido, el Ra es eluido con cloruro de hidroxilamina, para su posterior determinación.

2.2.2 Microextracción líquido-líquido

El fundamento de la extracción líquido-líquido (LLE) implica la mezcla entre una disolución acuosa con el analito a separar y una disolución orgánica que contiene al agente extractante apropiado. Las características del proceso de extracción dependen de factores tales como la acidez de la disolución acuosa y la naturaleza del compuesto extractante.

La LLE se basa en la capacidad que tiene un analito para repartirse entre dos disoluciones no miscibles, una fase acuosa y una fase orgánica. De modo que el analito se extrae en la fase orgánica dejando los interferentes y demás componentes de matriz en la fase acuosa. Así, el analito no sólo puede ser extraído de su matriz, sino que también es preconcentrado en un reducido volumen de extractante.

La LLE convencional involucra un largo y tedioso procedimiento, dentro del cual se requieren grandes cantidades de muestra y de disolventes orgánicos [32]. Para solventar estos inconvenientes se han desarrollado algunas variantes, como la microextracción líquido-líquido (LLME) [33] y la microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME) [34,35], ambas enfocadas a la miniaturización buscando reducir de forma drástica el consumo de muestra y el volumen de la fase extractante.

En esta tesis, para llevar a cabo la extracción del uranio, se ha utilizado un compuesto organofosforado, el Cyanex 272 comercializado por Cytec, el cual contiene predominantemente ácido bis (2,4,4 trimetilpentil) fosfínico [36]. Se puede observar su estructura en la **Figura 2.5**.

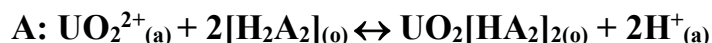
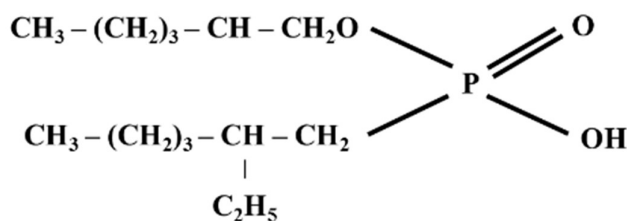


Figura 2.5. Cyanex 272, estructura y composición molecular.

Ácido bis (2,4,4 trimetilpentil) fosfinico, mayor componente del Cyanex 272 y equilibrio de extracción del uranio. A: aniones de Cyanex 272; a: fase acuosa; o; fase orgánica.

El Cyanex 272 se caracteriza por presentar una extracción eficiente de uranio a muy bajas concentraciones [37]. La extracción líquido-líquido de uranio(VI) con Cyanex 272 ha sido investigada para diferentes medios, resultando que en medios ácidos a muy bajas concentraciones (HNO_3 , HCl y HClO_4), el ion uranilo se combina con dos moléculas de Cyanex 272 [37,38].

Cuando las concentraciones ácidas se incrementan, el ion uranilo tiene mayor afinidad con el cloro formando complejos como: UO_2Cl^+ , UO_2Cl_2 , UO_2Cl_3^- y $\text{UO}_2\text{Cl}_4^{2-}$, lo que en nuestro caso, resultó muy práctico para realizar la retro-extracción del uranio desde la fase orgánica hacia la fase acuosa, facilitando entonces su detección espectrofotométrica mediante la formación de un complejo con el reactivo cromogénico arsenazo-III.

2.3 Técnicas de detección empleadas

A nivel ambiental los radionúclidos se encuentran a muy bajas concentraciones (niveles traza o ultratrazo), por lo que el realizar un pre-tratamiento de muestra previo a su detección, es de suma importancia ya que permite la separación y preconcentración del radionúclido del resto de la matriz muestral. Esto garantiza

una medición eficiente en una elución que no contiene más que el analito de interés, eliminando con esto otros radionúclidos y otros elementos cuya presencia puede interferir en su determinación.

Entre las técnicas de detección más usadas para la determinación de estroncio total a niveles traza, se encuentran la espectrometría de absorción atómica (AAS) [39], la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) [40,41] y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) [42,43], permitiendo alcanzar límites de detección de hasta $0,002 \mu\text{g L}^{-1}$ [42]. Para el ^{90}Sr , la medición de su actividad se puede llevar a cabo mediante un contador de centelleo líquido (LSC) [44,45], el recuento de la radiación Cerenkov producida por el ^{90}Y [46,47] o a través de un contador proporcional de bajo fondo (LBPC), logrando alcanzar actividades mínimas detectables (AMD) de hasta $0,01 \text{ Bq}$ [40].

En el caso del ^{99}Tc , su largo periodo de semidesintegración ($2,11 \times 10^5$ años) y por lo tanto su baja actividad específica ($0,64 \text{ Bq ng g}^{-1}$), hacen de la espectrometría de masas un instrumento altamente sensible en la determinación de este analito, alcanzando límites de detección de hasta $0,085 \text{ ng L}^{-1}$ [48-52]. Así, el ICP-MS se ha convertido en el instrumento más usado para la medición de ^{99}Tc en diferentes matrices ambientales, por su elevada sensibilidad y rapidez de análisis [53,54].

En el caso del ^{226}Ra , comúnmente se utilizan detectores radiométricos para su determinación, a través de un LBPC, un espectrómetro gamma, un LSC o bien mediante el uso de espectrometría alfa [55,56].

En el caso del uranio elemental, al igual que el estroncio, las técnicas de detección más usadas han sido el AAS [57], ICP-OES [58,59] y ICP-MS [60,61] logrando un límite de detección de $0,01 \text{ ng L}^{-1}$ [61]. Sin embargo, debido a la búsqueda de sistemas de detección más simples y compactos, se ha tratado de explotar las ventajas que ofrece la espectrofotometría en materia de portabilidad, rapidez, bajo costo y fácil manejo. Si bien la espectrofotometría carece de la sensibilidad necesaria, el uso de celdas capilares de largo paso óptico (LWCC), ha permitido mejorar las limitaciones en materia de sensibilidad y precisión, haciendo de esta técnica una poderosa herramienta en lo que respecta a la determinación de contaminantes ambientales a niveles traza [4,63]. De este

modo, se consiguen métodos totalmente automatizados desde la extracción del analito hasta su detección.

2.3.1 Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente

En esta tesis se utilizó un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) para la determinación de estroncio total. En el ICP-OES, la muestra se descompone térmicamente en una nube que contiene átomos e iones libres del elemento de interés. Dichas temperaturas son lo suficientemente altas (10000 K) para que no sólo se disocien los átomos, sino que también existan colisiones significativas de excitación e ionización. Una vez que los átomos o los iones se encuentran en sus estados excitados, éstos decaen a estados más bajos a través de transiciones de energía térmica o radiante. En OES, se mide la intensidad de la luz emitida en longitudes de onda específicas para determinar los elementos de interés.

En nuestro caso se utilizó un ICP-OES Perkin Elmer® Optima 5300 DV (Figura 2.6).

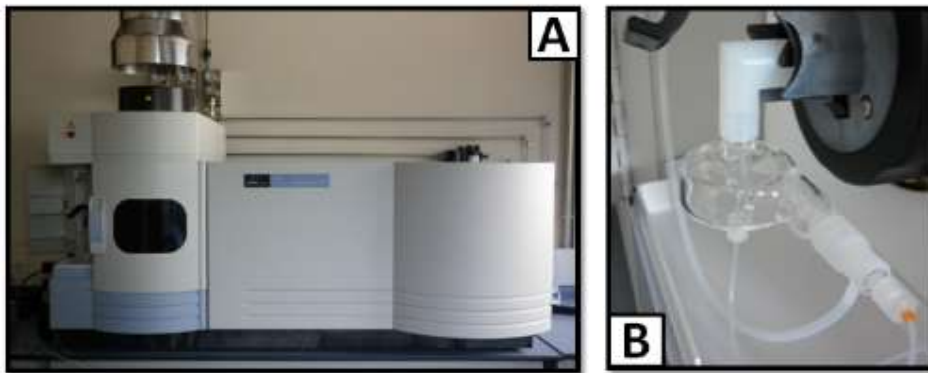


Figura 2.6. Imagen del detector ICP-OES empleado.

A) Vista lateral. B) Nebulizador y cámara de nebulización.

A continuación se presentan brevemente cada uno de los componentes que integran al detector y su funcionamiento.

- Introducción de muestra: se introduce la muestra a analizar hacia el canal central del plasma de acoplamiento inductivo. El flujo de muestra permanece constante gracias al uso de una bomba peristáltica.
- Detección de la energía emitida. La luz procedente del plasma se filtra a través de un sistema de ranuras controladas por computadora, posteriormente la emisión es colimada por un espejo parabólico que la dirige hacia un policromador con rejilla de tipo Echelle, desde aquí ocurre la difracción hacia un dispersor cruzado de tipo Schmidt, que separa la luz hacia los canales UV y visible, para finalmente ser detectada y medida. El detector de tipo CCD está constituido por un chip de sílice, cuya superficie se conforma por detectores lineales segmentados localizados estratégicamente. De esta manera, las líneas de emisión son detectadas al momento en que los fotones impactan sobre la zona fotosensible, convirtiéndose inmediatamente en fotoelectrones, dicha señal eléctrica es amplificada y procesada electrónicamente para almacenarse en forma de datos que pueden leerse en forma secuencial gracias a las técnicas de transferencia utilizadas por el detector CCD.

2.3.2 Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo

La técnica de espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS, por su nombre en inglés), es utilizada para la determinación a niveles traza y ultratrazo de la mayoría de los elementos e isótopos de manera simultánea. Recientemente, su uso se ha extendido a la determinación de radionúclidos en el medio ambiente, así como para muestras biológicas y de desechos [64,65].

En el ICP-MS, la muestra se introduce en una fuente iónica o plasma que opera a presión atmosférica. La muestra se descompone en sus constituyentes atómicos gracias a la acción del plasma de argón acoplado inductivamente, que

alcanza temperaturas de 6000 a 8000 K. Estas elevadas temperaturas aseguran un alto grado de ionización (por encima del 90 % de la mayoría de los elementos) con una baja fracción de iones de carga múltiple. Los iones de carga positiva son extraídos directamente desde el plasma mediante una zona de interfaz, que es capaz de introducirlos a través de un orificio (cono) por medio de una unidad de vacío diferencial al filtro cuadrupolar de masa (Skimmer). Los iones son transportados desde el Skimmer al espectrómetro de masas en donde se realiza su separación en función a su relación carga-masa, para finalmente realizar su detección.

La determinación de radionúclidos de larga vida media por ICP-MS ofrece bajos límites de detección, tiempos de análisis más cortos y procedimientos analíticos más sencillos, en comparación con las técnicas de detección radiométrica. Por esta razón, el ICP-MS ha sido ampliamente utilizado para la determinación de isótopos de uranio, torio, plutonio, estroncio, americio, radio, plomo, tecnecio, paladio, neptunio, curio y yodo en muestras ambientales. En el caso del ^{99}Tc , el largo periodo de semidesintegración que presenta, hace que este instrumento sea ideal para su detección en una gran variedad de muestras ambientales [53,54].

En esta tesis se utilizó un detector ICP-MS XSERIES II, Thermo Scientific (**Figura 2.7**).



Figura 2.7. Fotografía de un ICP-MS XSERIES II, Thermo Scientific²

A continuación, se hace una descripción breve del funcionamiento general del ICP-MS:

Sistema de introducción de muestra: La muestra es introducida a través de una bomba peristáltica hacia el nebulizador. Dentro de éste se forma el aerosol por la acción neumática del flujo de gas que fragmenta el líquido en minúsculas gotas de diferentes tamaños (aerosol fino) que llega a la antorcha. El equipo utilizado consiste en un nebulizador neumático concéntrico tipo Meinhard de flujo cruzado y una cámara de nebulización o spray tipo Scott (**Figura 2.8**).

² Ibis Scientific (2015). ICP-MS Thermo X Series [Imagen]. Recuperado de <http://www.ibisscientific.com/c-108-thermo-x-series.aspx>.

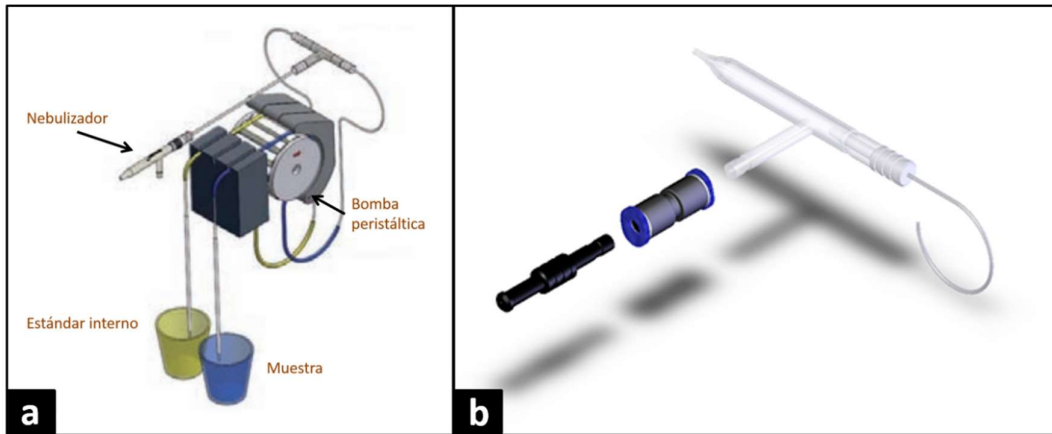


Figura 2.8. Introducción de muestra: a) bombeo y b) nebulizador³.

- La fuente de plasma: antorcha y bobina de radiofrecuencia: la vaporización, atomización e ionización del aerosol tienen lugar en el plasma de argón que se genera en la antorcha del ICP-MS mediante una bobina de radiofrecuencia, alcanzando una temperatura de 6000 K. La bobina está conectada a un generador de radiofrecuencia (RF) creando un campo electromagnético (región inducida) al final de la antorcha y en el interior de la espiral.
- La interfaz del ICP-MS: La función de la interfaz del ICP-MS es la de dirigir los iones de la muestra desde la zona de generación del plasma hasta la zona del analizador de masas cuadrupolar. La interfaz consiste en dos conos metálicos con orificios centrales que mantienen el vacío necesario en el analizador de masas.
- Sistema de focalización de iones (lentes): Está constituido por varias lentes iónicas de metal a las que se les aplica un voltaje que modifica la trayectoria de los iones. En esta zona también se encuentra la lente de extracción que separa los iones positivos de las especies no iónicas, como partículas, especies neutras (átomos y moléculas) y fotones, evitando que éstos lleguen al analizador de masas y al detector.

³ Glass Expansion (2015). ICP-OES/ICP-MS Sample Introduction Systems [Figura]. Recuperado de http://www.geicp.com/cgi-bin/site/wrapper.pl?c1=Products_accessories_internkit.

- Analizador de masas – Espectrómetro de masas: La separación de iones se lleva a cabo en el filtro o analizador de masas en función de su relación masa/carga. El filtro de masas cuadrupolar consiste en cuatro barras cilíndricas de molibdeno situadas de manera paralela. Los iones que entran en el cuadrupolo se someten a trayectorias oscilatorias debido al voltaje de la radiofrecuencia. Seleccionando los valores adecuados de los voltajes de radiofrecuencia y corriente continua se consigue que solo los iones con una relación masa/carga concreta que llegan al analizador sean capaces de atravesar toda la longitud del cuadrupolo y salir por el otro extremo. (**Figura 2.9**).

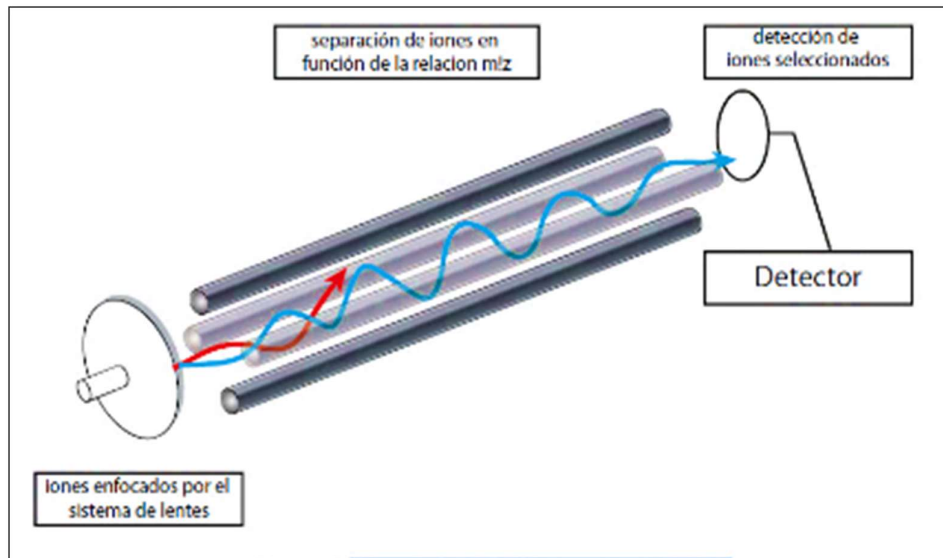


Figura 2.9. Detector ICP-MS, filtro cuadrupolar de masas⁴.

- Detector: El detector, que opera en condiciones de alto vacío, es un multiplicador de electrones de tipo dinodo discreto que mide simultáneamente tanto señales analógicas como de conteo de pulsos con un rango dinámico

²Sanchez, M. (2013). Avances en espectrometría de masas con fuente de plasma: Análisis simultáneo de elementos mayores y trazas mediante Q-ICP-MS y análisis isotópicos de Sm-Nd mediante HR-MC-ICP-MS. Aplicación en estudios geoquímicos [Figura II.5., tesis doctoral]. Recuperado de <https://addi.ehu.es/handle/10810/12440>.

lineal de más de 8 órdenes de magnitud lo que permite el análisis simultáneo de elementos en concentración de mayoritarios, minoritarios, trazas y ultrazas en un único análisis.

2.3.3 Detección espectrofotométrica

La determinación espectrofotométrica constituye una buena opción para la determinación de elementos totales, por ser considerada una técnica robusta, de bajo costo y de aceptable exactitud y precisión en comparación con otras técnicas. Además, permite la completa automatización brindando portabilidad al método desarrollado. La principal desventaja que presenta se asocia generalmente a su baja selectividad y sensibilidad. Estas limitaciones se resuelven fácilmente utilizando un proceso de extracción selectiva y una celda capilar de largo paso óptico (LWCC) que mejora considerablemente la sensibilidad en el sistema de detección.

El principio de funcionamiento de la LWCC se basa en que la luz introducida a través del capilar es totalmente reflejada hacia el detector, debido a que el índice de refracción del tubo capilar (n_1) es menor que el índice de refracción del núcleo líquido (disoluciones acuosas) (n_2) (**Figura 2.10**).

Para el desarrollo de la presente tesis, se hizo uso de un espectrofotómetro Ocean Optics USB2000 miniaturizado y de una celda de flujo capilar de largo paso óptico (LWCC, World Precision Instruments, Florida, USA).

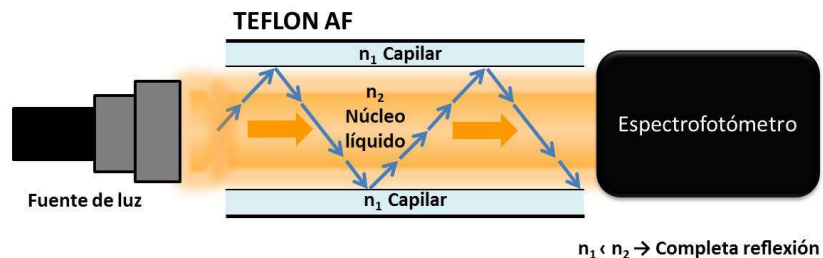


Figura 2.10. LWCC, esquema de la trayectoria de la luz.

2.3.4 Contador proporcional de bajo fondo

El funcionamiento de los detectores de ionización gaseosa se basa en la detección de las partículas cargadas que se producen tras incidir la radiación ionizante en un espacio lleno de gas (**Figura 2.11**). Para esto se utiliza un campo eléctrico generado por dos electrodos (ánodo y cátodo), que atrae a las cargas antes de que las mismas tengan tiempo de recombinarse. La llegada de una gran cantidad de cargas eléctricas a uno de los electrodos generará una corriente eléctrica (pulso) que puede ser convenientemente amplificado para su detección. La tensión V entre los electrodos ha de ser lo suficientemente alta para poder arrastrar las partículas cargadas antes de que éstas se recombinen y formen átomos neutros.

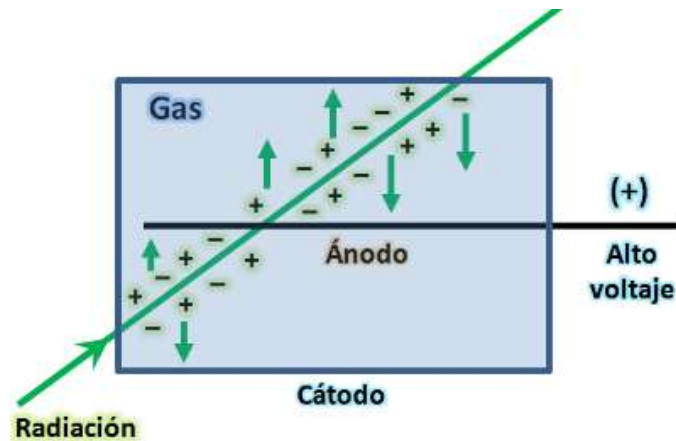


Figura 2.11. Esquema del funcionamiento general de un detector gaseoso.

El contador proporcional de bajo fondo (LBPC), consta de una cámara llena de gas que cuando se encuentra polarizada produce un pequeño pulso de salida por cada estallido de iones creados por la radiación que pasa a través del volumen sensible. Los contadores proporcionales tienen la característica de que su pulso de salida es proporcional a la energía de la radiación recibida, permitiendo una medición diferencial de la radiación α en función de la radiación $\beta - \gamma$ [66].

En esta tesis se ha utilizado un LBPC (**Figura 2.12**), que trabaja en la zona donde a partir de cierto valor de tensión, la amplitud de los pulsos de intensidad crece de modo muy apreciable y la respuesta obtenida como impulso de corriente es proporcional a la ionización primaria.



Figura 2.12. Vista del detector LBPC Canberra LB4200 utilizado.

La ionización se lleva a cabo en un gas que se renueva permanentemente, razón por la cual a estos detectores también se les suele llamar contadores de flujo continuo. El gas empleado para la medida es PR-10, mezcla de gran pureza de argón (90%) y metano (10%). Usando este gas se consiguen factores de multiplicación de $10^3 - 10^4$, sin necesidad de aplicar elevados voltajes. El caudal gaseoso se fija con la ayuda de un rotámetro a la entrada del detector, siendo este de $60 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$.

La detección de un LBPC se corresponde a la actividad alfa total o beta total según el valor del voltaje aplicado, sin discriminar los radionúclidos presentes en la muestra. Por esto es necesario llevar a cabo un método radioquímico de separación previo a la detección. A pesar de ello los contadores proporcionales son muy prácticos a la hora de realizar análisis medioambientales ya que poseen un eficiente blindaje que permite obtener fondos muy bajos. Para realizar adecuadamente la determinación es necesario controlar parámetros

experimentales como la geometría de la muestra, la velocidad de flujo del gas, el voltaje aplicado y el fenómeno de autoabsorción.

El equipo empleado está provisto de 4 detectores ultraplano, que nos permite medir simultáneamente 4 muestras. La geometría de cada detector es de tipo cilíndrico, con un diámetro de 60 mm y una altura aproximada de 8 mm, con una ventana formada por una fina lámina de *mylar* de $500 \mu\text{g cm}^{-2}$, permitiendo el paso de la mayoría de las partículas α y β emitidas por la muestra. El cuerpo del detector está formado por una capa de cobre de 2 mm de espesor que actúa de cátodo, y en su interior, situado en el centro del cilindro, se encuentra un hilo metálico de tungsteno de $50 \mu\text{m}$ de diámetro que actúa como ánodo (**Figura 2.13**). Se aplica un alto voltaje positivo al alambre, convirtiéndose éste en ánodo y el cilindro en cátodo, entonces los electrones se dirigen al alambre y los iones positivos al cilindro.



Figura 2.13. Geometría de un detector del LBPC.

El contador proporcional genera señales que un preamplificador incrementa para que no existan interferencias con el ruido electrónico, convirtiendo los pulsos de corriente procedentes del detector en pulsos de tensión. La salida del preamplificador está conectada a un amplificador que convierte el pulso de tensión que le llega en otro de mayor tamaño, proporcional a la carga liberada en el detector. El analizador de altura de pulsos permite diferenciar entre sí las partículas alfa de las betas, ya que éstas poseen distinto poder de ionización y, por tanto, darán lugar a pulsos con diferentes alturas. Las partículas alfa, debido

a su menor velocidad y mayor carga, poseen un mayor poder de ionización, y por ello, cabe esperar que los pulsos de voltaje provocados a la salida del preamplificador del detector principal sean, sistemáticamente, más altos que los procedentes de las partículas beta.

2.3.5 Contador de centelleo líquido

El contador de centelleo líquido (LSC) se basa en la detección de la luz procedente de una mezcla entre la muestra y un material (líquido de centelleo) capaz de emitir luz visible cuando sus átomos o moléculas se desexcitan tras el paso de la radiación ionizante, esta luz emitida alcanza un material fotosensible que es capaz de emitir electrones. Éstos, posteriormente serán multiplicados y transformados en un pulso eléctrico que será contabilizado. El mecanismo de centelleo líquido se fundamenta en la transformación de la energía de la radiación en energía luminosa en una sustancia centelleadora en estado líquido (líquido de centelleo). En este proceso, el elemento fundamental es el coctel de centelleo, ya que es el encargado de absorber la radiación incidente y producir los fotones de luz. El vial que contiene la muestra junto con el líquido de centelleo, también juega un papel importante en este proceso ya que sus características pueden influir en la generación de una mayor o menor producción de luz [67,68].

Un detector de centelleo líquido típico está constituido por dos tubos fotomultiplicadores, entre los cuales se sitúa el vial de centelleo que contiene a la muestra. El tubo fotomultiplicador (TFM) es un cilindro constituido por dos electrodos, ánodo y cátodo (denominado fotocátodo en estos dispositivos). Además, entre el ánodo y el fotocátodo existe una estructura multiplicadora de electrones, formada por una serie de electrodos auxiliares denominados dinodos, polarizados con tensiones progresivamente crecientes a medida que su situación es más próxima al ánodo. Su función es la de aumentar el número de electrones que inicialmente fueron arrancados del fotocátodo, ya que están constituidos por un material que presenta un acusado efecto de emisión secundaria. Por lo tanto, una vez que la partícula radiactiva ha cedido su energía al medio, con la consiguiente emisión de un fotón, éste incidiría en el fotocátodo

arrancando uno o varios electrones, que serían multiplicados por el sistema de dinodos, originándose una avalancha electrónica que incidiría en el ánodo. Con el sistema de dinodos lo que se consigue es amplificar en gran medida el pulso eléctrico originado por los fotones al incidir en el fotocátodo, de modo que, a la salida del TFM, podrán ser amplificados electrónicamente. Esta señal amplificada será transformada mediante un convertidor analógico-digital (ADC) y finalmente será contabilizada (**Figura 2.14**).

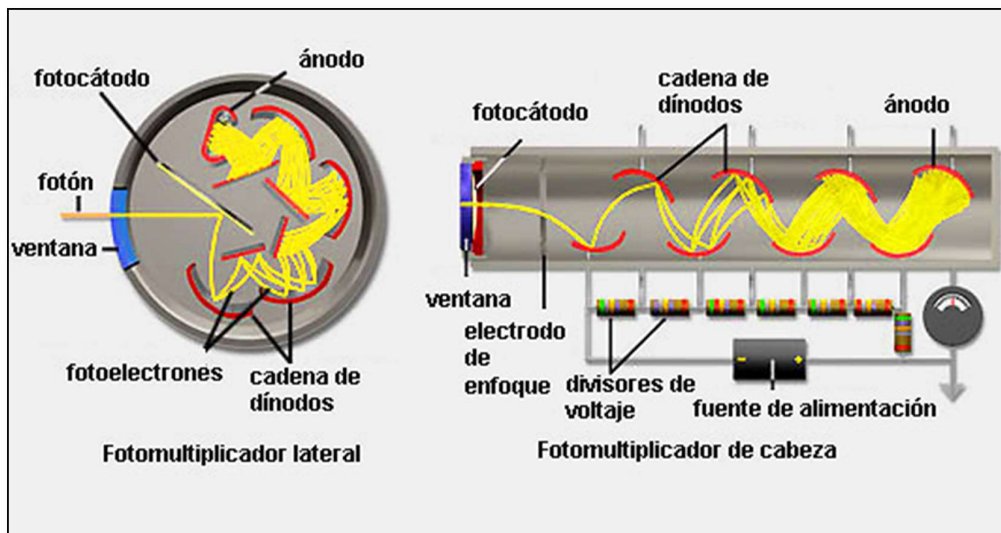


Figura 2.14. TFM, esquema representativo de su detección radiométrica⁵.

En esta tesis se utilizó un contador de centelleo líquido HIDEX 300SL (**Figura 2.15**). Se trata de un instrumento cuya eficiencia promedio es del 98%, con una medición de señal de triple a doble coincidencia (TDCR) y que además gracias al índice de longitud de pulso en el procesamiento electrónico (PLI), es posible la separación de las emisiones alfa / beta.

⁵ Tecnoficio (2015). Tubo fotomultiplicador [Figura]. Recuperado de http://www.tecnoficio.com/optica/tecnologia_de_vision_nocturna.php.



Figura 2.15. Fotografía del detector de centelleo líquido Hidex 300SL. A la derecha imagen de su bandeja para 40 viales de 25 mL de capacidad.

El LSC utilizado en esta tesis está constituido por tres tubos fotomultiplicadores que se encuentran en una cámara opaca a la luz, protegidos por una lámina de plomo de 70 mm de espesor que reduce el efecto de la radiación externa. La cámara de detección está recubierta por una pintura opaca altamente reflejante, con el objeto de aumentar la eficiencia en la recolección de fotones, y todo ello, se encuentra refrigerado por un grupo frigorífico, que nos permite hacer las medidas a temperatura constante y por debajo de los 15 °C (**Figura 2.16**).

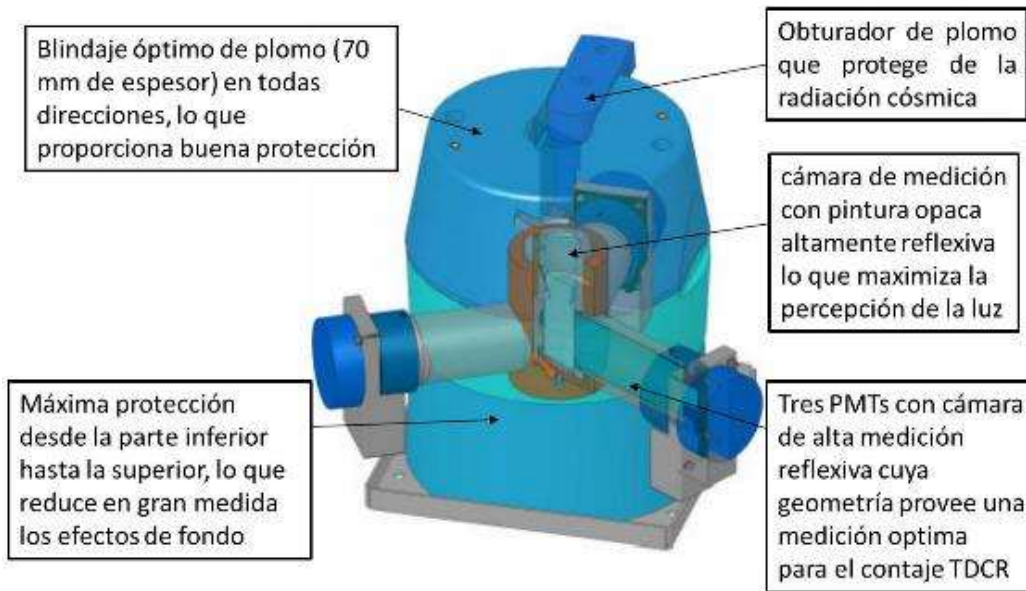


Figura 2.16. Estructura general de un detector LSC Hidex 300SL⁶.

⁶ Williams, A. (2015). Hidex 300SL: detector structure [Figura]. Recuperado de http://www.npl.co.uk/upload/pdf/20081014_lsuf_williams_1.pdf

Bibliografía

- [1] Cerdà, V., Ferrer, L., Avivar, J., Cerdà, A. (2014). Flow analysis: a practical guide. Elsevier.
- [2] Cerdà, V., Estela, J.M., Forteza, R., Cladera, A., Becerra, E., Altimira, P., Sitjar, P. (1999). Flow techniques in water analysis. *Talanta*, 50: 695-705.
- [3] Trojanowicz, M. (2008). *Advances in flow analysis*. Wiley-VHC, Weinheim, Germany.
- [4] Fajardo, Y., Avivar, J., Ferrer, L., Gómez, E., Casas, M., Cerdà, V. (2010). Automation of radiochemical analysis by applying flow techniques to environmental samples. *Trends Anal. Chem.*, 29: 1399-1408.
- [5] Kołacińska, K., Trojanowicz, M. (2014). Application of flow analysis in determination of selected radionuclides. *Talanta*, 125: 131-145.
- [6] Ruzicka, J., Hansen, E. H. (1975). Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Anal. Chim. Acta*, 78(1): 145-157.
- [7] Ruzicka, J., Marshall, G. D. (1990). Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal. Chim. Acta*, 237: 329-343.
- [8] Reis, B. F., Giné, M. F., Zagatto, E. A., Lima, J. L. F., Lapa, R. A. (1994). Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. *Anal. Chim. Acta*, 293(1): 129-138.
- [9] Almeida, M.I.G.S., Estela, J.M., Cerdà, V. (2011). Multisyringe flow injection potentialities for hyphenation with different types of separation techniques. *Anal. Letters*, 44: 330-373.
- [10] Mola, M., Avivar, J., Nieto, A., Penalver, A., Aguilar, C., Ferrer, L., Cerdà, V., Borrull, F. (2014). Determination of ^{90}Sr and ^{210}Pb in sludge samples using a LOV-MSFIA system and liquid scintillation counting. *Appl. Radiat. Isot.*, 86: 28-35.
- [11] Beltrán, B., Avivar, J., Mola, M., Ferrer, L., Cerdà, V., Leal, L. (2013). Automated method for simultaneous lead and strontium isotopic analysis applied to rainwater samples and airborne particulate filters (PM10). *Environ. Sci. Technol.*, 47: 9850-9857.

- [12] Avivar, J., Ferrer, L., Casas, M., Cerdà, V. (2012). Fully automated lab-on-valve-multisyringe flow injection analysis-ICP-MS system: an effective tool for fast, sensitive and selective determination of thorium and uranium at environmental levels exploiting solid phase extraction. *J. Anal. At. Spectrom.*, 27: 327-334.
- [13] Fajardo, Y., Ferrer, L., Gómez, E., Garcías, F., Casas, M., Cerdà, V. (2008). Development of an automatic method for americium and plutonium separation and preconcentration using a multisyringe flow injection analysis-multipumping flow system. *Anal. Chem.*, 80: 195-202.
- [14] Avivar, J., Ferrer, L., Casas, M., Cerdà, V. (2010). Automated determination of uranium(VI) at ultra trace levels exploiting flow techniques and spectrophotometric detection using a liquid waveguide capillary cell. *Anal. Bioanal. Chem.*, 397: 871-878.
- [15] Oliveira, H.M., Segundo, M.A., Lima, J.L.F.C., Cerdà, V. (2009). Multisyringe flow injection system for solid-phase extraction coupled to liquid chromatography using monolithic column for screening of phenolic pollutants. *Talanta*, 77: 1466-1472.
- [16] Maya, F., Estela, J.M., Cerdà, V. (2010). Interfacing on-line solid phase extraction with monolithic column multisyringe chromatography and chemiluminescence detection: An effective tool for fast, sensitive and selective determination of thiazide diuretics. *Talanta*, 80: 1333-1340.
- [17] Maya, F., Estela, J.M., Cerdà, V. (2011). Multisyringe ion chromatography with chemiluminescence detection for the determination of oxalate in beer and urine samples. *Microchim. Acta* 173: 33-41.
- [18] Ruzicka, J. (2000). Lab-on-valve: universal microflow analyzer based on sequential and bead injection. *Analyst*, 125: 1053-1060.
- [19] Wang, J., Hansen, E.H. (2003). Sequential injection lab-on-valve: the third generation of flow injection analysis. *Trends Anal. Chem.*, 22: 225-231
- [20] Luque de Castro, M.D., Ruiz-Jiménez, J., Pérez-Serradilla, J.A. (2008). Lab-on-valve: a useful tool in biochemical analysis. *Trends Anal. Chem.*, 27: 118-126.

- [21] Wang, Y., Liu, Z., Yao, G., Zhu, P., Hu, X., Yang, C., Xu, Q. (2009). An electrochemical assay for the determination of Se (IV) in a sequential injection lab-on-valve system. *Anal. Chim. Acta*, 649: 75-79.
- [22] Alcalde-Molina, M., Ruiz-Jiménez, J., Luque de Castro, M.D. (2009). Automated determination of mercury and arsenic in extracts from ancient papers by integration of solid-phase extraction and energy dispersive X-ray fluorescence detection using a lab-on-valve system. *Anal. Chim. Acta*, 652: 148-153.
- [23] Maya, F., Horstkotte, B., Estela, J. M., Cerdà, V. (2012). Lab in a syringe: fully automated dispersive liquid-liquid microextraction with integrated spectrophotometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 404: 909-917.
- [24] Horstkotte, B., Suárez, R., Solich, P., Cerdà, V. (2013). In-syringe-stirring: A novel approach for magnetic stirring-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. *Anal. Chim. Acta*, 788: 52-60.
- [25] Poole, C. F. (2003). New trends in solid-phase extraction. *Trends Anal. Chem.*, 22: 362-373.
- [26] Yu, Y. L., Jiang, Y., Chen, M., Wang, J. (2011). Lab-on-valve in the miniaturization of analytical systems and sample processing for metal analysis. *Trends Anal. Chem.*, 30: 1649-1658.
- [27] Horwitz, E.P., Chiarizia, R., Dietz, M.L., Diamond H., Nelson, D.M. (1993). Separation and preconcentration of actinides from acidic media by extraction chromatography. *Anal. Chim. Acta.*, 281: 361-372.
- [28] TRISKEM International, France. <http://www.triskem-international.com>
- [29] Stéphanie, B., CEA-Saclay, D. C. E. S. (1994). UGSP. SPRSE/94-291/SB. Eichrom Referenz BS194.
- [30] Horwitz, P., Chiarizia, R., Dietz, M.L. (1992). A novel strontium-selective extraction chromatographic resin. *Solvent. Extr. Ion. Exc.*, 10: 313-336.
- [31] Villar, M., Avivar, J., Ferrer, L., Galmés, M., Vega, F., Cerdà, V. (2013). Automatic and simple method for ⁹⁹Tc determination using a selective resin and liquid scintillation detection applied to urine samples. *Anal. chem.*, 85: 5491-5498.
- [32] Armenta, S., Garrigues, S., de la Guardia, M. (2008). Green Analytical Chemistry. *Trends Anal. Chem.*, 27: 497-511.

- [33] Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C. (2009). Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: a review. *Spectrochim. Acta, Part B*, 64: 1-15.
- [34] Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.R, Aghaee, E., Ahmadi, F., Berijani, S. (2006). Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *J. Chromatogr. A.*, 1116: 1-9.
- [35] Rezaee, M., Yamini, Y., Faraji, M. (2010). Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. *J. Chromatogr. A.* 1217: 2342–2357.
- [36] Cytec Industrial Materials, France, www.cytec.com.
- [37] Dogmane, S.D., Singh, R.K., Bajpai, D.D., Mathur, J.N. (2002). Extraction of U(VI) by cyanex-272. *J. Radioanal Nucl Chem.*, 253: 477-482.
- [38] Rajeswari, B., Dhawale, B. A., Bangia, T. R., Mathur, J. N., Page, A. G. (2002). Role of Cyanex-272 as an extractant for uranium in the determination of rare earths by ICP-AES. *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, 254: 479-483.
- [39] Azparren, J.E., Fernández-Rodríguez, A., Vallejo, G. (2003). Diagnosing death by drowning in fresh water using blood strontium as an indicator. *Forensic Sci. Int.*, 137: 55-59.
- [40] Fajardo, Y., Gómez, E., Mas, F., Garcias, F., Cerdà, V., Casas, M. (2004). Multisyringe flow injection analysis of stable and radioactive strontium in samples of environmental interest. *Appl. Radiat. Isot.*, 61(2): 273-277.
- [41] Detcheva, A., Daskalova, N., Velichkov, S., Havezov, I. (2003). Analysis of single crystals based on strontium–lithium–titanium oxides by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta B*, 58: 1481-1488.
- [42] Roos, P. (2008). Analysis of radionuclides using ICP-MS. *Anal. Environ. Radionucl.*, 295-330.
- [43] Webb, E., Amarasiriwardena, D., Tauch, S., Green, E. F., Jones, J., Goodman, A. H. (2005). Inductively coupled plasma-mass (ICP-MS) and atomic emission spectrometry (ICP-AES): Versatile analytical techniques

- to identify the archived elemental information in human teeth. *Microchem. J.*, 81: 201-208.
- [44] Hong, K.H., Cho, Y.H., Lee, M.H., Choi, G.S., Lee, C.W. (2001). Simultaneous measurement of ^{89}Sr and ^{90}Sr in aqueous samples by liquid scintillation counting using the spectrum unfolding method. *Appl. Radiat. Isot.*, 54: 299-305.
- [45] Lee, M.H., Chung, K.H., Choi, G.K., Lee, C.W. (2002). Measurement of ^{90}Sr in aqueous samples using liquid scintillation counting with full spectrum DPM method. *Appl. Radiat. Isot.*, 57: 257-263.
- [46] Vaca, F., Manjón, G., Cuéllar, S., García-León, M. (2001). Factor of merit and minimum detectable activity for ^{90}Sr determinations by gas-flow proportional counting or Cherenkov counting. *Appl. Radiat. Isot.*, 55: 849-851.
- [47] Torres, J.M., Tent, J., Llauradó M., Rauret, G. (2002). A rapid method for ^{90}Sr determination in the presence of ^{137}Cs in environmental samples. *J. Environ. Radioact.*, 59: 113-125.
- [48] Kim, C., Kim, C., Rho, B., Lee, J. (2002). Rapid determination of ^{99}Tc in environmental samples by high resolution ICP-MS coupled with on-line flow injection system. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 252(2): 421-427.
- [49] Ming, H., Shan, J., Xiangdong, R., Kejun, D., Shihong, G.L., Shaoyong, W., Jiuzi, Q., Xinyi, Y., Yanqiu, D. (2007). ^{99}Tc measurements with accelerator mass spectrometry at CIAE. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res.*, B259: 708–713.
- [50] Beals, D. (1996). Determination of technetium-99 in aqueous samples by isotope dilution inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 204: 253-263.
- [51] Becker, J. S. (2003). Mass spectrometry of long-lived radionuclides. *Spectrochim. Acta Part B: Atomic Spectroscopy.*, 58: 1757-1784.
- [52] Mas, J. L., Garcia-León, M., Bolívar, J.P. (2002). ^{99}Tc atom counting by quadrupole ICP-MS. Optimization of the instrumental response. *Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res. A*, 484: 660-667.

- [53] Nakanishi, T., Zheng, J., Aono, T., Yamada, M., Kusakabe, M. (2011). Vertical distributions of ^{99}Tc and the $^{99}\text{Tc}/^{137}\text{Cs}$ activity ratio in the coastal water off Aomori, Japan. *J. Environ. Radioact.*, 102: 774-779.
- [54] Mas, J. L., Garcia-León, M., Bolivar, J. P. (2004). ^{99}Tc detection in water samples by ICP-MS. *Radiochim. Acta* 92: 39-46.
- [55] Fajardo, Y., Gómez, E., Garcias, F., Cerdà, V., Casas, M. (2007). Development of an MSFIA-MPFS pre-treatment method for radium determination in water samples. *Talanta*, 71: 1172–1179.
- [56] Jia, G., Jia, J. (2012). Determination of radium isotopes in environmental samples by gamma spectrometry, liquid scintillation counting and alpha spectrometry: a review of analytical methodology. *J. Environ. Radiat.*, 106: 98-119.
- [57] Malov, A. I. (2016). Estimation of uranium migration parameters in sandstone aquifers. *J. Environ. Radioact.*, 153: 61-67.
- [58] Yousefi, S. R., Ahmadi, S. J., Shemirani, F., Jamali, M. R., Salavati-Niasari, M. (2009). Simultaneous extraction and preconcentration of uranium and thorium in aqueous samples by new modified mesoporous silica prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometry determination. *Talanta*, 80: 212-217.
- [59] Shariati, S., Yamini, Y., Zanjani, M. K. (2008). Simultaneous preconcentration and determination of U(VI), Th(IV), Zr(IV) and Hf(IV) ions in aqueous samples using micelle-mediated extraction coupled to inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *J. Hazard Mater.*, 156: 583-590.
- [60] Aydin, F.A., Soylak, M. (2007). Solid phase extraction and preconcentration of uranium(VI) and thorium(IV) on Duolite XAD761 prior to their inductively coupled plasma mass spectrometric determination. *Talanta*, 72: 187-192.
- [61] Sabarudin, A., Noguchi, O., Oshima, M., Higuchi, K., Motomizu, S. (2007). Application of chitosan functionalized with 3,4-dihydroxy benzoic acid moiety for on-line preconcentration and determination of trace elements in water samples. *Microchim. Acta*, 159: 341-348.

- [62] Gimbert, L. J., Worsfold, P. J. (2007). Environmental applications of liquid-waveguide-capillary cells coupled with spectroscopic detection. *Trend. Anal. Chem.*, 26: 914-930.
- [63] Maya, F., Estela, J. M., Cerdà, V. (2009). Multisyringe flow injection analysis hyphenated with liquid core waveguides for the development of cleaner spectroscopic analytical methods: improved determination of chloride in waters. *Anal. Bioanal. Chem.*, 394: 1577-1583.
- [64] Hou, X., Roos, P. (2008). Critical comparison of radiometric and mass spectrometric methods for determination of radionuclides in environmental, biological and nuclear waste samples. *Anal. Chim. Acta.* 608: 105-139.
- [65] Larivière, D., Taylor, V.F., Evans, R.D., Cornett, R.J. (2006). Radionuclide determination in environmental samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B*, 61: 877-904.
- [66] Sison, H. (1992). *Instrumentación industrial*. Ed, Limusa-Grupo Noriega Editores. México D.F., México. DPGBF.
- [67] Kellogg, T.F. (1983). The effect of sample composition and vial type on Cerenkov counting in a liquid scintillation counter. *Anal. Biochem.*, 134: 137-143.
- [68] Vaca, F., Manjon, G., Garcia-Leon, M. (1998). Efficiency calibration of a liquid scintillation counter for ^{90}Y Cerenkov counting. *Nucl. Instrum. Methods A.*, 406: 267-275.

CAPITULO 3

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

La automatización de los protocolos radioquímicos que incluyan la separación y preconcentración de radionúclidos de interés ambiental, basada en la implementación de técnicas de análisis por inyección en flujo multiconmutadas, permitirá mejorar los parámetros analíticos (límite de detección, reproducibilidad o frecuencia de análisis) de los métodos radioquímicos clásicos. Además de añadir ventajas tales como aumentar la seguridad del analista, disminuir el consumo de reactivos y la generación de residuos.

La presente propuesta generará nuevo conocimiento en el área de las ciencias aplicadas, al presentar métodos de análisis parcial o totalmente automatizados, con alta sensibilidad y selectividad, que contribuirán a reducir los tiempos de análisis y el riesgo del analista al manipular muestras radioactivas. Estas características los convierten en una buena alternativa para programas de vigilancia radiológica ambiental.

3.2 Objetivo general

Desarrollar, validar y aplicar métodos de separación radioquímica automáticos basados en técnicas de análisis por inyección en flujo multiconmutadas para la separación y preconcentración de radionúclidos en muestras de interés ambiental.

3.2.1 Objetivos específicos

Los objetivos específicos que se pretenden alcanzar son los siguientes:

- 1) Desarrollar un sistema LOV para la separación y preconcentración automática de ^{90}Sr previo a su determinación por un contador proporcional de bajo fondo en muestras de agua.
- 2) Desarrollar un sistema LOV para la separación y preconcentración de ^{99}Tc en muestras ambientales previo a su determinación mediante ICP-MS.

- 3) Desarrollar un sistema totalmente automatizado para la determinación de U(VI) mediante extracción líquido-líquido y detección espectrofotométrica.
- 4) Desarrollar un sistema LOV para la separación y preconcentración de ^{226}Ra en muestras ambientales, previo a su detección radiométrica.

La metodología de trabajo básica para conseguir cada uno de los objetivos específicos planteados, será la siguiente:

- Construcción e implementación de los sistemas automáticos mediante el uso de técnicas de análisis por inyección en flujo multiconmutadas.
- Optimización de los sistemas en términos de sensibilidad y reproducibilidad a través de ensayos analíticos de cada una de las variables que influyen en el mismo.
- Determinación de los parámetros analíticos de cada método desarrollado mediante ensayos, utilizando las condiciones óptimas obtenidas en la etapa previa.
- Evaluación de las potenciales interferencias de los métodos propuestos.
- Validación de cada método propuesto.
- Aplicación de la metodología desarrollada al análisis de muestras ambientales.

CAPITULO 4

MATERIALES Y METODOS

4.1 Configuración de los sistemas de flujo

A continuación se describe el instrumental y materiales utilizados en los sistemas automáticos desarrollados, con el objetivo de dar las características técnicas con más detalle.

4.1.1 Bureta multijeringa

El componente principal de los sistemas MSFIA ha sido una bureta multijeringa Bu4S (Crison Instruments S.A., Alella, Barcelona, España) [1] (**Figura 4.1**). Cada bureta multijeringa (MB), se puede equipar hasta con cuatro jeringas de vidrio (S) de distintos volúmenes (Hamilton, Suiza, 0,5, 1, 2,5 y 10 mL), que ejercen la función de bomba tipo pistón para la propulsión de los líquidos en el sistema.

Como se muestra en la **Figura 4.1**, cada jeringa está conectada a una válvula solenoide (V) de tres vías (NResearch, Caldwell, NJ, EEUU), permitiendo la aplicación de esquemas de inyección multiconmutados. Los émbolos de las jeringas están colocados sobre una barra externa (B), cuyo desplazamiento se controla mediante un motor paso a paso. De esta manera, todos los émbolos se mueven simultánea y unidireccionalmente inyectando o aspirando los líquidos. Los caudales son proporcionales al volumen de las jeringas y al número de pasos por segundo del motor. Los motores de paso de las buretas multijeringa pueden ser de 5000, 16000 o 40000 pasos. Su combinación con la variedad de volúmenes de las jeringas permite manipular microlitros con alta precisión, en un amplio rango de caudales que va desde los $\mu\text{L min}^{-1}$ a mL min^{-1} con el mismo dispositivo.

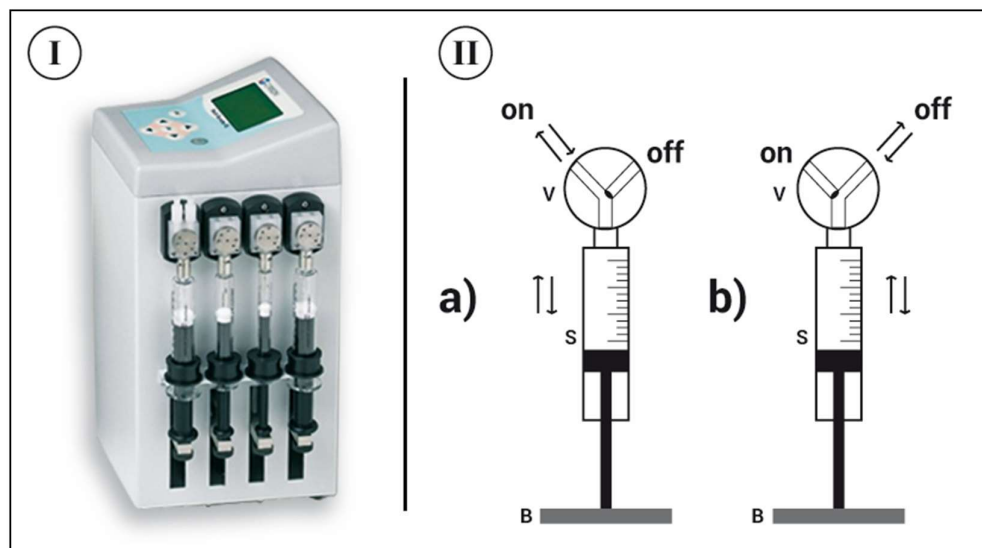


Figura 4.1. Bureta multijeringa Crison 4S, detalle de su funcionamiento¹.

(I) Bureta multijeringa Crison 4S, equipada con jeringas de volúmenes diferentes. (II) Esquema del funcionamiento de la válvula solenoide ubicada en la cabeza de cada jeringa. a) Activando la válvula solenoide: posición *on* y b) desactivando la válvula: posición *off*. S, jeringas, V, válvulas solenoides, B: barra de acero común a las jeringas.

Las válvulas solenoides de tres vías instaladas en la cabeza de cada jeringa, permiten cuatro combinaciones de desplazamiento de líquidos según su estado activado (*on*) o desactivado (*off*): *on*-dispensado, *on*-aspirado, *off*-dispensado, *off*-aspirado. Generalmente, las válvulas se colocan en la posición *on* para conectar con el sistema y en posición *off* para hacerlo con los recipientes que contienen la muestra y los reactivos.

Cada bureta multijeringa tiene cuatro puertos de salida de voltaje suplementarios disponibles en su parte posterior como se muestra en la **Figura 4.2**. Estos puertos funcionan como fuentes de alimentación externa de voltaje regulable hasta un máximo de unos 13 V y son controlados por el software a través del módulo. De este modo, se pueden conectar y controlar válvulas adicionales de conmutación, microbombas y otros instrumentos, ya sea directamente o mediante relé, como pueden ser motores, sistemas de calentamiento, de agitación y equipos de detección. Esta característica aumenta

¹ Henríquez, C. (2013). Métodos automáticos de análisis para la determinación de parámetros de interés ambiental [Figura 3.1, tesis doctoral]. Recuperado de <http://www.tesisred.net/handle/10803/123276>

las posibilidades de construcción de sistemas de flujo más complejos y con mayores aplicaciones.

En la parte posterior de la bureta multijeringa hay otra salida que permite la conexión “en cadena” con otro dispositivo que comparta la misma configuración de comunicación (**Figura 4.2B**). Los instrumentos se conectan al puerto serie de una computadora para el control remoto de las operaciones a través de una interfaz RS232 utilizando el software AutoAnalysis (Sciware Systems SL, Bunyola, España).

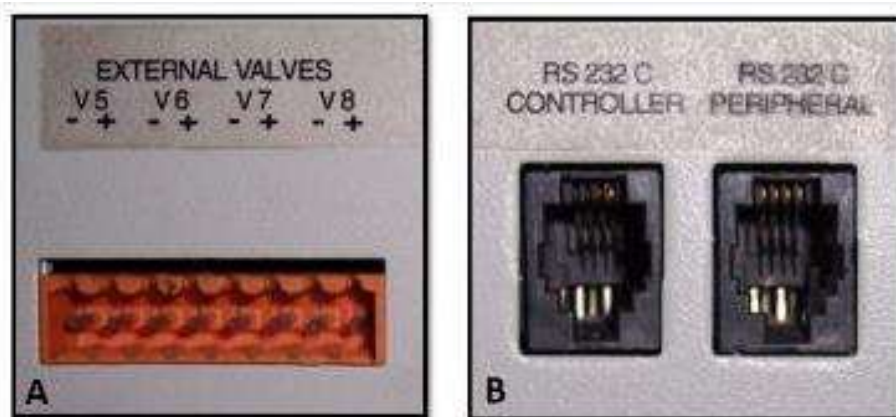


Figura 4.2. Bureta multijeringa, vista de la parte posterior.

Conexiones situadas en la parte posterior de una bureta multijeringa. A, salidas alternas de corriente eléctrica para válvulas externas. B, conexiones para vincular un módulo multijeringa hacia otros dispositivos

4.1.2 Válvulas solenoides

Las válvulas solenoides externas (Takasago Electric Inc, Japón) son usadas para redirigir los líquidos dentro de un sistema multiconmutado, como algunos de los desarrollados en esta tesis (**Figura 4.3**). Su funcionamiento es idéntico al descrito anteriormente para las válvulas incorporadas en la multijeringa. Cada puerto adicional de la bureta provee 13 V con una corriente máxima de 5 A, permitiendo la activación y desactivación de la válvula conectada.

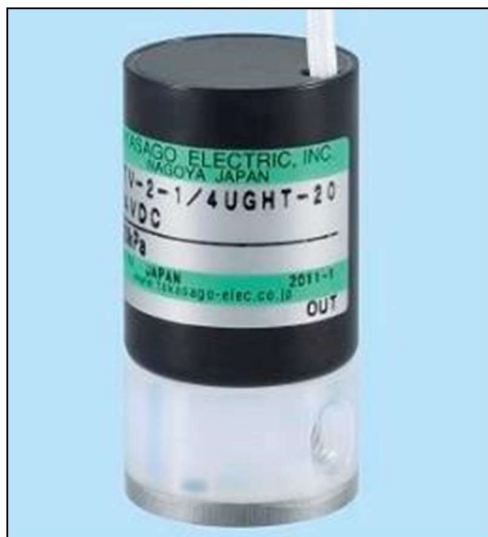


Figura 4.3. Válvula solenoide externa Takasago.

4.1.3 Módulos de válvulas de selección/inyección

Este tipo de módulo VA1+1 (Crison Instruments) se compone de una válvula de selección (SV) rotatoria de 8 puertos colocada en la parte superior, y una válvula de inyección (IV) de 6 puertos y dos posiciones, en su parte inferior (**Figura 4.4**). Este módulo también tiene en su parte posterior un puerto de entrada y otro de salida que permite formar una cadena de comunicación al conectar más módulos incluyendo el muestreador automático (AS) (Crison Instruments) de 45 posiciones usado en esta tesis.



Figura 4.4. Imagen correspondiente a un módulo de válvulas mixto. Izquierda: parte posterior del dispositivo que muestra las conexiones hacia otros instrumentos. Derecha: parte frontal del módulo. Válvula de selección en su parte superior y válvula de inyección en su parte inferior.

4.1.4 Módulos LOV

La técnica LOV basa su funcionamiento en el acoplamiento de una estructura monolítica sobre el rotor de una válvula de selección. Así, la rotación de la válvula de selección permite direccionar los fluidos hacia los diferentes puertos laterales pasando a través de microcanales (**Figura 4.5**). Los microconductos o microcanales que integran un LOV son diseñados especialmente para cada sistema. Las piezas LOV utilizadas en esta tesis fueron construidas en metacrilato, siendo las dimensiones de cada microcanal de 1,5 mm d.i. y 16,0 mm de largo, a excepción del canal destinado a la microcolumna que es de 3,2 mm de d.i (**Figura 4.5**).



Figura 4.5. Diseño y de detalle de una pieza LOV de 8 puertos. Izquierda, ejemplo de una pieza LOV diseñada para una válvula de selección de 8 puertos. Derecha, rotor de una SV.

El canal de comunicación central del módulo LOV se conecta, a través de un bucle de carga, a una jeringa del módulo MSFIA, que actúa como bomba tipo pistón, permitiendo aspirar y dispensar de forma secuencial los diferentes fluidos desde los distintos puertos periféricos de la válvula de selección. Uno de los microcanales de la pieza LOV hace la función de microcolumna, conteniendo las perlas para la extracción en fase sólida. Esta columna se rellena con una cantidad adecuada de resina evitando su compactación y posibles sobrepresiones. Para contener la resina en la columna del LOV, se coloca un prefiltro de fibra de vidrio (Millipore) o lana de vidrio a la salida de la columna, reteniendo la resina y dejando que las disoluciones fluyan libremente (**Figura 4.6**).

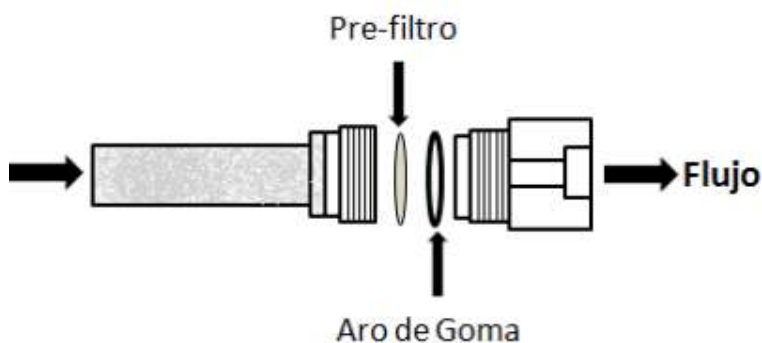


Figura 4.6. Esquema, partes que conforman la microcolumna de un LOV.

4.1.5 Lab-in-Syringe con agitación magnética

El dispositivo con agitación magnética externa ha sido desarrollado por el grupo de Química Analítica, Automatización y Medio Ambiente del Depto. de Química de la UIB [2]. Está especialmente diseñado para crear un campo magnético rotatorio alrededor del cuerpo de una jeringa (**Figura 4.7**). Este dispositivo consiste en un anillo de plástico o de metacrilato de 14 mm d.i. y 30 mm d.e, que se coloca alrededor del tubo de vidrio de la jeringa. En los extremos se insertan dos imanes de neodimio (4 mm d.e. y 5 mm largo), que proporcionan un campo suficientemente intenso para ejercer una atracción efectiva sobre la barra de agitación magnética (imán) dentro de la jeringa, y lograr su giro.

Para lograr la rotación se utiliza un motor DC. La rotación se transmite mediante una banda de goma o liga entre el motor y el anillo inferior del conductor. Para controlar la activación y desactivación del motor, así como sus revoluciones a través del software, se ha construido un circuito electrónico específico que se conecta a una de las salidas auxiliares de la bureta multijeringa (**Figura 4.7bis**).

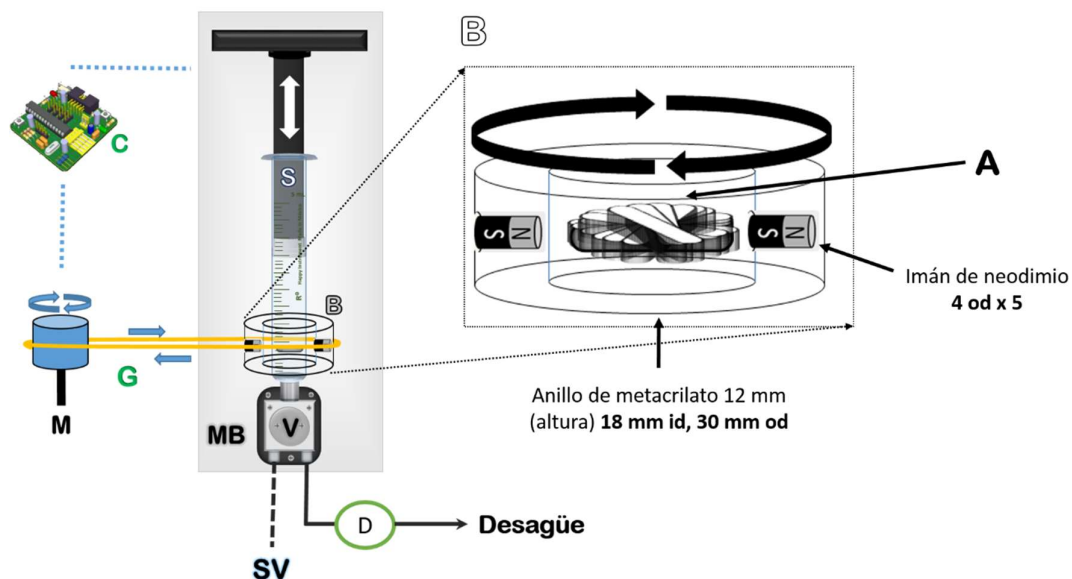


Figura 4.7. Sistema de agitación magnética, representación esquemática.

S, jeringa; V, válvula solenoide de tres vías; D, detector, A, agitador magnético; B, conductor del agitador magnético colocado alrededor de la jeringa; M, motor que

transmite la rotación a través de la banda de goma G; C, circuito electrónico controlador del motor conectado a una de las salidas auxiliares del MB. A la derecha se muestra una vista ampliada del dispositivo de agitación magnético B y sus componentes.

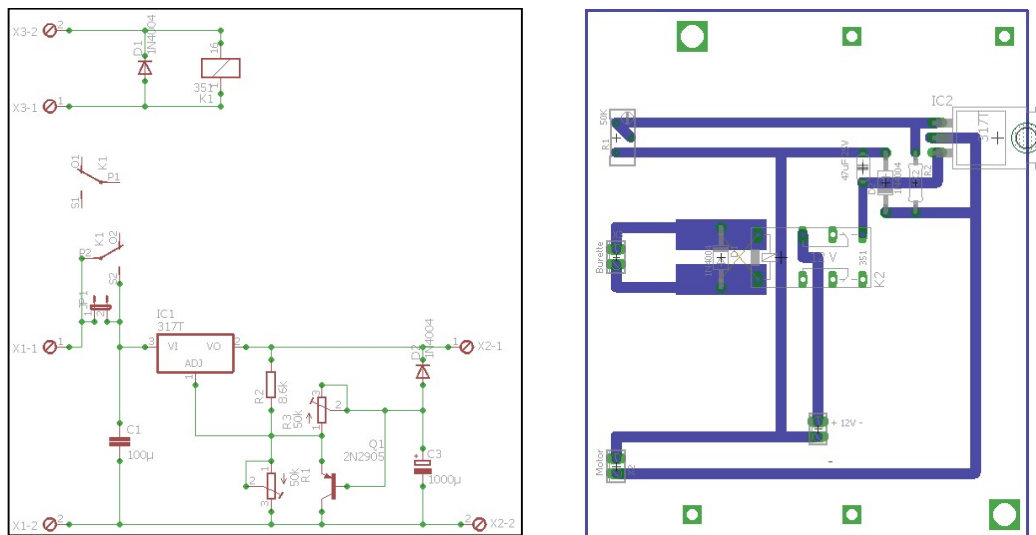


Figura 4.7 bis. Sistema de agitación magnética, representación esquemática. Izquierda: esquema electrónico del dispositivo para controlar el motor del LIS, derecha: placa del circuito impreso correspondiente en el que figuran los distintos componentes electrónicos seleccionados

4.1.6 Tubería y conectores

Para la construcción de los sistemas automáticos de flujo se utilizaron principalmente tubos de PTFE químicamente inertes de 0,8 y 1,5 mm de diámetro interno, incluyendo bucles de carga (HC) y bucles de reacción (RC), que pueden estar anudados o enrollados. En la **Figura 4.8** se muestra la imagen de un bucle anudado construido con tubería de teflón, de un reactor enrollado construido con tubería de Tygon que actúa como amortiguador de las pulsaciones y conectores construidos de metacrilato de 4 y 6 vías.

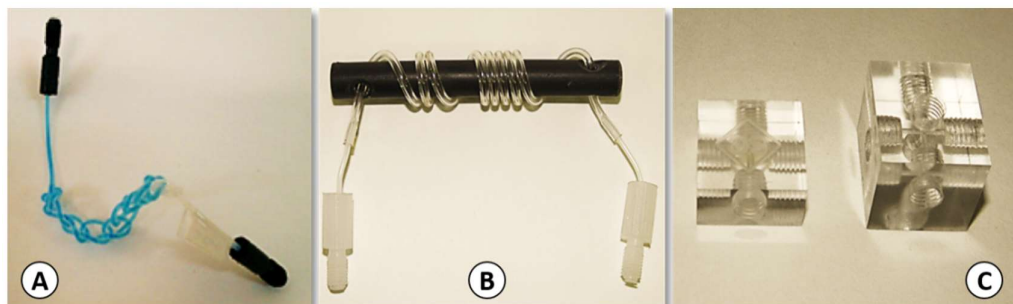


Figura 4.8. Imágenes de tuberías y conectores utilizados².

(A) Reactor anudado hecho de tubería de PTFE, (B) Reactor enrollado hecho de Tygon (C) Conectores de PMMA de 4 y 6 vías.

4.1.7 Componentes ópticos

La instrumentación óptica utilizada en esta tesis se compuso de una fuente de luz deuterio-halógena (Mikropack, Alemania), fibras ópticas con un diámetro interno de 400 y 600 μm (Ocean Optics, USA), una celda de flujo capilar de largo paso óptico (LWCC, World Precision Instruments, Florida, USA) y un espectrofotómetro CCD USB 2000 miniaturizado (Ocean Optics), conectado a una computadora vía una interfaz USB.

La LWCC está construida de Teflon AF tipo II, con un diámetro interno de 550 μm , una longitud efectiva de paso de $100,0 \pm 0,5$ cm, y un volumen interno de 240 μL .

4.2 Software

El control instrumental, la adquisición y el procesamiento de los datos se han llevado a cabo mediante el programa AutoAnalysis 5.0. Este software ha sido desarrollado por el grupo de Química Analítica, Automatización y Medio Ambiente de la UIB. AutoAnalysis está diseñado para ofrecer al usuario una gran versatilidad en la automatización de métodos analíticos. Está programado en Delphi y C++ y tiene una interfaz gráfica para el entorno de Windows (MS-

² Henríquez, C. (2013). Métodos automáticos de análisis para la determinación de parámetros de interés ambiental [Figura 3.10, tesis doctoral]. Recuperado de <http://www.tesisenred.net/handle/10803/123276>

Windows XP, Microsoft Corporation). Los fundamentos de este software están descritos en la literatura [3]. Actualmente lo comercializa la empresa SCIWARE SYSTEMS, S.L. (Bunyola, Mallorca. España)

El software se divide en una aplicación principal y un conjunto de librerías de enlace dinámico (DLL`s) de 32 bits, unas que permiten la comunicación de la instrumentación con el ordenador y otras que permiten su control a través de los comandos que tienen predefinidos por el fabricante. Actualmente pueden ser controladas una amplia variedad de instrumentos. Con este sistema, los instrumentos, independientemente de su hardware, pueden ser conectados y controlados desde una única aplicación principal mediante la configuración del sistema.

4.2.1 Configuración del sistema

El programa AutoAnalysis incluye un menú de configuración, *Hardware*, para definir los diferentes instrumentos que componen un determinado sistema de análisis por inyección en flujo. En este menú se especifica la configuración con los canales de comunicación e instrumentos que contiene el sistema a desarrollar. En la **Figura 4.9** se muestra la ventana desde la cual se configura el sistema. Primero se seleccionan los canales de comunicación a utilizar de una biblioteca ubicada a la derecha (*Available channels*), y por último, se añaden al canal de comunicación correspondiente, las DLLs de la instrumentación a utilizar, desde una biblioteca de instrumentos (*Available instruments*). Un mismo canal de comunicación puede ser compartido por varios instrumentos a la vez. Para cada instrumento se debe disponer de una DLL que lo controla.

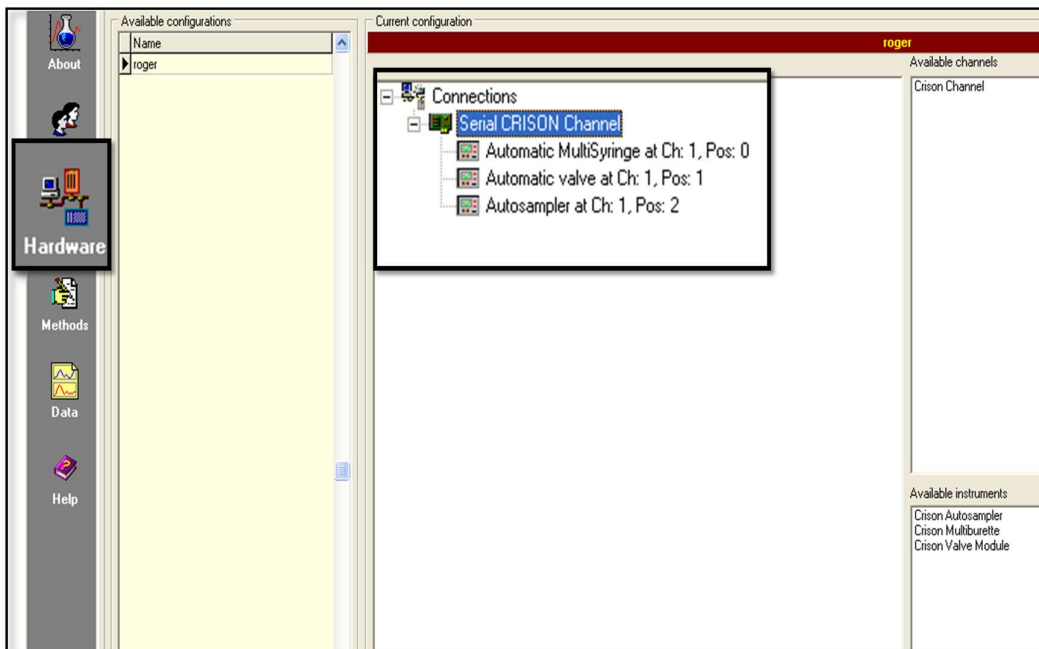


Figura 4.9. Menú del hardware, configuración de los instrumentos.

4.2.2 Edición de los métodos

Un método es una secuencia de instrucciones, donde cada instrucción puede ser ejecutada por uno de los instrumentos o bien pueden ser comandos como control del tiempo, condicionales, marcas, bucles de repetición, tiempos de espera, etc.

AutoAnalysis permite también la definición de procedimientos, que al igual que los métodos, consisten en una secuencia de instrucciones que se agrupan bajo un nombre y pueden ser utilizados en diferentes métodos (**Figura 4.10**).

Al definirse un método, éste se puede verificar por medio de un simulador que ejecuta de forma virtual el programa sin poner en marcha los instrumentos instalados, indicando si hay algún error o incoherencia en las instrucciones.

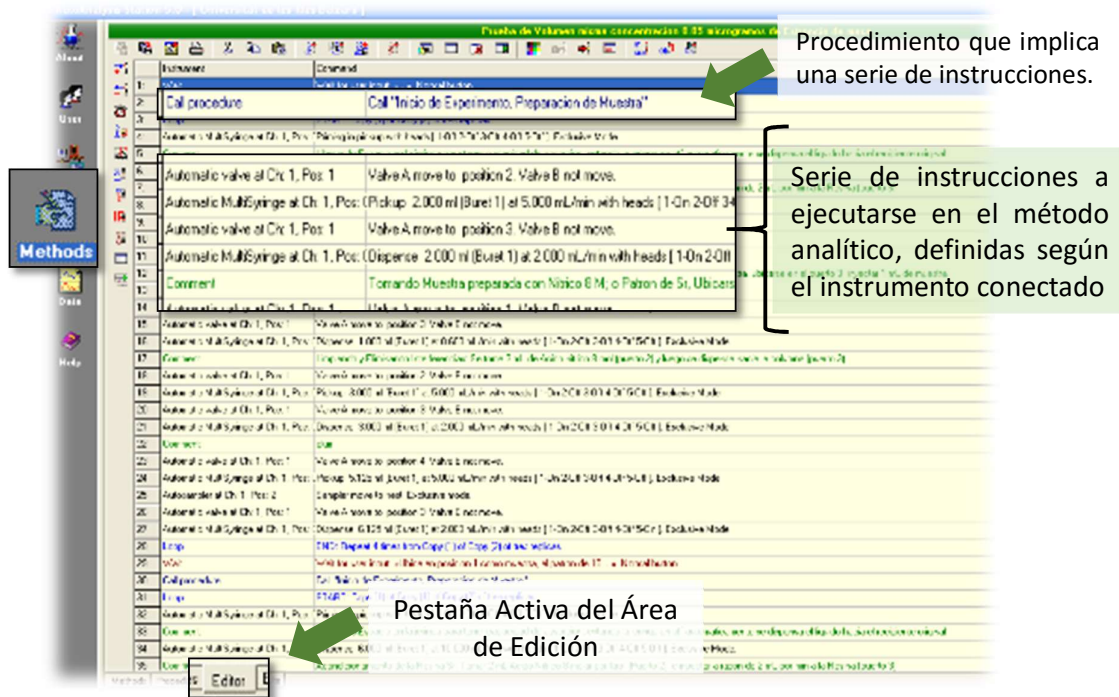


Figura 4.10. Ventana de AutoAnalysis: método e instrucciones.

4.2.3 Procesamiento de datos

Si la adquisición y el procesamiento de datos se llevan a cabo con AutoAnalysis, los resultados se registran y representan en la ventana de ejecución. Para las medidas ópticas, AutoAnalysis además permite visualizar simultáneamente la evolución del espectro (ya sea de emisión o de absorción). En una ventana se visualiza el registro de la señal respecto al tiempo (fiagrama) o a la longitud de onda de medición, y en otra se visualiza el espectro instantáneo en el rango de longitudes de onda previamente definido. Durante la medición se pueden utilizar herramientas como ajuste de la escala, vista ampliada, insertar marcas, etc. Además, puede accederse a una ventana que permite realizar un seguimiento de la ejecución de las operaciones del método y ver los valores de las variables en ese instante.

AutoAnalysis también ofrece una herramienta muy útil para el procesamiento de los datos una vez terminado el método, que realiza operaciones matemáticas sobre la señal de respuesta. Estas operaciones

pueden ser: Invertir el gráfico de la señal (multiplicarlo por -1), y sumarle o restarle un número constante, obtener la primera o segunda derivada del espectro, suavizar la función con el número de puntos deseados usando el método de Savitzky Golay, A través de un menú se puede escoger el grado de los polinomios así como otros parámetros relacionados con el suavizado de los picos.

El programa calcula la altura y el área de los picos usando el método de Savitzky Golay. En la **Figura 4.11** se muestra la ventana con el diagrama en la parte superior y una tabla con los datos de altura y área de cada pico en la parte inferior. También muestra los valores de altura absoluta, y los tiempos de comienzo, fin y máximo del pico. Estos datos así como todos los puntos de la señal registrada y los espectros pueden ser exportados en formato txt.

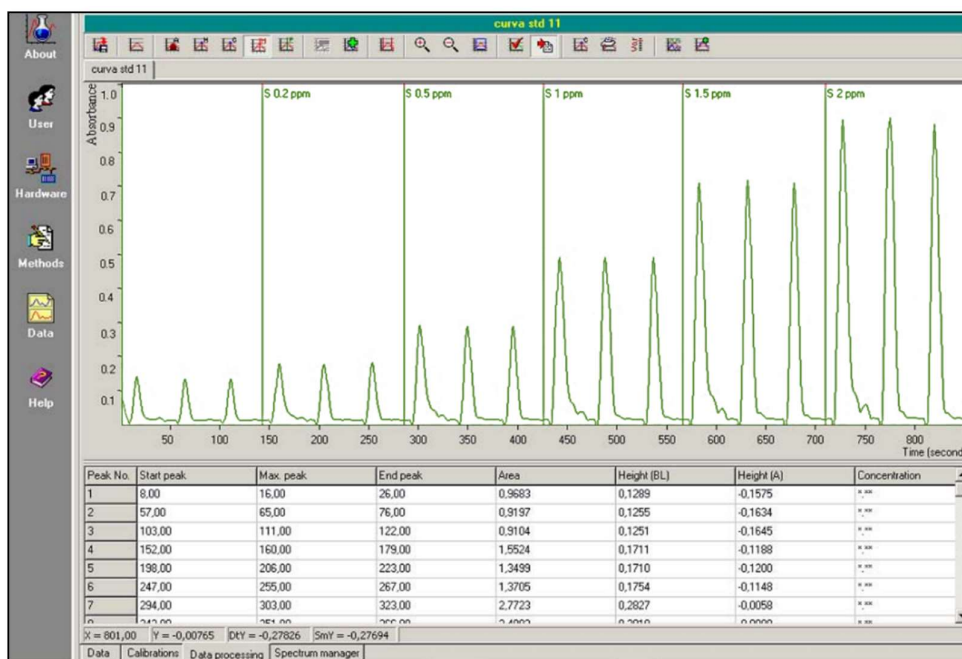


Figura 4.11. Ventana con un diagrama representativo, AutoAnalysis.

En la parte superior el gráfico del diagrama y una tabla con los datos de altura y área de cada pico en la parte inferior.

4.3 Cálculos para la cuantificación de actividades

A continuación se presentan los cálculos utilizados para la cuantificación de las actividades y sus incertidumbres asociadas, de los radionúclidos determinados con detectores radiométricos.

4.3.1 Alfa total

La actividad alfa total (A_α) expresada en Bq se calcula como:

$$A_\alpha = \frac{cpm\alpha - cpmb\alpha}{60 * E * F}$$

Ecuación 12

donde:

$cpm\alpha$ son las cuentas alfa por minuto de la muestra,

$cpmb\alpha$ son las cuentas alfa por minuto del blanco,

E es la eficiencia del recuento en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra.

La incertidumbre de la actividad (2σ) en Bq se calcula mediante la expresión:

$$u_{Act} = \frac{2}{60 * E * F} * \sqrt{\frac{cpm\alpha}{t(m)} + \frac{cpmb\alpha}{t(b)}}$$

Ecuación 13

donde:

$cpm\alpha$ son las cuentas alfa por minuto de la muestra,

$cpmb\alpha$ son las cuentas alfa por minuto del blanco,

E es la eficiencia del recuento en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra,

$t(m)$ es el tiempo de medida de la muestra, en minutos,

t(b) es el tiempo de medida del blanco, en minutos.

La *actividad mínima detectable* en Bq, para un nivel de confianza del 95% (k=2), se calcula mediante la siguiente expresión, según ISO 11929 [4]:

$$AMD = \frac{3.29 * \sqrt{\frac{cpmb\alpha}{t(m)} + \frac{cpmb\alpha}{t(b)}} + 2.7 * \left(\frac{1}{t(m)} + \frac{1}{t(b)}\right)}{60 * E * F}$$

Ecuación 14

donde:

cpmb α son las cuentas alfa por minuto del blanco,

E es la eficiencia del recuento en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra,

t(m) es el tiempo de medida de la muestra, en minutos,

t(b) es el tiempo de medida del blanco, en minutos.

4.3.2 Beta total

La *actividad beta total* (A_{β}) expresada en Bq se calcula como:

$$A_{\beta} = \frac{(cpm\beta - cpmb\beta) - \gamma * (cpm\alpha - cpmb\alpha)}{60 * E * F}$$

Ecuación 15

donde:

cpm β son las cuentas beta por minuto de la muestra,

cpmb β son las cuentas beta por minuto del blanco,

cpm α son las cuentas alfa por minuto de la muestra,

cpmb α son las cuentas alfa por minuto del blanco,

E es la eficiencia del recuento, en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra

γ es el *spill-over* de la medida beta, que se expresa como:

$$\gamma = \frac{\text{cuentas patrón } \alpha (\beta)}{\text{cuentas patrón } \alpha (\alpha)}$$

Ecuación 16

donde:

cuentas patrón $\alpha (\beta)$ son las cuentas de un patrón emisor alfa registradas en el voltaje o canal beta.

cuentas patrón $\alpha (\alpha)$ son las cuentas de un patrón emisor alfa registradas en el voltaje o canal alfa.

La *incertidumbre* asociada a la actividad beta total (2σ) en Bq, se expresa como:

$$u_{Act} = \frac{2}{60 * E * F} * \sqrt{\frac{\text{cpm}\beta + \gamma^2 * \text{cpm}\alpha}{t(m)} + \frac{\text{cpmb}\beta + \gamma^2 * \text{cpmb}\alpha}{t(b)}}$$

Ecuación 17

donde

cpm α son las cuentas alfa por minuto de la muestra,

cpm β son las cuentas beta por minuto de la muestra,

cpmb α son las cuentas alfa por minuto del blanco,

cpmb β son las cuentas beta por minuto del blanco,

$t(m)$ es el tiempo de medida de la muestra, en minutos,

$t(b)$ es el tiempo de medida del blanco, en minutos,

E es la eficiencia del recuento, en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra,

γ es el *spill-over* de la medida beta.

La *actividad mínima detectable*, expresada en Bq, para un nivel de confianza del 95% (k=2), se calcula según la siguiente ecuación:

$$AMD = \frac{3.29 * \sqrt{cpmb\beta * \left(\frac{1}{t(m)} + \frac{1}{t(b)}\right) + \gamma^2 * \frac{cpm\alpha - cpmb\alpha}{t(m)}} + 2.7 * \left(\frac{1}{t(m)} + \frac{1}{t(b)}\right)}{60 * E * F}$$

Ecuación 18

donde

cpmb β son las cuentas beta por minuto del blanco,

cpm α son las cuentas alfa por minuto de la muestra,

cpmb α son las cuentas alfa por minuto del blanco,

t(m) es el tiempo de medida de la muestra, en minutos,

t(b) es el tiempo de medida del blanco, en minutos,

E es la eficiencia del recuento, en tanto por uno,

F es el factor de autoabsorción correspondiente al espesor másico de la muestra,

γ es el *spill-over* de la medida beta.

4.3.3 Ecuación de Bateman para ²²⁶Ra

Para el cálculo de la actividad alfa del ²²⁶Ra, se resolvió la ecuación de Bateman, realizando dos contajes, el primero en cuanto se lleva a cabo la separación, y el segundo cuando han pasado más de 25 días para que se alcance el equilibrio secular entre el ²²⁶Ra y sus hijos según la ecuación:

$$Act_{\alpha}^{226Ra}(t) = 3Act(^{226}Ra)^0 * (1 - e^{-\lambda_{Rn}t}) + Act(^{226}Ra)^0$$

Ecuación 19

donde:

$A_{\text{Ra}}^{(226\text{Ra})0}$ es la actividad inicial de ^{226}Ra , en el momento de la separación, calculada según la Ecuación 12,

λ_{Rn} es la constante de desintegración del radón, expresada en segundos
 t es el tiempo transcurrido entre los dos contajes, expresado en segundos.

4.3.4 Ecuación de Bateman para ^{90}Sr

$$A_{\text{Sr}90}(0) = \frac{A_{t2}e^{\lambda_{Y90}t2} - A_{t1}e^{\lambda_{Y90}t1}}{2(e^{\lambda_{Y90}t2} - e^{\lambda_{Y90}t1})}$$

Ecuación 20

donde:

$A_{\text{Sr}90}(0)$ es la actividad inicial del ^{90}Sr en la muestra (inmediatamente después de la separación),

λ_{Y90} es la constante de desintegración del ^{90}Y ($\lambda_{Y90} = \ln 2/T_{1/2}$ del ^{90}Y).

A_{t1} y A_{t2} son las actividades beta total, a $t1$ y $t2$ respectivamente, donde $t1$, es el tiempo en que se da inicio a la medición de la muestra inmediatamente después de la separación; y $t2$ es el tiempo que da inicio al segundo contaje, transcurridos más de 21 días de la primera medición, calculadas según la Ecuación 15.

4.4 Optimización multivariante

El término optimización en química analítica se refiere a encontrar las mejores condiciones en que se desarrolla un método analítico, generalmente en términos de sensibilidad y reproducibilidad. Tradicionalmente, estas optimizaciones se realizaban de forma univariante, es decir estudiando la influencia de un único factor cada vez sobre la respuesta analítica. La mayor desventaja de la optimización univariante es que no tiene en cuenta las posibles interacciones

significativas entre los factores. Esto supone el riesgo de hacer interpretaciones erróneas y, en el peor de los casos alejarse de los verdaderos valores óptimos [5].

Los métodos de optimización multivariantes intentan solventar estos problemas al diseñar experimentos en los que se varían diferentes factores simultáneamente. Estos métodos permiten extraer un gran volumen de información del sistema con la realización de un número mínimo de experimentos, ya que tienen en cuenta las interacciones entre los factores. La metodología de superficie de respuesta (RSM), es uno de los métodos más utilizados, debido a que la información que proporciona se considera altamente confiable [6-9]. La RSM abarca un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés o respuesta es influenciada por otras (factores independientes). El objetivo final es establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable respuesta. Esto se logra al determinar las condiciones óptimas de operación de un sistema [10].

Para comprender mejor el lenguaje estadístico de un diseño de experimentos, a continuación se definen algunos términos básicos:

- El dominio experimental se define por los límites máximos y mínimos de las variables bajo estudio.
- El diseño experimental es un conjunto específico de experimentos definidos por una matriz conformada por las variables y sus diferentes niveles.
- Los factores o variables independientes son aquellos cuyo valor puede variar de forma independiente sin ser afectados por el cambio en el nivel de otra variable, dentro de un dominio experimental dado.
- Las respuestas o variables dependientes, son aquellas cuyo valor se ve afectado por el cambio de nivel de una variable independiente.
- Los niveles de un factor o variable son los grados específicos del factor que se tendrán en cuenta en la realización del experimento. En esta tesis, fueron considerados tres niveles y codificados como +1, 0 y -1. La codificación de los niveles de la variable consiste en transformar cada valor real estudiado

en coordenadas dentro de una escala con valores adimensionales, las cuales deben de ser proporcionales y correspondientes a las cifras experimentales.

- Los datos residuales constituyen la diferencia entre los resultados calculados y los experimentales bajo determinadas condiciones. Un buen modelo matemático es capaz de ajustarse a los datos experimentales reduciendo considerablemente los valores de los residuos.
- El error puro corresponde a las fluctuaciones aleatorias de las mediciones.

Es importante considerar que cuando las variables experimentales y sus respuestas han sido apropiadamente definidas, los experimentos se pueden plantear y desarrollar de tal manera que se obtenga un máximo de información para un mínimo de experimentos realizados. El análisis de cribado de datos o *screening* es el primer paso en la evaluación eficiente de los factores involucrados para el sistema analítico bajo estudio. Después de determinar las variables significativas, las condiciones óptimas de operación son reveladas mediante el uso de diseños experimentales más complejos (que contemplen modelos lineales y cuadráticos) como la Matriz de Doehlert (DM), el diseño central compuesto (CCD), Box-Behnken (BBD) y factorial a tres niveles (3^k).

4.4.1 Análisis de cribado de datos o *screening*

El análisis de cribado de datos constituye un primer acercamiento al comportamiento del sistema y al efecto de sus variables [11]. En este diseño de experimentos multivariante, los factores (n) se varían en sólo dos niveles (-1, +1). Además, puede realizarse de manera completa (2^k) o fraccionada (2^{k-n}), dependiendo tanto del número de experimentos a realizar como del correcto criterio del analista.

Los datos obtenidos al llevar a cabo este tipo de diseño se pueden ajustar a un modelo lineal con interacciones de acuerdo con el número de variables. Se recomienda adicionar réplicas de un mismo experimento realizado en el punto central de los niveles de todas las variables, que permitan estudiar tanto la curvatura del sistema, como el error del diseño (error puro) que define el intervalo de confianza. La significación de la curvatura indica que dentro del dominio

experimental estudiado puede haber variables con valores capaces de ofrecer una respuesta crítica (máxima o mínima). Como resultado se obtiene información sobre la significación de la influencia de todos los factores experimentales estudiados y de sus interacciones, si existen.

En la presente tesis, se han utilizado diseños para dos niveles, completo (2^K) y fraccionado (2^{K-2}), para los métodos analíticos propuestos según el número de variables a optimizar.

El análisis de cribado de datos proporciona información útil (valor p de variables, curvatura, falta de ajuste, coeficiente de correlación y residuales) para tomar las decisiones pertinentes bajo un riesgo probabilístico definido por el propio usuario (nivel de confianza). Estas decisiones permiten definir las variables representativas y su rango de valores. En el caso de presentar una curvatura significativa, es necesario determinar la función polinomial que contenga los términos cuadráticos (superficie de respuesta) que mejor describan nuestro proceso químico para poder establecer los valores críticos de las variables.

4.4.2 Superficie de respuesta

A partir de los resultados del análisis de cribado, se seleccionan las variables o sus interacciones que han presentado efectos significativos sobre el sistema. Con estas variables, se diseña un nuevo experimento que permita ajustar los datos a una función tridimensional conocida como superficie de respuesta que incluye términos cuadráticos. Esta nueva función permite determinar los valores críticos de las variables independientes que ofrecen la mejor respuesta [12], además de ser una buena manera de ilustrar gráficamente la relación entre las variables y la respuesta.

Entre los métodos de optimización multivariante más utilizados, que ofrecen este tipo de respuesta debido a su diseño simétrico [13], se encuentra el CCD, el cual ha sido utilizado en los trabajos de la tesis. El CCD es el resultado de la superposición de un diseño de estrella ($2^K + C_0$, siendo C_0 el número de réplicas del punto central) a un diseño factorial (2^k). En la **Figura 4.12** se representa la distribución espacial de un diseño CCD para tres factores. El número total de combinaciones de los factores es: $2^K + 2k + C_0$. Estas

combinaciones definirán los términos lineales, cuadráticos y las interacciones del modelo junto con la estimación del error de los términos.

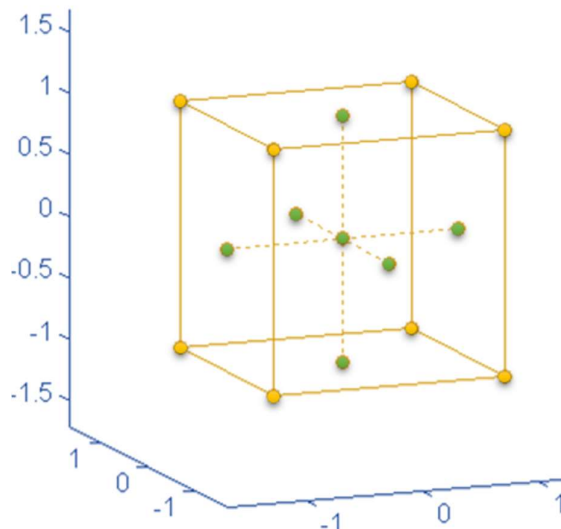


Figura 4.12. Diseño central compuesto para tres variables. Se detalla el centrado de los puntos centrales en las caras.

4.4.3 Optimización de respuesta y función deseabilidad

La optimización de respuestas es una herramienta estadística que proporcionan los softwares aplicados para tal fin, y ayuda a identificar los valores de los factores que, en combinación, optimizan una respuesta individual o un conjunto de respuestas. Por lo tanto, es útil cuando se necesita evaluar el impacto de múltiples factores en una respuesta o un conjunto de respuestas.

Este optimizador puede usarse para buscar las respuestas óptimas con base en los requisitos definidos o criterios establecidos por el analista:

- Minimizar la respuesta (por ejemplo, la señal analítica del blanco)
- Lograr la respuesta objetivo (por ejemplo, la señal analítica que ofrezca mejor reproducibilidad)
- Maximizar la respuesta (por ejemplo, la señal del analito)

Para el caso de una sola respuesta se debe de especificar tan solo uno de los requisitos mencionados (deseabilidad individual), mientras que para múltiples respuestas se puede especificar una meta diferente para cada una de ellas (el promedio geométrico de la deseabilidad individual) [14].

Estos softwares calculan una deseabilidad individual (d) que evalúa la manera en que la configuración de valores de factores optimiza una sola respuesta; mientras que la deseabilidad global (D) evalúa la manera en que la configuración optimiza un conjunto de respuestas en general. Para el caso del análisis de un sistema con múltiples respuestas, la D es una combinación de respuestas individuales en una sola respuesta. La escala de la función de deseabilidad está comprendida entre $d=0$ (para la respuesta no deseada) y $d=1$ (para la respuesta completamente deseada). D se calcula combinando los valores individuales de deseabilidad por aplicación de la media geométrica, $D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{1/n}$. Entonces se aplica un algoritmo a la función D para determinar el conjunto de valores de las variables que la optimizan. Este proceso de optimización simultánea consiste en encontrar los niveles de los factores a los que se obtiene un máximo de deseabilidad que garantice los resultados deseables para las respuestas bajo estudio.

Bibliografía

- [1] Cerdà, V., Estela, J.M., Forteza, R., Cladera, A., Becerra, E., Altimira, P., Sitjar, P. (1999). Flow techniques in water analysis. *Talanta*, 50: 695-705.
- [2] Horstkotte, B., Suárez, R., Solich, P., Cerdà, V. (2013). In-syringe-stirring: A novel approach for magnetic stirring-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. *Anal. Chim. Acta.*, 788: 52-60.
- [3] Becerra, E., Caldera, A., Cerdà, V. (1999). Design of a very versatile software program for automating analytical methods. *Lab. Rob. Autom.*, 11: 131-140.
- [4] ISO 11929, 2000. Determination of the detection limit and decision threshold for ionizing radiation measurements, Part 1,2,3,4.
- [5] Cerdà, V., Cerdà, J. L., Idris, A. M. (2016). Optimization using the gradient and simplex methods. *Talanta*, 148, 641-648.
- [6] Brasil, J.L., Martins, L.C., Ev, R.R., Dupont, J., Dias, S.L.P., Sales, J.A.A., Airoidi, C., Lima, É. C. (2005). Factorial design for optimization of flow-injection preconcentration procedure for copper(II) determination in natural waters, using 2-aminomethylpyridine grafted silica gel as adsorbent and spectrophotometric detection. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 85: 475-491.
- [7] Leardi, R. (2009). Experimental design in chemistry: A tutorial. *Anal. Chim. Acta*, 652: 161-172.
- [8] Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nystrom, A., Pettersen, J., Bergman, R. (1998). Experimental design and optimization. *Chemometr. Intell. Lab.*, 42: 3-40.
- [9] Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escaleira, L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76: 965-977.
- [10] Brereton, R.G. (2003). *Chemometrics, Data analysis for the laboratory and chemical plant*. John Wiley & Sons, USA.
- [11] Araujo, P. W., Brereton, R. G. (1996). Experimental design I. Screening. *Trends Anal. Chem.*, 15: 26-31.
- [12] Araujo, P. W., Brereton, R. G. (1996). Experimental design II. Optimization. *Trends Anal. Chem.*, 15: 63-70.

- [13] Montgomery, D.C: Design and analysis of experiments. (2009). 7th ed. John Wiley & Sons, USA.
- [14] Minitab, Soporte de Minitab®17 (en línea), [fecha de consulta: 05 febrero 2016], desde internet:
<<http://support.minitab.com/es-mx/minitab/17/topic-library/modeling-statistics/using-fitted-models/response-optimization/what-is-response-optimization/>>

CAPITULO 5

ESTRATEGIAS DE AUTOMATIZACIÓN PARA LAS EXTRACCIONES EN FASE SÓLIDA Y LÍQUIDO-LÍQUIDO EN EL ANÁLISIS RADIOQUÍMICO

5.1 Introducción

En este capítulo se presenta una revisión del estado actual de la automatización de separaciones radioquímicas mediante extracciones tanto en fase sólida como líquido-líquido. Se ponen de manifiesto las ventajas y desventajas que ambas técnicas aportan, así como su flexibilidad para incorporarlas a sistemas automáticos.

La búsqueda de métodos de análisis más rápidos, selectivos y sensibles es uno de los objetivos esenciales perseguidos por los químicos analíticos. En la práctica, resulta muy difícil encontrar técnicas que combinen estas cualidades y, en general, alguna de ellas debe ser sacrificada en beneficio de las otras.

Debido a los peligros y a los daños que puede causar a la salud y al medio ambiente la contaminación radioactiva, varios han sido los métodos analíticos desarrollados en los últimos años para el monitoreo ambiental de dichos contaminantes. La dificultad para determinar radionúclidos a los bajos niveles que normalmente se encuentran en el medio ambiente, hace que se requieran técnicas de análisis muy sensibles.

En el presente capítulo se realiza una revisión general de las técnicas de pre-tratamiento de muestra de extracción en fase sólida y líquido-líquido, acopladas a técnicas de análisis por inyección en flujo que han permitido la automatización total o parcial de los métodos. Estos sistemas están enfocados al análisis de muestras ambientales, resultando en potentes instrumentos para el monitoreo y control de radionúclidos.

5.2 Artículo original



Strategies for automating solid-phase extraction and liquid-liquid extraction in radiochemical analysis



Rogelio Rodríguez ^a, Jessica Avivar ^{b,c}, Luz O. Leal ^a, Víctor Cerdà ^d, Laura Ferrer ^{b,*}

^a Environment and Energy Department, Advanced Materials Research Center (CIMAV) S.C., Chihuahua, Chih. 31136, Mexico

^b Environmental Radioactivity Laboratory-LaboRA, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain

^c Sciware Systems, S.L., Spin-off from the University of the Balearic Islands, Bunyola E-07193, Spain

^d Laboratory of Environmental Analytical Chemistry-LQA2, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Radiochemical analysis
Automation
Flow techniques
Sample pretreatment
Solid-phase extraction
Liquid-liquid extraction

ABSTRACT

Radionuclides monitoring is an issue of increasing concern due to their widespread use last years. Thus, efficient methods for radionuclides determination are required. Radionuclides extraction and preconcentration is usually required prior detection, especially when dealing with environmental and biological samples. Most commonly pretreatment techniques in radiochemical analysis are solid-phase extraction and liquid-liquid extraction, providing not only sample clean-up but also high enrichment factors. These protocols are usually long and tedious involving a large consume of reagents and of waste generation what difficult their application in monitoring plans. Flow analysis techniques have proved to be suitable platforms to develop automated radiochemical analyzers, offering advantages such as fast and low-cost methods with low reagents consumption and so waste generation and low manipulation by the analyst. Thus, in this review strategies followed to automate radiochemical analysis exploiting most commonly used pretreatment procedures by flow techniques are presented and critically compared.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	145
2. Ways of automating radiochemical analysis	146
3. Automation of radionuclide solid-phase extraction (SPE)	148
3.1. In column SPE in flow-based systems	148
3.2. SPE automation for radionuclides determination by LOV	149
3.3. Sensors based on SPE	149
4. Automation of radionuclide liquid-liquid extraction (LLE)	150
4.1. Automated liquid-liquid microextraction of radionuclides	150
4.2. Automated dispersive liquid-liquid microextraction of radionuclides	150
5. Conclusions	151
Acknowledgements	151
References	151

1. Introduction

Environmental radioactivity consists of naturally occurring radionuclides and anthropogenic radioactive contamination initiated during the nuclear era. The wide use of nuclear power and nuclear waste disposal plants have made the public increasingly concerned about health hazards related to radionuclides. At present there are several sources of anthropogenic radionuclides in the environ-

ment, e.g. nuclear weapons testing, nuclear industries, industrial uses, nuclear medicine (e.g. some radionuclides are used with diagnosis purposes and for cancer treatment) and research laboratories [1]. Thus, radiochemical analyses are increasingly demanded in routine laboratories for monitoring purposes in environmental samples, nuclear power plants, water treatment plants, nuclear medicine services and industrial uses, among others.

Since radionuclides activity concentrations in environmental samples are usually very low, and because of the presence of interferences, preconcentration and radiochemical separation are often mandatory. Furthermore, some detectors are unable to discriminate between radioisotopes requiring separation procedures prior

* Corresponding author: Tel.: +34 971173260; Fax: +34 971173426.
E-mail address: laura.ferrer@uib.es (L. Ferrer).

detection. Even when using selective detection techniques such as ICP-MS, the analytical performance can be enhanced by preconcentration and sample clean-up.

Radiochemical separations are commonly based on classical and chromatographic methods, including preconcentration, coprecipitation, liquid-liquid extraction, adsorption processes, ion exchange using anionic and cationic resins and chromatographic separations, carried out manually. This makes radiochemical analysis expensive, tedious and time consuming. Thus, benefits of automation are of great interest in the radiochemical field. Features such as the minimization of sample and standards handling together with the decrease of waste generation are crucial, since the safety of the analyst is ensured and more environmental friendly methods are developed.

Flow analysis techniques represent a versatile fluid handling methodology that can be used for automating radiochemical separations providing cost and time efficient methods with high reproducibility [2,3]. Flow-based systems although exploiting different flow strategies make use of similar components, i.e. a liquid driver, a series of tubes (manifold) where liquids are propelled, insertion and commutation units, and a detector. The hyphenation among them provides versatile methodologies adapted to a wide range of analytical situations. New trends in automated radiochemical analysis tend towards miniaturization and process downscaling exploiting multicommutated flow analysis techniques such as sequential injection analysis (SIA) [4], multisyringe flow injection analysis (MSFIA) [5], multipumping flow system (MPFS) [6] lab-on-valve (LOV) [7] and lab-in-syringe (LIS) [8].

Radiochemical analyses are multistage processes which usually include sample clean-up, preconcentration, and finally detection. Thus, regardless of the type of flow technique used, given the low concentration of radionuclides in environmental samples it is often difficult to connect all stages on-line to attain a fully automated analyzer, since usually long counting times are required or some pretreatment steps such as evaporation or digestion are difficult to automate [9]. Thus, commonly partially automatic radiochemical methods are developed. However, development of automatic radiochemical systems is worth since the steps automated are those requiring more effort and time, e.g. sample clean-up and analyte preconcentration. Fig. 1 presents a milestone diagram of the different strategies followed to automate radiochemical analysis by flow analysis techniques.

Therefore, in this review, strategies based on solid-phase extraction (SPE) and liquid-liquid extraction (LLE) for automating

radiochemical analyses are discussed, encompassing fully and partially automated flow methodologies. Benefits and limitations of different automatic approaches exploiting SPE and LLE are critically discussed.

2. Ways of automating radiochemical analysis

Automation of radiochemical analyses has gained ground during the last few years because of the increase of both radionuclide uses and the number of samples to be analyzed together with the increasing environmental concern. Therefore, as with any other analyte of interest that requires the analysis of a large number of samples in a short period of time, automated methods based on flow analysis techniques have been developed.

Some of these automated methods are fully automated and easy portable enabling in-situ measurements, and reducing the time of exposure of the analyst to problematic samples. However, most of these have only been applied to samples with high radioisotopes content, e.g. from nuclear power stations [10,11] or for screening of radionuclides content, e.g. spectrophotometric methods [12,13]. Most developed methods are just partially automated, although as mentioned before the automated steps are the most laborious, with a high degree of manipulation by the analyst, high reagent consumption and long execution times. The grade of automation is limited by the level of activity found in the sample and the detector selected. The latter will mainly depend on the half-life of the radionuclide of interest, in order to achieve the greatest sensitivity. Thus, the main impediment to achieve full automation of radiochemical methods is the low activity found in environmental samples, requiring long counting times, usually close to one day using radiometric detection what forces off-line detection. Nevertheless, by automating radiochemical separations, an analysis which could take days is reduced to hours. Furthermore, using multicommutated techniques, i.e. SIA, LOV, MPFS and MSFIA, minimal reagents consumption is achieved, since they are dispensed to the system only when needed, resulting in greener and more economic automated systems [3]. Moreover, the precise control of volumes and flow rates inherent to multicommutated flow techniques improves method's reproducibility.

SPE and LLE are the most common pretreatment techniques used in automated radiochemical analysis. These have been implemented in flow methods to develop sensitive and efficient fully or partially automated radiochemical methods. After reviewing scientific literature (SciFinder database) [14] we observed that SPE is about four times more commonly used than LLE for radionuclides extraction. Below are described, through various representative examples, different strategies to automate these extraction techniques. In Table 1 is presented a comparison of SPE and LLE main features, highlighting their advantages and disadvantages. Moreover, as can be seen in Table 2 automation of radiochemical analysis leads

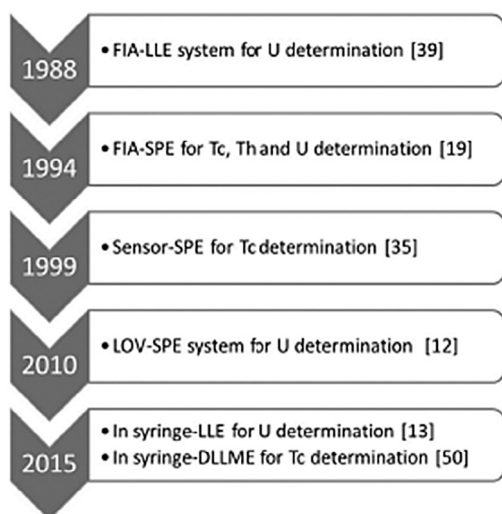


Fig. 1. Milestone of radiochemical analysis automation based on flow analysis techniques.

Table 1

Main features of automated solid-phase extraction and liquid-liquid extraction for radionuclides determination in environmental and biological samples

Automated solid-phase extraction	Automated liquid-liquid extraction
High sample volume	Limited sample volume
Very high enrichment factors	High enrichment factors
Minimal or avoidance of organic solvents use	Low organic solvents use
Reusable (long durability)	Single-use or low reusability
Reproducible	Reproducible
Low reagents consumption	Low reagents consumption
Minimization of waste generation	Minimization of waste generation
Expensive SPE materials	More affordable and common reagents used
Backpressure problems	No backpressure problems

Table 2
Comparison of analytical parameters of automated radiochemical methods exploiting SPE and LLE based on flow analysis techniques

Radionuclide	Sample	Pretreatment technique	Flow system	Extractant material quantity	Reuse (times)	Sample volume	Typical enrichment factor	LOD	Analysis time*	Precision	Ref.
⁹⁰ Sr	Water, milk and soil	Selective SPE (Sr resin) Calcination and acid dissolution	MSFIA	0.1 g	10	2 mL	-	Sr: 10 µg L ⁻¹ ⁹⁰ Sr: 0.01 Bq	-	Repeatability < 2% (n = 10)	[15]
⁹⁰ Sr	Water	Ion exchange SPE (SuperLig 620 column)	FIA	0.83 mL	6	350 mL	70	0.057 Bq L ⁻¹	-	-	[16]
⁹⁰ Sr	Water	Selective SPE (Sr resin)	LOV	0.1 g	30	8 mL	1.6	1.8 ng	12–20 min	Repeatability: 1.2% (n = 10) Reproducibility: 2.6% (n = 5)	[17]
⁹⁰ Sr	Water, powdered milk and soil	Liquid-liquid extraction Flow reversal wetting-film	SIA	0.4 mL	1	2 mL	2	0.07 Bq	<25 min	Repeatability: 2.1 % (n = 10)	[18]
²²⁶ Ra - ⁹⁰ Sr	Drinking water	Ra and Y adsorption on MnO ₂ , and sequential Ra co-precipitation with BaSO ₄ and Y co-precipitation with Fe(OH) ₃ Ra adsorption on MnO ₂ , and co-precipitation with BaSO ₄ after elution	SIA	-	-	40 mL	40	0.15–1 Bq L ⁻¹	20 min	-	[19]
²²⁶ Ra	Water	Ra adsorption on MnO ₂ , and co-precipitation with BaSO ₄ after elution	MSFIA-MPFS	-	30	40–200 mL	200	0.05–0.01 Bq L ⁻¹	-	Repeatability: 0.4% (n = 16)	[20]
⁹⁰ Sr - ²¹⁰ Pb	Sludge	Selective SPE (Sr resin)	MSFIA-LOV	0.03 g	10	10 mL	-	⁹⁰ Sr: 14 Bq Kg ⁻¹ ²¹⁰ Pb: 12 Bq Kg ⁻¹	-	Reproducibility ⁹⁰ Sr: 1–14 % (n = 7) ²¹⁰ Pb: 4–15 % (n = 7)	[21]
⁹⁹ Tc	Soil and radwaste	Selective SPE (TEVA resin) Acid digestion	FIA	0.35 g	-	10 mL	-	1.5 Bq Kg ⁻¹	-	-	[22]
⁹⁹ Tc	Urine	Selective SPE (TEVA resin)	LOV	0.032 g	110	1–100 mL	5	1 Bq L ⁻¹	5–60 min	Repeatability: 1.6% (n = 10) Reproducibility: 2% (n = 5)	[23]
⁹⁹ Tc	Water and soil	Selective SPE (TEVA resin) Acid digestion	LOV	0.032 g	100	0.1–100 mL	17	0.005 ng	12 min	Repeatability: 2% (n = 10) Intermediate precision: 3.8% (n = 5)	[24]
⁹⁹ Tc	Urine, saliva and hospital residue	DLLME	LIS	1.5 mL	1	3.5 mL	2.3	0.075 Bq	7.5 min	Repeatability: 4.1 % (n = 10) Reproducibility: 6.9 % (n = 5)	[25]
⁹⁹ Tc - ²³⁷ Np - ²³⁹⁺²⁴⁰ Pu - ²³⁸ U	Sea water	Selective SPE: TEVA resin- ⁹⁹ Tc, UTEVA- ²³⁸ U, AGMP-1- ²³⁷ Np- ²³⁹⁺²⁴⁰ Pu	FIA	-	-	200 L	Tc: 20,000 Np: 2,000 Pu: 2,000 U: 20,000	⁹⁹ Tc: 8 µBq L ⁻¹ ²³⁷ Np: 0.26 nBq L ⁻¹ ²³⁹ Pu: 0.23 nBq L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu: 0.84 nBq L ⁻¹ ²³⁸ U: 0.6 µBq L ⁻¹ 4 Bq L ⁻¹	3–4 days	RSD (n = 4) ≤10% for ⁹⁹ Tc ≤ 15% for ²³⁹ Pu and ²⁴⁰ Pu and ≤20% for ²³⁷ Np	[26]
²⁴¹ Am - ²³⁹⁺²⁴⁰ Pu	Soil, vegetable ashes, synthetic urine and blood	Selective SPE (TRU resin) Calcination + acid digestion, sequential elution	MSFIA-MPFS	0.08 g	5	5 mL	5		40 min	Am: Repeatability: 3% (n = 5) Pu: Repeatability: 2.1% (n = 5)	[27]
U _{nat} (²³⁸⁺²³⁵⁺²³⁴ U)	Water, vegetable ash and phosphogypsum	Selective SPE (TRU resin) Acid digestion	MSFIA-MPFS	0.08	40	100 mL	100	12.6 ng L ⁻¹	12–75 min	Repeatability: 2.9% (n = 40) Reproducibility: 4.9% (n = 5)	[12]
U _{nat} (²³⁸⁺²³⁵⁺²³⁴ U)	Water	Selective SPE (UTEVA resin)	LOV-MSFIA	0.03 g	100	1–30 mL	30	10.3 ng	11–72 min	Repeatability: 1.6% (n = 10) Reproducibility: 1.7% (n = 5)	[28]
U _{nat} (²³⁸⁺²³⁵⁺²³⁴ U)	Water, soil, sediment, phosphogypsum	Liquid-liquid extraction	IS-MSA-MSFIA	0.5 mL	1	4 mL	8	3.2 µg L ⁻¹	10 min	Reproducibility: 3.3 % (n = 5) Repeatability: 3 % (n = 10)	[13]
U _{nat} - ²³² Th	Water	Selective SPE (UTEVA resin)	MSFIA-LOV	0.03 g	100	Th: 0.1–8 mL U: 1–30 mL	Th: 8 U: 30	Th: 60 ng L ⁻¹ U: 5.9 ng L ⁻¹	Th: 10–20 min U: 11–50 min	Repeatability: 1.6% (n = 10) Reproducibility: 1.7% (n = 5)	[29]

FIA: flow injection analysis, LIS: lab-in-syringe, LOV: lab-on-valve, MSA: magnetic stirring assisted, MSFIA: multisyringe flow injection analysis, MPFS: multipumping flow system, SIA: sequential injection analysis. *Only for pretreatment steps.

to precise and robust methods independently of the sample pre-treatment technique used.

3. Automation of radionuclide solid-phase extraction (SPE)

SPE is one of the most popular techniques used as sample pre-treatment, since it allows sample clean-up and pre-concentration of the analyte of interest diminishing or avoiding the amount of organic solvents used [30], attaining high pre-concentration factors and high selectivity.

Therefore, SPE has been widely implemented in radiochemical methods for environmental monitoring [3,9] exploiting selective resins for radionuclide separations. These are commercially available in different forms, such as cartridge, packed columns, beads and disks [31–33] facilitating the use of flow techniques. Moreover, there are various pore size ranges available, between 20 and 800 μm . 50–100 μm pore size has proved to be the best option in flow systems since a compromise between avoiding backpressure and a high surface/volume ratio of the beads is accomplished.

With the aim to overcome or reduce the drawbacks of manual radiochemical procedures, flow based methods have been developed to automate radiochemical analysis exploiting SPE, resulting in the development of rapid, economic and safe procedures. Different automation strategies have been developed to implement SPE in flow based methods, i.e. in column, LOV and sensors. These are described below. A typical packed column used in flow-based systems is depicted in Fig. 2a. As can be seen, the resin beads have

to be retained by a filter or glass wool allowing the solutions to flow freely through the column while maintaining the beads in the column.

3.1. In column SPE in flow-based systems

Columns have been implemented as supports for SPE materials in different flow systems. Common steps are column packing, commonly carried out manually, column conditioning, retention of the analyte/s of interest, elimination of interferences and elution of the analyte/s of interest. For the successful performance of these steps, it is necessary to take into account pH control, valence adjustment and in some cases temperature control. A general scheme of the implementation of SPE columns in flow-based systems is depicted in Fig. 2b. As can be seen, SPE columns can be easily implemented in different flow systems, e.g. in one of the ports of a selection valve in a SIA system.

For example, a FIA system, exploiting TEVA and TRU resin, was coupled to ICP-MS to determine ^{99}Tc , ^{230}Th and ^{234}U in soil samples [34]. The limits of detection (LOD) were improved by a factor of 10 and benefits of automation were reported, i.e. a faster and less labor intensive radiochemical method was accomplished. For strontium determination, a MSFIA system with a column containing 0.1 g of Sr resin (Triskem) was implemented to determine elemental strontium by ICP-OES and ^{90}Sr using a low background proportional counter. The resin could be reused 10 times and high reproducibility and repeatability were attained, as can be seen in Table 2 [15].

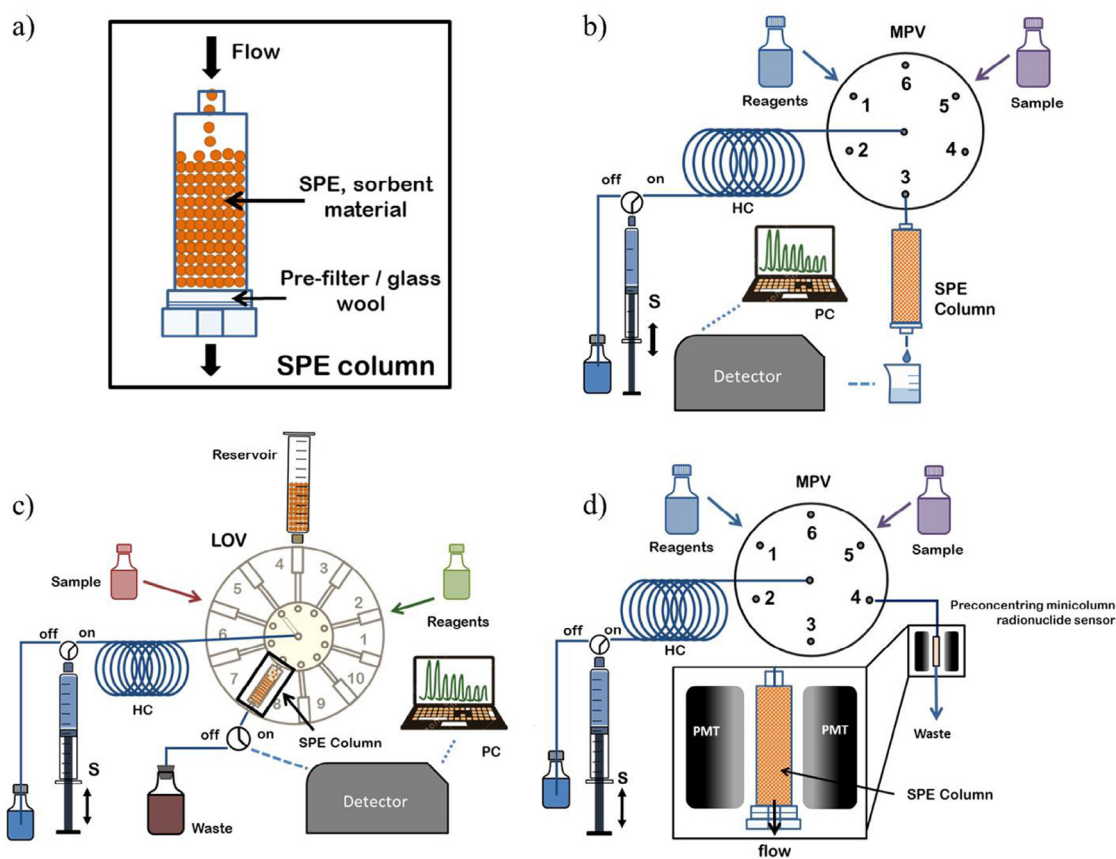


Fig. 2. Automation of radionuclides solid phase extraction. a) Schematic depiction of a typical column for solid phase extraction (SPE); b) Typical sequential injection (SIA) system exploiting SPE in column; c) Lab on valve (LOV) system with integrated column; d) SIA system exploiting a radionuclide sensor. HC: holding coil, MPV: multiposition valve, PC: personal computer, PMT: Photomultiplier tube, S: syringe.

For ^{99}Tc , flow methods exploiting the TEVA resin have been developed. This resin has proved to facilitate the removal of typical interferences when using ICP-MS such as ruthenium and molybdenum [35]. However, due to the high concentration of the eluent (nitric acid) steps of evaporation and dissolution are required before injection in the ICP-MS [22].

For ^{226}Ra extraction and preconcentration, the chemical properties of MnO_2 to adsorb radium ions have been exploited, using cotton as supporting material in a small column. Some authors induced the formation of MnO_2 using KMnO_4 . Then radium was eluted with hydroxylamine, co-precipitated as $\text{Ba}(\text{Ra})\text{SO}_4$ requiring filtration and dryness for off-line detection with a low background proportional counter [20]. The automation of the sample pretreatment improved the analysis frequency and resulted in a high repeatability as can be seen in Table 2.

SPE allows the determination of multiple radionuclides, e.g. by sequential elution of different radionuclides using different eluents. For instance, ^{226}Ra and ^{90}Sr were sequentially determined in a SIA system after adsorption on a cotton column impregnated with MnO_2 . After elution with hydroxylamine, ^{226}Ra and ^{90}Sr , through its daughter ^{90}Y , were sequentially co-precipitated with barium sulphate in a buffered acidic medium and with iron (III) hydroxide in ammonia medium, respectively. Then their alpha-beta activities were off-line determined using a low-background proportional counter [19]. Americium and plutonium can be extracted and preconcentrated using TRU resin. Selective separation is performed through the oxidation and reduction of $^{239+240}\text{Pu}$, allowing the sequential elution of these radionuclides [27]. Other authors reported an automated multisample processing flow injection system for simultaneous determination of technetium, neptunium, plutonium, and uranium handling large volumes of seawater samples (200 L). Selective automated extractions were achieved by pH control and valence adjustment [26].

Fully automated methods with on-line detection have been reported exploiting SPE in columns coupled to different detection techniques, such as spectrophotometry for total element determination, e.g. for uranium determination improving its sensitivity by using a long path-length liquid waveguide capillary cell (LWCC) [12].

3.2. SPE automation for radionuclides determination by LOV

LOV facilitates integration of various analytical units in the valve providing great potential for miniaturization of the entire instrumentation. It is noteworthy that LOV can not only handle homogeneous solution-based assays, but also solid particles, what exponentially increases the potentialities of this technique. Briefly, first a small amount of microspheres is loaded into a flow channel to build an analytical column. Then the solutions required for conditioning, interferences elimination and elution and the sample are perfused through it. Thus, the automated transport of solid materials in such systems allows their renewal at will and provides measurement, packing and perfusion of beads with samples and reagents with a high degree of repeatability. A schematic depiction of a typical LOV system with integrated column is presented in Fig. 2c.

Furthermore, LOV allows a considerable reduction of the column size and thus of the sorbent material required which in addition can be efficiently reused a great number of times as can be seen in Table 2. Thus, in the last few years many applications have been developed using this technique. For example, for strontium determination an automatic LOV system exploiting Sr resin managed to reuse the same column up to 30 times with a low resin consume (0.11 g) [17]. Same authors reduced the amount of resin used almost to 1/3 in a LOV method for uranium determination in comparison to a previously reported MSFIA method exploiting SPE in column

[12] and managed to reuse it up to 100 times without losing efficiency [28].

^{99}Tc determination in urine and environmental samples has also been automated by LOV exploiting 32 mg of the TEVA resin prior off-line liquid scintillation detection [23] and on-line ICP-MS [24], respectively. This small amount of resin was reused up to 100 times before automatic renewal and the sample volume could also be re-adjusted automatically what lead to really versatile and cost-effective ^{99}Tc analyzers.

Simultaneous separation and preconcentration of radionuclides in a single automatic procedure through LOV systems has resulted in fast and flexible tools allowing selective and sensitive monitoring of environmental radionuclides. The affinity of the UTEVA resin for nitrate complexes of actinide elements has been efficiently used to develop automatic systems for uranium and thorium selective extraction. Thorium and uranium were simultaneously eluted using $0.05 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ – $0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ and directly analyzed by ICP-MS [36] and sequentially eluted exploiting solutions with different concentrations of HCl and coupled to long path spectrophotometry [29]. Sr resin also permits sequential and simultaneous elution of Pb and Sr. Thus, an automatic LOV system for ^{90}Sr and ^{210}Pb determination was proposed by sequential elution with $0.02 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ and $0.06 \text{ mol L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$, respectively, and off-line detection using a liquid scintillation counter [21].

3.3. Sensors based on SPE

Sensors are constituted by a preconcentration mini-column packed with scintillating microspheres, which integrates radiochemical separation and radiometric detection steps within a single device [37]. A typical sensor is showed in Fig. 2d.

Scintillating microspheres with selective radionuclide uptake properties can be prepared by co-immobilization of scintillating fluors and selective organic extractants within the pores of an inert polymeric support. Since these sensors are built in flow mode, the sensing material can be regenerated or renewed on-line. The latter allows the use of materials that bind irreversibly to analytes or are unstable under regeneration conditions.

A sensor for ^{99}Tc analysis was successfully applied to groundwater samples from the Hanford site, using standard addition techniques for quantification [38]. This flow system was based on a SIA system and the use of injection valves. The sensor column flow cell was fabricated from a poly-methylmethacrylate (PMMA) block, with a volume of 212 μL . A frit disk was directly placed into the threaded outlet of the column bed channel in order to retain the scintillating sorbent beads within the sensor flow cell. The detection was performed using an on-line flow-through scintillation detector, in which the sensor flow cell assembly was positioned in the place of a conventional flow cell. To prevent stray light from entering the sensor flow cell assembly, black fluorinated ethylene propylene (FEP) Teflon tubing was used to construct inlet and outlet lines of the sensor flow cell. Using a 50 mL sample volume and a counting time of 30 min, the detection limit for ^{99}Tc was 6 Bq L^{-1} .

Later, an equilibrium-based sensor using a preconcentration mini-column for ^{99}Tc and ^{90}Sr determination was developed [39]. In this approach, a solution with a given analyte concentration was delivered through the mini-column until resin breakthrough was completed. The main advantage of this sensor lies in its capability of long-term application, since the precise volume delivery of the pump over time is not a factor of maintaining calibration, as occurs when using FIA technique, which requires periodic flow rates recalibration. This sensor was applied for the determination of ^{99}Tc using anion-exchange beads mixed with scintillating beads and light detection, and for ^{90}Sr using beads of a selective resin mixed with scintillating beads. The detector integration time was typically 1 min, and flow rates below 0.5 mL min^{-1} were required. In order to reach

the regulatory levels, a signal acquisition time of only 2 min was needed for ^{99}Tc , while a counting time of 20 h was required for ^{90}Sr . Nevertheless, a larger size sensor column could be implemented to speed up ^{90}Sr measurements. Other authors used SuperLig Sr-620 column for the quantification of ^{90}Sr in environmental samples monitoring it through the beta radiation of its daughter, ^{90}Y , which is highly energetic and generates cherenkov photons in aqueous medium. This enables its on-line detection, without the use of scintillating liquid resulting in a fully automatic system capable of handling high sample volumes (350 mL) [16].

Therefore, clearly advantages of SPE automation for radionuclides determination are the reduction of the analysis time, cost by process downscaling, and of the analyst's participation in the handling of samples and reagents, which is of special interest in the radiochemical field.

4. Automation of radionuclide liquid-liquid extraction (LLE)

Radionuclides extraction and preconcentration can also be carried out by LLE. LLE is a technique widely used for analyte separation and preconcentration based on the relative solubility of the analyte of interest in two immiscible liquids. Main limitations of classic LLE are the use of large amounts of organic solvents and time-consuming multistage manipulations. Despite being among the earliest techniques implemented in flow assemblies [40,41], as mentioned above solid-phase extraction has been more widely used for this purpose, given its advantages, e.g. easy implementation, high sample volume capability and long durability (Table 1). However, recently there have been interesting developments in LLE, e.g. the development of lab-in-syringe systems [8], which permit to carry out automatic LLE inside the syringe, saving time, reagents and solvents, and consequently reducing residues generation [42].

LLE in a flow-based system can be carried out in a pipette tip, in-syringe or by a wetting film. Thus, the selection of the material where the LLE will be carried out, i.e. plastic, Teflon, C18 or glass, will depend on the organic solvent used as extractant and the kind of LLE performed. Thus, if LLE is carried out by mixing aqueous and organic phases, it is preferred that no liquid remains adhered on the walls. Nonetheless, if a wetting film has to be used, the absorption of the extractant on the inert support should be taken into account. The selection of the extractant and the disperser solvent if used will depend on the radionuclide of interest, e.g. tri-*n*-octylphosphine oxide (TOPO) and tri-*n*-butyl phosphate (TBP) have been used as complexing ligands of uranium [43], while TBP in dodecane has been applied to extract uranium, thorium and plutonium [44,45].

4.1. Automated liquid-liquid microextraction of radionuclides

Automated liquid-liquid microextraction (LLME) is based on the use of small volumes of organic solvents as extractants what leads to high enrichment factors even with limited sample volumes.

LLME has been automated by using a wetting film and satisfactorily applied to environmental and biological samples in order to extract ^{90}Y and ^{90}Sr . In both methods, the extraction process was carried out in a pseudostationary phase or a coating film consisting in the extractant adhered on an inert support. In the case of yttrium, di-2-ethylhexylphosphoric acid (HDEHP) was the extractant adhered on C18 beads packed into a minicolumn [46]. The C18 beads could be reused up to 30 times and the organic film 10 times before renewing with high reproducibility and repeatability. The sample pretreatment throughput was 3 h^{-1} and it was easily on-line coupled to ICP-OES. However, if ^{90}Y was determined using a low background proportional counter a counting time of 500 min was required for samples with low activity. The extraction LLME protocol for ^{90}Sr was based on the formation of a pseudostationary

organic layer on the inner walls of PTFE tubing due to hydrophobic interactions [18]. 4,4'-(5')-bis(tert-butylcyclohexano)-18-crown-6 (BCHC) solution in 1-octanol was used as extractant for the selective isolation of strontium. Automation of LLE by this methodology allowed the reduction of sample and residual solvent volumes, an increase in sampling frequency, and the avoidance of organic vapors release.

On-line LLME can also encompass the mixture between the organic and the aqueous phases, in a pipette tip or in-syringe. After a contact time between the phases, usually assisted by flow movements or agitation systems to facilitate the mix, the mixture remains at rest allowing phases separation. As cited above the advent of the lab-in-syringe technique permitted the easy automation of LLME methods enhancing their reproducibility given the capacity of flow techniques to handle small volumes with accuracy and precision.

In this sense, a fully automated in-syringe uranium liquid-liquid microextraction method with magnetic stirring assistance (MSA) and spectrophotometric detection was developed and applied to a wide variety of environmental matrices [13]. Uranium was on-line extracted and back-extracted with cyanex-272 in dodecane and hydrochloric acid, respectively, within a glass syringe containing a magnetic stirrer for homogenization prior reaction with arsenazo-III and detection (Fig. 3). A multisyringe burette coupled to a selection valve was used to implement the whole method facilitating the development of a robust, portable, fast and sensitive method for uranium determination in a single instrumental assembly. As can be seen in Table 2, the method is sensitive enough to reach the reference values suggested by international regulations [47,48] being a useful tool for uranium monitoring and for field measurements what is of great interest in times of emergency and environmental contingency. Moreover, in the event the uranium content exceeded the threshold value, the spectrophotometric detection could be replaced by ICP-MS or radiometric detectors allowing isotopic analysis. In comparison with a previous work exploiting the same extractant, a significant reduction of cyanex-272 is achieved by the automation of the protocol [49]. Furthermore, as can be seen in Table 2 good results for the intra- and inter-day precision were accomplished thanks to the agitation system which provided an efficient washing of the inner walls of the syringe avoiding cross-over contamination between samples.

4.2. Automated dispersive liquid-liquid microextraction of radionuclides

Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) [50] is a fast microextraction technique based on the use of a ternary mixture, composed by an aqueous phase, an organic phase (extractant) and an additional organic solvent denoted as disperser solvent, which is miscible in both phases. Extractant and disperser solvent are usually mixed and injected rapidly into the sample, producing a turbulent mixture due to the formation of small droplets of the extractant throughout the aqueous sample enhancing the effective surface area of extraction. The separated extractant droplets are then allowed to settle at the bottom of the vial or float upon the aqueous sample-disperser phase, depending on the density of the extractant used. This technique has attracted much attention due to its simplicity and to the improved enrichment factors achieved. Furthermore, extraction times are usually short in DLLME since the extraction equilibrium is quickly reached due to the enhanced transfer area for the extraction.

Recently, a new approach exploiting lab-in-syringe DLLME for ^{99}Tc extraction and preconcentration from biological samples, i.e. urine and saliva, and liquid residues from treated patients has been developed [25]. This system is very simple comprising an eight-port multiposition selection valve connected to a multisyringe burette with programmable flow rates equipped with a 5 mL glass syringe

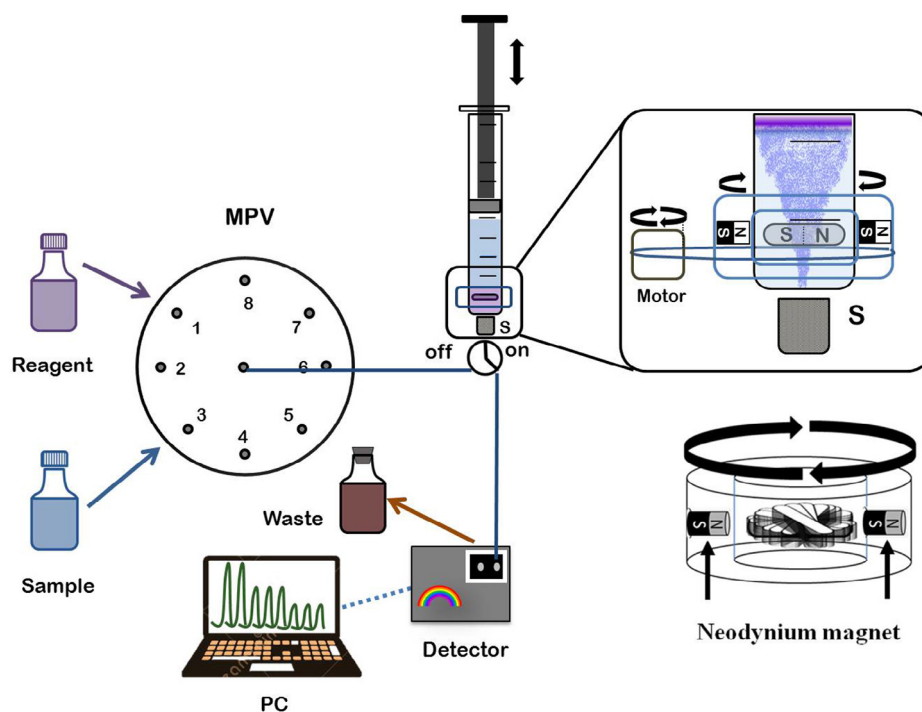


Fig. 3. Schematic depiction of a lab-in-syringe (LIS) magnetic stirring assisted (MSA) liquid-liquid extraction (LLE) system for radionuclides determination. MPV: multiposition valve, PC: personal computer, S: syringe.

which was used as mixing chamber and liquid driver. Liquid scintillation counting was used with a counting time of 1800 s. Aliquat[®]336 and acetone were selected as extractant and dispersant, respectively. Volumes of organic solvents and sample were reduced from one up to two orders of magnitude in comparison with previous works, and so the analysis environmental impact. In addition, this method provided several advantages such as simplicity of operation, rapidity, low cost, high recovery, precision and high enrichment factor. However, as can be seen in Table 2 when comparing this method with a previous one exploiting SPE for Tc determination [23], in the in-syringe DLLME method, the sample volume is limited to 3.5 mL while in the LOV-SPE method a sample volume of 100 mL can be preconcentrated achieving a two orders of magnitude higher preconcentration factor with the method exploiting SPE resulting in lower detection limits what is of great relevance when dealing with environmental samples. Nonetheless, automatic methods based on LLME techniques can be very useful when the amount of sample is limited such as when analyzing biological samples.

5. Conclusions

Automation of radiochemical analysis by flow analysis techniques provides several advantages in terms of cost, time and environmental efficiency, such as lower reagents consumption and so less radioactive waste production, faster methods and lower manipulation what improves method accuracy and the analyst safety. New trends tend toward miniaturization and the use of multicommutated flow techniques, such as LOV and LIS. SPE and LLE are the most common techniques used for radionuclide extraction and preconcentration in automated approaches. These have been successfully automated by flow analysis techniques. SPE provides better sensitivity due to larger sample volumes can be preconcentrated what is of great relevance in environmental monitoring. However, automated LLE provides simple and efficient radionuclide determination methods. Thus, flow analysis techniques

have proved to be efficient tools to automate radiochemical analysis. Even when just partial automation is possible due to the long counting times required, automation of the sample pretreatment has proved to be worth.

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (project CTM2013-42401-R) cofinanced by FEDER funds. R. Rodríguez acknowledges to the National Council of Science and Technology in Mexico (CONACYT) for the allowance of a grant. J. Avivar acknowledges to the Spanish Ministry of Science and Innovation for the financial support through the Torres Quevedo Programme (PTQ-2012-05755).

References

- [1] D.A. Atwood (Editor), *Radionuclides in the Environment*, Wiley & Sons, 2010.
- [2] V. Cerdà, L. Ferrer, J. Avivar, A. Cerdà, *Flow Analysis: A Practical Guide*, Elsevier Science, Netherlands, 2014.
- [3] Y. Fajardo, J. Avivar, L. Ferrer, E. Gómez, M. Casas, V. Cerdà, Automation of radiochemical analysis by applying flow techniques to environmental samples, *Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 1400–1408.
- [4] J. Ruzicka, G.D. Marshall, Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays, *Anal. Chim. Acta* 237 (1990) 329–343.
- [5] V. Cerdà, R. Forteza, J.M. Estela, Potential of multisyringe flow-based multicommutated systems, *Anal. Chim. Acta* 600 (2007) 35–45.
- [6] R.A.S. Lapa, J.L.F.C. Lima, B.F. Reis, J.L.M. Santos, E.A.G. Zagatto, Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities, *Anal. Chim. Acta* 466 (2002) 125–132.
- [7] J. Ruzicka, Lab-on-valve: universal microflow analyzer based on sequential and bead injection, *Analyst* 125 (2000) 1053–1060.
- [8] F. Maya, J.M. Estela, V. Cerdà, Completely automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction using solvents lighter than water, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 1383–1388.
- [9] K. Kołacińska, M. Trojanowicz, Application of flow analysis in determination of selected radionuclides, *Talanta* 125 (2014) 131–145.
- [10] O. Egorov, M. O'Hara, J.W. Grate, J. Ruzicka, Sequential injection renewable separation column instrument for automated sorbent extraction separations of radionuclides, *Anal. Chem.* 71 (1999) 345–352.

- [11] O. Egorov, M. O'Hara, J.W. Grate, Microwave-assisted sample treatment in a fully automated flow-based instrument: oxidation of reduced technetium species in the analysis of total technetium-99 in caustic aged nuclear waste samples, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3869–3877.
- [12] J. Avivar, L. Ferrer, M. Casas, V. Cerdà, Automated determination of uranium(VI) at ultra trace levels exploiting flow techniques and spectrophotometric detection using a liquid waveguide capillary cell, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 871–878.
- [13] R. Rodríguez, J. Avivar, L. Ferrer, L.O. Leal, V. Cerdà, Uranium monitoring tool for rapid analysis of environmental samples based on automated liquid-liquid microextraction, *Talanta* 134 (2015) 674–680.
- [14] SciFinder, <<http://scifinder.cas.org>> (accessed 31.08.15).
- [15] Y. Fajardo, E. Gómez, F. Mas, F. Garcías, V. Cerdà, M. Casas, Multisyringe flow injection analysis of stable and radioactive strontium in samples of environmental interest, *Appl. Radiat. Isot.* 61 (2004) 273–277.
- [16] M.J. O'Hara, S.R. Burge, J.W. Grate, Automated radioanalytical system for the determination of ^{90}Sr in environmental water samples by ^{90}Y cherenkov radiation counting, *Anal. Chem.* 81 (2009) 1228–1237.
- [17] R. Rodríguez, J. Avivar, L. Ferrer, L.O. Leal, V. Cerdà, Automated total and radioactive strontium separation and preconcentration in samples of environmental interest exploiting a lab-on-valve system, *Talanta* 96 (2012) 96–101.
- [18] M. Miró, E. Gómez, J.M. Estela, M. Casas, V. Cerdà, Sequential injection ^{90}Sr determination in environmental samples using wetting-film extraction method, *Anal. Chem.* 74 (2002) 826–833.
- [19] J.J. Mateos, E. Gómez, F. Garcías, M. Casas, V. Cerdà, Implementation of a sequential injection pre-treatment method for simultaneous radium and strontium determination, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 83 (2003) 515–521.
- [20] Y. Fajardo, E. Gómez, F. Garcías, V. Cerdà, M. Casas, Development of an MSFIA-MPFS pre-treatment method for radium determination in water samples, *Talanta* 71 (2007) 1172–1179.
- [21] M. Mola, J. Avivar, A. Nieto, A. Peñalver, C. Aguilar, L. Ferrer, et al., Determination of ^{90}Sr and ^{210}Pb in sludge samples using a LOV-MSFIA system and liquid scintillation counting, *Appl. Radiat. Isot.* 86 (2014) 28–35.
- [22] H.C. Wu, T.Y. Su, T.L. Tsai, S.B. Jong, M.H. Yang, Y.C. Tyan, Rapid determination of technetium-99 by automatic solid phase extraction and inductively coupled plasma mass spectrometry, *RSC Adv.* 4 (2014) 39226–39230.
- [23] M. Villar, J. Avivar, L. Ferrer, M. Galmés, F. Vega, V. Cerdà, Automatic and simple method for ^{99}Tc determination using a selective resin and liquid scintillation detection applied to urine samples, *Anal. Chem.* 85 (2013) 5491–5498.
- [24] R. Rodríguez, L. Leal, S. Miranda, L. Ferrer, J. Avivar, A. García, et al., Automation of ^{99}Tc extraction by LOV prior ICP-MS detection: application to environmental samples, *Talanta* 133 (2015) 88–93.
- [25] M. Villar, J. Avivar, L. Ferrer, T. Borràs, F. Vega, V. Cerdà, Automatic in-syringe dispersive liquid-liquid micro-extraction of ^{99}Tc from biological samples and hospital residues prior liquid scintillation counting, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 5571–5578.
- [26] J. Qiao, K. Shi, X. Hou, S. Nielsen, P. Roos, Rapid multisample analysis for simultaneous determination of anthropogenic radionuclides in marine environment, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 3935–3942.
- [27] Y. Fajardo, L. Ferrer, E. Gómez, F. Garcías, M. Casas, V. Cerdà, Development of an automatic method for americium and plutonium separation and preconcentration using a multisyringe flow injection analysis-multipumping flow system, *Anal. Chem.* 80 (2008) 195–202.
- [28] J. Avivar, L. Ferrer, M. Casas, V. Cerdà, Lab on valve-multisyringe flow injection system (LOV-MSFIA) for fully automated uranium determination in environmental samples, *Talanta* 84 (2011) 1221–1227.
- [29] J. Avivar, L. Ferrer, M. Casas, V. Cerdà, Smart thorium and uranium determination exploiting renewable solid-phase extraction applied to environmental samples in a wide concentration range, *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2011) 3585–3594.
- [30] F. Augusto, L.W. Hantao, N.G.S. Mogollón, S.C.G.N. Braga, New materials and trends in sorbents for solid-phase extraction, *Trends Anal. Chem.* 43 (2013) 14–23.
- [31] TrisKem International, <<http://www.triskem-international.com>> (accessed 11.12.15).
- [32] IBC Advanced Technologies, <<http://www.ibcmrt.com>> (accessed 11.12.15).
- [33] BioRad, <<http://www.bio-rad.com>> (accessed 11.12.15).
- [34] M. Hollenbach, J. Grohs, S. Mamich, M. Kroft, Determination of technetium-99, thorium-230 and uranium-234 in soils by inductively coupled plasma mass spectrometry using flow injection preconcentration, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 9 (1994) 927–933.
- [35] K. Tagami, S. Uchida, Comparison of the TEVA-Spec resin and liquid-liquid extraction methods for the separation of technetium in soil samples, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 239 (1999) 643–648.
- [36] J. Avivar, L. Ferrer, M. Casas, V. Cerdà, Fully automated lab-on-valve flow injection analysis-ICP-MS system: an effective tool for fast, sensitive and selective determination of thorium and uranium at environmental levels exploiting solid phase extraction, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 27 (2012) 327–333.
- [37] J.W. Grate, O. Egorov, M. O'Hara, T.A. DeVol, Radionuclide sensors for environmental monitoring: from flow injection solid-phase absorptiometry to equilibration-based preconcentrating minicolumn sensors with radiometric detection, *Chem. Rev.* 108 (2008) 543–562.
- [38] O. Egorov, S. Fiskum, M. O'Hara, J.W. Grate, Radionuclide sensors based on chemically selective scintillating microspheres: renewable column sensor for analysis of ^{99}Tc in water, *Anal. Chem.* 71 (1999) 5420–5429.
- [39] O. Egorov, M. O'Hara, J.W. Grate, Equilibration-based preconcentrating minicolumn sensors for trace level monitoring of radionuclides and metal ions in water without consumable reagents, *Anal. Chem.* 78 (2006) 5480–5490.
- [40] B. Karlberg, S. Thelander, Extraction based on the flow-injection principle Part I. Description of the extraction system, *Anal. Chim. Acta* 98 (1978) 1–7.
- [41] R.H. Atallah, G.D. Christian, S.D. Hartenstein, Continuous flow solvent extraction system for the determination of trace amounts of uranium in nuclear waste reprocessing solutions, *Analyst* 113 (1988) 463–469.
- [42] F. Maya, B. Horstkotte, J.M. Estela, V. Cerdà, Automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 1–8.
- [43] A.R. Ghiasvand, E. Mohagheghzadeh, Homogeneous liquid-liquid extraction of uranium(VI) using tri-n-octylphosphine oxide, *Anal. Sci.* 20 (2004) 917–919.
- [44] T. Kiliari, I. Pashalidis, Alpha spectroscopic analysis of actinides (Th, U and Pu) after separation from aqueous solutions by cation-exchange and liquid extraction, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 284 (2010) 547–551.
- [45] T. Kiliari, I. Pashalidis, Thorium determination in aqueous solutions after separation by ion-exchange and liquid extraction, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 288 (2011) 753–758.
- [46] Y. Fajardo, E. Gómez, F. Garcías, V. Cerdà, M. Casas, Multisyringe flow injection analysis of stable and radioactive yttrium in water and biological samples, *Anal. Chim. Acta* 539 (2005) 189–194.
- [47] World Health Organization (WHO), Guidelines for Drinking Water Quality, fourth ed., World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2011.
- [48] Environmental Protection Agency (EPA), Radiation protection: Uranium. <<http://www.epa.gov/radiation/radionuclides/uranium.html>> (accessed 22.05.15).
- [49] N.S. Madane, K.R. Nikam, K.R. Mahanwar, B.S. Mohite, Liquid-liquid extraction of uranium (VI) using cyanex 272 in toluene from sodium salicylate medium, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 288 (2011) 285–290.
- [50] M. Rezaee, Y. Assadi, M.R.M. Hosseini, E. Aghae, F. Ahmadi, S. Berijani, Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction, *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1–9.

CAPITULO 6

**SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN TOTALMENTE
AUTOMATIZADA DE ESTRONCIO TOTAL Y
RADIOACTIVO EN MUESTRAS DE INTERÉS AMBIENTAL
EXPLOTANDO EL USO DE UN SISTEMA LAB-ON-VALVE**

6.1 Introducción

Este capítulo presenta un método completamente automatizado para la extracción de estroncio total y radioactivo de muestras ambientales. El uso de una resina selectiva para estroncio ha permitido que los eluatos puedan medirse tanto en un ICP-OES para determinar la cantidad de Sr total, como en un detector radiométrico para medir la actividad del ^{90}Sr .

El nuevo sistema automático desarrollado para la determinación de estroncio en muestras ambientales, está basado en la técnica LOV. Gracias a la incorporación de una resina de extracción en fase sólida, se ha conseguido la automatización de los procesos de separación y preconcentración del estroncio en un tiempo de 11 min, lo que representa una gran ventaja comparado con los análisis manuales rutinarios, ya que el método propuesto es hasta dos veces más rápido. Dependiendo del detector utilizado, ya sea ICP-OES o contador proporcional de bajo fondo, se pueden determinar Sr total y ^{90}Sr , respectivamente.

El límite de detección y la actividad mínima detectable, tanto para la determinación de estroncio total como estroncio radiactivo, fueron de 1,78 ng y 0,006 Bq, respectivamente; mientras que la precisión de la metodología propuesta fue de 1,2% (n=10) con una frecuencia de análisis de 3 a 5 inyecciones por hora, dependiendo del volumen de muestra utilizado. Gracias a la posibilidad de variar los volúmenes, es posible analizar muestras que contengan entre 0,2 y 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de concentración de estroncio. El método ha sido aplicado con éxito en diferentes muestras de agua de interés ambiental, obteniéndose recuperaciones superiores al 90%.

Entre las ventajas del método propuesto pueden destacarse la mínima manipulación de la muestra, la drástica reducción de los volúmenes de fluidos (muestra y de reactivos), y la elevada repetitividad alcanzada, además de lograr una disminución significativa del tiempo y del costo por cada uno de éstos.

6.2 Artículo original



Automated total and radioactive strontium separation and preconcentration in samples of environmental interest exploiting a lab-on-valve system

Rogelio Rodríguez^a, Jessica Avivar^b, Laura Ferrer^b, Luz O. Leal^{a,*}, Victor Cerdà^c

^a Renewable Energy and Environmental Protection Department, Advanced Materials Research Center (CIMAV) S.C., Miguel de Cervantes 120, Chihuahua, Chih. 31109, Mexico

^b Environmental Radioactivity Laboratory, University of the Balearic Islands, Cra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma, Spain

^c Department of Chemistry, University of the Balearic Islands, Cra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Available online 19 November 2011

Keywords:

Strontium
LOV
Environmental samples
Solid phase extraction
ICP-OES
Low background proportional counter

ABSTRACT

A novel lab-on-valve system has been developed for strontium determination in environmental samples. Miniaturized lab-on-valve system potentially offers facilities to allow any kind of chemical and physical processes, including fluidic and microcarrier bead control, homogenous reaction and liquid–solid interaction. A rapid, inexpensive and fully automated method for the separation and preconcentration of total and radioactive strontium, using a solid phase extraction material (Sr-Resin), has been developed. Total strontium concentrations are determined by ICP-OES and ⁹⁰Sr activities by a low background proportional counter. The method has been successfully applied to different water samples of environmental interest. The proposed system offers minimization of sample handling, drastic reduction of reagent volume, improvement of the reproducibility and sample throughput and attains a significant decrease of both time and cost per analysis. The LLD of the total Sr reached is 1.8 ng and the minimum detectable activity for ⁹⁰Sr is 0.008 Bq. The repeatability of the separation procedure is 1.2% ($n = 10$).

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Strontium has four stable isotopes and several that are radioactive. The most significant strontium radioisotopes in the environment are ⁸⁹Sr and ⁹⁰Sr (beta emitters), because both are fission products with longer half-lives than the other radioisotopes. The main source of radiostromium in the environment was atmospheric nuclear weapons testing. Strontium isotopes have biological significance because they are alkaline earth metals, and chemical analogs of calcium. Therefore, strontium can replace calcium in the biosphere and, through the food chain, reach humans, in whom it has a long residence time [1]. Thus, once strontium is assimilated, it is mainly accumulated in the bones. Stable and radioactive isotopes have been the subject of many investigations related to the treatment of bones [2], forensic science [3], archeology [4], the understanding of marine life [5] and cancer studies since radiostromium damages the genetic material (DNA) [6], so its determination is of great interest not only in environmental samples but also in many other areas of knowledge.

In order to reduce the risk in the manipulation of radioisotopes in environmental samples, to improve the analysis time and to decrease the sample and reagent consumption, and so the

radioactive waste generation, flow-analysis techniques have been widely and successfully applied to determine radioactive elements [7]. The combination of classical methods with modern instrumentation makes possible the total or partial automation of many conventional analytical methods in the radiochemical field, which, in practice, leads to simplicity, reliability and an improvement of the safety of the analyst. In particular, lab-on-valve (LOV) [8,9] brings to flow-based analysis the third generation, which significantly facilitates integration of various analytical units in the valve and provides great potential for miniaturization of the entire instrumentation. Moreover, its flexible fluid manipulation is suitable for delivering beads in flow-based manifolds (i.e. precise fluid manipulation by the LOV system and the channel configuration also make it a powerful platform for bead injection (BI)). In combination with the renewable surface concept, BI has been widely exploited for separation and preconcentration of analytes in the presence of complex matrix components [8]. Most importantly, the automated transport of solid materials in such a system allows their renewal at will and thus provides a high degree of repeatability.

The inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) technique which offers fast multi-elemental analysis suffers from a poor sensitivity, because the concentration of some metals in environmental samples is below the detection limit of ICP-OES. To solve this problem, preconcentration separation procedures have been proposed [10]. ICP-OES is a detection technique that allows measuring total strontium (stable and radioactive) and possible interfering metals, being a useful screening tool.

* Corresponding author.

E-mail address: luz.leal@cimav.edu.mx (L.O. Leal).

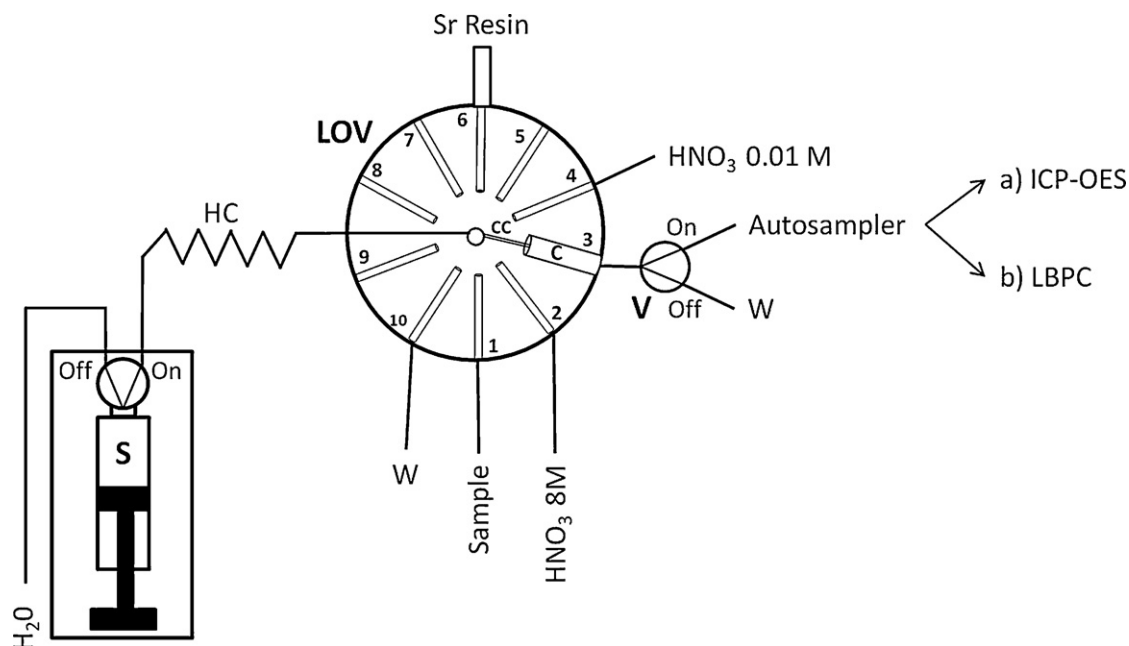


Fig. 1. Lab-on-valve system for strontium isolation and preconcentration: (a) ICP-OES total Sr determination and (b) low background proportional counter (LBPC) ^{90}Sr determination. S, syringe; LOV, lab-on-valve; HC, holding coil; V, solenoid valve; C, column; CC, central conduit; W, waste.

Low background proportional counters are an excellent detection technique for radioactive isotopes of strontium. However, this technique is rarely used for direct radiometric detection of beta emitters, because of its low capacity to discriminate between different beta particles. Since, beta particles from a single isotope are emitted with a range of energies, giving a spectrum that overlaps with those of other beta-emitting radioisotopes. So, beta emitters normally have to be previously isolated [7].

Solid phase extraction (SPE) is a widely used technique for the isolation and preconcentration of compounds or species from liquid samples, due to the short time required for extraction and the ease of handling [11]. Sr-Resin was selected as solid phase extraction material in the present work, since this resin is a high selective chromatographic material for Sr. Strontium extraction mechanism is based on nitrate complex formation.

Thus, the main aim of this work was the development of a rapid, selective, sensitive and automated method for the separation and preconcentration of total and radioactive strontium. Therefore, in this paper, a LOV system exploiting a solid phase extraction material (Sr-Resin) is presented.

2. Experimental

2.1. Reagents and standard solutions

All solutions were prepared from analytical grade reagents with Millipore quality water. Stock strontium standard solutions were prepared from $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ 99%, Merck by appropriate dilution with $8 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$.

Reagents and materials included HNO_3 65% Scharlau (Barcelona, Spain), $203.1 \pm 0.3 \text{ Bq g}^{-1} \text{ }^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ in equilibrium secular, prepared in $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$, certified by CIEMAT (Madrid, Spain, ref.1375/85298/99/MRI99N66). Sr-Resin 50–100 μm from Triskem Industries (France) and glass fiber prefilters from Millipore (Madrid, Spain).

All glassware were carefully cleaned, soaked in 10% (v/v) HNO_3 during 24 h and rinsed with Millipore water.

2.2. Samples

All water samples, mineral water, tap water, well water and seawater, were prepared in a final solution of $8 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$. Groundwater and seawater were filtered through a membrane of 0.45 μm .

2.3. Manifold and software

The LOV system used is shown in Fig. 1. The LOV microconduit (Sciware, Palma de Mallorca, Spain), fabricated from methacrylate encompassing ten integrated microchannels (1.5 mm i.d./16.0 mm length, excepting the bead column channel made of 3.2 mm i.d.), was mounted atop of a ten-port multiposition selection valve (Crisson Instruments, Barcelona, Spain).

The central port of the valve in the LOV system was connected to a 10 mL glass syringe (Hamilton, Switzerland) via a holding coil. The extraction system is a column located at the channel 3 of the LOV. The column is packed with 0.11 g of Sr-Resin (particle size 50–100 μm), achieving an adequate compaction grade to avoid overpressures in the system. To contain the sorbent within the cavity of the LOV module and prevent it from escaping, the outlet of the column was furnished with a glass fiber prefilter (Millipore) retaining the beads while allowing the solution to flow freely. The suspension of extraction chromatographic resin was contained in a 5 mL plastic syringe, which was mounted vertically on port 6 of the integrated microsystem. Peripheral port configuration was: port 2 ($8 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$), port 4 ($0.01 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$), port 1 (sample) and port 10 (waste).

Port 3 is connected to a solenoid commutation valve V (MTV-3-N 1/4 UKG; Takasago, Japan) which helps drive the flow in the desired way (on: in line flow to sample collector; off: to waste).

The glass syringe is used as liquid driver and is mounted in a multi-syringe burette (BU4S; Crison Instruments, Barcelona, Spain) with programmable flow rates. The syringe has a three-way solenoid valve (N-Research, Caldwell, NJ, USA) at the head, which facilitates

the application of multicommutation schemes (on: in-line flow; off: to reservoir).

The flow network is constructed with 0.8 mm internal diameter PTFE tubing. The holding coil is constructed with 1.5 mm internal diameter PTFE tubing, corresponding to a volume of 8.5 mL. All connections are made by means of PVDF connectors.

The method and all instruments used to perform the extraction are automatically controlled by the software package AutoAnalysis 5.0 (Sciware, Palma de Mallorca, Spain)¹ [12]. The distinctive feature of this software based on dynamic link libraries (DLLs) at 32 bits is the possibility of using a single and versatile application without further modification for whatever instrumentation and detection system needed. It involves a basic protocol which allows the implementation of specific and individual DLLs, addressing the configuration of the assembled flow analyzer.

The detectors used in this work were an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES, Optima 5300 DV, Perkin Elmer® Inc.) equipped with a Gem Tip Cross-flow pneumatic nebulizer (Waltham, MA, USA) and a low background proportional counter (Tennelec LB 4100) equipped with eight detectors, for total and radioactive strontium, respectively. Determination of total strontium was carried out by ICP-OES using next instrumental operating conditions: RF generator power 1300 W, frequency of RF generator 40 MHz, plasma argon flow 15 L min⁻¹, nebulizer argon flow 0.8 L min⁻¹, auxiliary argon flow 0.5 L min⁻¹, integration time 5 s and aspiration rate 1.5 mL min⁻¹. Wavelength (nm) for intensity measurements was 407.7 nm. All measurements were run in triplicate. While for the measurement of radioactive strontium a voltage of 1600 volt and a counting time of 1000 min were used.

2.4. Column conditioning

The extractant of the Sr-Resin is a crown-ether (4,4'(5')-di-*t*-butylcyclohexano-18-crown-6) diluted in octanol [13,14]. It forms nitrate complexes with strontium. The formation of these complexes depends on the concentration of nitrate in the sample solution. The functionality of this resin has allowed its application to isolate and preconcentrate strontium in a variety of systems [15].

The resin needs to be conditioned with nitric acid of the same concentration as the sample medium. Optimal acid concentration for the retention of strontium is 8 mol L⁻¹, according to a previous work [16] and specifications of the manufacturer [15]. Thus, the resin is left at the syringe mounted as a bead reservoir in port 6 of the LOV with 8 mol L⁻¹ HNO₃ solution. Once the resin is ready, on-column extraction and isolation of strontium are carried out automatically, ensuring high repeatability between replicates.

2.5. Analytical procedure

The complete operational sequence for strontium isolation and preconcentration is listed in Table 1, and summarized as follows:

1. Load of resin: the column is automatically loaded with resin. First, resin is loaded into the HC from the resin reservoir (port 6) which contains a saturated solution of the resin and dispensed at port 3 with V-off (to waste) to fill the column.
2. Conditioning of Sr-Resin: the CC is connected to port 2 to aspirate 2 mL of 8 mol L⁻¹ HNO₃ into the HC. Then it moves to port 3 and the HNO₃ is propelled toward the column at a flow rate of 2 mL min⁻¹. V is deactivated (V-off, to waste).

Table 1
Automated procedure for strontium separation and preconcentration.

Step	Flow rate (mL min ⁻¹)	LOV position	V
Resin loading			
(a) Loading beads into HC	5	6	Off
(b) Filling the column	2	3	Off
Conditioning of Sr-Resin			
(a) Loading 2 mL of 8 mol L ⁻¹ HNO ₃ into HC	5	2	Off
(b) Rinsing 2 mL on the column	2	3	Off
Sample loading			
(a) Loading X mL sample into HC	5	1	Off
(b) Rinsing X mL on the column	0.6	3	Off
Elimination of interferences			
(a) Loading 0.5 mL of 8 mol L ⁻¹ HNO ₃ into HC	5	2	Off
(b) Rinsing 0.5 mL on the column	2	3	Off
Elution of strontium			
(a) Loading 5.125 mL of 0.01 mol L ⁻¹ into HC	5	4	Off
(b) Rinsing on the column	2	3	On
Change of sample			
(a) Loading 1 mL of new sample into HC	5	1	Off
(b) Discarding 2 mL to the waste	5	10	Off
Beads replacing			
(a) Loading old beads into HC	5	3	Off
(b) Discarding old beads	5	10	Off
(c) Loading new beads into HC	5	6	Off
(d) Filling the column	2	3	Off

3. Sample loading: once the column is ready, X mL of standard or sample (port 1) is dispensed toward the column (port 3) at a flow rate of 0.6 mL min⁻¹.
4. Elimination of interferences: the CC is connected to port 2 to aspirate 0.5 mL of 8 mol L⁻¹ HNO₃ into the HC. Then it moves to port 3 and the HNO₃ is propelled toward the column at a flow rate of 2 mL min⁻¹.
5. Elution of Sr: at this point all the strontium retained on the column is eluted. 5.125 mL of 0.01 mol L⁻¹ HNO₃ (port 4) are loaded into the HC and V is activated (V-on) to propel the eluent (5.125 mL of 0.01 mol L⁻¹ HNO₃) through the column (port 3) at a flow rate of 2 mL min⁻¹.
6. Change of sample: in order to avoid memory effects, 1 mL of the new sample is aspirated (port 1), and 2 mL are discarded toward waste (port 10).
7. Change of the resin: applicable when required depending on the sample matrix. The column is regenerated by replacing the resin automatically. First, the old resin is loaded into the HC and sent to waste (port 10), then new resin is loaded into the HC from the resin reservoir (port 6) which contains a saturated solution of the resin and dispensed at port 3 with V-off (to waste) to fill the column.

3. Results and discussion

3.1. Flow system set-up

Some advantages of this "lab-on-valve" system are compactness and the permanent rigid position of the sample processing channels that ensure repeatability of microfluidic manipulations. The LOV system has a glass syringe for driving fluids. A three-way solenoid valve is placed at the head of the syringe, allowing load and dispense of solutions due to its bidirectional operation. The external solenoid valve directs the liquid to the collector (on position) or to the waste bottle (off position), with great precision and reproducibility. This allows drastic reduction of reagents consumption, waste generation, reduction of resin consumption and time saving in relation to manual methodologies, whose operations can last days against an

¹ The software used in this work can be obtained on request. <http://www.sciware-sl.com/>.

injection frequency of 3–5 injection h^{-1} , depending on the sample volume. Besides, the proposed LOV system is able to renew the solid phase extraction at will in a fully automated way, without requiring the analyst intervention, resulting in higher reproducibility and repeatability.

Regarding detectors, on the one hand, in this work, the ICP-OES is used as a screening tool for total Sr determination in environmental samples, which allows to find out quickly the existence and content of total Sr, avoiding unnecessary and time consuming operations when not required. On the other hand, in order to obtain specifically the activity of ^{90}Sr a low background proportional counter is used after the separation procedure, the eluted fraction is evaporated over a stainless-steel planchet, for further determination of ^{90}Sr beta activity.

3.2. Optimal working conditions

In order to find the best operational conditions for separation and preconcentration of ultra-trace levels of strontium with the proposed LOV system, optimization steps were performed using multivariate techniques.

The optimization was carried out with the statistical software Minitab® 15. All measurements in the experimental design were made for total strontium by ICP-OES.

The optimization methodology started with a screening to study the independent variables and their possible interactions by a full factorial design [17]. In all cases, three center points were included, to identify any irregularities, such as loss of linearity in the center of the interval. The independent factors studied were: eluent volume (1–6 mL), eluent concentration (0.01–0.05 mol L^{-1}) and elution flow rate (0.6–2 mL min^{-1}). Results showed that the curvature and two of the three variables studied, volume and concentration of the eluent, were significant.

Then, these significant variables were optimized with a response surface design [18], using a face centered central composite design. A total of 11 experimental runs were conducted to optimize the experimental conditions. Critical values were obtained for these two variables, eluent concentration – 0.01 mol L^{-1} and eluent volume – 5.125 mL, which were used for further assays.

3.3. Analytical parameters

A mass calibration curve for total strontium (absolute intensity versus mass in ng Sr), with a statistically satisfactory fit was obtained ($y = 3484x + 17,294$, $R^2 = 0.9987$, $n = 10$). Under the optimum conditions described above the mass calibration curve is linear over the range 0–500 ng Sr.

The limit of detection achieved is 1.8 ng for total Sr, calculated from three times the standard deviation of ten replicates of the blank divided by the slope of the calibration curve [19,20]. So with this method, the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) [6] reference value for total strontium could be easily measured. The minimum detectable activity (MDA) of 0.008 Bq for ^{90}Sr was calculated according to the recommendations of ISO 11929 [21] for a confidence level of 95%. So the World Health Organization (WHO) reference value of ^{90}Sr can be also easily measured [22].

The proposed method is effective even for a sample volume of 8 mL having a recovery above 90%. Thus, the present system is able to work in a wide range of concentrations, since the loaded sample volume can vary from 0.1 to 8 mL, allowing the analysis of samples with Sr content between 0.2 and 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$.

The preconcentration factor for the low background proportional counter is 8, and for ICP-OES is 1.6. Despite not being very

Table 2
Analytical parameters of the proposed method.

Analytical parameters	
Detection limit	1.8 ng
Regression coefficient ($n = 10$)	0.9987
Repeatability ($n = 10$)	1.2%
Reproducibility ($n = 5$)	2.6%
Resin durability	30 injections
Sample volume	0.1–8 mL
Sensitivity	3484 IU ng^{-1}
Linear working range	0–500 ng
Sample concentration range	0.2–5000 $\mu\text{g L}^{-1}$
Injection throughput	3–5 h^{-1}

Table 3
Analysis of water samples by ICP-OES (total strontium).

Sample	Added Sr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Found Sr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recovery (%)
Tap water 1	0	708 ± 17	94
	50	755 ± 14	
Tap water 2	0	416 ± 22	92
	50	461 ± 16	
Mineral water	0	33.3 ± 0.8	105
	50	87.3 ± 2.0	
Groundwater	0	305 ± 8	90
	50	351 ± 6	

Results are expressed as the mean value ± standard deviation ($n = 3$). Samples are prepared in nitric acid 8 mol L^{-1} .

high, is an added advantage to the isolation of Sr. Table 2 shows the analytical figures of merit of the present work.

The functional lifetime of the column depends on the repeatability of the methodology, i.e. the number of tests or injections that can be done with the same resin present in the column without affecting its functionality. Results obtained in more than 100 analyses revealed an analyte recovery higher than 90% over the first 30 injections with a RSD of 4%. Therefore, replacing the resin after 30 injections is recommended to prevent a deficiency in its functionality.

The proposed LOV system is able to renew the solid phase extraction at will in a fully automated way, without requiring the analyst intervention, resulting in a high reproducibility and repeatability. The reproducibility of the method, RSD 2.6%, was determined from results obtained on different working days, changing the packing of the resin column and using a solution which contained 50 ng of total strontium, so the resin replacement effect is included in the RSD given.

3.4. Interferences

The interfering elements studied were selected taking into account a previous work [16] and the characteristics of the resin, since active sites of the resin can be affected and retention can be reduced [15]. Thus, Ca (0–400 mg L^{-1}), Mg (0–50 mg L^{-1}), K

Table 4
Analysis of water samples by low background proportional counter for ^{90}Sr .

Sample	Added ^{90}Sr (Bq)	Found ^{90}Sr (Bq)	Recovery (%)
Tap water	0	<MDA	94
	0.050	0.047 ± 0.006	
Groundwater	0	<MDA	100
	0.050	0.050 ± 0.006	
Seawater	0	<MDA	94
	0.050	0.046 ± 0.006	

Results are expressed as the activity ± uncertainty. Water samples are prepared in nitric acid 8 mol L^{-1} .

Table 5
Comparison with previous works based on flow analysis-SPE.

Flow technique	Injection throughput (h ⁻¹)	Resin used ^c (g)	Resin durability (injections)	Sample used (mL)	MDA ⁹⁰ Sr (Bq)	LODSr (μg L ⁻¹)	Refs.
SIA	1.5	0.1155	15	0.1 ^b	2.62	NA	[27]
SIA	2.7	0.2739	30	0.1 ^b	4.17	NA	[28]
MSFIA	2	0.1000	30	2	0.01	10	[16]
LOV	3–5 ^a	0.1100	30	0.1–8 ^a	0.008	1.8	Proposed method

^a Depending on sample volume to preconcentrate.

^b Nuclear power plant waste.

^c Sr-Resin by Triskem International, France.

(0–400 μg L⁻¹), Ba (0–100 μg L⁻¹) and Pb (0–100 μg L⁻¹) were considered, as they are common metallic cations found in environmental samples. Interferences are considered significant when the analytical signal variation is greater than ±10%.

Results showed no significant interference in the ranges of concentration studied for K, Ba and Pb, while Mg and Ca cause interference above 20 mg L⁻¹ and 30 mg L⁻¹, respectively.

3.5. Application to natural samples

The developed method was evaluated by analyzing different water matrices. Results of analysis for three replicates ($n=3$) for total Sr by ICP-OES are shown in Table 3, while the results of ⁹⁰Sr using a low background proportional counter are shown in Table 4.

In the case of total Sr, water samples were prepared in 8 mol L⁻¹ HNO₃, and a known concentration of strontium (50 μg L⁻¹), obtained from the corresponding standard, was added. Results reveal a positive recovery, over 90% in all cases. Results obtained of total Sr in water matrices agree with the values normally found, up to 1 mg L⁻¹ in drinking water [6] and ppm (mg L⁻¹) levels in groundwater [23,24]. Seawater sample showed significant interferences when determining total Sr by ICP-OES. These interferences could be caused by the proximity between the wavelengths of Ca and Sr.

In order to validate the proposed method, water samples prepared in 8 mol L⁻¹ HNO₃ were also spiked with the certified ⁹⁰Sr standard with an activity of 0.05 Bq ⁹⁰Sr. Recoveries were satisfactory, over 90% in all cases. The Bateman equation was used at two different times for calculation of ⁹⁰Sr activity. That is to say, total beta activity (⁹⁰Sr activity and its daughter ⁹⁰Y) was measured at two different times: one along the first day after the separation process and another a week later; the solution of the Bateman equations allow to obtain the initial ⁹⁰Sr–⁹⁰Y activities [25]. Results are expressed as activity ± uncertainty. The uncertainty (95% confidence level, $k=2$) was calculated according to the recommendations of ISO [26]. In the case of ⁹⁰Sr, seawater sample could be satisfactorily analyzed, indicating the good performance of the SPE and that the interference problem cited above was due to the detector (ICP-OES).

3.6. Comparison with previous works based on flow analysis-SPE

A comparison of the main figures of merit of various representative works is presented in Table 5.

There are a few methods developed in a flow-based approach exploiting SPE for strontium determination, and only one was designed to perform both determinations, total and radioactive strontium, with the same system [16] like the proposed method.

The amount of resin consumed is similar to the SIA [27] and MSFIA methods and 2.5 times lower than in the other SIA method [28]. The resin can also be reused 30 times. The most prominent feature of the proposed method, inherent to the LOV technique, is the automated renewal of the resin, which is not present in previous works.

The injection throughput is up to two times higher than in previous flow-based works, and of course, much higher than in manual approaches for Sr separation.

The detection limit for total strontium is five times lower than the obtained in a previous MSFIA method [16]. The MDA for ⁹⁰Sr is similar to the one obtained in this MSFIA system and between 330 [27] and 500 [28] times smaller than in the remaining methods. It is also worth to highlight that the volume of sample required is quite low, and similar to the volume used at the methods applied to nuclear power plant waste.

4. Conclusions

The proposed procedure was successfully applied to total strontium determination at trace levels by ICP-OES and to ⁹⁰Sr activities by a low background proportional counter. The method has been applied to different water samples of environmental interest. Besides, with the proposed method it is possible to analyze total and radioactive Sr in drinking waters achieving the reference levels established by the ATSDR and the WHO.

The main achievements of the proposed method are the improved LOD and MDA with respect to previous works for total and radioactive strontium determination, the automation of the column replacement provided by the BI and the cost reduction per analysis due to the long durability of such small amount of resin.

Furthermore, among others advantages the proposed method offers high precision and reproducibility, reduction of the time spent, minimization of sample and reagents required in the analysis, and above all the improvement in the safety, what is of high relevance when manipulating radioactive isotopes.

Acknowledgements

This work was funded by the Spanish Ministry of Science and Innovation through project CTQ2010-15541. R. Rodríguez acknowledges to the National Council of Science and Technology in Mexico (CONACYT) for the allowance of a grant.

References

- [1] D.A. Atwood, Radionuclides in the Environment, Wiley & Sons, 2010.
- [2] W.M. Lam, H.B. Pan, M.K. Fong, W.S. Cheung, K.L. Wong, Z.Y. Li, K.D.K. Luk, J. Biomed. Mater. Res. 96B (2011) 76–83.
- [3] M.D. Pérez-Cárceles, A. Sibón, M.L. Gil del Castillo, M.A. Vizcaya, E. Osuna, T. Casas, J.L. Romero, A. Luna, Biol. Trace Elem. Res. 126 (2008) 27–37.
- [4] K.M. Frei, R. Frei, U. Mannerling, M. Gleba, M.L. Nosch, H. Lyngstrøm, Archaeometry 51 (2) (2009) 252–276.
- [5] M.R. Lowe, D.R. DeVries, R.A. Wright, S.A. Ludsin, B.J. Fryer, J. Fish. Aquat. Sci. 66 (2009) 2174–2188.
- [6] ATSDR, Toxicological profile for strontium Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, 2004.
- [7] Y. Fajardo, J. Avivar, L. Ferrer, E. Gómez, M. Casas, V. Cerdà, Trends Anal. Chem. 29 (2010) 1399–1408.
- [8] J. Ruzicka, Analyst 125 (2000) 1053–1060.
- [9] J. Wang, E.H. Hansen, Trends Anal. Chem. 22 (2003) 225–231.
- [10] R.J.C. Brown, M.J.T. Milton, Trends Anal. Chem. 24 (2005) 266–274.
- [11] C.F. Poole, Trends Anal. Chem. 22 (2003) 362–373.
- [12] E. Becerra, A. Caldera, V. Cerdà, Lab. Rob. Autom. 11 (1999) 131–140.

- [13] E.P. Horwitz, H.L. Dietz, D.E. Fisher, *Anal. Chem.* 63 (1991) 522–525.
- [14] E.P. Horwitz, R. Chiarizia, H.L. Dietz, *Solvent Extr. Ion Exch.* 10 (1992) 313–336.
- [15] Triskem International, France, <http://www.triskem-international.com/>.
- [16] Y. Fajardo, E. Gomez, F. Mas, F. Garcias, V. Cerdà, M. Casas, *Appl. Radiat. Isot.* 61 (2004) 273–277.
- [17] P.W. Araujo, R.G. Brereton, *Trends Anal. Chem.* 15 (1996) 26–31.
- [18] P.W. Araujo, R.G. Brereton, *Trends Anal. Chem.* 15 (1996) 63–70.
- [19] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Anal. Chem.* 55 (1983) 712–724.
- [20] J.C. Miller, J.N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited 2000, 2005.
- [21] ISO, International Organization for Standardization, Determination of the Detection Limit and Decision Threshold for Ionizing Radiation Measurements. Part 1, 2, 3, 4: ISO 11929, ISO, Geneva, 2000.
- [22] WHO, World Health Organization, Guidelines for Drinking – Water Quality, 3rd ed., 2008, Geneva.
- [23] S.S. Dogramaci, A.L. Herczeg, *J. Hydrol.* 262 (2002) 50–67.
- [24] M. Pennisi, G. Bianchini, A. Muti, W. Kloppmann, R. Gofiantini, *Appl. Geochem.* 21 (2006) 1169–1183.
- [25] J.J. Mateos, E. Gómez, F. Garcías, M. Casas, V. Cerdà, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 83 (2003) 515–521.
- [26] ISO, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, 1993/1995, Geneva.
- [27] J.W. Grate, O.B.R. Strebin, J. Janata, O. Egorov, J. Ruzicka, *Anal. Chem.* 68 (1996) 333–340.
- [28] J.W. Grate, S.K. Fadeff, O. Egorov, *Analyst* 124 (1999) 203–210.

6.3 Información adicional sobre la optimización

En primer lugar se realizó un análisis de cribado de las variables independientes o *screening*, y a continuación, con las variables o sus interacciones que fueron significativas, se llevó a cabo la optimización con un diseño CCD. En todos los casos se incluyeron tres puntos centrales para estimar el error, la pérdida de linealidad en el centro del intervalo, y además determinar los intervalos de confianza del modelo seleccionado.

Para el *screening* se realizó un diseño factorial completo (*Full factorial*) 2^k , donde k es el número de factores. Con los resultados del *screening* se evaluaron las variables a ser consideradas para los ensayos de superficie-respuesta, mediante el gráfico de Pareto y la tabla de ANOVA. .

Las variables de interés se determinaron tomando como referencia algunos trabajos previos, así como también las características propias de la resina empleada para la retención del estroncio. La afinidad del estroncio a la Sr-Resin se incrementa en un medio ácido de 3 a 8 mol L⁻¹ de HNO₃, mientras que ésta decrece notablemente en el orden de concentración de 10⁻² hasta los 10¹ mol L⁻¹ del mismo ácido.

Para acondicionar la resina y lograr una óptima retención del estroncio, la concentración de ácido nítrico empleada fue de 8 mol L⁻¹. Las variables y sus niveles que se buscaron evaluar se muestran en la **Tabla 6.1**, donde para cada factor se especificaron tres niveles incluyendo el punto central, que corresponde a la corrida experimental determinada por el valor medio entre los niveles alto y bajo de cada factor.

Tabla 6.1. Factores a optimizar.

<i>Variables</i>	<i>Nivel Bajo (-1)</i>	<i>Punto Central (0)</i>	<i>Nivel Alto (1)</i>	<i>Unidades</i>
Concentración	0,01	0,03	0,05	<i>mol L⁻¹</i>
Vol. eluyente	1	3.5	6	<i>mL</i>
Caudal elución	0,6	1,3	2	<i>mL min⁻¹</i>

6.3.1 Análisis de cribado o screening

Como respuesta se utilizó la intensidad absoluta de Sr total medido con ICP-OES. Es importante mencionar que el propósito fundamental de la optimización fue el de maximizar la respuesta, es decir, conseguir una separación máxima del estroncio del resto de la matriz de la muestra y una máxima elución del estroncio retenido en la columna de extracción.

Una vez definidas las variables a optimizar, se estableció un diseño factorial completo para tres factores con 2 niveles, agregando 3 puntos centrales, mediante el software estadístico Minitab 15¹. Por lo tanto, se realizaron once experimentos, cuyo orden, configuración y respuesta se muestran en la **Tabla 6.2**.

Tabla 6.2. Orden de los experimentos, niveles estudiados y respuesta.

<i>Experimento</i>	<i>Concentración del eluyente</i>	<i>Volumen del eluyente</i>	<i>Caudal elución</i>	<i>Intensidad absoluta</i>
5	1	1	-1	98389
4	1	-1	-1	35609
10	-1	-1	1	38959
11	0	0	0	98107
7	-1	1	-1	122051
2	1	1	1	94307
6	-1	-1	-1	39067
3	0	0	0	99616
9	1	-1	1	41341
8	0	0	0	97187
1	-1	1	1	122840

Los niveles se expresan codificados para los niveles bajo, central y alto, como -1, 0 y 1 respectivamente, cuyos valores reales se muestran en la **Tabla 6.1**.

[1] Minitab Inc, Minitab Statistical Software (State College PA, Pennsylvania, USA, 2006)

De las variables estudiadas, se seleccionaron la concentración y volumen de eluyente para buscar los valores óptimos dentro del dominio experimental estudiado. Los resultados presentados en la **Tabla 6.3** muestran que el factor caudal de elución no ejerce un efecto significativo sobre la respuesta, dentro del rango estudiado.

El gráfico de Pareto (**Figura 6.1**) proporcionó la importancia relativa de los efectos individuales y de sus interacciones colocando los valores absolutos de los efectos en orden decreciente. La línea de referencia en la gráfica indica cuáles efectos son significativos y corresponde a un α del 5%, por lo tanto, indica el efecto mínimo significativo para un nivel de confianza del 95%. La longitud de las barras horizontales son proporcionales a los valores de t-Student para cada efecto, y cualquier efecto o interacción que exceda dicha línea es considerado significativo. En resumen, el gráfico de Pareto muestra cuáles factores tienen un efecto significativo sobre la retención del estroncio, y cuáles factores pueden variarse sin afectar la respuesta. Se observa que la concentración del eluyente, el volumen de elución y su interacción, son factores significativos que tienen una influencia sobre la retención y elución del estroncio.

Tabla 6.3. P-Value de los efectos de los factores.

<i>Variable</i>	<i>Efecto</i>	<i>T</i>	<i>P</i>
Constante		170,8	0
Concentración del eluyente	-13318	-15,35	0,004
Volumen del eluyente	70653	81,46	0
Caudal de elución	583	0,67	0,571*

* *P-value* > 0,05, Factor no influyente en la respuesta.

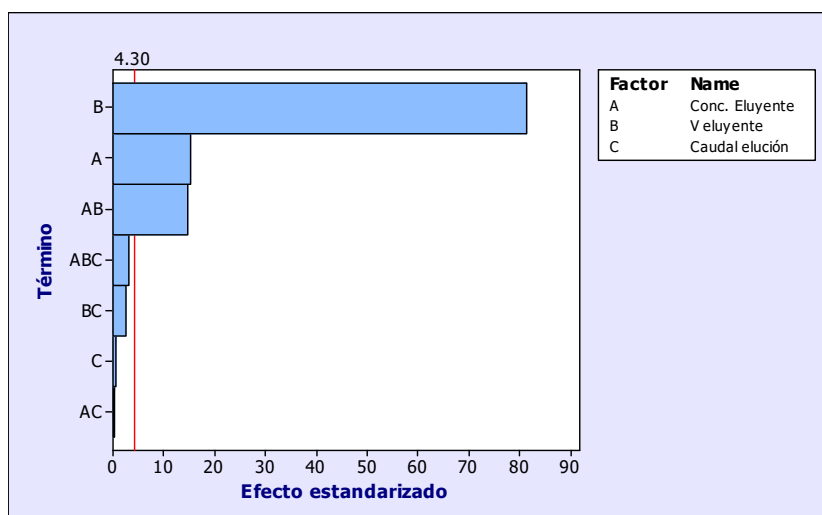


Figura 6.1.Gráfico de Pareto. Detalle que muestra además las interacciones de los factores a un nivel de confianza del 95%.

La presencia de curvatura indica que los datos no se ajustan a un modelo lineal y se pueden buscar los valores críticos de las variables mediante un modelo cuadrático (superficie-respuesta). Esto se confirma a través de los resultados obtenidos a partir del ANOVA para un nivel de confianza del 95%.

Con los resultados del *screening*, se buscaron los valores optimizados de las variables volumen y concentración de eluyente. En los siguientes experimentos se fijó el valor del caudal de elución en 2 mL min^{-1} , pues es el valor máximo de la variable que se evaluó anteriormente y que permite reducir el tiempo requerido por el análisis, aumentando la frecuencia del método.

6.3.2 Análisis de superficie de respuesta

Para el desarrollo de una superficie de respuesta se seleccionó el diseño central compuesto, para dos variables con dos niveles, 3 puntos centrales y un valor de alfa de 1. Los niveles para cada factor se muestran en la **Tabla 6.4**.

Tabla 6.4. Rango de valores de superficie de respuesta.

Factores	Nivel Bajo (-1)	Punto Central (0)	Nivel Alto (1)	Unidades
Concentración	0,01	0,03	0,05	mol L ⁻¹
Vol. eluyente	1	3,5	6	mL

El orden, la configuración y la respuesta expresada como intensidad absoluta de los experimentos se muestran en la **Tabla 6.5**. Siguiendo el orden de los experimentos, se realizó la medición de las fracciones eluidas directamente del método diseñado.

Tabla 6.5. Orden y respuesta de los experimentos.

Orden	Concentración del eluyente (HNO₃)	Volumen de elución	Intensidad
1	0	0	98523
2	1	1	98043
3	1	0	89706
4	0	1	90230
5	-1	0	103800
6	0	0	99529
7	-1	1	117275
8	1	-1	35528
9	0	-1	36768
10	-1	-1	33564
11	0	0	96137

Con los datos obtenidos se realizó el análisis de la superficie de respuesta, ajustando los términos a un modelo cuadrático. Para dicho modelo se hizo un análisis de normalidad a los residuos y un análisis de la varianza para evaluar la pérdida de ajuste (*Lack of fit*). La prueba de Anderson-Darling es una prueba de normalidad para un nivel de confianza del 95%, que emplea el *P-value* para

decidir si existe normalidad para valores mayores a 0.05. En la **Figura 6.2**, se observa que los residuos se alinean razonablemente indicando una distribución normal, lo que queda confirmado con un valor de *P-value* de 0.984. Debido a la tendencia lineal que guardan los residuos, podemos establecer que existe un buen ajuste entre el modelo definido y los datos obtenidos.

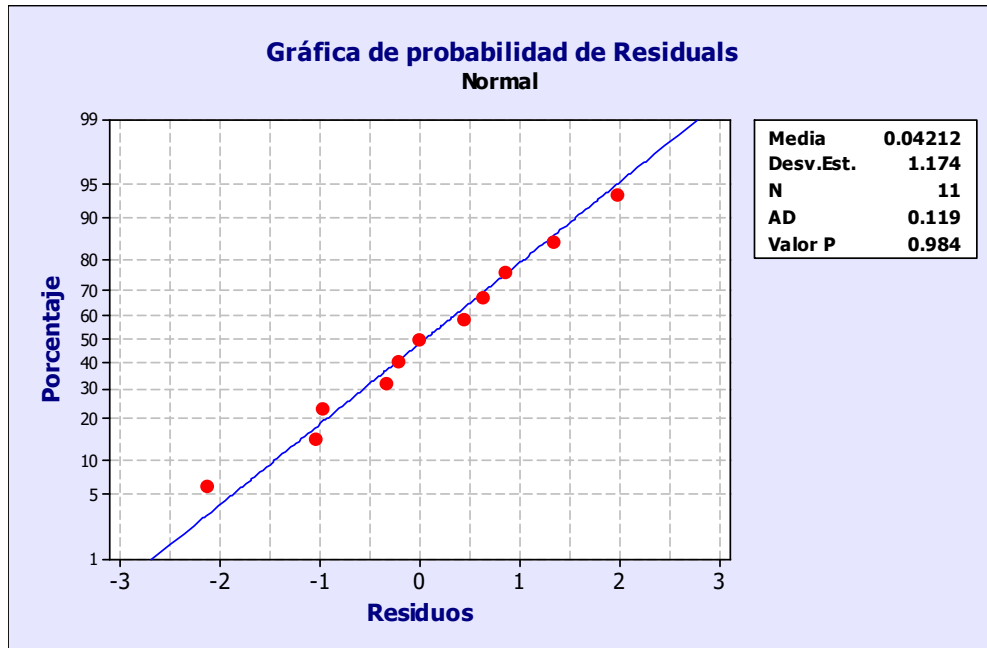


Figura 6.2. Distribución normal de los residuos

6.3.3 Resultados de la optimización

Haciendo uso de la herramienta “optimizador de respuesta” del software Minitab, se obtuvo un gráfico con valores óptimos de las variables para lograr la máxima respuesta (**Figura 6.3**). En la figura se muestran los valores de los niveles de los factores en los que se logra la máxima señal de estroncio, alcanzando como máximo predictivo (línea punteada azul) el valor de Y que se encuentra en azul.

Por lo tanto, podemos concluir que para un valor de $D=0,999$ la configuración de estas variables es la más óptima en lo que a maximizar la respuesta se refiere.

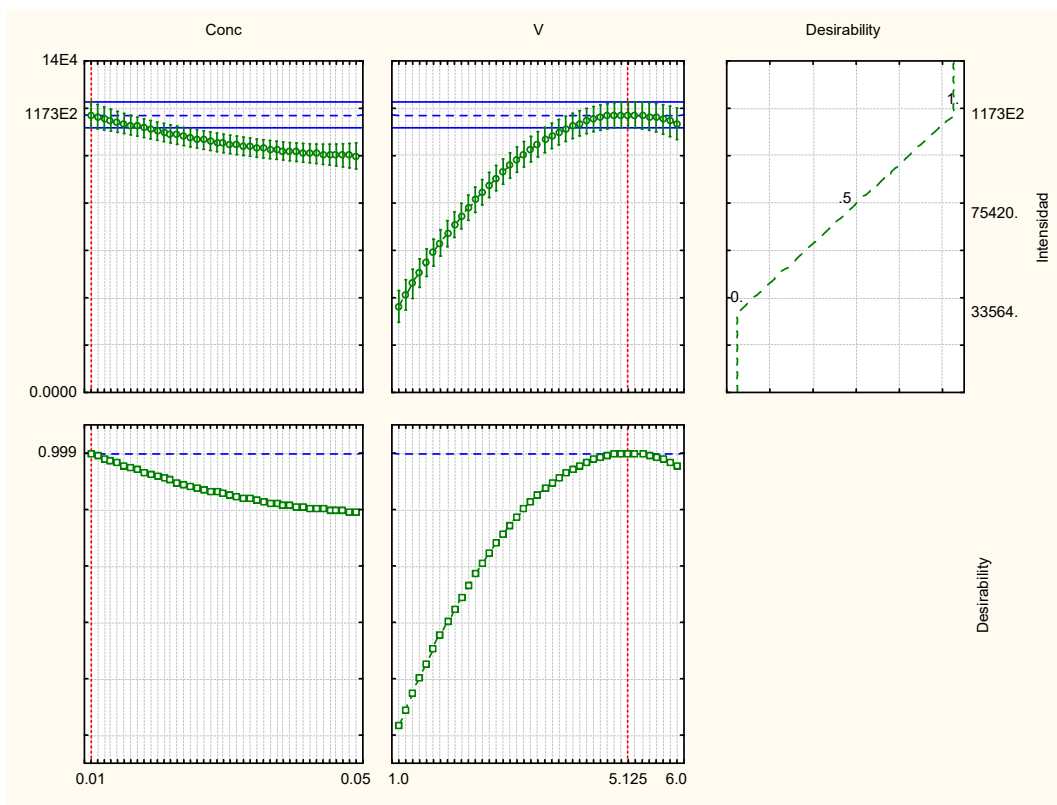


Figura 6.3. Comportamiento de los valores predichos y deseables.

En resumen, para obtener una intensidad máxima se requiere que la variable “concentración del eluyente” se use en su nivel más bajo, es decir, a una concentración de 0,01 mol L⁻¹ de ácido nítrico, mientras que la variable “volumen de eluyente” a un volumen de 5,125 mL. En la **Tabla 6.6** se muestran los valores optimizados para ambas variables estudiadas.

Tabla 6.6. Valores óptimos de operación.

<i>Parámetro optimizado</i>	<i>Valor optimizado</i>
Concentración del eluyente (HNO ₃).	0,01 mol L ⁻¹
Volumen del eluyente	5,125 mL

CAPITULO 7

EXTRACCIÓN AUTOMÁTICA DE ^{99}Tc MEDIANTE UN SISTEMA LOV PREVIA A LA DETECCIÓN POR ICP-MS: APLICACIÓN A MUESTRAS AMBIENTALES

7.1 Introducción

En este capítulo se presenta un método que permite la automatización del pretratamiento de muestras para extraer y pre-concentrar ^{99}Tc , previo a su detección mediante un ICP-MS.

Este trabajo se ha realizado gracias a la colaboración con el Hospital CIMA, en la ciudad de Chihuahua, México.

El método propuesto ofrece una gran selectividad, debido al uso de la resina TEVA, la cual retiene de forma selectiva al ion pertecnetato en una solución diluida de ácido nítrico. El sistema que se propone ofrece múltiples ventajas, dentro de las cuales destacan el mínimo manejo de la muestra, la reducción en los volúmenes de reactivos utilizados, la mejora en la reproducibilidad y el rendimiento de muestra, lo que a su vez reduce el tiempo y costo por análisis, en comparación con otras técnicas en flujo y métodos manuales desarrollados.

El método ha sido aplicado con éxito en diferentes muestras de interés ambiental (agua y suelo) obteniéndose recuperaciones entre 94-98%.

El límite de detección del método desarrollado (LD 0,001 ng); la durabilidad (más de 100 inyecciones) y la pequeña cantidad de la resina empleada (32 mg); su reproducibilidad (RSD 3,8 %); repetitividad (RSD 2%) y su elevada frecuencia de extracción (hasta 5 h⁻¹) son características que hacen de este método una herramienta rápida, económica y de alta precisión, sin hacer a un lado la mejora significativa en lo que respecta a seguridad del analista, sobre todo cuando nos referimos al manejo de muestras con contenido radiactivo.

Por lo tanto, con lo anteriormente mencionado, el presente sistema en flujo LOV, se convierte en una potente herramienta para monitoreo ambiental de ^{99}Tc .

7.2 Artículo original



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Automation of ^{99}Tc extraction by LOV prior ICP-MS detection: Application to environmental samples

Rogelio Rodríguez^a, Luz Leal^{a,*}, Silvia Miranda^a, Laura Ferrer^b,
Jessica Avivar^b, Ariel García^c, Víctor Cerdà^d



^a Renewable Energy and Environmental Protection Department, Advanced Materials Research Center (CIMAV) S.C., Chihuahua 31109, Chihuahua, Mexico

^b Environmental Radioactivity Laboratory-LaboRA, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain

^c Nuclear Medicine Area, International Center of Medicine (CIMA), Chihuahua 31217, Chihuahua, Mexico

^d Laboratory of Environmental Analytical Chemistry, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 December 2013

Received in revised form

28 March 2014

Accepted 21 April 2014

Available online 7 July 2014

Keywords:

^{99}Tc

LOV

Environmental samples

Solid phase extraction

ICP-MS

ABSTRACT

A new, fast, automated and inexpensive sample pre-treatment method for ^{99}Tc determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) detection is presented. The miniaturized approach is based on a lab-on-valve (LOV) system, allowing automatic separation and preconcentration of ^{99}Tc . Selectivity is provided by the solid phase extraction system used (TEVA resin) which retains selectively pertechnetate ion in diluted nitric acid solution. The proposed system has some advantages such as minimization of sample handling, reduction of reagents volume, improvement of intermediate precision and sample throughput, offering a significant decrease of both time and cost per analysis in comparison to other flow techniques and batch methods. The proposed LOV system has been successfully applied to different samples of environmental interest (water and soil) with satisfactory recoveries, between 94% and 98%. The detection limit (LOD) of the developed method is 0.005 ng. The high durability of the resin and its low amount (32 mg), its good intermediate precision (RSD 3.8%) and repeatability (RSD 2%) and its high extraction frequency (up to 5 h^{-1}) makes this method an inexpensive, high precision and fast tool for monitoring ^{99}Tc in environmental samples.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Technetium was the first radioactive element produced artificially. ^{99}Tc is one of the Tc isotopes with a long half-life ($T_{1/2} = 2.1 \times 10^5\text{ y}$). Large amounts of ^{99}Tc have been produced and released to the environment from human nuclear activities such as nuclear weapons testing, nuclear fuel cycle, nuclear accidents and nuclear medicine activities including a wide variety of diagnostic tests (e.g., renal, thyroid, cardiac gammagraphy, and detection of internal infectious process), making ^{99}Tc the only environmentally significant Tc isotope [1,2]. The predominant chemical form of ^{99}Tc is the pertechnetate ion (TcO_4^-) in oxidizing environments, being very stable. The pertechnetate ion is hardly complexed with organic compounds in aerobic environments. Moreover the high water solubility and environmental mobility of Tc (in the form of TcO_4^-) as well as its long half-life, makes ^{99}Tc a radionuclide of high environmental interest. Thus, becoming its accurate determination in various types of samples mandatory [1,3].

Due to the extremely low concentration of ^{99}Tc in environmental matrices, the sample preparation, preconcentration, chemical separation and purification for removal of potential interferences for ^{99}Tc detection are the most important issues governing the accurate determination of this analyte.

The long half-life and therefore low specific activity of ^{99}Tc (0.64 Bq ng^{-1}), makes mass spectrometry (MS) techniques potentially sensitive tools for measurement of ^{99}Tc [4–7]. ICP-MS is the most widely and frequently used mass spectrometric technique for measurement of ^{99}Tc in many types of environmental samples, due to its high sensitivity and rapidity [8,9]. However, one of the main limitations of this technique is that high concentration of dissolved solids should be avoided in order to enlarge the good performance of the instrument, making necessary matrix and interferences removal prior introduction into the ICP-MS. Therefore, a sample clean-up prior to analysis is mandatory. Another challenge in ^{99}Tc measurement by ICP-MS is to overcome isobaric and molecular interferences. Chemical separation techniques used for radiometric methods can also be applied in the mass spectrometric determination of ^{99}Tc . The main difference is that the separation methods used for mass spectrometric measurement are focused on the removal of stable isotopic interferences with

* Corresponding author.

E-mail address: luz.leal@cimav.edu.mx (L. Leal).

the mass of 99 AMU [10,11]. Main interferences are isobaric from the stable isotope ^{99}Ru and the molecular ion $^{98}\text{Mo}^1\text{H}$.

Solid phase extraction (SPE) separates the analytes of interest from the matrix, being a widely used technique for the isolation and preconcentration of compounds or species from liquid samples, due to the short time required for extraction and the ease of handling [12]. TEVA-Resin was used as solid phase extraction material in the present work, since it is a high selective material for Tc.

Hence, ICP-MS detection requires isolation and preconcentration of ^{99}Tc . These operations are conventionally carried out through a large number of analytical steps, high consumption of sample and reagents, an elevated investment of time and money as well as a high risk associated to radionuclide manipulation. In order to solve the mentioned inconveniences, flow-analysis techniques have been widely and successfully applied to determine radioactive elements [13]. In particular, lab-on-valve (LOV) [14,15] facilitates integration of various analytical units in the valve and provides great potential for miniaturization of the entire instrumentation. Moreover, its flexible fluid manipulation is suitable for delivering beads in flow-based manifolds allowing bead injection (BI).

Thus, the main aim of this work was the development of a rapid, selective and sensitive method for the separation and preconcentration of ^{99}Tc , applied to several types of sample matrices, in order to reduce the number of analytical steps, save time and money, and especially to avoid the intervention of the analyst in samples potentially contaminated with ^{99}Tc . Thus, a LOV system using TEVA-Resin and ICP-MS as detector for environmental monitoring of ^{99}Tc at trace levels is presented.

2. Experimental

2.1. Reagents and standard solutions

All solutions were prepared from analytical grade reagents with Millipore water. All ^{99}Tc standard solutions were obtained by appropriate dilution of the standard with $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ HNO}_3$.

The ^{99}Tc standard was obtained from decay of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radionuclide. The nuclear medicine area of the International Center of Medicine (CIMA) generates $^{99\text{m}}\text{Tc}$ from Elumatic III-Technetium $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Generator, which provides each day enough activity for the programmed explorations. Weekly, when the $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ generator arrived, a vial of 5 mL with an average activity of 20 GBq, was kept aside during a month to ensure that all $^{99\text{m}}\text{Tc}$ had decayed into its daughter ^{99}Tc . After that, the calculation of the ^{99}Tc activity

was carried out with a low background proportional counter (Canberra LB4100) at 1600 V and a counting time of 1000 min. This information together with the specific activity of ^{99}Tc (0.64 Bq ng^{-1}), allow the calculation of ^{99}Tc concentration in the aliquot. This aliquot was taken as working standard solution.

$0.4\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ of ^{106}Pd solution (High-Purity Standards, 1000 mg L^{-1} , USA) was added as internal standard for ^{99}Tc detection by ICP-MS, to correct possible instrumental drifts.

Reagents and materials included HNO_3 65% (J.T. Baker, USA), TEVA-Resin, particle size 50–100 μm (Triskem Industries, France) and glass fiber prefilters (Millipore, USA).

All glasswares were carefully cleaned, soaked in 10% (v/v) HNO_3 during 24 h and rinsed with Millipore water prior its use.

2.2. Samples

All water samples (mineral water, dam water, tap water and well water) were prepared in a final concentration of $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ HNO}_3$. Dam water and well water were filtered through a membrane of $0.45\text{ }\mu\text{m}$. Analytical determination of all water samples was carried out directly with the proposed system.

The soil sample was subjected to a microwave digestion, following the SW 846-3051 procedure recommended by the Environmental Protection Agency (EPA, USA) [16]. 0.5 g of soil sample was weighted and 10 ml of HNO_3 65% was added. The mixture was exposed to a microwave digestion (350 psi, $175\text{ }^\circ\text{C}$, and 400 W) during 5 min. The digested extract was evaporated to dryness and dissolved up to 25 mL in a solution of $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ HNO}_3$. Finally, the sample was filtered with a $0.2\text{ }\mu\text{m}$ membrane.

2.3. Manifold and software

The constructed LOV system is shown in Fig. 1. The LOV microconduit (Sciware Systems, Mallorca, Spain), fabricated from methacrylate, encompassing eight integrated microchannels (1.5 mm i.d./16.0 mm length, excepting the bead column channel of 3.2 mm i.d.), was mounted atop of a eight-port multiposition selection valve (Crison Instruments, Barcelona, Spain).

The central port of the valve in the LOV system was connected to a 10 mL glass syringe (Hamilton, Switzerland) via a holding coil. The extraction system is constituted of a column located at the channel 1 of the LOV, packed with 32 mg of TEVA-Resin, achieving an adequate compaction grade to avoid overpressures in the system [17]. To contain the sorbent within the cavity of the LOV module and prevent it from escaping, the outlet of the column was

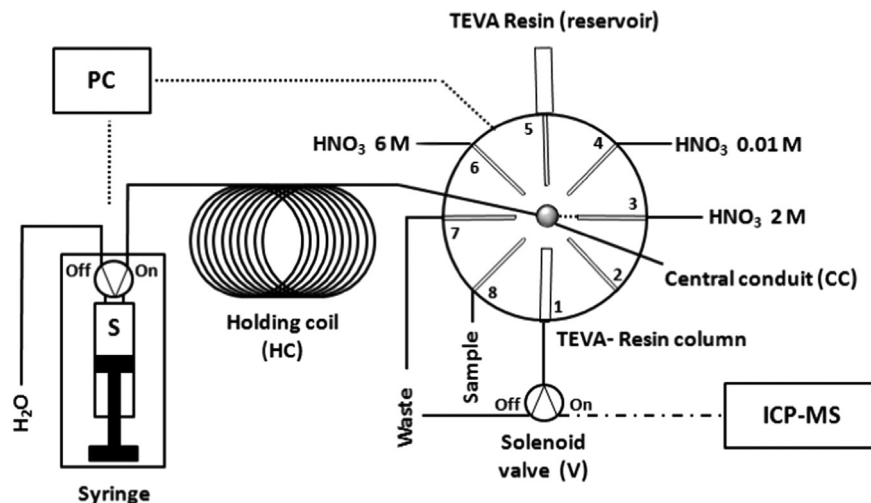


Fig. 1. LOV system for ^{99}Tc isolation and preconcentration.

furnished with a glass fiber prefilter (Millipore) which retains the beads while allows solutions to flow freely. The resin was prepared as a suspension and contained in a 5 mL plastic syringe, which was mounted vertically on port 5 of the integrated microsystem. Thus, peripheral ports configuration was: port 1 (column), port 3 (2 mol L⁻¹ HNO₃), port 4 (0.01 mol L⁻¹ HNO₃), port 5 (resin reservoir), port 6 (6 mol L⁻¹ HNO₃), port 7 (waste) and port 8 (sample).

Outlet of port 1 is connected to an additional external solenoid commutation valve (V) (MTV-3-N 1/4 UKG; Takasago, Japan) which helps driving the flow in the desired way (on: in line flow to sample collector; off: to waste).

A glass syringe mounted in a multisyringe buret (BU4S; Crison Instruments) with programmable flow rates is used as liquid driver. The syringe has a three-way solenoid valve (N-Research, Caldwell, NJ, USA) at the head, which facilitates the application of multicommutation schemes (on: in-line flow; off: to reservoirs).

The flow network is constructed with 0.8 mm i.d. PTFE tubing. The holding coil is constructed with 1.5 mm diameter i.d. PTFE tubing, corresponding to a volume of 8 mL. All connections are made by means of PVDF connectors.

The analytical procedure and all instruments used to perform the sample pretreatment are automatically controlled by the software package AutoAnalysis 5.0 (Sciware Systems, Palma de Mallorca, Spain) [18]. The distinctive feature of this software based on dynamic link libraries (DLLs) at 32 bits is the possibility of using a single and versatile application without further modification for whatever instrumentation needed. It involves a basic protocol which allows the implementation of specific and individual DLLs, addressing the configuration of the assembled flow analyzer.

Determination of ⁹⁹Tc was carried out by an inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS, Thermo Scientific XSERIES II) equipped with a multichannel peristaltic pump, a cross-flow nebulizer (Thermo Scientific) and a Scott spray chamber. Instrument settings are shown in Table 1. All measurements were performed in triplicate.

2.4. Analytical procedure

The complete automated sequence for technetium isolation and preconcentration is listed in Table 2, and summarized as follows:

1. Conditioning of TEVA-Resin: the central conduit (CC) is connected to port 4 for aspirating 2 mL of 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ into the

holding coil (HC). Then it moves to port 1 and the HNO₃ is propelled towards the column at a flow rate of 2 mL min⁻¹. V is deactivated (V-off, to waste).

2. Sample loading: once the column is ready, X mL of standard or sample (port 8) is dispensed toward the column (port 1) at a flow rate of 0.6 mL min⁻¹. V is deactivated (V-off, to waste).
3. Elimination of interferences: the CC is connected to port 3 to aspirate 1 mL of 2 mol L⁻¹ HNO₃ into the HC. Then it moves to port 1 and the HNO₃ is propelled towards the column at a flow rate of 2 mL min⁻¹. V is deactivated (V-off, to waste).
4. Elution of ⁹⁹Tc: 6 mL of 6.5 mol L⁻¹ HNO₃ (port 6) is loaded into the HC and V is activated (V-on) to propel the eluent (6 mL of 6.5 mol L⁻¹ HNO₃) through the column (port 1) at a flow rate of 2 mL min⁻¹ to the fraction collector.
5. Column rinse: in order to reduce the high acid concentration of the previous step, 5 mL of water is passed towards the column (port 1).
6. Change of sample: 1 ml of new sample (port 8) is aspirated and discarded toward waste (port 7), to eliminate the possible presence of previous sample.
7. Change of the resin: the column is regenerated by replacing the resin automatically. First, the old resin is loaded into the

Table 2
Automated procedure for technetium separation and preconcentration.

Step	Flow rate (mL min ⁻¹)	LOV position	V
Conditioning of TEVA-Resin			
(a) Loading 2 mL of 0.1 mol L ⁻¹ HNO ₃ into HC	5	4	Off
(b) Rinsing 2 mL on the column	2	1	Off
Sample loading			
(a) Loading X mL sample into HC	5	8	Off
(b) Rinsing X mL on the column	0.6	1	Off
Elimination of interferences			
(a) Loading 1 mL of 2 mol L ⁻¹ HNO ₃ into HC	5	7	Off
(b) Rinsing on the column	2	1	Off
Elution of technetium			
(a) Loading 6 mL of 6.5 mol L ⁻¹ into HC	5	5	Off
(b) Rinsing on the column	2	1	On
Change of sample			
(a) Loading 1 mL of new sample into HC	5	8	Off
(b) Discarding 2 mL to the waste	5	3	Off
Beads replacing			
(a) Loading old beads into HC	5	1	Off
(b) Discarding old beads	5	3	Off
(c) Loading new beads into HC	5	2	Off
(d) Filling the column	2	1	Off

Table 1
Instrumental settings for the ICP-MS.

Radio frequency power gas flow	Forward Plasma	1100 W
	Auxiliary Nebulizer	15 L min ⁻¹ 1.2 L min ⁻¹ 0.95 L min ⁻¹
Acquisition parameters (all analysis)	Dwell time	0.05 s
	Scan mode	Peak-hop transient
	Sweeps per reading	20
	MCA channels per spectral-peak	1
	Resolution/AMU 10% peak maximum signal processing	0.7
	Signal processing	Steady state: average
	Reading per replicate	1
	Replicates	3
	Baseline readings	0
	Isotopes measured	⁹⁹ Tc
	Internal standards	¹⁰⁶ Pd
	Cones	Xt
	Spray chamber	Quartz impact bead
	Chamber temperature	3 °C

holding coil (HC) and sent to waste (port 7), then new resin is loaded into the HC from the resin reservoir (port 5) which contains a saturated solution of the resin and dispensed at port 1 with V-off (to waste) to fill the column. This step is only carried out when required depending on the sample matrix.

Prior to the detection by ICP-MS, the obtained eluates were evaporated almost to dryness at 80 ± 5 °C. The remaining volume (around 1 mL) was dissolved with nitric acid at 2%, up to 25 mL.

3. Results and discussion

3.1. Flow system set-up

The developed system allows drastic reduction of reagents consumption and hence waste generation, reduction of resin consumption and time saving in relation to manual methodologies, whose operations can last days against an injection frequency of 0.3–5 injection h^{-1} , depending on the sample volume by this flow approach. Besides, the proposed LOV system is able to renew the solid phase extraction in a fully automated way, without requiring the analyst intervention, resulting in higher intermediate precision and repeatability.

With the developed system described above, the isolation and preconcentration of ^{99}Tc are accomplished, removing interferents and other matrix components, ensuring the correct ^{99}Tc determination. The use of an ICP-MS as detector provides high sensitivity and good precision to determine long-lived natural and artificial radioisotopes at trace and ultra trace levels in environmental samples, being an excellent tool for control in environmental radiological monitoring.

3.2. Optimal working conditions

In order to find the best operational conditions for the separation and preconcentration of ultra-trace levels of ^{99}Tc with the proposed LOV system, the optimization was performed using multivariate techniques. The optimization was carried out with the statistical software Statistica 7.0.

The optimal values of the factors that have significant influence in ^{99}Tc extraction using the TEVA resin were obtained by a response surface design [19]. The sample loading flow rate was fixed in 0.6 mL min^{-1} to ensure enough contact time between the sample and the resin. Significant factors studied were eluent volume (3–6 mL) and eluent concentration ($6\text{--}10 \text{ mol L}^{-1}$), using a face centered central composite design. A total of 11 experimental runs were conducted to optimize the experimental conditions, including central points. All experimental responses were statistically analyzed, showing satisfactory results (i.e. ANOVA table, adjust coefficient for 2-way interaction model, curvature, normal distribution of the residuals histogram and the fit between observed vs. predicted values). In this manner 6 mL of eluent and 6.5 mol L^{-1} of eluent concentration were found as critical values, and these were used in further assays.

3.3. Column properties

TEVA-Resin provides high selectivity extracting technetium in form of pertechnetate in diluted nitric solutions, due to its active functional groups [17]. The active component of the TEVA-Resin, an aliphatic quaternary amine, works like a typical strong base anion exchange resin [20]. Pertechnetate ions are absorbed with a high efficiency at lower acid concentrations solutions, hence sample was prepared in 0.1 mol L^{-1} nitric acid [21,22].

Once the resin has been conditioned with nitric acid of the same concentration as the samples, the nitrate ion is bound to the quaternary amine and acts as a counter ion in the anionic interchange with the pertechnetate. The high retention of Tc (VII) on the TEVA resin at very low concentrations of nitric acid is due to the high selectivity of the quaternary ammonium salt to the pertechnetate anion over the acid anion [23].

So, the resin is contained in a syringe mounted as a bead reservoir in port 5 of the LOV with 0.1 mol L^{-1} HNO_3 solution. Once the resin is charged on the column, on-line extraction and isolation of the ^{99}Tc are carried out automatically, ensuring high repeatability between replicates.

3.4. Analytical parameters

The fit statistics for a ^{99}Tc mass calibration curve (counts vs. mass in $\text{ng } ^{99}\text{Tc}$) were satisfactory ($y = 1394.3 \pm 19.2x + 14.8 \pm 0.4$, $n=6$). Using the optimal conditions described above, the mass calibration curve is linear over the range $0.016\text{--}108 \text{ ng } ^{99}\text{Tc}$ (Limit of quantification (LOQ)-maximum mass assayed).

The limit of detection was estimated from three times the standard deviation of 10 replicates of the blank divided by the slope of the calibration curve [24,25], achieving a LOD of 0.005 ng for ^{99}Tc . This LOD, equivalent to $4.9 \times 10^{-8} \text{ mg L}^{-1}$ expressed as concentration, reaches the required limit of detection proposed by EPA for drinking water ($5.3 \times 10^{-6} \text{ mg L}^{-1}$) [26].

The proposed method can be applied to samples with a wide range of concentrations, since the sample volume can vary from 0.1 to 100 mL allowing the analysis of samples with ^{99}Tc content between 0.16 and $1.08 \times 10^6 \text{ ng L}^{-1}$. Thus, the ^{99}Tc maximum contaminant level for drinking water proposed by EPA ($5.3 \times 10^{-5} \text{ mg L}^{-1}$) [26] can be also easily measured. In order to quantify a sample with this concentration, a minimum volume of 0.35 mL is suggested.

The functional lifetime of the resin depends on the repeatability of the methodology, i.e. the number of tests or injections that can be done with the same resin without affecting its functionality. Results obtained in more than 100 analyses revealed an analyte recovery higher than 90% with a relative standard deviation (RSD) of 4%. Therefore, replacing the resin after 100 injections is recommended to prevent a deficiency in its functionality.

Furthermore, as stated before the proposed LOV system is able to renew the solid phase extraction in a fully automated way, without requiring the analyst intervention, resulting in high intermediate precision and repeatability. The intermediate precision of the method, RSD 3.8%, was determined from results obtained on different working days, changing the packing of the resin column and using a solution which contained 40.6 ng of ^{99}Tc , so the resin replacement effect is included in the given RSD. The repeatability of the method, RSD 2% ($n=10$), was determined from

Table 3
Analytical parameters of the proposed method.

Analytical parameters	
Detection limit	0.005 ng
Quantification limit	0.016 ng
Regression coefficient	0.9998
Repeatability ($n=10$)	2%
Intermediate precision ($n=5$)	3.8%
Resin durability	> 100 injections
Preconcentration volume	> 100 mL
Sensitivity	$1394.3 \text{ counts ng}^{-1}$
Linear working range	$0.016\text{--}108 \text{ ng}$
Injection throughput	$0.3\text{--}5 \text{ h}^{-1}$

results obtained in one working day, without changing the packing of the resin column and using a solution which contained 25.4 ng of ^{99}Tc .

Table 3 summarizes the analytical parameters of the proposed system.

3.5. Interferences

The interfering elements studied in this work were defined according to previous works for the ^{99}Tc measurement by ICP-MS [9,27]. Main interferences are isobaric interferences from the stable isotope ^{99}Ru and the molecular ion $^{98}\text{Mo}^1\text{H}$ [10,11]. Thus, for a standard solution of $1.08 \mu\text{g L}^{-1}$ of ^{99}Tc , the influence of Ru (up to 1:100, Tc:Ru) and Mo (up to 1:1000, Tc:Mo) on the analytical signal of ^{99}Tc was evaluated. Interferences were considered significant when these cause differences in the analytical signal greater than $\pm 10\%$.

Results showed no significant interference for Mo, while Ru caused interference above the relation 1:25. However, it should be taken into account that in soil samples the Ru levels vary between 0.1 and 13 ng g^{-1} [28], existing a low possibility of Ru interference with the levels of Tc encountered in these kind of environmental sample. Furthermore, no interference was found when analyzing natural environmental samples.

3.6. Application to environmental samples

The developed method was evaluated by analyzing different water matrices and a soil sample. Results of ^{99}Tc analysis for three replicates by ICP-MS are shown in Table 4.

Water samples were analyzed adding a known concentration of ^{99}Tc (4.1 ng L^{-1}). Results reveal a satisfactory recovery, ranging from 94% to 98% in all cases.

Table 4
Analysis of environmental samples by ICP-MS.

Sample	Added ^{99}Tc (ng L^{-1})	Found ^{99}Tc (ng L^{-1})	Recovery (%)
Dam water	0	< LOD	
	4.09	3.83 ± 0.06	94
Tap water	0	< LOD	
	4.09	3.87 ± 0.02	95
Mineral water	0	< LOD	
	4.09	3.89 ± 0.05	95
Well water	0	< LOD	
	4.09	4.00 ± 0.12	98
Soil	0	< LOD	
	4.3	4.1 ± 0.2	96

Results are expressed as the mean value \pm standard deviation ($n=3$). Samples were prepared in nitric acid 0.1 mol L^{-1} . LOD = 0.05 ng L^{-1} . 100 mL of water samples was analyzed.

Table 5
Comparison with previous works based on sample pretreatment with SPE (TEVA-Resin).

Analytical procedure	Sample	Sample size	Analytical steps	Analytical sample time (h)	SPE: TEVA Resin ^a			LOD (ng L^{-1})	Ref.
					Resin used (g)	Durability	HNO_3 per sample (g)		
Manual	Seaweed	10 g	13	25	0.3	10	7.7	2	[29]
Manual	Water	50–300 mL	13	23	0.7	4	10.7	0.8	[9]
Automated by FIA	Soil	3–6 g	5	^b 3–5.5	0.322	–	4.8	0.085	[30]
Automated by FIA	Ground water	250 mL	2	1.5	1.4	–	16.5	0.2	[31]
Automated by LOV	Soil	0.5 g	5	5.5	0.032	> 100	2.6	0.05	This work
Automated by LOV	Environmental water	0.1–100 mL	2	^b 2.2–5	0.032	> 100	2.6	0.05	This work

^a TEVA-Resin by Triskem International, France.

^b Depending on sample volume.

A soil sample was also analyzed using technetium standard addition (4.3 ng L^{-1}), obtaining a recovery of 98%.

3.7. Comparison with manual methods and automated systems based on flow analysis

In order to highlight the benefits of the proposed method, we critically compare our work with those exploiting solid phase extraction in particular using TEVA-Resin and ICP-MS detection, including both manual and flow based methodologies.

In Table 5 can be seen the elevated number of analytical steps used in manual methods, which are drastically reduced in automated approaches. On the one hand, for soil samples the analytical steps include microwave digestion, extraction and dilution to low acid concentration for the ^{99}Tc detection in the ICP-MS. On the other hand, for water samples only the steps regarding extraction of the analyte up to its detection are included.

Thus, manual methods require about one day of work, while with automated methods based on flow analysis, this time can be reduced to 2–5 h. In addition, the consumption of reagents and sample substantially decreases in automated methods, resulting in considerable savings (up to 3 times less sample volume and up to 4 times less reagent consumption).

The comparison between FIA approaches and our work shows that FIA methods have a higher consumption of sample and reagents due to their continuous operation mode. Contrarily, the proposed system allows a drastic reduction of reagents consumption (up to 7 times less) and so waste generation, and also a decrease of the resin consumption (up to 44 times less). In addition, the resin can be reused up to 100 injections. Furthermore the LOV technique allows the fully automated column replacement. Another drawback of FIA systems is the need of a more frequent recalibration because of the aging of Tygon tubing.

Finally, the reached detection limit is up to 40 times lower than those obtained in previous manual methods and up to 16 times lower than those obtained in previous FIA methods.

4. Conclusions

An automated LOV method for extraction and preconcentration of ^{99}Tc prior ICP-MS detection has been developed. The proposed procedure was successfully applied to the determination of trace levels of ^{99}Tc in soil and water samples, achieving the reference levels established by the EPA for drinking water.

Main features of the developed method are the fully automation of the isolation/preconcentration procedure, including the on-line replacement of the column; the improved LOD respect to previous works; the drastic shortening of analysis time; and the reduced sample and reagents consumption. Furthermore, the long

durability (more than 100 times) of such small amount of resin (0.032 g) contributes to reduce the cost per analysis. In addition, with the proposed automated system ICP-MS limitations to analyze ^{99}Tc are overcome, enlarging the good performance of the ICP-MS and improving its selectivity and sensitivity.

Moreover, the proposed method offers accuracy, high precision and improvement of the analyst safety, which is of high relevance when manipulating radioactive isotopes.

All these characteristics make of the present LOV-system a useful tool for ^{99}Tc environmental monitoring, allowing rapid responses.

Acknowledgments

This work was funded by the Project FOMIX CHIH-2013-C03-194659, the CTM2013-42401-R by Ministry of Economy and Competitivity and the Balearic Government (43/2011 cofinanced by FEDER funds). R. Rodríguez acknowledges to the National Council of Science and Technology in Mexico (CONACYT) for the allowance of a (No. 235354) grant and also thanks to Julio Ramírez, Alejandro Benavides and Alfredo Campos their support.

References

- [1] Q. Hu, in: D.A. Atwood (Ed.), *Radionuclides in the Environment* 2010, pp. 217–226.
- [2] I.A.E.A., *Technetium-99m radiopharmaceuticals: manufacture of kits* (Technical reports series no. 466), (ed.), IAEA, Vienna, Austria (2008) 1–7 (pp.).
- [3] P.J. Kershaw, H.E. Heldal, K.A. Mork, A.L. Rudjord, *J. Marine, Systems* 44 (2004) 55–81.
- [4] H. Ming, J. Shan, R. Xiangdong, D. Kejun, G. Yongjing, L. Shihong, W. Shaoyong, Q. Jiuzi, Y. Xinyi, D. Yanqiu, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 259 (2007) 708–713.
- [5] D.M. Beals, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 204 (1996) 253–263.
- [6] J.S. Becker, *At. Spectrosc.* 58 (2003) 1757–1784.
- [7] J.L. Más, L. García-Leon, J.P. Bolívar, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* 484 (2002) 660–667.
- [8] T. Nakanishi, J. Zheng, T. Aono, M. Yamada, M. Kusakabe, *J. Environ. Radioact.* 102 (2011) 774–779.
- [9] J.L. Mas, L. García-Leon, J.P. Bolívar, *Radiochim. Acta* 92 (2004) 39–46.
- [10] X. Hou, P. Roos, *Anal. Chim. Acta* 608 (2008) 105–139.
- [11] P. Roos, *Radioact. Environ.* 11 (2008) 295–330.
- [12] C.F. Poole, *TrAC Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 362–373.
- [13] Y. Fajardo, J. Avivar, L. Ferrer, E. Gómez, V. Cerdà, M. Casas, *TrAC Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 1399–1408.
- [14] J. Ruzicka, *Analyst* 125 (2000) 1053–1060.
- [15] J. Wang, E.H. Hansen, *TrAC Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 225–231.
- [16] U.S. E.P.A. (EPA), in: SW-846 (1986).
- [17] Triskem International, France, (<http://www.triskem-international.com/>).
- [18] E. Becerra, A. Caldera, V. Cerdà, *Lab. Robot. Autom.* 11 (1999) 131–140.
- [19] P.W. Araujo, R.G. Brereton, *TrAC Trends Anal. Chem.* 15 (1996) 63–70.
- [20] M. Fern, A. Thakkar, L. Jassin, *J. Nucl. Radiochem. Sci.* 6 (2005) 223–225.
- [21] D.P. DiPrete, C.C. DiPrete, R.A. Sigg, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 263 (2005) 593–598.
- [22] O. Egorov, M.J. O'Hara, J.W. Grate, *Anal. Chem.* 71 (1999) 345–352.
- [23] E.P. Horwitz, M.L. Dietz, R. Chiarizia, H. Diamond, S.L. Maxwell Iii, M.R. Nelson, *Anal. Chim. Acta* 310 (1995) 63–78.
- [24] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Anal. Chem.* 55 (1983) 712–724.
- [25] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th ed., Pearson Education, Essex, UK, 2005.
- [26] U.S. E.P.A. (EPA), in: EPA 402-R-07-007 2008.
- [27] K. Shi, X. Hou, P. Roos, W. Wu, *Anal. Chim. Acta* 709 (2012) 1–20.
- [28] B. Godlewska-Zytkiewicz, E. Zambrzycka, B. Lesniewska, A.Z. Wilczewska, *Talanta* 89 (2012) 352–359.
- [29] M. McCartney, K. Rajendran, V. Olive, R.G. Busby, P. McDonald, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1849–1852.
- [30] C.K. Kim, C.S. Kim, B.H. Rho, J.I. Lee, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 252 (2001) 421–427.
- [31] K.H. Chung, S.D. Choi, G.S. Choi, M.J. Kang, *Appl. Radiat. Isot.* 81 (2013) 57–61.

7.3 Información adicional sobre la optimización

7.3.1 Análisis de superficie de respuesta

Como el comportamiento de la resina se conoce por trabajos previos¹, la optimización comenzó directamente con ensayos de superficie de respuesta. Para asegurar la máxima eficiencia en lo que respecta a la retención de tecnecio, las variables a optimizar son:

- concentración de eluyente (mol L⁻¹, ácido nítrico)
- volumen de eluyente (mL)

Según el fabricante de la resina empleada para la retención de tecnecio², la elución se logra para un rango de molaridad de ácido nítrico de 6 a 10 mol L⁻¹. Los volúmenes de elución se estudiaron en un rango de 3 a 6 mL; el primero se estableció en base a los resultados obtenidos en ensayos preliminares y el segundo se consideró con la finalidad de aumentar la durabilidad de la resina.

Para encontrar los valores optimizados, se realizó una superficie de respuesta, seleccionando un diseño central compuesto para dos variables con dos niveles, 3 puntos centrales y un valor de alfa de 1 (centrado en las caras). Se incluyeron tres puntos centrales con el propósito de identificar cualquier irregularidad, como es el caso de pérdida de linealidad en el centro del intervalo y calcular el error. Los niveles y valores de los mismos se muestran en la **Tabla 7.1**.

Tabla 7.1. Rango de valores a evaluar para la optimización

<i>Variables</i>	<i>Nivel Bajo (-1)</i>	<i>Punto Central (0)</i>	<i>Nivel Alto (1)</i>	<i>Unidades</i>
Concentración de eluyente	6	8	10	mol L ⁻¹
Volumen de eluyente	3	4,5	6	mL

[1] Automatic and simple method for ⁹⁹Tc determination using a selective resin and liquid scintillation detection applied to urine samples. Villar,M.; Avivar,J.; Ferrer, L.; Galmés,M.; Vega, F.; Cerdà, V. Anal. Chem. (2013) 85, 5491–5498.

[2] Triskem Intenational (Francia)

El orden, la configuración y los resultados para cada ensayo experimental se detallan en la **Tabla 7.2**.

Tabla 7.2. Orden y respuesta de los experimentos

Orden	Concentración de eluyente (mol L⁻¹)	Volumen de eluyente (mL)	Resultado (ppb)
1	6	3	0,81
2	6	6	0,82
3	10	3	0,69
4	10	6	0,72
5	6	4,5	0,79
6	10	4,5	0,67
7	8	3	0,71
8	8	6	0,81
9	8	4,5	0,67
10	8	4,5	0,71
11	8	4,5	0,65

Los valores optimizados de estas variables fueron definidos, empleando para ello el software Statistica³. Los resultados mostraron un buen ajuste a un modelo cuadrático, en el cual se hizo un análisis de normalidad a los residuos y un análisis de la varianza para evaluar la pérdida de ajuste (*Lack of fit*). La prueba de Anderson-Darling es una prueba de normalidad para un nivel de confianza del 95%, que emplea el *P-value* para decidir si existe normalidad para valores mayores a 0,05.

En la **Figura 7.1**, se observa que los residuos se alinean razonablemente indicando una distribución normal, lo que queda confirmado con un valor de *P-value* de 0,886. Debido a la tendencia lineal que guardan los residuos, podemos establecer que existe un buen ajuste entre el modelo definido y los datos obtenidos. Para esta prueba se utilizó Minitab 17⁴ como software estadístico auxiliar.

[3] <http://www.statsoft.com/Products/STATISTICA/Product-Index>

[4] Minitab Inc, Minitab Statistical Software (State College PA, Pennsylvania, USA, 2006)

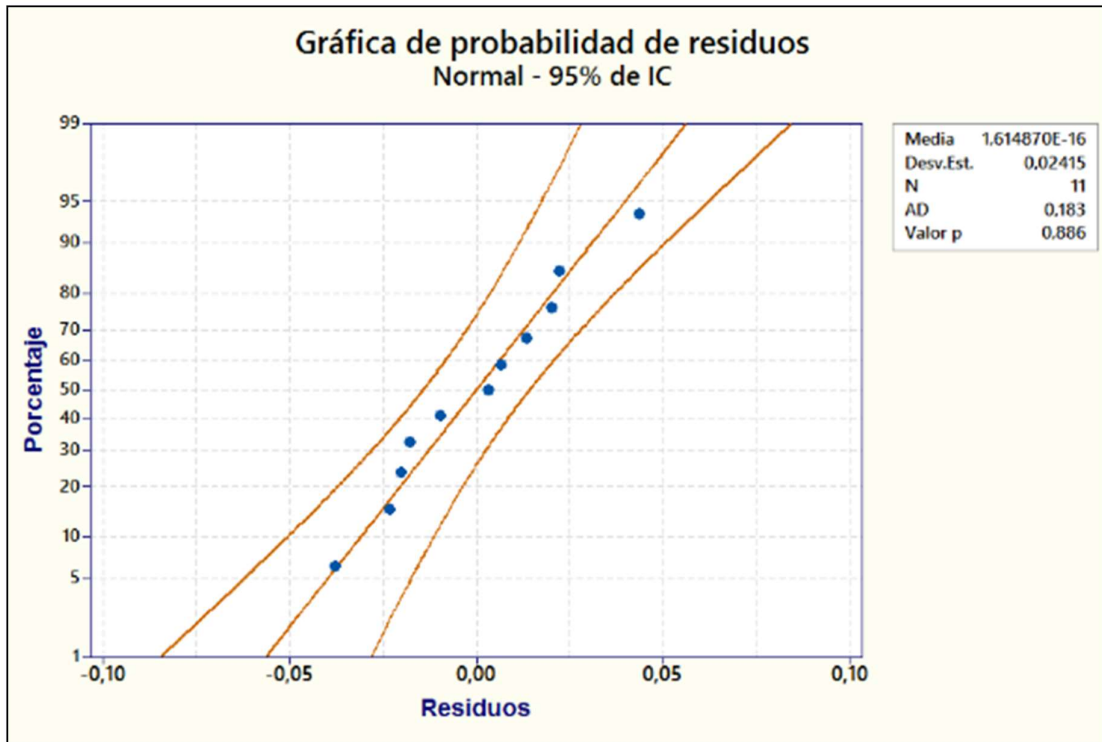


Figura 7.1. Gráfica de probabilidad de los residuos.

7.3.2 Resultados de la optimización

Haciendo uso de la herramienta “optimizador de respuesta” del software Statistica, se obtuvo un gráfico con valores optimizados de las variables para lograr la máxima respuesta. En la figura **Figura 7.2** se muestra el perfil de los valores predichos vs. los valores deseables. A la derecha de la figura, se muestra la deseabilidad individual, la cual evalúa la efectividad con la que la combinación de variables satisface la meta de optimización que se haya definido para la respuesta (maximizar). Por lo tanto, podemos concluir que para un valor de $D=0,82$, la configuración de valores para nuestras variables es la más óptima en lo que a maximizar la respuesta se refiere.

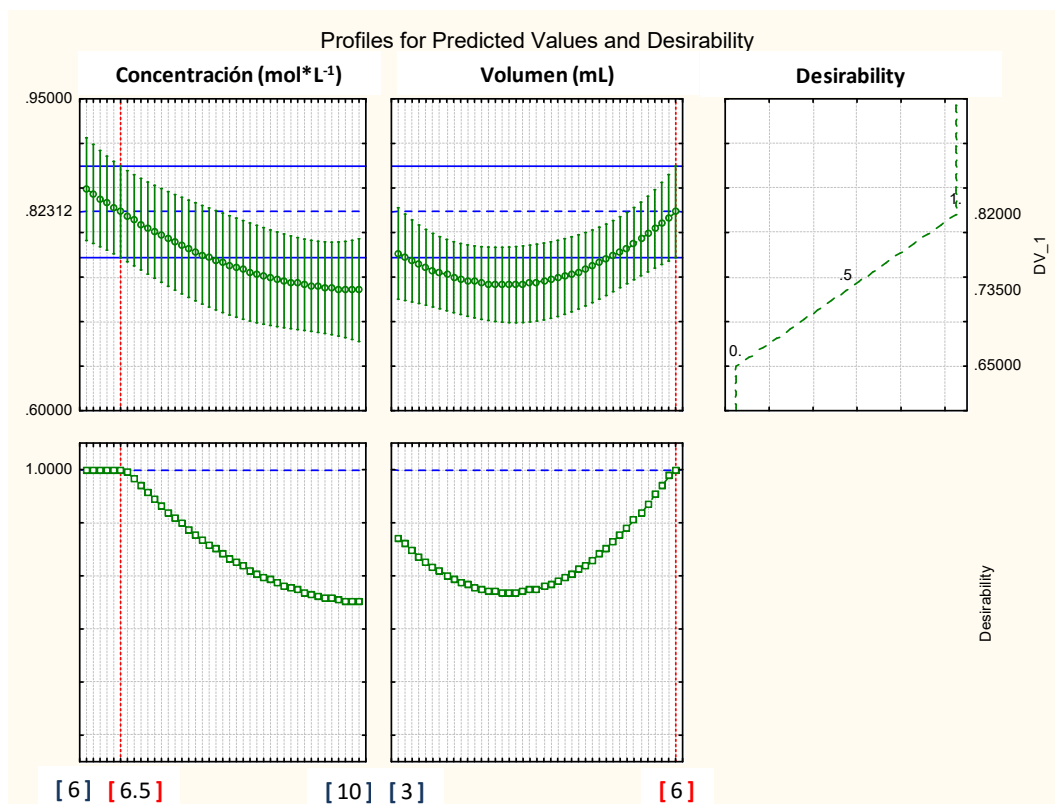


Figura 7.2. Comportamiento de los valores predichos vs. los deseables.

En resumen, para obtener una intensidad máxima se requiere que la variable “concentración de eluyente” se fije a una concentración de 6,5 mol L⁻¹ de ácido nítrico, mientras que la variable “volumen de eluyente” a un volumen de 6 mL. En la **Tabla 7.3** se muestran los valores optimizados para ambas variables estudiadas.

Tabla 7.3. Valores óptimos de operación para el sistema propuesto.

<i>Variable</i>	<i>Valores optimizados</i>
Concentración de eluyente (HNO ₃)	6,5 mol L ⁻¹
Volumen de eluyente	6 mL

Con estos valores se realizaron las extracciones de tecnecio correspondientes a las pruebas experimentales para la determinación de parámetros analíticos y validación del método con muestras reales.

CAPITULO 8

HERRAMIENTA PARA EL MONITOREO RÁPIDO DE URANIO EN EL ANÁLISIS DE MUESTRAS AMBIENTALES, MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO AUTOMÁTICA

8.1 Introducción

En este capítulo se presenta un método completamente automatizado para la extracción de uranio(VI) en muestras ambientales. Se trata de un sistema SIA-MSFIA, que a través de la incorporación de la agitación magnética asistida (MSA) dentro de una jeringa, conforma la Lab-in-syringe (LIS), lo que permite la total automatización de la microextracción líquido-líquido. La determinación espectrofotométrica de U(VI) a niveles traza fue posible haciendo uso de una celda de largo paso óptico, previa derivatización con arsenazo-III.

El sistema automático miniaturizado LIS-MSA-LLME permite la separación y preconcentración de uranio presente en la muestra usando al Cyanex-272 en dodecano como el extractante. Dicha extracción tiene lugar cuando la muestra, el extractante y demás reactivos se homogenizan por medio de una agitación magnética que ocurre dentro de una de las jeringas que conforman al módulo multijeringa. Una vez que el uranio es extraído y se encuentra en la fase orgánica, éste es retroextraído con ácido clorhídrico, haciéndose reaccionar posteriormente con el arsenazo-III para ser medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 655 nm.

La agitación magnética asistida tiene lugar gracias a la presencia de un dispositivo electromecánico que se coloca alrededor del cuerpo de la jeringa creando un campo magnético rotatorio que obliga la rotación de la barra de agitación situada en el interior de la jeringa.

El límite de detección del método desarrollado ($3,2 \mu\text{g L}^{-1}$); su reproducibilidad (RSD 3,3 %); repetitividad (RSD 3%) y su elevada frecuencia de extracción (hasta 6 h^{-1}) son características que hacen de este método una herramienta rápida, económica y de alta precisión para el monitoreo de uranio(VI) en muestras ambientales, prestaciones que contribuyen notablemente al control de este analito.

Por lo tanto, el presente método completamente automático y selectivo reduce significativamente el consumo de muestra y de reactivos, contribuyendo a disminuir el impacto ambiental por análisis. Al ser un método completamente automático, la manipulación de muestras por parte del analista se reduce considerablemente, salvaguardando su seguridad.

8.2 Artículo original



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Uranium monitoring tool for rapid analysis of environmental samples based on automated liquid-liquid microextraction



Rogelio Rodríguez^{a,b}, Jessica Avivar^{b,d}, Laura Ferrer^{b,*}, Luz O. Leal^a, Víctor Cerdà^c

^a *Energy and Environmental Department, Advanced Materials Research Center (CIMAV) S.C., Chihuahua, Chihuahua 31109, Mexico*

^b *Environmental Radioactivity Laboratory-LaboRA, University of the Balearic Islands, Palma de Mallorca E-07122, Spain*

^c *Laboratory of Environmental Analytical Chemistry, University of the Balearic Islands, Palma de Mallorca E-07122, Spain*

^d *Sciware Systems, S.L., Spin-off from the University of the Balearic Islands, Bunyola E-07193, Spain*

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 October 2014

Received in revised form

3 December 2014

Accepted 6 December 2014

Available online 15 December 2014

Keywords:

Uranium(VI) monitor

Cyanex-272

In-syringe liquid-liquid microextraction

Magnetic stirring assistance

Flow techniques

Environmental samples

ABSTRACT

A fully automated in-syringe (IS) magnetic stirring assisted (MSA) liquid-liquid microextraction (LLME) method for uranium(VI) determination was developed, exploiting a long path-length liquid waveguide capillary cell (LWCC) with spectrophotometric detection. On-line extraction of uranium was performed within a glass syringe containing a magnetic stirrer for homogenization of the sample and the successive reagents: cyanex-272 in dodecane as extractant, EDTA as interference eliminator, hydrochloric acid to make the back-extraction of U(VI) and arsenazo-III as chromogenic reagent to accomplish the spectrophotometric detection at 655 nm. Magnetic stirring assistance was performed by a specially designed driving device placed around the syringe body creating a rotating magnetic field in the syringe, and forcing the rotation of the stirring bar located inside the syringe.

The detection limit (LOD) of the developed method is $3.2 \mu\text{g L}^{-1}$. Its good interday precision (Relative Standard Deviation, RSD 3.3%), and its high extraction frequency (up to 6 h^{-1}) makes of this method an inexpensive and fast screening tool for monitoring uranium(VI) in environmental samples. It was successfully applied to different environmental matrices: channel sediment certified reference material (BCR-320R), soil and phosphogypsum reference materials, and natural water samples, with recoveries close to 100%.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Long-lived radioactive elements such as uranium, and any of their decay products, are considered as Naturally Occurring Radioactive Material (NORM). The term NORM refers to naturally occurring radioactive materials whose potential for exposure has been increased by human activities [1]. Certain industries handle significant quantities of NORM, which usually end up in their waste streams, or in the case of uranium mining, in their tailing dams. As potential NORM hazards have been identified, these industries have increasingly become subject to monitoring and regulation [2–4]. Moreover, uranium is present in soil, rocks and water being easily incorporated into the human food chain through various pathways. The simplest way for its intake is through water and beverages consumption. Thus, uranium is considered an element of great environmental interest, in both chemical and radiological aspects [5,6]. Organizations such as WHO (World Health Organization) and USEPA (United States

Environmental Protection Agency) have specified a guideline value of $30 \mu\text{g L}^{-1}$ uranium in drinking water [2,3]. For the foregoing reasons, there is a need for reliable methods, of easy handling, fast and low cost to enable uranium control in a large number of samples. Thus, we propose a rapid, high accuracy and precision, inexpensive, and automated method for determination of uranium (VI) in environmental samples.

In this context, spectrophotometric detection is a useful tool to develop simple and inexpensive methods for radioactive element monitoring. Thus, when the threshold value is exceeded, the content of specific radioisotopes present in the sample should be analyzed [7]. In order to enhance the sensitivity and improve limits of detection in spectrophotometric methods, long path length liquid waveguide capillary cells (LWCCs) have been widely used to determine environmental contaminants at trace levels [8,9]. LWCCs are based on use of a capillary with a lower refractive index than the liquid core contained in it, so the light introduced into the liquid core of the capillary is totally internally reflected down the capillary toward the detector, detecting as much of the optical signal as possible while minimizing background noise. Arsenazo-III has been used as chromogenic reagent to form a highly stable uranium complex [10,11].

* Corresponding author.

E-mail address: laura.ferrer@uib.es (L. Ferrer).

Provided the low concentration of uranium in environmental samples and the presence of interferences, sample pretreatment is almost unavoidable. Liquid–liquid extraction (LLE) was one of the earliest and is one of the most used sample pretreatment techniques for analyte preconcentration and sample clean-up. However, conventional LLE generally involves a tedious procedure with a lot of steps, increasing the risk of the analyst and of sample contamination or loss of analyte. Besides, LLE also requires large amounts of sample and commonly hazardous organic solvents. Therefore, many efforts have been focused to the miniaturization and automation of this extraction technique by a drastic reduction of the extractant phase volume with the development of liquid–liquid microextraction (LLME) techniques [12,13]. Various types of organophosphorous compounds and amides have been used to carry out separation of uranium in LLE [14,15]. The commercial extractant cyanex-272 containing predominantly bis(2,4,4 trimethylpentyl)phosphinic acid, available from Cytec [16], is mainly used for separation of cobalt and nickel and its extraction behavior with lanthanides and actinides has also been investigated while it has been scarcely applied for uranium extraction [17]. It has been recently used for the liquid–liquid extraction of uranium(VI) in sulfate, chloride, nitrate and sodium salicylate medium with different kinds of diluents [18,19].

Flow techniques allow the development of fully automated methods achieving the minimization of sample handling, drastic reduction of reagent consumption, improvement of reproducibility and the sample throughput, together with a significant decrease of both time and cost per analysis [20]. The multisyringe flow injection analysis (MSFIA) offers multi-channel operation, high injection throughput, robustness and versatility [21]. Using this flow technique, several automatic separations of radionuclides and radioactive elements have been implemented and applied to environmental and biological samples analyses [7]. Moreover, lab-in-syringe (IS) is a powerful tool that has significantly improved LLME, allowing automation and miniaturization of the method and thus a drastic reduction of sample and reagents per analysis. Furthermore the syringe can be placed up or down in order to have the phase with the preconcentrated and isolated analyte located at the head of the syringe being ready to be automatically collected and injected into the detection system [22]. Moreover, extraction efficiency can be improved by using magnetic-stirring-assisted (MSA) in-syringe LLME.

Therefore, a fully automated in syringe LLME with assisted agitation coupled to a LWCC spectrophotometric detector is presented. Uranium is isolated and preconcentrated by IS-MSA-LLME previous arsenazo-III-uranium(VI) complex formation. The potential of the present system as screening tool for uranium determination has been studied by its application to a variety of environmental matrices.

2. Experimental

2.1. Reagents and standard solutions

All solutions were of analytical-reagent grade, and Milli-Q water provided by Direct-8 purification system (resistivity > 18 MΩ cm, Millipore Iberica, Spain) was used throughout. All glassware was carefully cleaned, soaked in 10% (v/v) HNO₃ during 24 h and rinsed with Milli-Q water prior use.

Uranium solutions were prepared by appropriate dilution of the uranium standard (1010 ± 6 μg mL⁻¹, Sigma-Aldrich) with Milli-Q quality water. Organic phase solution was prepared by dissolving the appropriate amount of cyanex-272 in dodecane.

Specifications of the reagents used are given below:

- Cyanex-272, 90% produced by Cytec Industries, France.
- Dodecane 99%, from Sigma-Aldrich.
- HCl 37%, from Scharlau, Barcelona, Spain.
- Sodium formate 99%, from Scharlau, Barcelona, Spain.
- EDTA, from Scharlau, Barcelona, Spain.
- Ethanol, from Scharlau, Barcelona, Spain.
- Arsenazo-III, from Fluka, Madrid, Spain.
- Xylene 98.5% from Sigma-Aldrich.
- n-Hexane 96% from Scharlau, Barcelona, Spain.

2.2. Samples

Water samples (mineral water, sea water and tap water) were analyzed directly with the proposed system. Sea water was filtered through a membrane of 0.45 μm.

In order to validate the proposed method, a channel sediment certified reference material (BCR-320 R) from the Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) was analyzed. In addition, two other reference materials were also analyzed, i.e. soil and phosphogypsum samples from proficiency tests organized by the Centre for Energy, Environmental and Technological Research of Spain (CIEMAT) and the Spanish Nuclear Security Council (CSN). The phosphogypsum is a secondary residue from phosphate fertilizer plants which contains uranium, thorium and radium. The phosphogypsum sample came from residual ponds of a phosphate fertilizer plant located in Huelva (Spain).

Microwave-assisted acid digestion of solid samples was carried out via a microwave digester (MLS-1200 Mega) from Milestone (Soriso, Italy). Hence, a weighed dried sample (viz., 200 mg) was transferred to poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) vessels to which 10 mL of concentrated HNO₃ (65%, Merck, Darmstadt, Germany) were added. The microwave digestion program consisted of the following five steps: 6 min at 250 W, 6 min at 400 W, 6 min at 650 W, 6 min at 250 W, and 10 min without power supplied. The digests were heated again to dryness and diluted to 20 mL with Millipore water.

2.3. Manifold and software

The developed IS-MSA-MSFIA system is shown in Fig. 1. MSFIA comprises basically a 5000-step multisyringe burette (BU4S; Crison Instruments, Barcelona, Spain) with programmable flow rates, which has been placed upside down, for phase location convenience. This burette is equipped with 5 mL (S₁) and 10 mL (S₂) glass syringes (Hamilton, Switzerland) which are used as liquid drivers. Each syringe has a three-way solenoid valve (N-Research, Caldwell, NJ, USA) at the head, which facilitates the application of multicommutation schemes (on: in-line flow; off: to reservoirs). The central port of a rotary eight-port selection valve (Crison) is connected to S₁, addressing the peripheral ports of the valve (1–8), for sequential aspiration of the various constituents for the LLME and complex formation processes, via the central communication channel (CC). There are also two additional three-way solenoid valves V₁ and V₂ (MTV-3-N 1/4 UKG; Takasago, Japan) to drive the flow in the desired way.

The flow network is constructed with 0.8 mm internal diameter PTFE tubing. All connections are made by means of PVDF connectors, except cross-junctions, which are made of methacrylate.

The detection system is composed of a deuterium–halogen light source (Mikropack, Germany), two optical fibers of 400 and 600 μm internal diameter (Ocean Optics, USA), a long path length liquid core waveguide capillary cell type II Teflon AF 2400 (World Precision Instruments, FL, USA), with an effective path length of 100.0 ± 0.5 cm, an internal diameter 550 μm, and an internal volume 240 μL; and a USB 2000 miniaturized CCD spectrophotometer (Ocean

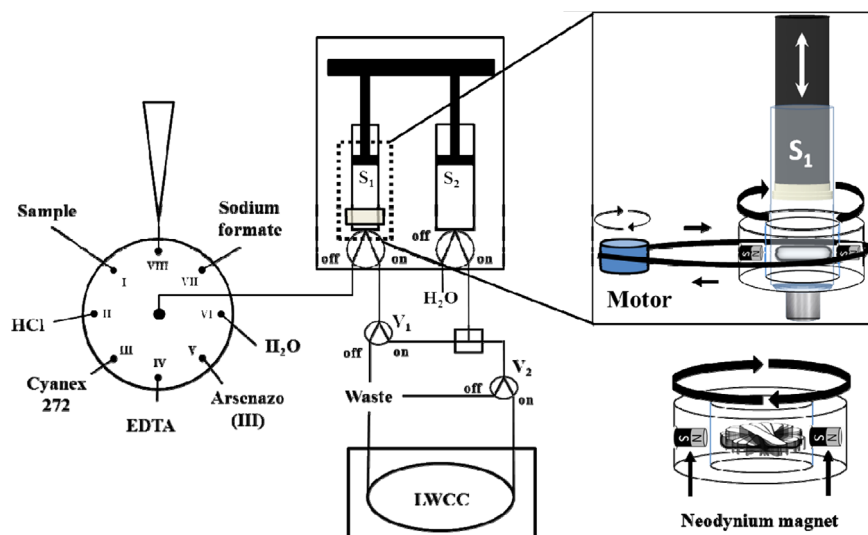


Fig. 1. IS-MSA-MSFIA system for uranium(VI) determination. Liquid waveguide capillary cell (LWCC), syringe ($S_{1,2}$), external solenoid valve ($V_{1,2}$).

Optics, USA), connected to a computer via an USB interface. The absorbance is measured at 655 nm.

Instrument control, data acquisition and processing are performed using the software package AutoAnalysis 5.0 (Sciware Systems, Bunyola, Spain). The distinctive feature of the developed software based on dynamic link libraries (DLLs) at 32 bits is the possibility of using a single and versatile application without further modification for whatever instrumentation and detection system needed. It involves a basic protocol which allows the implementation of specific and individual DLLs, addressing the configuration of the assembled flow analyzer.

The magnetic stirring system allows homogeneous and rapid mixing of sample and reagents without the requirement of additional mixing chambers [23]. A diagram of the magnetic stirring system is depicted in Fig. 1. It consists of four principal parts: a small magnetic stirring bar (10 mm length, 3 mm diameter) placed inside the syringe, a acetal ring with two neodymium magnets (4 od x 5 mm length) placed around the glass barrel of the syringe, a motor that forces the magnetic stirring bar driver to rotate, and a regulation circuit board (Sciware Systems) connected to the syringe pump for revolution control. The top position of the syringes was adjusted to leave a space of about 0.5 mm when emptying the syringe in order to avoid any damage and to allow free rotation of the stirring bar even when the piston was in the upper position. A rubber band was used to connect the motor rotation and the bottom ring of the magnetic stirring bar driver.

The statistical software Statistica 7.0 was used for the optimization of the method via multivariate approach.

2.4. Analytical procedure

Table 1 depicts the general scheme of the method with the corresponding flow rates and volumes used. The steps of the process can be summarized as follow:

1. Sample loading: 4 mL of standard/sample are loaded (port I) inside S_1 (S_{1-off}) at a flow rate of 15 mL min^{-1} .
2. Uranium extraction: 0.5 mL of cyanex-272/dodecane (port III) are loaded inside S_1 (S_{1-off}) at a flow rate of 15 mL min^{-1} . The magnetic stirring is activated for 10 s, improving the contact between the standard/sample and the organic solvent, leading to the uranium stripping. Afterwards, the stirring is stopped and we wait 40 s for phase separation. When the two phases

are separated, the aqueous phase is discarded (S_{1-on}) at a flow rate of 5 mL min^{-1} .

3. Elimination of interferences: 0.5 mL of 0.02 mol L^{-1} EDTA / 3.5% ethanol (port IV) are loaded inside S_1 (S_{1-off}) while stirring at a flow rate of 15 mL min^{-1} . A waiting time of 10 s is used for phase separation. In this step, thorium if present in the organic phase is stripped and it is discarded with the aqueous phase (S_{1-on}) at a flow rate of 5 mL min^{-1} .
4. Uranium back-extraction: 0.5 mL of 2 mol L^{-1} HCl (port II) are loaded inside S_1 (S_{1-off}) while stirring at a flow rate of 15 mL min^{-1} . A waiting time of 10 s is used for phase separation. In this step, the uranium is transferred to the aqueous phase and it is dispensed at a flow rate of 5 mL min^{-1} toward the holding tank (selection valve, port VIII).
5. Uranium reaction: 0.5 mL of 2 mol L^{-1} sodium formate (port VII) are loaded inside S_1 (S_{1-off}) at a flow rate of 15 mL min^{-1} . After that, the aqueous phase is loaded from the holding tank while stirring, achieving a pH close to 2 for an efficient reaction between uranium and arsenazo-III. Thus, a volume of 0.25 mL of 0.001% arsenazo-III (port V) is loaded inside S_1 (S_{1-off}) while stirring at a flow rate of 15 mL min^{-1} . After 5 s, the colored complex is dispensed with the same syringe (S_{1-on} , V_{1-on}) up to the cross-junction. Then the colored complex is dispensed toward the liquid waveguide capillary cell (LWCC) with water (S_{1-on} , V_{1-off} , S_{2-on} , V_{2-on}).
6. Change of sample: In order to avoid contamination between samples, 1 mL of the next sample (port I) is loaded inside S_1 and then the same volume is dispensed to waste (S_{1-on} , V_{1-off}).
7. Syringe and manifold washing: first 5 mL of deionized water (port VI) are loaded while stirring and then these are discarded to waste. Finally, the process is repeated again, dispensing the 5 mL through all the system including the LWCC at a flow rate of 3 mL min^{-1} .

3. Results and discussion

3.1. Flow system set-up

The use of a selection valve permits the design of a system with the capability of commuting automatically between various ports, as many as reagents involved in the chemical analysis. Thus, reagents may be selected at the appropriate time quickly and accurately.

Table 1
Automated procedure for uranium extraction, back-extraction and spectrophotometric detection.

Step	Flow rate (mL min ⁻¹)	Selection valve	S ₁	S ₂	V ₁	V ₂	Stirring
Sample loading							
(a) Load 4 mL of standard or sample	15	I	off	off	off	off	off
Uranium extraction							
(a) Load 0.5 mL of cyanex-272/dodecane	15	III	off	off	off	off	off
(b) Magnetic stirring activation (10 s)	15	III	off	off	off	off	on
(c) Waiting time for phases separation (40 s)	15	III	off	off	off	off	off
(d) Aqueous phase discarding	5	III	on	off	off	off	off
Elimination of interferences							
(a) Load 0.5 mL of EDTA/ethanol	15	IV	off	off	off	off	on
(b) Waiting time for phases separation (10 s)	15	IV	off	off	off	off	off
(d) Aqueous phase discarding	5	IV	on	off	off	off	off
Uranium back-extraction							
(a) Load 0.5 mL of 2 mol L ⁻¹ HCl	15	II	off	off	off	off	on
(b) Waiting time for phases separation (10 s)	15	II	off	off	off	off	off
(c) Dispense the aqueous phase toward the retention tank	5	VIII	off	off	off	off	off
Uranium reaction							
(a) Load 0.5 mL of 2 mol L ⁻¹ sodium formate	15	VII	off	off	off	off	off
(b) Load aqueous phase	15	VIII	off	off	off	off	on
(c) Load 0.25 mL of 0.001% arsenazo-III	15	V	off	off	off	off	on
(d) Wait to complete reaction (5 s)	15	V	off	off	off	off	off
Uranium spectrophotometric detection							
(a) Dispense colored complex until cross- junction	3	V	on	off	on	off	off
(b) Dispense colored complex toward the LWCC and start detection (655 nm)	3	V	on	on	off	on	off
Change of sample							
(a) Load 1 mL of new sample	15	I	off	off	off	off	off
(b) Dispense 1 mL of new sample	15	I	on	off	off	off	off
Cleaning system							
(a) Load 5 mL of deionized water	15	VI	off	off	off	off	on
(b) Dispense 5 mL of deionized water	15	VI	on	off	off	off	off
(c) Load 5 mL of deionized water	15	VI	off	off	off	off	on
(b) Dispense 5 mL of deionized water	15	VI	on	off	on	on	off

MSFIA combined with a selection valve forms a robust system that allows the rigorous control of volumes and flow rates of reagents and sample. Also, with the help of three-way solenoid valves, the plug of reagents-sample is directed toward the detector or toward the waste as required, with great precision and reproducibility. Another advantage to highlight of the proposed system is that the magnetic stirring assistance makes possible the homogeneous mixing of sample and reagents within seconds. Thus, the liquid-liquid microextraction of uranium is accomplished, removing interferences and ensuring the correct uranium determination.

The use of spectrophotometric detection exploiting a LWCC provides high sensitivity, good precision and the full automation of the system, being an excellent tool for uranium monitoring even as portable system.

3.2. Optimal working conditions

Uranium extraction was studied, and three organic solvents, viz., xylene, dodecane and hexane, were tested as diluents of cyanex-272. Different solutions of cyanex-272 were prepared at the same concentration (5×10^{-4} mol L⁻¹) according to a previous work [24]. Under this condition, two levels of standard concentration were analyzed by triplicate with the proposed method (Fig. 2). As can be observed, xylene gives better results for uranium extraction, whilst using hexane the net absorbance is the lowest. However, laborious cleaning cycles were required when xylene was used as diluent, in order to maintain the reproducibility, and also taking into account its higher toxicity, xylene was discarded. Comparing dodecane and hexane, the net absorbance remained stable and the cleaning cycle was simpler and faster. So, dodecane was selected as diluent of cyanex-272 given it provided slightly higher analytical signals.

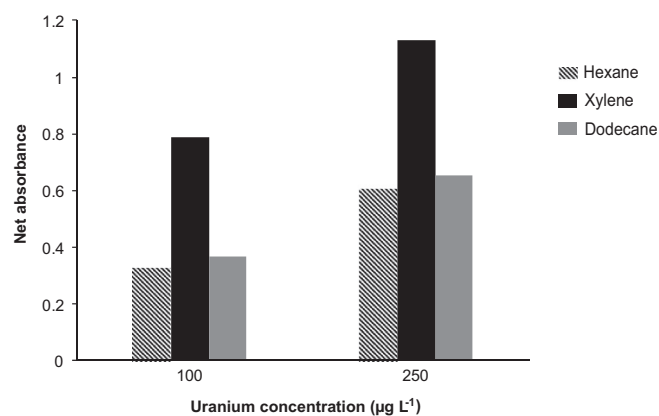


Fig. 2. Comparison of organic diluents for cyanex-272 used in uranium extraction for two concentration levels of uranium(VI).

In order to avoid the interference from calcium and the overlap of the arsenazo-III spectrum with the maximum of the complex formed, a pH nearly 2 was adjusted adding sodium formate at the same volume and concentration of HCl [10,25].

Sodium salicylate medium was assayed in a previous work to improve uranium LLE using cyanex-272 as extractant [24]. Thus, the sodium salicylate effect was tested in the screening step.

To find the best operational conditions for liquid-liquid microextraction of uranium with the proposed system, optimization was performed using multivariate analysis. The optimization methodology started with a screening to study the independent variables and their possible interactions by a fractional factorial design (2^{7-2}) [26]. In all cases, three center points were included, to identify any curvature and to estimate the error. The independent variables studied were: cyanex-272/dodecane concentration (0.25 – 0.5 mmol L⁻¹), cyanex-272/dodecane volume (0.5 – 1.5 mL),

HCl concentration (0.5–2.5 mol L⁻¹), HCl volume (0.5–1.5 mL), arsenazo-III concentration (0.0001–0.001%), arsenazo-III volume (0.25–1 mL), and sodium salicylate concentration (0–0.002 mol L⁻¹). Results showed that the curvature and three of the seven variables studied, i.e. cyanex-272/dodecane concentration, arsenazo-III volume and concentration, were significant in the studied experimental domain. Then, these significant variables were optimized with a response surface design [26], using a face centered central composite design. A total of 17 experimental runs were conducted to optimize the experimental conditions. All experimental responses were statistically analyzed, showing satisfactory results (i.e. good adjust coefficient for the 3-way interaction model, normal distribution of the residuals histogram and good fit between observed vs. predicted values). Thus, critical values were obtained for these three variables, namely: 0.4 mmol L⁻¹ cyanex-272/dodecane, 0.25 mL arsenazo-III and 0.001% arsenazo-III which were used for further assays. The volume of cyanex-272/dodecane was fixed at 0.5 mL since it didn't have a significant effect upon the response and a higher enrichment factor could be accomplished selecting the lowest volume. The sodium salicylate didn't show a significant effect upon the response, being not necessary. Thus, it was not used in further assays simplifying the sample pretreatment. The HCl concentration wasn't significant. Therefore, it was fixed at 2 mol L⁻¹ according to bibliography [24]. A volume of 0.5 mL of HCl was selected because it did not improve the net signal when increasing it and the uranium was diluted in a larger volume which then had to be neutralized with sodium formate. Table 2 summarizes the working conditions of the system.

3.3. Analytical parameters

Analytical parameters are summarized in Table 3. Under the selected operational conditions described above, concentration calibration curves (net absorbance versus µg L⁻¹ uranium(VI)), with a statistically satisfactory fit were obtained ($y = 0.00253 \pm 0.00006x - 0.0056 \pm 0.0002$, $R^2 = 0.9985$). The calibration curve is linear over the concentration range 10.7–400 µg L⁻¹ of uranium.

The method detection limit (LOD) was calculated as three times the standard deviation of ten replicates of the blank divided by the slope of the calibration curve [27,28]. Thus, the LOD achieved is 3.2 µg L⁻¹ which is similar than that calculated by other authors

Table 2
Optimized working conditions.

Reagent	Concentration	Volume
Cyanex-272 / Dodecane	0.4 mmol L ⁻¹	0.5 mL
HCl	2 mol L ⁻¹	0.5 mL
Arsenazo-III	0.001%	0.25 mL

Table 3
Analytical parameters of the proposed method.

Analytical parameters	
Detection limit (LOD)	3.2 µg L ⁻¹
Quantification limit (LOQ)	10.7 µg L ⁻¹
Regression coefficient	0.9985
Intraday precision (n=10)	3%
Interday precision (n=5)	3.3%
Sample volume	4 mL
Enrichment factor (EF)	8
Sensitivity	0.0025 UA µg L ⁻¹
Linear working range	10.7–400 µg L ⁻¹
Injection throughput	6 h ⁻¹

(2.4 µg L⁻¹) exploiting dispersive-LLME with spectrophotometric detection [29]. The corresponding limit of quantification (LOQ) was calculated as ten times the standard deviation of ten replicates of the blank divided by the slope of the calibration curve, obtaining a LOQ of 10.7 µg L⁻¹. Moreover, the present method allows to attain the reference value for uranium suggested by WHO and USEPA [2,3]. Furthermore, the automated method presented is capable to directly perform water analysis without any pretreatment. This fact, together with the portable size of the total system makes of it a powerful and efficient tool for field analysis, being an excellent screening tool in times of emergency and environmental contingency. In the event that the uranium content exceeds the threshold value, the radioisotopes of uranium present in the sample should be analyzed, which is laborious, expensive and time-consuming.

The present work requires a sample volume of 4 mL, which is up to 12.5 times lower than that used in previously reported manual methods (up to 20 mL of sample) [30]. The enrichment factor (EF) accomplished, i.e. EF=8, can be estimated from the ratio between the volume of the sample and the volume of the final extraction solution (0.5 mL of HCl). The volume and concentration of cyanex-272 were also reduced considerably, compared with a previous work allowing significant savings in the use of this extractant [24].

Intra and interday precision of the method were evaluated by analyzing ten extractions in one day and over a period of five working days, respectively. The relative standard deviations (RSDs) were 3.0 and 3.3%, respectively.

The analysis frequency of the proposed method is also higher than that reported by other authors [29], since an analysis requires a maximum of 10 min, which allows analyzing up to six samples per hour providing a rapid response. Since all chemical procedures were carried out in a syringe, and given the tendency of dodecane to stick to hydrophobic surfaces such as the piston's head and the stirring bar (PTFE) and the possible adsorption of the dye on the wall of the syringe, a cleaning step was implemented after every analysis avoiding contamination between samples. Furthermore, the stirring speed of the automatic stirring system allows an efficient washing of the walls inside the syringe and removing reagent residues adhered to the wall from previous analysis. Thus, good results obtained for the intra- and inter-day precision indicated no crossover contamination between samples of different concentrations.

3.4. Interferences

According to a previous work, the affinity of cyanex-272 for uranium and thorium as extractant is similar [24]. Therefore, to prevent any thorium interference, a step to eliminate interferences with 0.02 mol L⁻¹ EDTA / 3.5% ethanol was included in the analytical protocol. EDTA back-extracts thorium retained in the extractant but not uranium. Hence, to determine the possible influence of thorium on the measurement of uranium, a solution of 50 µg L⁻¹ of uranium was assessed in relation with thorium until a ratio of 1:300. Results showed that thorium interferes at ratios above 1:200 (uranium:thorium). However, thorium did not interfere during the analysis of environmental samples and reference certified materials that also contained thorium.

Furthermore, in the derivatization step by controlling the pH of the reaction uranium-arsenazo-III complex, it becomes highly selective and stable [10,31]. This was accomplished by the use of sodium formate in the same concentration and volume as the hydrochloric acid used in the back-extraction step, allowing a pH close to 2 for an efficient reaction with arsenazo-III.

Table 4
Analysis of environmental samples.

Sample*	Added U ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Found ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recovery (%)
Tap water	0	< LOD	
	20	20 ± 1	101
Mineral water	0	< LOD	
	20	21 ± 1	104
Seawater	0	< LOD	
	20	20 ± 2	99
Sample*		Certified value (mg kg^{-1})	Found (mg kg^{-1})**
Phosphogypsum sample ^a		4.5 ± 0.8	4.2 ± 0.4
Soil sample ^b		1.7 ± 0.3	1.60 ± 0.10
Channel sediment (BCR-320 R) ^c		1.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2

* ($n=3$)

** The t-test of comparison of means revealed no differences at the 95% confidence level.
Thorium content: ^a $1.5 \pm 0.3 \text{ mg kg}^{-1}$, ^b $3.5 \times 10^{-5} \pm 6.35 \times 10^{-6} \text{ mg kg}^{-1}$, ^c $5.3 \pm 0.4 \text{ mg kg}^{-1}$

3.5. Validation and application to environmental samples

The automated methodology was validated by analyzing a channel sediment certified reference material (BCR-320 R) and two reference materials, i.e. soil and phosphogypsum samples. In addition, the method was applied to different water matrices (mineral, tap and sea water). Results of analyses for three replicates ($n=3$) are shown in Table 4.

For the channel sediment certified reference material as well as soil and phosphogypsum reference materials, the *t*-test for comparison of means revealed that there were no significant differences at the 95% confidence level. In the case of water matrices, the procedure was applied to samples and spiked samples with known U(VI) concentration, obtained from the corresponding standard. Results revealed that recovery was fairly good, close to 100% in all cases. Although the uranium concentration is commonly very low in seawater, it should be highlighted the good performance of the developed method in such type of complex matrix.

4. Conclusions

An accurate, precise, reliable and rapid analytical method for uranium determination in a wide variety of environmental matrices is presented, proving to be a robust, fast and useful screening tool for uranium monitoring.

The developed method takes advantage of the automation offered by flow analysis techniques, which combined with in-syringe magnetic stirring assisted exploits the full potential of the liquid-liquid microextraction as extraction technique.

The use of cyanex-272 for uranium extraction and its posterior derivatization with arsenazo-III allowed the satisfactory uranium determination in environmental samples with high variability in uranium(VI) content. Moreover, the implementation of a liquid waveguide capillary cell made possible to achieve the uranium reference value established by several regulatory organizations in drinking water.

Thus, the figures of merit of this methodology together with the equipment used provides various advantages such as simplicity, selectivity, sensitivity, low operational and instrumentation costs and robustness. Thus, the present method is a completely new and automated methodology that reduces significantly the use of sample and reagents, contributing to significantly reduce the environmental impact per analysis.

Acknowledgments

This work was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO, project CTM2013-42401-R), the Balearic Government (project 43/2011) both cofinanced by FEDER funds and by the National Council of Science and Technology in Mexico (CONACYT) and the Government of Chihuahua State (project FOMIX CHIH-2013-C03-194659). R. Rodríguez acknowledges to CONACYT for the allowance of a grant. J. Avivar acknowledges to MINECO for the financial support through the Torres Quevedo Programme (PTQ-12-05755). Authors acknowledge to Cytec Industries France SARL for donating cyanex-272 to make possible this research.

References

- [1] D. Larivière, N. Guérin, Natural radioactivity, in: D.A. Atwood (Ed.), *Radio-nuclides in the Environment*, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2010, pp. 1–17.
- [2] World Health Organization (WHO), *Guidelines for drinking water quality, fourth ed.*, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2011.
- [3] Radiation Protection: Uranium, Environmental Protection Agency (EP). <<http://www.epa.gov/radiation/radionuclides/uranium.html>> (accessed date 12.18.14).
- [4] Toxicological Profile for Uranium, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=440&tid=77>> (accessed date 12.18.14).
- [5] L.R. Morss, N.M. Edelstein, J. Fuger (Eds.), *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements*, Springer, Netherlands, 2006.
- [6] J. Emsley, Uranium, in: *Nature's Building Blocks: an A to Z Guide to the Elements*, Oxford University Press, Oxford, UK, 2001.
- [7] Y. Fajardo, J. Avivar, L. Ferrer, E. Gómez, M. Casas, V. Cerdà, *Trend Anal. Chem* 29 (2010) 1399–1408.
- [8] L.J. Gimbert, P.J. Worsfold, *Trend Anal. Chem* 26 (2007) 914–930.
- [9] F. Maya, J.M. Estela, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 1577–1583.
- [10] Photometric Determination of Traces of Metals, in: E.B. Sandell, H. Onishi (Eds.), *fourth ed.*, John Wiley & Sons, New York, USA, 1979.
- [11] J. Avivar, L. Ferrer, M. Casas, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 871–878.
- [12] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, *Spectrochim. Acta B.* 64 (2009) 1–15.
- [13] C.I.C. Silvestre, J.L.M. Santos, J.L.F.C. Lima, E.A.G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta* 652 (2009) 54–65.
- [14] M. Eskendari Nasab, S.A. Milani, A. Sam, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 288 (2011) 677–683.
- [15] A. Senol, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 258 (2003) 361–372.
- [16] Cytec Industrial Materials, France, www.cytec.com.
- [17] V.A. Cocalia, M.P. Jensen, J.D. Holbrey, S.K. Spear, D.C. Stepinski, R.D. Rogers, *Dalton T.* 11 (2005) 1966–1971.
- [18] S.D. Dogmane, R.K. Singh, D.D. Bajpai, J.N. Mathur, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 253 (2002) 477–482.
- [19] B. Rajeswari, B.A. Dhawale, T.R. Bangia, J.N. Mathur, A.G. Page, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 254 (2002) 479–483.
- [20] V. Cerdà, L. Ferrer, J. Avivar, V. Cerdà, *Flow Analysis: a Practical Guide*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2014.

- [21] V. Cerdà, J.M. Estela, R. Forteza, A. Cladera, E. Becerra, P. Altimira, P. Sitjar, *Talanta* 50 (1999) 695–705.
- [22] F. Maya, B. Horstkotte, J.M. Estela, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 909–917.
- [23] C. Henriquez, B. Horstkotte, P. Solich, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (2013) 6761–6769.
- [24] N.S. Madane, K.R. Nikam, K.R. Mahanwar, B.S. Mohite, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 288 (2011) 285–290.
- [25] N. Malcik, J.P. Ferrance, J.P. Landers, P. Caglar, *Sensor Actuat. B* 107 (2005) 24–31.
- [26] D.C. Montgomery, *Design and Analysis of Experiments*, seventh ed., John Wiley and Sons, Asia, 2009.
- [27] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Anal. Chem.* 55 (1983) 712–724.
- [28] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, fourth ed., John Wiley and Sons, New York, USA, 2000.
- [29] M. Kaykhâi, E. Ghasemi, *Anal. Method* 5 (2013) 5260–5266.
- [30] N. Jalbani, M. Soylak, *J. Radioanal. Nucl. Ch.* 301 (2014) 263–268.
- [31] J. Fries, H. Getrost, *Organic Reagents for Trace Analysis*, Merck, Darmstadt, 1977.

8.3 Información adicional sobre la optimización

Para comenzar esta serie de experimentos, se ha definido como la variable de respuesta a la absorbancia resultante de la detección espectrofotométrica a 655 nm, considerando a la altura de pico como señal analítica. A lo largo de estos experimentos, se pretendió maximizar la señal para el uranio y minimizar la señal del blanco (reactivos).

Las variables y los niveles que se evaluaron se muestran en la **Tabla 8.1**.

Tabla 8.1. Variables a optimizar.

<i>Variables</i>		<i>Nivel Bajo (-1)</i>	<i>Punto Central (0)</i>	<i>Nivel Alto (1)</i>	<i>Unidades</i>
Cyanex / Dodecano	Concentración	0,00025	0,00038	0,0005	<i>mol L⁻¹</i>
	Volumen	0,5	1,0	1,5	<i>mL</i>
Ácido Clorhídrico	Concentración	0,5	1,5	2,5	<i>mol L⁻¹</i>
	Volumen	0,5	1,0	1,5	<i>mL</i>
Arsenazo-III	Concentración	0,0001	0,00055	0,001	<i>%</i>
	Volumen	0,25	0,625	1,0	<i>mL</i>
Salicilato de sodio	Concentración	0	0,001	0,002	<i>mol L⁻¹</i>

8.3.1 Análisis estadístico de cribado o *screening*

Una vez definidas las variables a optimizar, los factores y sus respectivos niveles fueron evaluados haciendo uso del software estadístico Statistica¹. Se definió un diseño factorial fraccionado 2^{7-2} , que comprendió 35 experimentos incluyendo tres puntos centrales.

Se evaluaron dos tipos de respuestas: la absorbancia de un patrón de uranio y la absorbancia del blanco de reactivos. Los resultados de los experimentos se analizaron haciendo un estudio con la función deseabilidad (**Figura 8.1**).

[1] <http://www.statsoft.com/Products/STATISTICA/Product-Index>

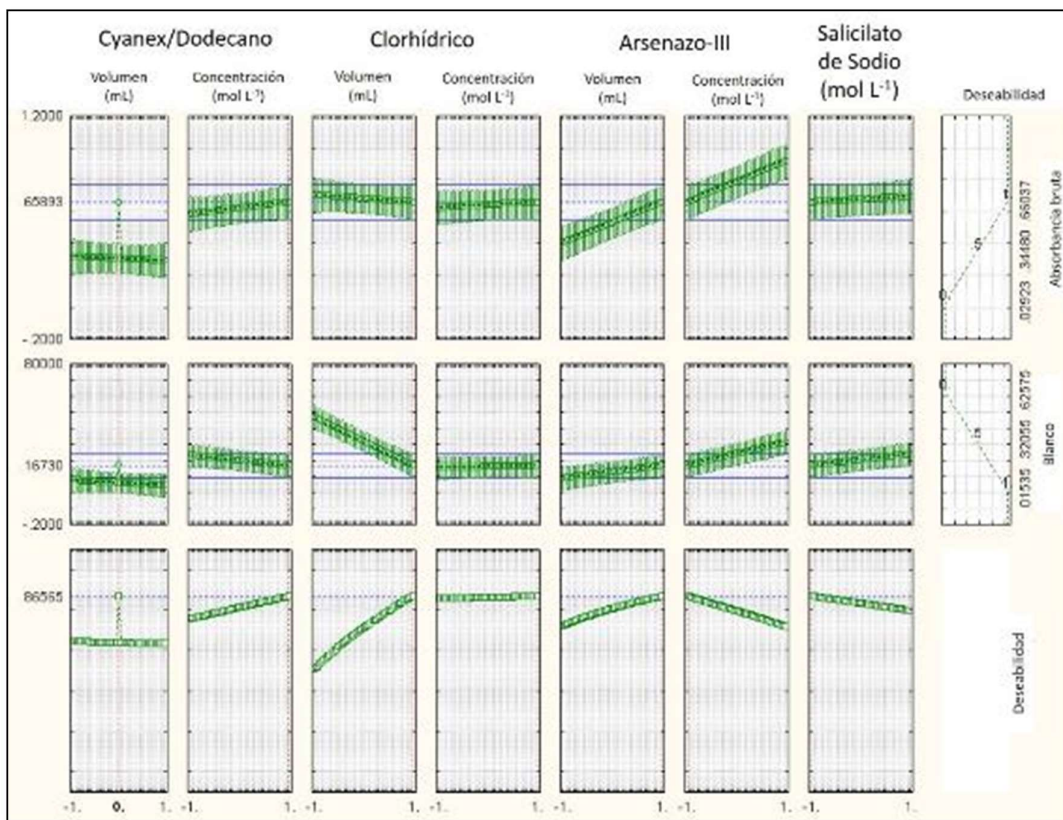


Figura 8.1. Gráfico de deseabilidad aplicado al análisis de cribado.

En la **Figura 8.1**, se observan cada uno de los factores bajo estudio para ambas respuestas: el primero de arriba hacia abajo, explica la deseabilidad de la absorbancia del patrón de uranio; el segundo explica la deseabilidad del blanco; y el tercero indica la deseabilidad conjunta.

En base a la interpretación del gráfico anterior, se tomaron las siguientes decisiones:

Volumen y concentración de Cyanex en dodecano

Como puede observarse en la **Figura 8.1**, el volumen del cyanex/dodecano no afecta significativamente la absorbancia, por lo tanto, para los siguientes experimentos, con el objetivo de minimizar la generación de residuos, el volumen que se usará queda definido en su valor mínimo. En cambio, para la concentración, se observa que al aumentar su valor, la absorbancia bruta se

maximiza y la absorbancia del blanco se reduce, eso significa que este factor si influye de forma trascendente en la respuesta.

Volumen y concentración del ácido clorhídrico

Como se observa en la **Figura 8.1**, el volumen de ácido clorhídrico no afecta la respuesta para la absorbancia bruta en el rango estudiado, sin embargo, para el blanco se observa que al aumentar su valor aumenta la señal. Como el objetivo es tener una absorbancia mínima para el blanco, se decidió entonces fijar el volumen del ácido clorhídrico al valor más bajo ensayado. En el caso de la concentración, no presenta un efecto significativo sobre la respuesta en el rango estudiado, es por eso que para futuros experimentos esta variable se fijó en 2 mol L⁻¹.

Volumen y concentración del arsenazo-III

Como se observa en la **Figura 8.1**, tanto el volumen como la concentración del arsenazo-III resultaron ser factores significativos en el rango de valores estudiado.

Concentración del salicilato de sodio

Esta variable no presentó un efecto significativo en la respuesta, por lo tanto se descarta su uso (**Figura 8.1**).

8.3.2 Análisis de superficie de respuesta

En la **Tabla 8.2** se muestran los valores de las variables que se fijaron y los de aquellas que serán evaluadas por una superficie de respuesta.

Tabla 8.2. Valores de variables a optimizar mediante superficie de respuesta y valores fijados.

	<i>Variable</i>	<i>Valor</i>	<i>Nivel Bajo (-1)</i>	<i>Punto Central (0)</i>	<i>Nivel Alto (1)</i>	<i>Unidades</i>
Cyanex / Dodecano	Concentración	-	0,0004	0,0012	0,002	<i>mol L⁻¹</i>
	Volumen	0,5	-	-	-	<i>mL</i>
Ácido Clorhídrico	Concentración	2	-	-	-	<i>mol L⁻¹</i>
	Volumen	0,5	-	-	-	<i>mL</i>
Arsenazo-III	Concentración	-	0,0001	0,00055	0,001	<i>%</i>
	Volumen	-	0,25	0,625	1,0	<i>mL</i>
Salicilato de sodio	Concentración	0	-	-	-	<i>mol L⁻¹</i>

El estudio de la superficie de respuesta de los factores que afectan al sistema incluyó 17 experimentos (con tres puntos centrales), cuyos resultados fueron analizados con el mismo software. En la **Figura 8.2**, se muestra el estudio de deseabilidad aplicado a los resultados.

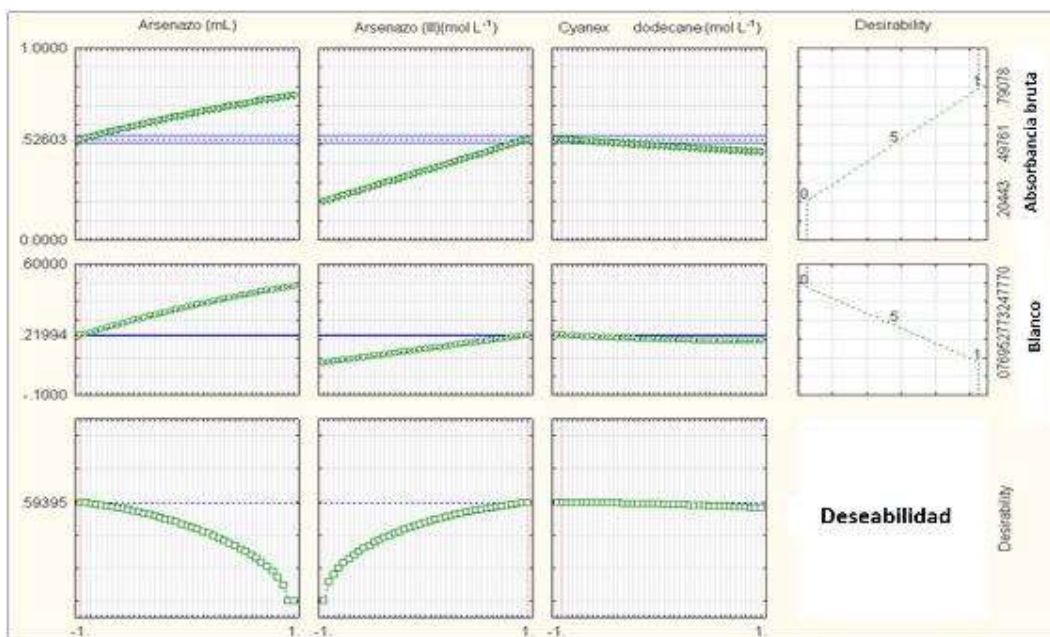


Figura 8.2. Función de deseabilidad de la superficie de respuesta.

En la **Tabla 8.3** se señalan los valores optimizados de trabajo para los cuales se espera obtener la máxima respuesta.

Tabla 8.3. Valores optimizados de las variables estudiadas.

	Variable	Valor	Unidad
Cyanex / Dodecano	Concentración	0,0004	$mol L^{-1}$
	Volumen	0,5	mL
Ácido Clorhídrico	Concentración	2	$mol L^{-1}$
	Volumen	0,5	mL
Arsenazo-III	Concentración	0,001	%
	Volumen	0,25	mL
Salicilato de sodio	Concentración	0	$mol L^{-1}$

CAPITULO 9

**SISTEMA MSFIA-LOV PARA LA SEPARACIÓN Y
PRECONCENTRACIÓN DE ^{226}Ra DE MUESTRAS DE
AGUA PARA SU POSTERIOR DETECCIÓN
RADIOMÉTRICA**

9.1 Introducción

En este capítulo, se presenta un sistema que permite realizar de forma automática el pretratamiento de muestras de agua para extraer el ^{226}Ra mediante la adsorción sobre dióxido de manganeso formado sobre perlas de celulosa. El radio posteriormente es eluido para provocar su coprecipitación con BaSO_4 . El sistema propuesto es capaz de preparar muestras para dos tipos de detección radiométrica: para un contador proporcional de bajo fondo, filtrando y llevando a sequedad el coprecipitado; y para un contador de centelleo líquido, re-disolviendo el coprecipitado ($\text{Ba}(\text{Ra})\text{SO}_4$) mediante una disolución de EDTA en amoníaco.

Se trata de un sistema MSFIA-LOV con una alta precisión ($\text{RSD} = 1,7\%$) y frecuencia de extracción (hasta 3 extracciones h^{-1}), que se ha aplicado de forma satisfactoria en análisis de muestras de agua potable (grifo, mineral y pozo) y de mar. Las AMDs obtenidas en los equipos radiométricos (detector de centelleo líquido: $0,004 \text{ Bq L}^{-1}$, contador proporcional de bajo fondo: $0,02 \text{ Bq L}^{-1}$) permiten alcanzar los valores de referencia propuestos por las agencias internacionales (Organización Mundial de la Salud, Agencia de Protección Ambiental y la Comunidad Europea).

9.2 Artículo original



MSFIA-LOV system for ^{226}Ra isolation and pre-concentration from water samples previous radiometric detection[☆]



Rogelio Rodríguez^{a,b}, Antoni Borràs^a, Luz Leal^b, Víctor Cerdà^c, Laura Ferrer^{a,*}

^a Environmental Radioactivity Laboratory (LaboRA), University of the Balearic Islands, Cra. Valldemossa km 7.5, 07122, Palma, Spain

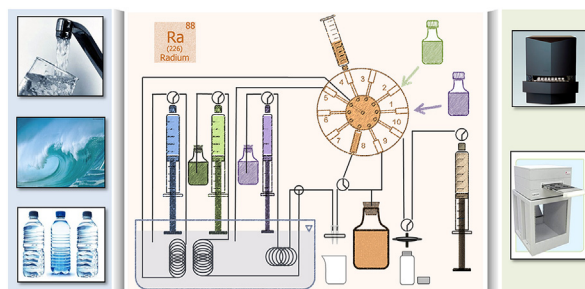
^b Environment and Energy Department, Advanced Materials Research Center (CIMAV) S.C., Miguel de Cervantes 120, Chihuahua, Chih. 31136, Mexico

^c Department of Chemistry, University of the Balearic Islands, Cra. Valldemossa km 7.5, 07122, Palma, Spain

HIGHLIGHTS

- Automatic, rapid and selective method for ^{226}Ra extraction/pre-concentration from water.
- MSFIA-LOV system performs a sample clean-up prior to ^{226}Ra radiometric detection.
- ^{226}Ra sample preparation allows using two radiometric detectors (LBPC and LSC).
- Environmental levels of ^{226}Ra are easily quantified.
- High sensitivity and selectivity are achieved, reaching the ^{226}Ra regulations for drinking water.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 December 2015

Accepted 3 January 2016

Available online 11 January 2016

Keywords:

^{226}Ra

Flow analysis

Radiochemical analysis

Automation

Radiological water parameters

ABSTRACT

An automatic system based on multisyringe flow injection analysis (MSFIA) and lab-on-valve (LOV) flow techniques for separation and pre-concentration of ^{226}Ra from drinking and natural water samples has been developed. The analytical protocol combines two different procedures: the Ra adsorption on MnO_2 and the BaSO_4 co-precipitation, achieving more selectivity especially in water samples with low radium levels.

Radium is adsorbed on MnO_2 deposited on macroporous of bead cellulose. Then, it is eluted with hydroxylamine to transform insoluble MnO_2 to soluble Mn(II) thus freeing Ra, which is then coprecipitated with BaSO_4 . The ^{226}Ra can be directly detected in off-line mode using a low background proportional counter (LBPC) or through a liquid scintillation counter (LSC), after performing an on-line coprecipitate dissolution. Thus, the versatility of the proposed system allows the selection of the radiometric detection technique depending on the detector availability or the required response efficiency (sample number vs. response time and limit of detection).

The MSFIA-LOV system improves the precision (1.7% RSD), and the extraction frequency (up to 3 h^{-1}). Besides, it has been satisfactorily applied to different types of water matrices (tap, mineral, well and sea water). The ^{226}Ra minimum detectable activities (LSC: 0.004 Bq L^{-1} ; LBPC: 0.02 Bq L^{-1}) attained by this system allow to reach the guidance values proposed by the relevant international agencies e.g. WHO, EPA and EC.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

[☆] Selected paper from Flow Analysis XIII Conference, 5–10 July 2015 in Prague, Czech Republic.

* Corresponding author.

E-mail address: laura.ferrer@uib.es (L. Ferrer).

1. Introduction

^{226}Ra is a natural radionuclide which levels in the atmosphere and the earth's surface have increased due to human activities such as mining and processing of mineral sands or phosphate fertilizer production and energy production from coal power plants [1,2]. Dissolved in water or incorporated into the food chain, radium is bioavailable. Additionally, radium has a metabolism similar to calcium, it mainly concentrates in bones, increasing the internal radiation dose whose prolongation rises the risk of developing various diseases [3].

Among the radium naturally-occurring isotopes, ^{226}Ra and ^{228}Ra cause environmental concerns, mainly the ^{226}Ra because it is an alpha emitter with a long half-life (1600 years). Although ^{228}Ra is also controlled being a beta emitter with a shorter half-life (5.7 years). Several international agencies have established different guidance values for ^{226}Ra and ^{228}Ra in drinking water. The World Health Organization (WHO) recommends 1 Bq L^{-1} for ^{226}Ra and 0.1 Bq L^{-1} for ^{228}Ra [4], while the Environmental Protection Agency (EPA) has established a maximum contaminant level of 0.185 Bq L^{-1} for ^{226}Ra and ^{228}Ra (combined) [5]. Meanwhile, the European Commission (EC) establishes minimum detection limits of 0.04 and 0.02 Bq L^{-1} for ^{226}Ra and ^{228}Ra respectively, for determinations in drinking water. In the case of derived concentrations, EC establishes values of 0.5 Bq L^{-1} and 0.2 Bq L^{-1} for ^{226}Ra and ^{228}Ra , respectively [6].

There are several analytical methodologies to determine ^{226}Ra in water samples encompassing processes with long and time-consuming steps of precipitation and coprecipitation with sulfates, carbonates or insoluble phosphates [7–9], and protocols based on chromatographic extraction, liquid–liquid extraction or cationic exchange techniques [10–13]. Radium adsorption on manganese dioxide has been successfully applied in marine samples [14] and in different kinds of water samples [9,17–20]. Most of these developed methodologies are performed in a manual approach, which leads to long response times even in contingencies. There are scarce automatic methods to determine ^{226}Ra [21,22] developed to use with a given radiometric detector.

Technological advances allow the automation of conventional analytical methods for pretreatment of samples within the radiochemical field, resulting in more rapid, simple and reliable methods that ensure the safety of the analyst [23,24]. In particular, combining LOV [25] and MSFIA [26] in a single system allows to exploit the advantages offered by both flow techniques. MSFIA provides a more accurate and precise control of flow and volume of liquids, while the LOV ability to handle liquid and solid materials makes it an excellent tool for automatic renewal of extraction columns.

The radiometric detection of radium is commonly carried out by low background proportional counter (LBPC), gamma spectrometry, liquid scintillation counting (LSC) and alpha-spectrometry [22,27–29]. Regardless of the detection technique, a sample pretreatment is mandatory for removing interferences and increasing the activity concentration, minimizing the auto-absorption factor when required and thereby to ensure the correct detection.

Therefore, a fully automatic MSFIA-LOV system for separation and pre-concentration of ^{226}Ra in water samples is proposed. It combines the use of two extraction methods exploiting their advantages, firstly the radium adsorption through the MnO_2 and later its co-precipitation in form of $\text{Ba}(\text{Ra})\text{SO}_4$. The versatility of the developed automatic method allows the radiometric detection using a LBPC or a LSC.

2. Experimental

2.1. Reagents and standard solutions

All solutions were prepared from analytical grade reagents with Millipore quality water and all glassware was carefully cleaned.

Synthetic mineral water (SMW), used to prepare the working standard, composed of 150 mg L^{-1} of bicarbonate, 20 mg L^{-1} of magnesium and 50 mg L^{-1} of calcium was prepared with the appropriate reagents (magnesium nitrate hexahydrate, Merck; sodium bicarbonate, Panreac and calcium nitrate trihydrate, Probus). ^{226}Ra solutions were prepared by appropriate dilution of the ^{226}Ra standard reference material (Ref. MC96-08) of initial activity (36.2 ± 0.5) Bq L^{-1} in $1\text{ mol L}^{-1}\text{ HNO}_3$, prepared by CIEMAT (Madrid, Spain) with SMW water.

Specifications of other reagents used are given below:

- $0.025\text{ mol L}^{-1}\text{ KMnO}_4$, Scharlau.
- $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, Scharlau in $0.2\text{ mol L}^{-1}\text{ HCl}$, Scharlau.
- $0.5\text{ mol L}^{-1}\text{ Na}_2\text{SO}_4$, Scharlau.
- 2 mol L^{-1} acetic acid–acetate buffer of $\text{pH} = 3$ with $50\text{ mg L}^{-1}\text{ Ba}^{2+}$.
- 0.1 EDTA , Scharlau in $0.16\text{ NH}_4\text{OH}$, Scharlau.
- Iontosorb[®] MT50, macroporous bead cellulose (MBC) of $50\text{--}100\text{ }\mu\text{m}$ particle size.
- Nitrocellulose filters of 47 mm diameter and $0.22\text{ }\mu\text{m}$ pore size, Millipore.
- Millex[®] syringe filter units of 25 mm diameter and $0.45\text{ }\mu\text{m}$ pore size, Millipore.
- Fiberglass wool for chromatography.
- Liquid scintillation cocktail Optiphase HiSafe 3, Perkin Elmer.

2.2. Samples

Mineral and tap water samples were analyzed directly without any pre-treatment. Seawater and well water were filtered through a nylon filter, $0.45\text{ }\mu\text{m}$ pore size. To ensure an adequate adsorption of radium, the pH of samples was adjusted to 7 as recommended in previous works [22,30]. Besides, in order to guarantee the quantitative extraction with MnO_2 , it is mandatory to check the oxygen content of the sample, particularly when groundwater samples should be analyzed [19,31].

In all cases, the analyses were performed during the first 24 h after sample collection.

2.3. Manifold, software and instrumentation

The MSFIA-LOV system used is shown in Fig. 1. MSFIA comprises a 5000-step multisyringe burette (BU4S; Crison Instruments, Barcelona, Spain) with programmable flow rates, and equipped with three 10 mL (S1, S2, S4) and 5 mL (S3) glass syringes (Hamilton, Switzerland). S1, S2 and S3 are used as liquid drivers and S4 as liquid filter by vacuum. Each syringe has a three-way solenoid valve (N-Research, Caldwell, NJ, USA) at the head, which facilitates the application of multicommutation schemes (S1, S2 and S3, on: in-line flow, off: to reservoirs; S4, on: to waste, off: to syringe filter).

The LOV microconduit (Sciware System, Bunyola, Spain), fabricated from methacrylate encompassing ten integrated microchannels ($1.5\text{ mm i.d.}/16.0\text{ mm}$ length, excepting the bead column channel made of 3.2 mm i.d.), was mounted atop of a ten-port multiposition selection valve (Crison Instruments, Barcelona, Spain). The central conduit (CC) of the LOV was connected to S1 via a holding coil.

The extraction of ^{226}Ra is conducted in a column (port 8 of the

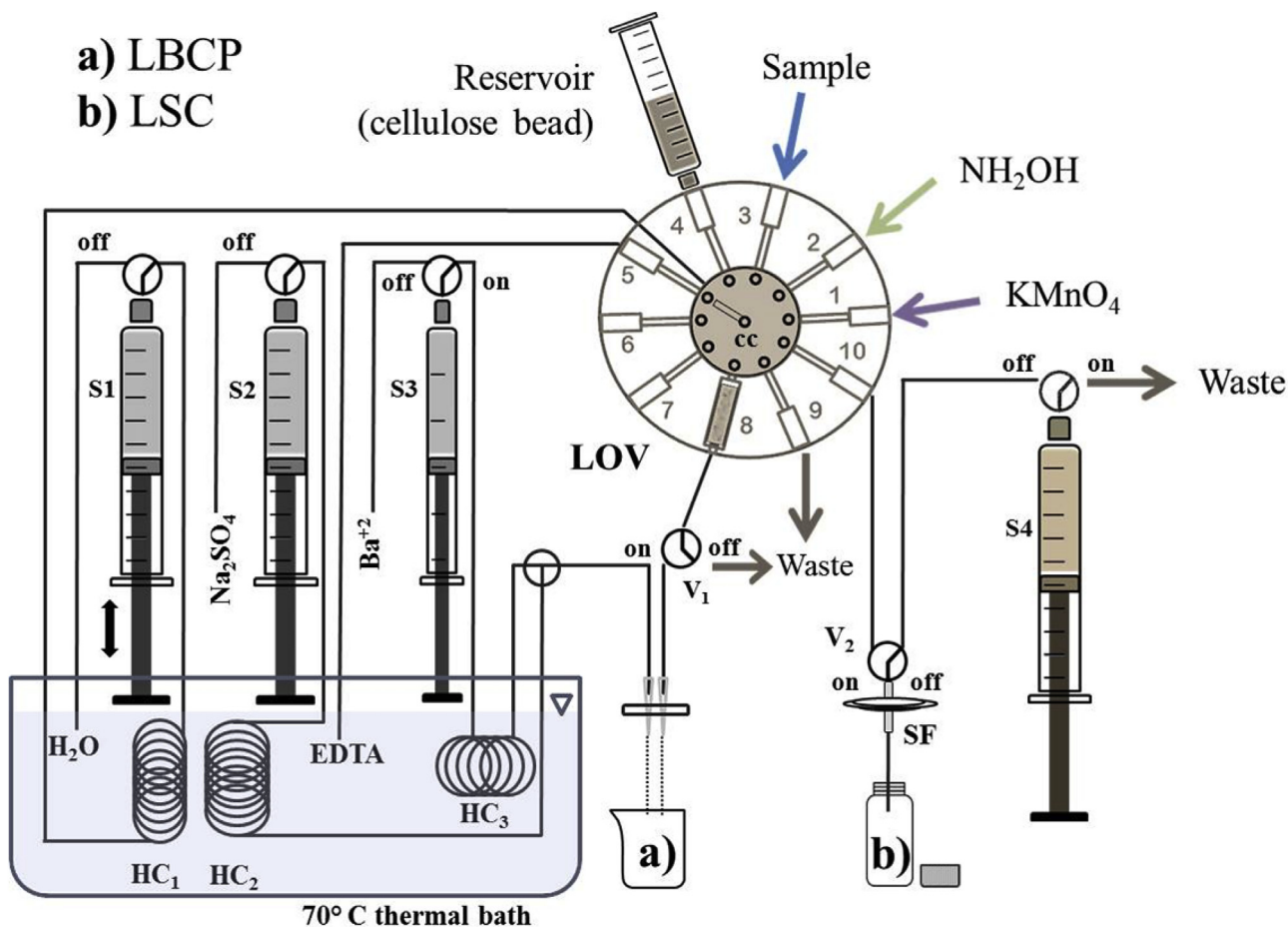


Fig. 1. MSFIA-LOV system for ^{226}Ra separation and pre-concentration: (a) low background proportional counter (LBPC) and (b) liquid scintillation counting (LSC); CC, central conduit; S1–S4, syringe; LOV, Lab-on-valve; HC_{1–3}, holding coil; V_{1–2}, solenoid valve; Sf, syringe filter.

LOV), packed with 0.30 g of MBC. To contain MBC within the column and prevent it from escaping, the outlet of the column was furnished with compressed fiberglass wool for chromatography retaining the beads while liquids flow freely. The suspension of MBC in 20% methanol in water [32] was contained in a 5 mL plastic syringe, which was mounted in vertical position on port 4 of the integrated microsystem.

Port 8 is connected to a solenoid commutation valve V₁ (MTV-3-N 1/4 UKG; on: in line flow to sample collector; off: to waste). The S4 is connected to a V₂ whose input is connected to a 0.45 μm pore size syringe filter (SF), and port 10 is connected to V₂ in on position.

The flow network is constructed with 0.8 mm i.d. PTFE tubing. The system is integrated by 3 holding coils (HC) constructed with 1.5 mm i.d. PTFE tubing, 10, 5.5 and 3.5 m long for HC_{1–3}, respectively. All the coils are submerged in a thermostatic bath at 70 °C. All connections are made by means of PVDF connectors.

The fraction collector (Crison Microsampler) is used to collect the eluates and to place the 0.45 μm syringe filter.

Instrument control is performed using the software package AutoAnalysis5.0 (Sciware Systems).

The detectors used in this work were a LBPC and a LSC. A LBPC Tennelec LB 4200, with an average alpha efficiency of 20%, equipped with four detectors was used. The measurements were performed using a counting time of 1000 min with the voltage set to 1320 V for simultaneous alpha/beta mode. Besides, a LSC HIDEX 300SL with an average efficiency of 98% equipped with triple to double coincidence (TDCR) signal measurement and pulse length

index processing (PLI) electronics for optimized alpha/beta separation was employed. Counting times ranging from 1 to 5 h are needed, depending on the activity of the sample, with a delay time of 2 h. The pulse length index (PLI) was set to 4 and the region of interest (ROI) was defined between channels 250 to 800.

The MDA was determined for both detectors to prove the suitability of the proposed extraction and pre-concentration method, to prepare samples that can be efficiently measured with both detectors. For the rest of the work, water samples were measured using the LBPC detector. While the LSC detector performs the measurements sequentially, the LBPC can perform several simultaneous determinations, avoiding any need to introduce additional correcting factors due to the measuring delay between analog samples.

The optimization of the method via multivariate approach was performed using the software Statistica 7.0.

2.4. Analytical procedure

The complete automated sequence for ^{226}Ra isolation and pre-concentration is listed in Table 1 and summarized as follows:

1. Conditioning of MBC column: 5 mL of hot water is propelled towards the column (port 8), raising the adequate temperature. V₁-off, to waste.
2. The MnO₂ formation: 4 mL of 0.025 mol L⁻¹ KMnO₄ (port 1) is loaded into the HC₁. Then KMnO₄ is propelled towards the

Table 1
Automatic procedure for ^{226}Ra separation and pre-concentration.

Step	Flow rate (mL min ⁻¹)	LOV position	S1	S2	S3	S4	V ₁	V ₂	Time consumption (s)
a) Conditioning of MBC column									
(a) Dispense 5 mL of hot deionized water	30	8	On	Off	Off	Off	Off	Off	10
MnO ₂ formation									
(a) Load 4 mL of 0.025 mol L ⁻¹ KMnO ₄ into HC ₁	25	1	On	Off	Off	Off	Off	Off	10
(b) Dispense 4 mL of KMnO ₄ to the column	3	8	On	Off	Off	Off	Off	Off	80
(c) Dispense 5 mL of deionized water	30	9	On	Off	Off	Off	Off	Off	10
(d) Waiting time for MnO ₂ formation (2 min)		9	On	Off	Off	Off	Off	Off	120
Sample loading									
(a) Load × mL of sample into the HC ₁	15	3	On	Off	Off	Off	Off	Off	3730*
(b) Dispense × mL of sample to the column	1.8	8	On	Off	Off	Off	Off	Off	
Elution of ^{226}Ra									
(a) Load 2.5 mL of 0.1 mol L ⁻¹ hydroxylamine into the HC ₁	15	2	On	Off	Off	Off	Off	Off	23
(b) Dispense the hydroxylamine to the column	1.8	8	On	Off	Off	Off	On	Off	120
Coprecipitate formation									
(a) Load 8 mL of 0.5 mol L ⁻¹ sodium sulfate and 4 mL of the acetate buffer/Ba ²⁺	30	9	Off	Off	Off	Off	Off	Off	24
(b) Dispense the sodium sulfate and the acetate buffer/Ba ²⁺	30	9	On	On	On	Off	Off	Off	24
(c) Waiting time for coprecipitate formation (30 min)		9	Off	Off	Off	Off	Off	Off	
b) Coprecipitate filtration									
(a) Aspirating the remaining liquid	10	5	Off	Off	Off	Off	Off	Off	60
(b) Discarding the remaining liquid to the waste	30	5	Off	Off	Off	On	Off	Off	25
(c) Dispense 2 mL of deionized water	10	10	On	Off	Off	On	Off	On	12
(d) Aspirating the remaining liquid	2	5	Off	Off	Off	Off	Off	Off	60
Dissolution of radium precipitate									
(a) Load 9 mL of 0.1 mol L ⁻¹ EDTA in ammonia medium into the HC	15	5	On	Off	Off	Off	Off	Off	36
(b) Dispense the EDTA in ammonia medium to the vial	10	10	On	Off	Off	On	Off	On	43
Change of macroporous bead cellulose									
(a) Load the old bead cellulose into the HC	25	8	On	Off	Off	Off	On	Off	12
(b) Discarding the bead cellulose to the waste	30	9	On	Off	Off	Off	Off	Off	16
(c) Load the new macroporous bead cellulose into the HC	15	4	On	Off	Off	Off	Off	Off	12
(d) Dispense the bead cellulose to the column	5	8	On	Off	Off	Off	Off	Off	24

* Time consumed for a sample volume of 200 mL.

a) Steps to determine ^{226}Ra by a LBPC.

b) Additional steps for the measurement of ^{226}Ra via a LSC.

- column (port 8) at a flow rate of 3 mL min⁻¹, remaining in contact with the bead cellulose for 2 min to allow the formation of MnO₂. V₁-off, to waste. After that, 5 mL of water is propelled to eliminate permanganate solution excess.
3. Sample loading: Once formed the MnO₂ over MBC, × mL of standard or sample (port 3) is dispensed toward the column at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹. V₁-off, to waste.
 4. Elution of ^{226}Ra : 2.5 mL of 0.1 mol L⁻¹ NH₂OH·HCl (port 2) are loaded into the HC₁ and V₁-on. The eluent reduces and dissolves completely the MnO₂ adsorbed over MBC and elutes jointly the deposited Ra towards a vial of the fraction collector, at a flow rate of 1.8 mL min⁻¹.
 5. The coprecipitate formation: 8 mL of 0.5 mol L⁻¹ Na₂SO₄ (S2) and 4 mL of the acetate buffer/Ba²⁺ (S3) solutions are propelled into the vial ((a) in Fig. 1) with the eluate, allowing the ^{226}Ra coprecipitate formation as Ba(Ra)SO₄. Simultaneously, deionized water is dispensed to clean the tube to waste (port 3). Finally, a waiting time of 30 min is needed to assure the quantitative coprecipitation of Ra.
 6. The coprecipitate filtration: the sampler collector places the vial ((b) in Fig. 1) with the coprecipitate below the syringe filter (SF). V₂-off. The solution containing the coprecipitate is filtered using S4. SF retains the coprecipitate with radium, which is rinsed with 2 mL of water (port 10), the liquid is discarded afterwards using S4.
 7. Dissolution of radium precipitate: 9 mL of 0.1 mol L⁻¹ EDTA in ammonia medium (port 5) is loaded into the HC₁, then is propelled towards the vial b) (port 10, V₂-on), dissolving the Ra coprecipitate. The scintillation cocktail is added off-line at this point.
 8. Change of MBC into the column: the column is regenerated by replacing the MBC automatically. First, the old MBC is loaded

into the HC₁ and sent to waste (port 9), then new MBC is loaded into the HC₁ from the reservoir (port 4) which contains the MBC in 20% C₂H₅OH in water and dispensed at port 8 with V₁-off to fill the column.

The procedure to determine ^{226}Ra by a LBPC includes only the first five steps. The coprecipitate formed is filtered and carefully brought to dryness over a stainless-steel planchet, for further determination of ^{226}Ra alpha activity.

If the measurement of ^{226}Ra is performed via a LSC, two additional steps are added in order to dissolve the coprecipitate and to add the scintillating cocktail (steps 6 and 7).

3. Results and discussion

3.1. Flow system set-up

The coupling of two flow analysis techniques, MSFIA and LOV, allows the fully automation of a system which combines two analytical procedures to achieve the selectivity and sensitivity required to quantify ^{226}Ra . Moreover, MSFIA permits the rigorous control of volumes and flow rates, and LOV provides compactness to the system and ensures repeatability of microfluidic manipulations, including bead injection. Therefore, the proposed MSFIA-LOV system is able to renew MCB at will in a fully automated way, without requiring the analyst intervention, resulting in a higher reproducibility and automation degree.

Thus, the developed system enables the separation and pre-concentration of ^{226}Ra , removing interferents and other matrix components. The versatility of the proposed system consists in providing the sample pretreatment for two radiometric detectors, i.e. LBPC and LSC, only adding two steps to the general protocol. The

optional use of two detectors offers the flexibility to provide and meet the needed sensitivity. Thus, the selection of the detector will depend on the detector availability or the required response efficiency (sample number vs. response time and limit of detection). For all these reasons, the proposed system is an excellent tool for control in environmental radiological monitoring.

3.2. Optimal working conditions

In all cases, a ^{226}Ra solution of 1 Bq prepared from a certified standard was used, except otherwise stated. The sample solution was prepared on a matrix of SMW, since the presence of other metal ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+}) inhibit Ra^{2+} adsorption on the container walls. Additionally, the sample is also brought to a pH 7, ensuring the adsorption of radium on the surface of formed MnO_2 [22].

Low-potassium glass vials and Optiphase Hisafe 3 like liquid scintillation cocktail were used to determine the LSC MDA.

3.2.1. Retention and elution of ^{226}Ra

In order to ensure the ^{226}Ra retention, the volume and flow rate of KMnO_4 were fixed to 4 mL and 3 mL min^{-1} , and the temperature of the thermal bath was set at 70°C , following the recommendations reported by others authors [22]. The concentration of KMnO_4 was studied in the range of $0.02\text{--}0.07 \text{ mol L}^{-1}$, obtaining the greater retention of ^{226}Ra at 0.025 mol L^{-1} .

The sample loading flow rate was 1.8 mL min^{-1} to get enough contact time between the sample and MCB.

The studied factors affecting elution were volume (1–4 mL) and concentration ($0.01\text{--}0.19 \text{ mol L}^{-1}$) of $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$. The optimal values of the factors were obtained by a response surface, using a face centered central composite design (10 experimental runs, including central points). All experimental responses were statistically analyzed, showing satisfactory results (i.e. ANOVA table, adjust coefficient for 2-way interaction model, curvature, normal distribution of the residuals histogram and the fit between observed vs. predicted values). Thus, 2.5 mL and 0.1 mol L^{-1} of $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ eluent were found as critical values, and used in further assays.

3.2.2. Coprecipitation and dissolution of ^{226}Ra

In this step, the formation of coprecipitated $\text{Ba}(\text{Ra})\text{SO}_4$ and its dissolution by EDTA in ammonia medium were optimized. According to previous work [22], the best coprecipitation results were obtained waiting at least 30 min to achieve a quantitative solid formation. In addition, HC_{1-2} were submerged in a thermostatic bath at 70°C .

The factors under study and their values ranges are defined according to the literature [22,33,34]. These are: buffer/ Ba^{2+} at pH = 3 ($100\text{--}400 \text{ mg L}^{-1}$); Na_2SO_4 ($1\text{--}2 \text{ mol L}^{-1}$) and EDTA ($0.02\text{--}0.06 \text{ mol L}^{-1}$) prepared in a final solution of 0.16 mol L^{-1} NH_4OH .

The optimization started with a screening test (2^3), including four center points to identify any irregularities and to estimate the error. Results showed that all factors were significant in the experimental domain. According to the Pareto chart [35], the ranges of values were defined again: buffer/ Ba^{2+} at pH = 3 ($50\text{--}100 \text{ mg L}^{-1}$); Na_2SO_4 ($0.5\text{--}1 \text{ mol L}^{-1}$) and EDTA ($0.05\text{--}0.2 \text{ mol L}^{-1}$). Then, the optimization continues with a response surface design, using a face centered central composite design (12 experimental runs were conducted). All experimental responses were statistically analyzed, showing satisfactory results, i.e. good adjust coefficient for the 3-way interaction model, normal distribution of the residuals histogram and good fit between observed vs. predicted values. Thus, the critical values obtained for

these three variables were: 50 mg L^{-1} of buffer/ Ba^{2+} at pH = 3, 0.5 mol L^{-1} of Na_2SO_4 and 0.1 mol L^{-1} of EDTA in ammonia medium, which were used for further assays.

3.3. Analytical parameters

The sample loading volume was tested, showing recoveries above 90% in a volume sample range of 0.5 mL–200 mL. Thus, the pre-concentration factor was calculated considering the maximum volume tested, resulting in a pre-concentration factor of 200.

For maximum sample volume of 200 mL, the MDA was calculated according to the recommendations of ISO 11929 [36] for a confidence level of 95%. For the LSC, a value of 0.004 Bq L^{-1} was obtained, while for the LBPC the MDA was 0.02 Bq L^{-1} . Therefore, both MDAs allow to quantify the ^{226}Ra following the guidance values or the detection limit proposed by international agencies (e.g. WHO, EPA, EC).

In order to estimate the number of times the column may be reused without affecting the functionality of the same MBC package, consecutive injections were carried out with the same activity concentration and their recoveries were calculated. Results obtained over 100 analyses revealed an analyte recovery higher than 90% over the first 54 injections with a RSD of 1.7%. Therefore, the automatic replacing of the resin after 54 injections is recommended to prevent a deficiency in its functionality.

Furthermore, the proposed MSFIA-LOV system is able to renew the solid phase extraction without requiring the analyst intervention, resulting in a high intermediate and intra-day precision. For both experimental tests, a solution of 0.5 Bq of ^{226}Ra was used. The intermediate precision of the method, 1.9% RSD, was determined from results obtained on different working days ($n = 5$), changing the packing of MCB column, so the MCB replacement effect is included in the RSD given. The intra-day precision of the method, 1.7% RSD ($n = 10$), was determined from results obtained in one working day, without changing the MCB column. Table 2 summarizes the analytical parameters of the present system.

3.4. Interferences

Since coprecipitation is a commonly used technique for the determination of both ^{226}Ra and ^{210}Pb [33,37], the influence of ^{210}Pb on the radiometric signal of 0.1 Bq of ^{226}Ra was evaluated up to a ratio 1:4 (Ra:Pb). Interferences are considered significant when they cause differences greater than $\pm 10\%$ in the analytical signal. Results showed no significant interference in the studied ranges of activity. Furthermore, no interference was found when analyzing natural water samples.

3.5. Application to water samples

In order to validate the proposed method, different water

Table 2
Analytical parameters of the proposed method.

Analytical parameters	
Liquid scintillation counter, MDA (Bq L^{-1})	0.004 ^a
Low background proportional counter, MDA (Bq L^{-1})	0.023 ^a
Intra-day precision (%) ($n = 10$)	1.7
Intermediate precision (%) ($n = 5$)	1.9
Sample volume (mL)	0.5–200
Pre-concentration volume (mL)	Up to 200
Injection throughput (h^{-1})	3–0.2 ^b

^a For a sample volume of 200 mL.

^b 0.5–200 mL sample volume.

Table 3
Analyses of 100 mL of water samples by low background proportional counter for ^{226}Ra determination.

Sample	Added ^{226}Ra (Bq)	Found ^{226}Ra (Bq)	Recovery (%)
Mineral water	0	<MDA	
	0.01	0.010 ± 0.003	103
	0.025	0.024 ± 0.003	96
	0.05	0.050 ± 0.004	100
Tap water	0	<MDA	
	0.01	0.009 ± 0.002	92
	0.025	0.023 ± 0.003	94
	0.05	0.047 ± 0.004	93
Sea water	0	<MDA	
	0.01	0.010 ± 0.003	103
	0.025	0.024 ± 0.003	96
Well water	0	<MDA	
	0.01	0.009 ± 0.002	92
	0.025	0.023 ± 0.003	92

Results are expressed as the mean activity \pm uncertainty ($n = 3$).
MDA for a sample volume of 100 mL is 0.045 Bq L^{-1} .

matrices were spiked with the certified ^{226}Ra standard. Results of ^{226}Ra analysis for three replicates ($n = 3$) are shown in Table 3. Results are expressed as activity \pm uncertainty. The uncertainty (95% confidence level, $k = 2$) was calculated according to the ISO recommendations [38].

The ^{226}Ra recoveries, already corrected at $t = 0$ using Bateman equations [21], were over 90% in 100 mL of sample volume. It should be noticed that matrix differences between samples are not a determining factor in the analyte recovery. Results reveal that the proposed method can be successfully applied to different water matrices.

4. Conclusions

The hyphenation of two flow techniques (MSFIA-LOV) in a single system exploits several advantages such as high degree of automation, accuracy, speed, flexibility, simplicity, compactness and miniaturization. These analytical profits make the MSFIA-LOV a powerful tool that brings together in one single protocol two extraction procedures conferring high selectivity for extraction and pre-concentration of ^{226}Ra at different environmental levels in water samples.

The possibility to choose between two radiometric detectors, LSC and LBPC, provides a high versatility, which depends on the number of samples vs. required MDA and response time. Moreover, the proposed method offers accuracy, high precision and a significant reduction in the handling of reagents/standard, improving the analyst safety, which is of high relevance when manipulating radionuclides.

All these characteristics make the present MSFIA-LOV-system a useful tool for ^{226}Ra environmental monitoring.

Acknowledgments

This work was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (project CTM2013-42401-R) cofinanced by FEDER Funds, and Balearic Government (project AAEE46/2014). R. Rodríguez acknowledges to the National Council of Science and Technology in Mexico (CONACYT) for the allowance of a grant.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.01.004>.

References

- [1] L.M. Sanders, C.J. Sanders, W. Luiz-Silva, W. Machado, E.V. Silva-Filho, S.R. Patchineelam, Anthropogenic source assessment of ^{226}Ra and ^{210}Pb in a sediment core from the Cubatao River estuary (SE Brazil), *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 287 (2011) 729–732.
- [2] Y.M. Amin, M.U. Khandaker, A.K.S. Shyen, R.H. Mahat, R.M. Nor, D.A. Bradley, Radionuclide emissions from a coal-fired power plant, *Appl. Radiat. Isot.* 80 (2013) 109–116.
- [3] D.A. Atwood (Ed.), *Radionuclides in the Environment*, first ed., John Wiley & Sons, Chichester, 2010.
- [4] World Health Organization, *Guidelines for Drinking (WHO)*, fourth ed., Water Quality, Geneva, 2011.
- [5] Environmental Protection Agency (EPA). <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/radionuclides.cfm>.
- [6] European Council Directive 2013/51/EURATOM.
- [7] Y.O. Rosenberg, V. Metz, Y. Oren, Y. Volkman, J. Ganor, Co-precipitation of radium in high ionic strength systems: 2. Kinetic and ionic strength effects, *Geochim. Cosmochim. Acta* 75 (2011) 5403–5422.
- [8] A. Durecová, F. Durec, D. Bursová, Determination of ^{226}Ra , ^{224}Ra , ^{223}Ra and ^{228}Ra in mineral water samples of the Slovak republic, *Czech J. Phys.* 56 (2006) D247–D255.
- [9] J.C. Bayes, E. Gómez, F. Garcías, M. Casas, V. Cerdà, Radium determination in mineral waters, *Appl. Radiat. Isot.* 47 (1996) 849–853.
- [10] B.B. Sadi, C. Li, G.H. Kramer, C.L. Johnson, Q. Ko, E.P.C. Lai, Rapid determination of ^{226}Ra in drinking water samples using dispersive liquid-liquid micro-extraction coupled with liquid scintillation counting, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 290 (2011) 415–425.
- [11] J. Eikenberg, S. Bajo, H. Beer, J. Hitz, M. Ruethi, I. Zumsteg, P. Letessier, Fast methods for determination of anthropogenic actinides and U/Th-series isotopes in aqueous samples, *Appl. Radiat. Isot.* 61 (2004) 101–106.
- [12] N. St-Amant, J.C. Whyte, M.E. Rousseau, D. Larivière, R.K. Ungar, S. Johnson, Radiostrontium and radium analysis in low-level environmental samples following a multi-stage semi-automated chromatographic sequential separation, *Appl. Radiat. Isot.* 69 (2011) 8–17.
- [13] E.H. Borai, Y.F. Lasheen, E.A. El-Sofany, A.A. Abdel-Rassoul, Separation and subsequent determination of low radioactivity levels of radium by extraction scintillation, *J. Hazard. Mater.* 156 (2008) 123–128.
- [14] J. Michel, W.S. Moore, P.T. King, γ -ray spectrometry for determination of radium-228 and radium-226 in natural waters, *Anal. Chem.* 53 (1981) 1885–1889.
- [15] P.B. Henderson, P.J. Morris, W.S. Moore, M.A. Charette, Methodological advances for measuring low-level radium isotopes in seawater, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 296 (2013) 357–362.
- [16] S. Dulanská, V. Gardonová, F. Sebesta, L. Mátel, A rapid determination of ^{226}Ra in water using composite ion exchanger MnO_2 -PAN, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 303 (2015) 47–51.
- [17] H. Dulaiova, W.C. Burnett, An efficient method for gamma-spectrometric determination of radium-226,228 via manganese fibers, *Limnol. Oceanogr. Methods* 2 (2004) 256–261.
- [18] D.S. Moon, W.C. Burnett, S. Nour, P. Horwitz, A. Bond, Preconcentration of radium isotopes from natural waters using MnO_2 resin, *Appl. Radiat. Isot.* 59 (2003) 255–262.
- [19] J.J. Mateos, E. Gómez, F. Garcías, M. Casas, V. Cerdà, Implementation of a sequential injection pre-treatment method for simultaneous radium and strontium determination, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 83 (2003) 515–521.
- [20] Y. Fajardo, E. Gómez, F. Garcías, V. Cerdà, M. Casas, Development of an MSFIA-MPFS pre-treatment method for radium determination in water samples, *Talanta* 71 (2007) 1172–1179.
- [21] Y. Fajardo, J. Avivar, L. Ferrer, E. Gómez, M. Casas, V. Cerdà, Automation of radiochemical analysis by applying flow techniques to environmental samples, *Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 1399–1408.
- [22] K. Kolacińska, M. Trojanowicz, Application of flow analysis in determination of selected radionuclides, *Talanta* 125 (2014) 131–145.
- [23] J. Wang, E.H. Hansen, Sequential injection lab-on-valve: the third generation of flow injection analysis, *Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 225–231.
- [24] V. Cerdà, J.M. Estela, R. Forteza, A. Cladera, E. Becerra, P. Altamira, P. Sitjar, Flow techniques in water analysis, *Talanta* 50 (1999) 695–705.
- [25] G. Jia, J. Jia, Determination of radium isotopes in environmental samples by gamma spectrometry, liquid scintillation counting and alpha spectrometry: a review of analytical methodology, *J. Environ. Radiat.* 106 (2012) 98–119.
- [26] K. Morvan, Y. Andres, B. Mokili, J.C. Abbe, Determination of radium-226 in aqueous solutions by α -spectrometry, *Anal. Chem.* 73 (2001) 4218–4224.
- [27] H. Surbeck, Alpha spectrometry sample preparation using selectively adsorbing thin films, *Appl. Radiat. Isot.* 53 (2000) 97–100.
- [28] J. Eikenberg, A. Tricca, G. Vezzu, S. Bajo, M. Ruethi, H. Surbeck, Determination of ^{228}Ra , ^{226}Ra and ^{224}Ra in natural water via adsorption on MnO_2 -coated discs, *J. Environ. Radiat.* 54 (2001) 109–131.
- [29] Z. Szabo, T. Vincent, J.M. Fischer, T.F. Kraemer, E. Jacobsen, Occurrence and geochemistry of radium in water from principal drinking-water aquifer systems of the United States, *Appl. Geochim.* 27 (2012) 729–752.
- [30] Iontosorb® bead cellulose derivatives, <http://www.iontosorb.cz>.
- [31] M. Villa, H.P. Moreno, G. Manjón, Determination of ^{226}Ra and ^{224}Ra in sediments samples by liquid scintillation counting, *Radiat. Meas.* 39 (2005)

- 543–550.
- [34] H.P. Moreno, A.A.I. Vioque, G. Manjón, R. García-Tenorio, Application of a liquid scintillation technique to the measurement of ^{226}Ra and ^{224}Ra in samples affected by non-nuclear industry wastes, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 245 (2000) 309–315.
- [35] L. Wilkinson, Revising the Pareto chart, *Am. Stat.* 60 (2006) 332–334.
- [36] International Standard ISO 11929, Determination of the Characteristic Limits (Decision Threshold, Detection Limit and Limits of the Confidence Interval) for Measurements of Ionizing Radiation—Fundamentals and Application, first ed., 2010.
- [37] Y. Kim, C. Kim, J. Lee, Simultaneous determination of ^{226}Ra and ^{210}Pb in groundwater and soil samples by using the liquid scintillation counter – suspension gel method, *Appl. Radiat. Isot.* 54 (2001) 275–281.
- [38] International Standard ISO/IEC Guide 98-3, Uncertainty of Measurement – Part 3: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM:1995), 2008.

9.3 Material suplementario

A continuación, se presenta información adicional del procedimiento estadístico realizado para alcanzar los valores óptimos de trabajo que han permitido maximizar la extracción de ^{226}Ra .

Todo este proceso experimental, que se desarrolló haciendo uso del detector de centelleo líquido, se encuentra publicado como material suplementario al artículo en cuestión

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267016300265#MMCvFirst>).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table 9.1. Experimental domain and critical values found for the variables affecting elution using a face centered central composite design, section 3.2.1.

Variable	Low value	High value	Found critical value
NH ₂ OH·HCl Volume (mL)	1	4	2.5
NH ₂ OH·HCl concentration (mol L ⁻¹)	0.01	0.19	0.1

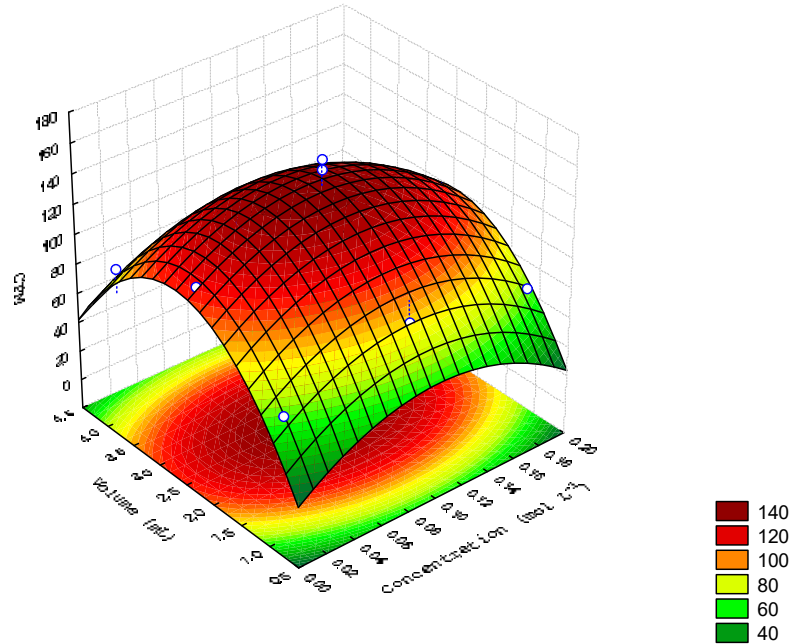


Figure 9.1. Surface-response for $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ volume and concentration.

Table 9.2. The studied factors affecting coprecipitation and dissolution of ^{226}Ra using screening assay followed by surface-response optimization, section 3.2.2.

Variable	Low value of screening	High value of screening	Low value of surface-response	High value of surface-response	Found critical value
Buffer/ Ba^{2+} , pH 3 Concentration (mg L^{-1})	100	400	50	100	50
Na_2SO_4 Concentration (mol L^{-1})	1	2	0.5	1	0.5
EDTA Concentration (mol L^{-1})	0.02	0.06	0.05	0.2	0.1

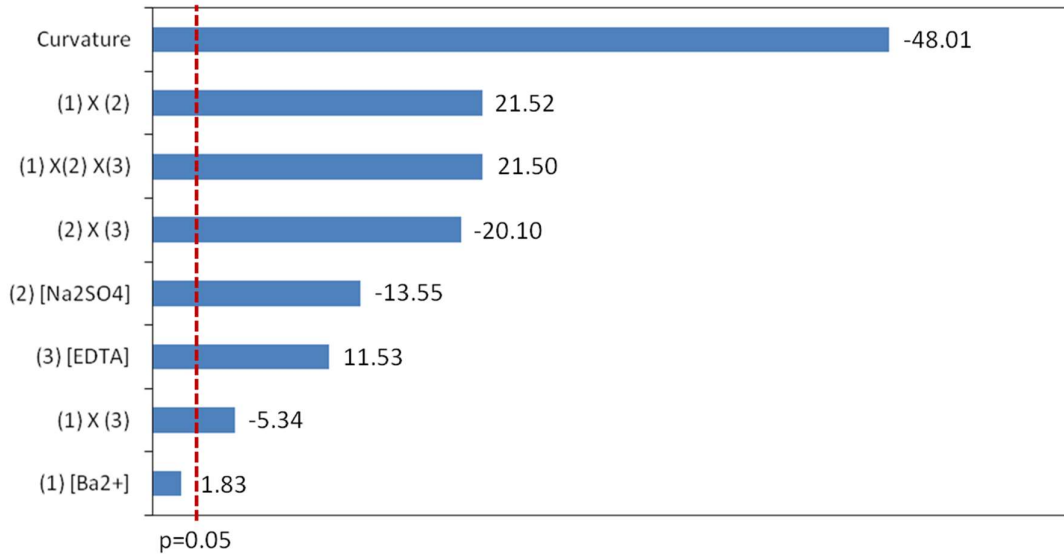


Figure 9.2. Pareto chart of the screening for factors affecting coprecipitation and dissolution of ²²⁶Ra.

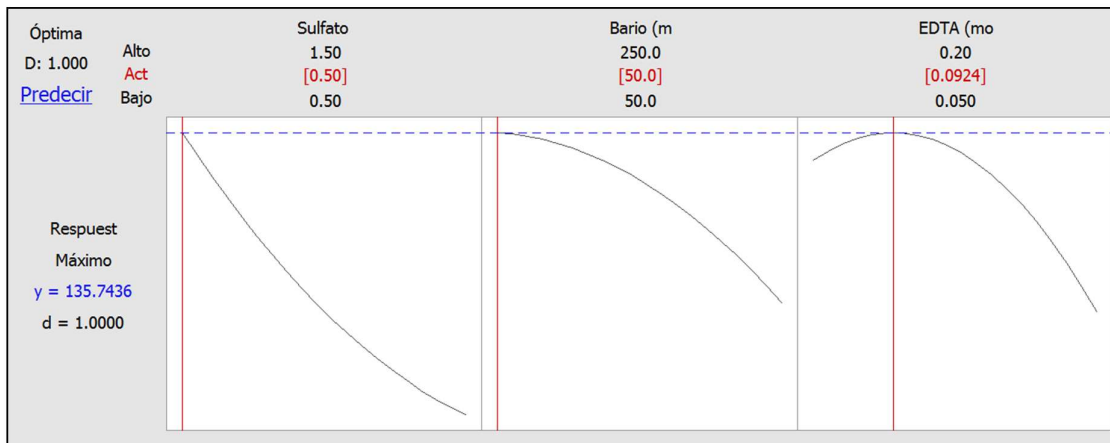


Figure 9.3. Prediction and desirability profiles for factors affecting coprecipitation and dissolution of ²²⁶Ra.

CAPITULO 10

CONCLUSIONES

Se desarrolló y aplicó con éxito un sistema LOV para la determinación de las actividades de ^{90}Sr mediante un contador proporcional de bajo fondo y de Sr total por ICP-OES en muestras de agua potable, alcanzando los niveles de referencia establecidos por la ATSDR y la OMS.

Se desarrolló una metodología LOV automática para la extracción y preconcentración de ^{99}Tc en muestras de tipo ambiental, que permite llevar a cabo el pre-tratamiento de las muestras separando y pre-concentrando ^{99}Tc previo a su detección por ICP-MS. Se aplicó de forma exitosa a la determinación de niveles traza de ^{99}Tc en suelo y muestras de agua, alcanzando los niveles de referencia establecidos por la EPA para agua potable.

Se desarrolló una metodología completamente automatizada, que no solo permite la separación y preconcentración del uranio, sino que también incluye la detección en línea. Se trata de un sistema robusto que lleva a cabo la agitación magnética asistida dentro de una jeringa, lo que permite la micro-extracción líquido-líquido del uranio. La detección espectrofotométrica en línea es posible gracias a la sensibilidad que aporta una celda de largo paso óptico, previa derivatización con arsenazo-III. El método propuesto se ha aplicado de forma exitosa a la determinación de uranio en diferentes matrices ambientales, alcanzando los valores de referencia establecidos por organismos internacionales (EPA, OMS), en lo que se refiere a agua potable, constituyéndose en una herramienta totalmente automatizada que permite una rápida monitorización de este analito.

Se ha desarrollado un sistema MSFIA-LOV para separar y pre-concentrar de forma automática al ^{226}Ra previo a su detección radiométrica. El acoplamiento de dos técnicas de análisis por inyección en flujo ha permitido explotar al máximo las ventajas ofrecidas por ambas. Estos beneficios analíticos hacen del MSFIA-LOV una poderosa herramienta que reúne a dos procedimientos de extracción en un único protocolo, confiriendo una alta selectividad para la extracción y preconcentración de ^{226}Ra a diferentes niveles ambientales en muestras de agua. La posibilidad de elegir entre dos detectores radiométricos, LSC y LBPC, proporciona una gran versatilidad, cuya elección dependerá del analista según

el número de muestras vs. tiempo de respuesta y de la actividad mínima detectable deseada.

Los sistemas desarrollados alcanzan un elevado grado de automatización, a la vez que logran una máxima compactación y miniaturización de la instrumentación utilizada en los protocolos analíticos.

Como ventajas adicionales caben destacar que se reducen de forma considerable el uso de reactivos y de muestra, y por tanto la generación de residuos. Además, gracias a que las operaciones de introducción y tratamiento de muestra están automatizadas, se reduce la manipulación de radionúclidos, aumentando con ello la seguridad del analista.

Los métodos propuestos ofrecen una alta precisión y reproducibilidad, además de una elevada frecuencia de análisis, en relación a los trabajos publicados anteriormente.

Los sistemas desarrollados que utilizan la extracción en fase sólida poseen una serie de ventajas, entre las cuales destacan la renovación automática de las resinas de extracción, lo que aumenta la reproducibilidad debido al empaquetamiento de las perlas, la pequeña cantidad utilizada, que junto con la posibilidad de reutilización y su larga duración, implican una disminución de costos por análisis.

Las prestaciones y características analíticas de cada metodología propuesta, hacen de estos sistemas excelentes herramientas para el monitoreo ambiental, teniendo respuestas rápidas que permiten dar solución a potenciales situaciones de emergencia.

ANEXO

A continuación, se presentan las diferentes aportaciones que se realizaron a través de las participaciones en congresos, poniéndose de manifiesto los resultados alcanzados durante el desarrollo de la investigación.

Por último, se presenta el “Premio Chihuahua 2014: vanguardia en artes y ciencias” otorgado por el gobierno del Estado de Chihuahua, México, al mejor trabajo presentado en la categoría de desarrollo tecnológico.

1. 18.^a Conferencia Internacional sobre Análisis de Inyección en Flujo, con sede en la ciudad de Oporto, Portugal del 15 al 20 de septiembre del 2013

Tipo de participación: póster

LOV system for ⁹⁹Tc extraction and pre-concentration applied to environmental samples exploiting ICP-MS.

Certificado de participación



CERTIFICATE

This is to certify that

Rogelio Rodríguez Maese

attended at the 18th International Conference on Flow Injection Analysis - ICFIA18 in Porto, from
15/09/2013 to 20/09/2013

Porto, 20 of September of 2013

The Organizing Committee

António Rangel, Chair

Certificado de presentación de poster



CERTIFICATE

This is to certify that **Rogelio Rodriguez**
presented the Poster communication entitled

LOV system for ⁹⁹Tc extraction and pre-concentration applied to environmental samples exploiting ICP-MS

at the 18th International Conference on Flow Injection Analysis - ICFA18 in Porto, from 15/09/2013 to 20/09/2013.

The Organizing Committee

Porto, 20 of September of 2013

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "AR", is written over a faint circular stamp.

António Rangel, Chair

Diseño del póster presentado

LAB-ON-VALVE SYSTEM FOR ^{99}Tc EXTRACTION AND PRE-CONCENTRATION APPLIED TO ENVIRONMENTAL SAMPLES EXPLOITING ICP-MS



Rogelio RODRIGUEZ¹, Luz LEAL¹, Jessica AVIVAR², Laura FERRER³, Silvia MIRANDA¹ and Victor CERDA³

¹Renewable Energy and Environmental Protection Department, Advanced Materials Research Center (CIMAR) S.C., Chihuahua E-31109, Mexico;

²Environmental Radioactivity Laboratory-LaboRA, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain

³Laboratory of Environmental Analytical Chemistry, University of the Balearic Islands, Palma E-07122, Spain



^{99}Tc isotope is a beta emitter of great concern because of its long half-life ($2.1 \cdot 10^5$ y). It is considered one of the most mobile radionuclides in nature easily incorporated into the trophic chain, exposing humans to its beta radiation and its increasing abundance. During the last decades large amounts of this radionuclide have been released into the environment from anthropogenic sources such as nuclear industry and medical applications. Thus, ^{99}Tc determination is needed in order to establish an environmental control. Therefore, we have developed a novel and miniaturized LOV system, allowing ^{99}Tc determination in environmental samples (see figure). We propose a fast method that uses TEVA resin and ICP-MS. The developed system allows reduction of reagents volume (e.g. 6 mL HNO_3 6.5 mol L^{-1} as eluent), the minimization of sample handling, improving the reproducibility and the sample throughput and attaining a significant decrease of both time and cost per analysis.

MANIFOLD AND SOFTWARE

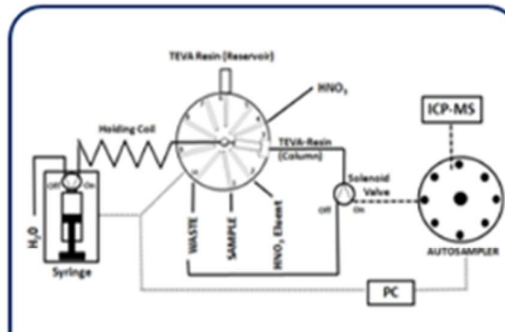


Figure 1. LOV system for miniaturized ^{99}Tc isolation and pre-concentration prior to ICP-MS detection.

Instrumental control was performed using the software package AutoAnalysis 5.0[®] (Sciware Systems, Palma de Mallorca, Spain). The distinguished feature of the developed software based on dynamic link libraries (DLLs) at 32 bits is the viability to use a single and versatile application without further modification for whatever instrumentation and detection system needed. It involves a basic protocol, which allows the implementation of specific and individual DLLs attending the configuration of the assembled flow analyzer.

*May be requested at: www.sciware-td.com E-mail: info@sciware-td.com

ANALYTICAL FEATURES

Detection limit (ng)	2.05
Repeatability (%) (n=10)	2
Reproducibility (%) (n=5)	3.8
Resin durability (injections)	> 100
Pre-concentration volume (mL)	> 100
Sensitivity (IU ng ⁻¹)	1372.8
Linear working range (ng)	0.17 - 30
Regression coefficient	0.9992
Injection throughput (h ⁻¹)	5-0.3*

* Depending on pre-concentrated volume

Environmental samples

Samples	^{99}Tc added (ng L^{-1})	^{99}Tc found (ng L^{-1})	Recovery (%)
*Dam water	0	<LD	95
	3.42	3.26 ± 0.05	
*Mineral water	0	<LD	94
	3.42	3.19 ± 0.04	
*Tap water	0	<LD	94
	3.42	3.21 ± 0.02	
*Well water	0	<LD	94
	3.42	3.21 ± 0.10	
Soil	0	<LD	96
	3.60	3.44 ± 0.16	

* Sample volume of 50 mL

Working conditions

HNO_3 (eluent) concentration (mol L^{-1})	6.5
HNO_3 (eluent) volume (mL)	6
Sample loading flow rate (mL min^{-1})	0.6

Working conditions were optimized by experimental design using the software STATISTICA 7.0

2. VIII Jornadas sobre Calidad en el Control de la Radiactividad Ambiental en la ciudad de Huelva, España del 11 al 13 de junio del 2014

Tipo de participación: comunicación oral

Análisis rápido y automático de ^{99}Tc en muestras de interés ambiental con detección por ICP-MS

Certificado de asistencia



Certificado de participación, exposición oral



huelva
11, 12 y 13 de Junio 2014

VIII
Jornadas Calidad en el Control de la Radiactividad Ambiental

SNB, ICA, AENOR, entec

El Comité Organizador CERTIFICA que:

D. ROGELIO RODRÍGUEZ MAESE

ha presentado en la Sesión de Jóvenes Investigadores, el trabajo titulado:

Análisis rápido y automático de ⁹⁹Tc en muestras de interés ambiental con detección por ICP-MS

V.Bº

El Presidente



D. Juan Pedro Bolívar Raya



Universidad de Huelva
CENTRO DE FÍSICA APLICADA

Huelva, a 13 de Junio de 2014

El Secretario



D. Fernando Mosqueda Peña

en las VIII Jornadas sobre Calidad en el Control de la Radiactividad Ambiental, celebradas en Huelva, durante los días 10 al 13 de Junio de 2014

3. VIII Jornadas de Análisis Instrumental en la ciudad de Barcelona, España del 1 al 3 de octubre del 2014

Tipo de participación: póster




Fully automated liquid-liquid microextraction flow system for uranium determination in environmental samples.

Certificado de asistencia



Certificado de participación de póster




14th JORNADAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL
14th INSTRUMENTAL ANALYSIS CONFERENCE

1-3 DE OCTUBRE 2014 RECINTO FIRA GRAN VIA **BARCELONA**
 OCTOBER 1st-3rd 2014 GRAN VIA VENUE

CERTIFICADO COMUNICACIONES

AIMM-PO3

El Comité Organizador de las Jornadas, certifica que el autor:

ROGELIO RODRÍGUEZ

Ha presentado el Póster con el título:

FULLY AUTOMATED LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION FLOW SYSTEM FOR URANIUM DETERMINATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

junto con los autores:

J. AVIVAR, L. FERRER, L. LEAL, V. CERDÀ

En las 14th JORNADAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL que han tenido lugar en Barcelona, del 1 al 3 de Octubre de 2014 y para que conste, firmo en Barcelona a 3 de Octubre de 2014

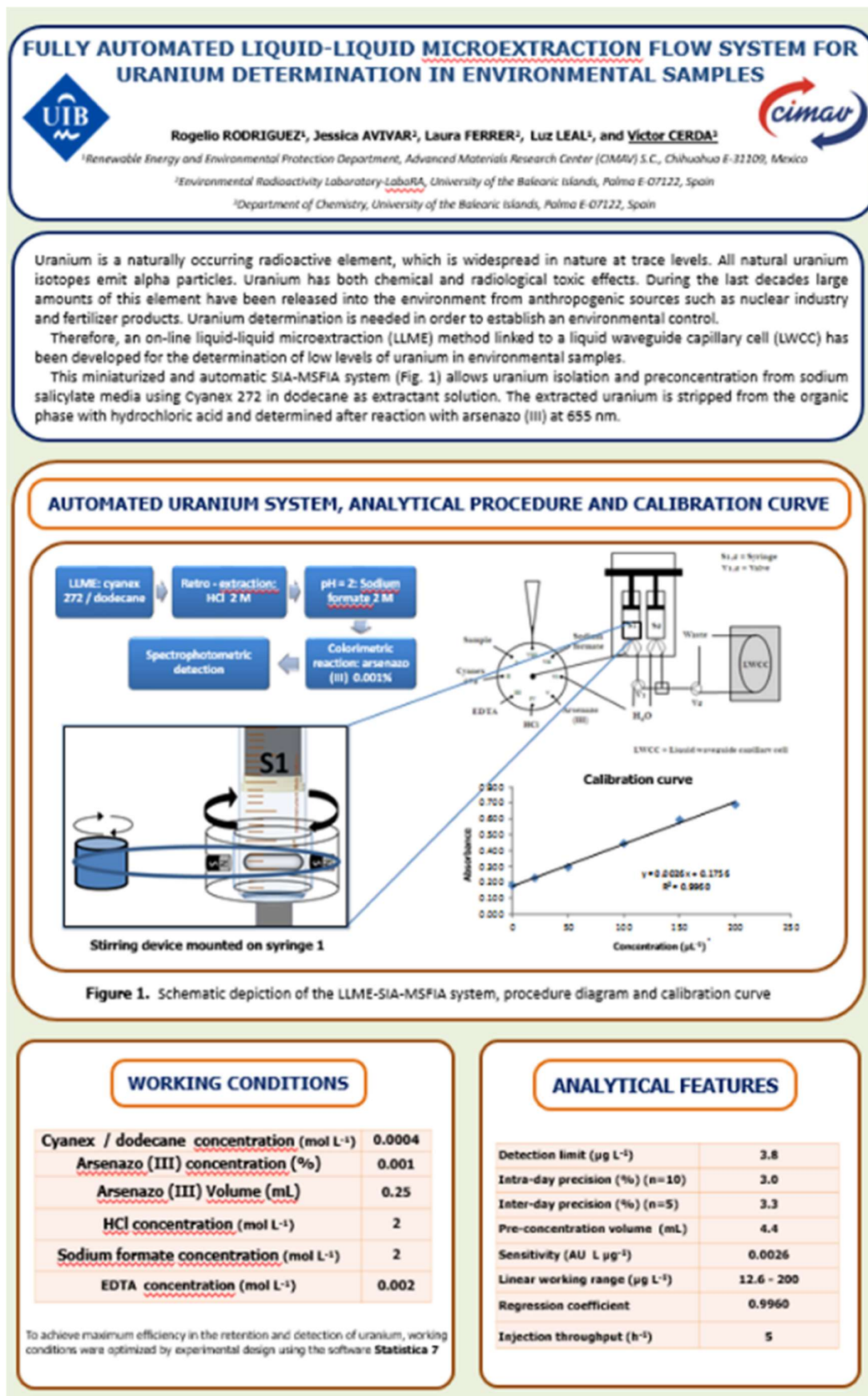


María José González
Presidenta del Comité Organizador



Belén Gómara
Secretaria del Comité Organizador

Diseño del póster presentado



4. 19.^a Conferencia Internacional de Análisis de Inyección en Flujo en la ciudad de Fukuoka, Japón del 30 de noviembre al 5 de diciembre del 2014

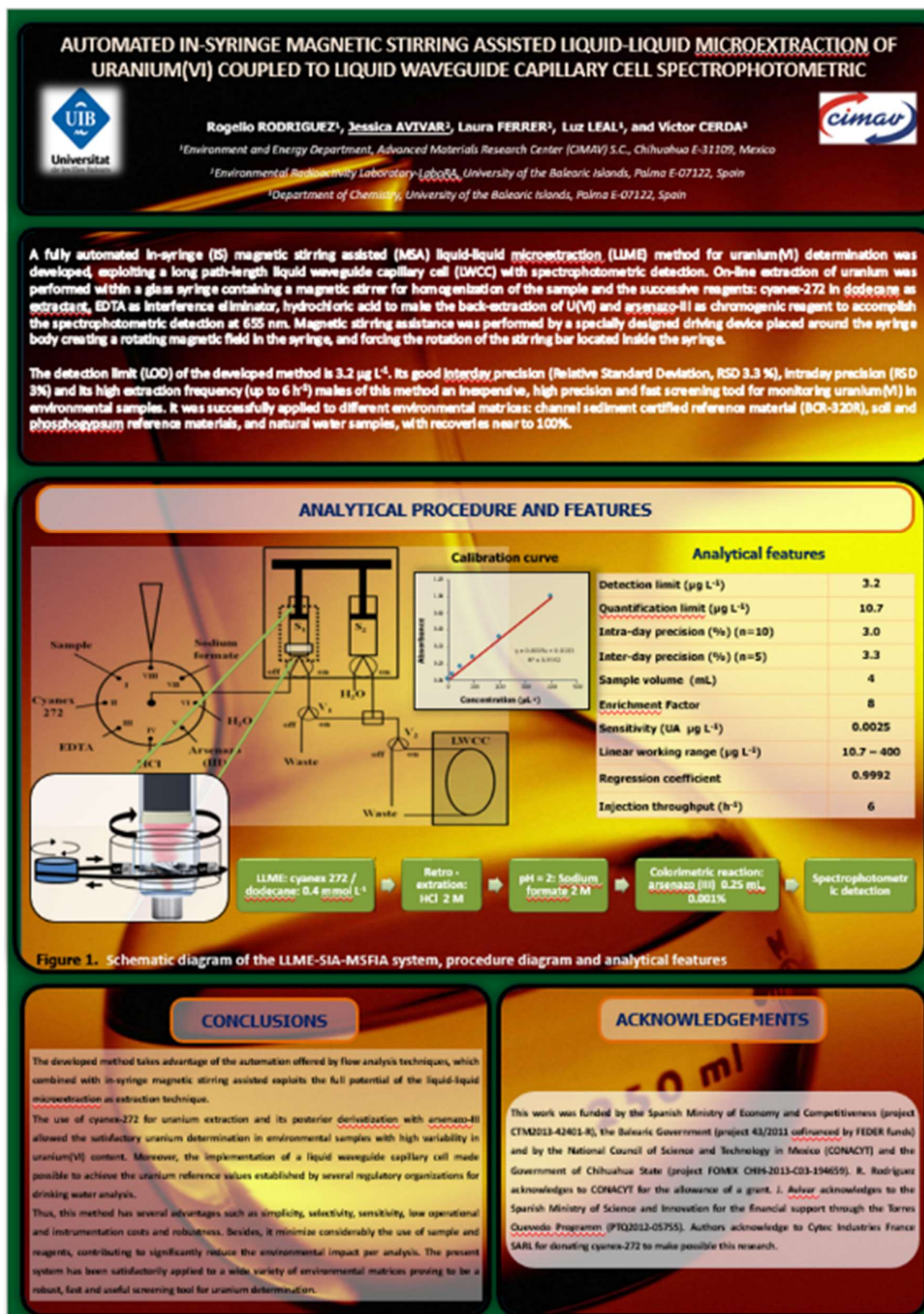
Tipo de participación: póster

Automated in-syringe magnetic stirring assisted liquid-liquid microextraction of uranium(VI) coupled to liquid waveguide capillary cell spectrophotometric.

Certificado de presentación de póster



Diseño del poster presentado



5. XIII Conferencia Internacional de Análisis en Flujo en la ciudad de Praga, República Checa, del 5 al 10 de Julio del 2015

Tipo de participación: póster

Miniaturized automatic systema for Ra-226 isolation and pre-concentration from drinking water.

Certificado de asistencia



Certificado de participación de póster



Flow Analysis XIII 

5 - 10 July 2015, Hotel Barronet
Prague, Czech Republic

**CERTIFICATE
OF
POSTER PRESENTATION**

P70
**Miniaturized automatic system for Ra-226
isolation and pre-concentration from
drinking water**
presented in session on 9 July 2015, 14:00 – 15:30

by
R. Rodríguez

This is to certify that the above poster has been displayed and presented
during the Flow Analysis XIII, 5 – 10 July 2015



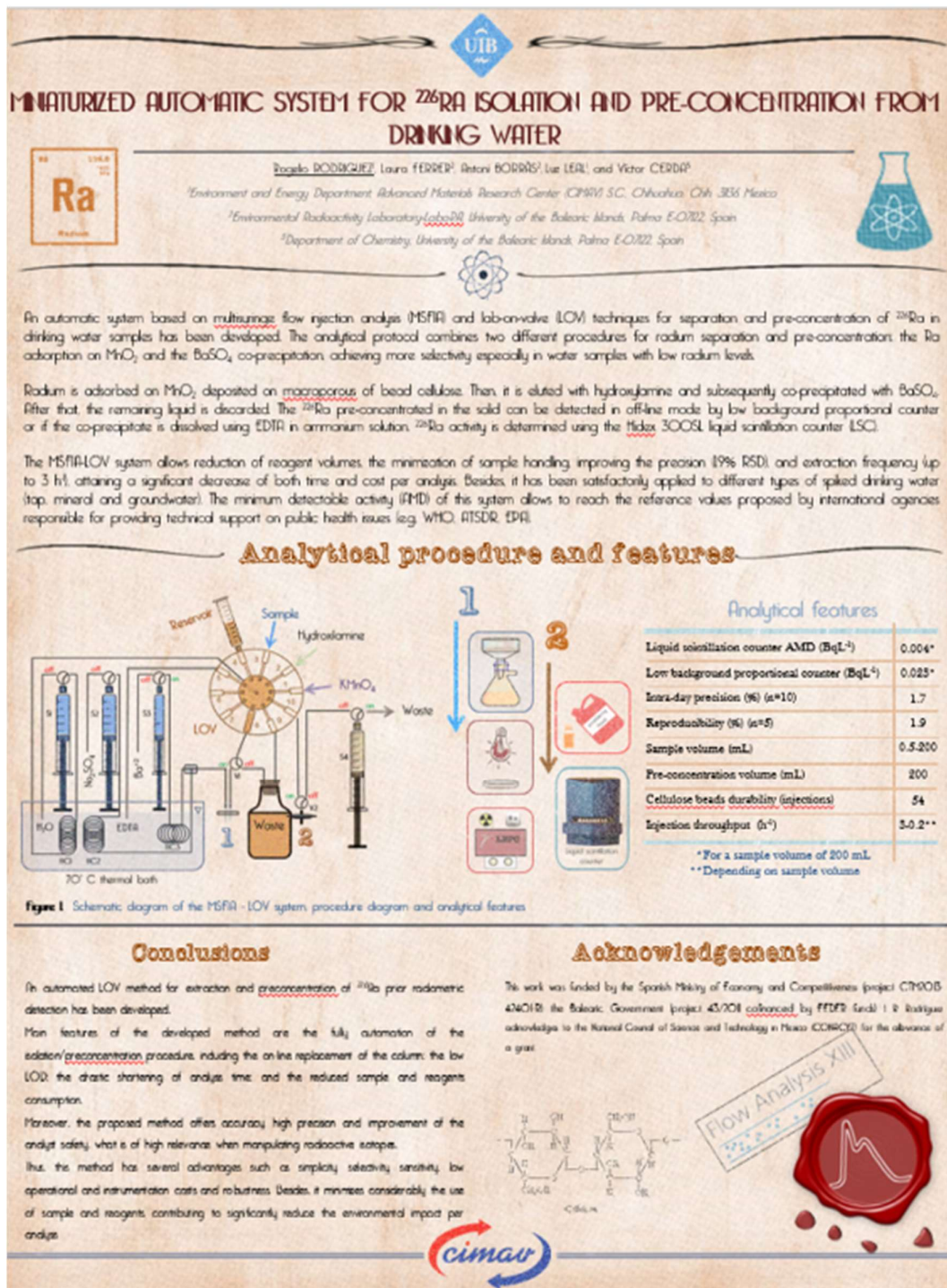

Regína
Conference Secretariat
Prague, July 9, 2015



www.flowanalysis2015.org

C-IR, Conference Secretariat, Prague Congress Centre, 5. Avenue 65, 140 21 Prague 4, Czech Republic
Tel: +420 261 174 301, fax: +420 261 174 307, e-mail: info@flowanalysis2015.org

Diseño del póster presentado



Premio Chihuahua 2014: vanguardia en artes y ciencias

Se participó en el concurso, con el trabajo **Nuevas metodologías automatizadas para la determinación de isótopos radiactivos en muestras ambientales**, obteniéndose el galardón en la categoría de Desarrollo Tecnológico durante la ceremonia de premiación llevada a cabo el 20 de noviembre del 2014 en la Cd. de Chihuahua, Chih. México.



