

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INIS-BR--888
92
1

MIRIAM MEYER PASSARELLI

DETERMINAÇÃO DE URÂNIO E TRÍTIUM EM URINA DE TRABALHADORES



*Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de MESTRE*



SÃO PAULO

1977

*Esta Dissertação foi apresentada ao
Departamento de Análises Clínicas e
Toxicológicas da F.C.F. da U.S.P.
Agradeço à Prof. Dra. Ester de C. F.
Morães, chefe do departamento, pela
oportunidade, incentivo e carinho .*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor José Carlos Barbério pela orientação, apoio e confiança.

Ao Professor Doutor Alcídio Abrão pelo carinho, ajuda e incentivo.

Ao Doutor Gian-Maria A.A. Sordi pela amizade e ajuda.

Ao Instituto de Energia Atômica, na pessoa de seu Superintendente, Professor Doutor Romulo Ribeiro Pieroni pela oportunidade.

À Doutora Elisa Kiyoka Tomida pela grande amizade e ajuda.

À Doutora Bertha Floh pelos conhecimentos transmitidos.

À Doutora Ludmila Federgrlln pelas facilidades.

Ao Pessoal do Centro de Engenharia Química pela colaboração e amizade.

Ao Pessoal do Centro de Aplicações Biológicas de Radioisótopos e Radiações e Centro de Engenharia Nuclear pela colaboração.

À Senhora Idelma Pagliusi pela orientação na parte bibliográfica.



SUMÁRIO

	PÁGINA
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO URÂNIO	2
1.2. PROPRIEDADES NOCIVAS DO URÂNIO NATURAL	3
1.3. TOXICOLOGIA DO URÂNIO	5
1.3.1. VIAS DE INTRODUÇÃO E ABSORÇÃO	5
1.3.2. DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO	8
1.3.3. TOXICIDADE	9
1.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO TRÍTIO	12
1.5. PROPRIEDADES NOCIVAS DO TRÍTIO	13
1.6. TOXICOLOGIA DO TRÍTIO	13
1.6.1. VIAS DE INTRODUÇÃO E ABSORÇÃO	14
1.6.2. DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO	15
1.6.3. TOXICIDADE	16
2. REVISÃO DOS MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE URÂNIO E TRÍTIO.	19
2.1. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DO URÂNIO	19
2.1.1. CONSIDERAÇÕES QUANTO À AMOSTRA	19
2.1.2. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO URÂNIO	20
2.2. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DE TRÍTIO	22
2.2.1. CONSIDERAÇÕES QUANTO À AMOSTRA	22
2.2.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TRÍTIO	23
3. OBJETIVO E FINALIDADE	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28

4.1.	DETERMINAÇÃO DO URÂNIO POR FLUORIMETRIA EM MEIO SÓLIDO	28
4.1.1.	Material	28
4.1.2.	Método	30
4.2.	SEPARAÇÃO E EXTRAÇÃO DO URÂNIO DA AMOSTRA	32
4.2.1.	Material	32
4.2.2.	Método	33
4.3.	APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO PARA A ANÁLISE DE URÂNIO EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES	34
4.4.	TRATAMENTO PREVIO DA AMOSTRA PARA DETERMINAÇÃO DO TRÍTIO	36
4.4.1.	Material	36
4.4.2.	Método	36
4.5.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE TRÍTIO POR CINTILAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO	37
4.5.1.	Material	37
4.5.2.	Método	38
4.6.	APLICAÇÃO DO METODO PROPOSTO PARA A ANÁLISE DE TRÍTIO EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES	39
5.	RESULTADOS	40
5.1.	RESULTADOS DA PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DO URÂNIO POR FLUORIMETRIA EM MEIO SÓLIDO	40
5.2.	RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS DE URÂNIO NATURAL	45
5.3.	RESULTADOS DA PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DO TRITIO POR CINTILAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO	45
5.4.	RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS DE TRÍTIO.....	45
6.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	55
6.1.	URÂNIO	55
6.2.	TRÍTIO	63

7. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES	66
RESUMO	68
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1. INTRODUÇÃO

O poder nocivo das radiações é sobejamente conhecido e com o avanço da tecnologia nuclear e a disseminação do uso de radioelementos nos mais variados setores, surgiu a preocupação com relação à contaminação interna das pessoas que trabalham com materiais radioativos. Esta contaminação pode ser avaliada por meio de métodos diretos ou indiretos de medida. O método direto envolve o uso de um detector de corpo inteiro que permite a determinação "in vivo" do radioisótopo e é indicado para emissores gama ou emissores de radiação que produzem "Bremsstrahlung" (radiação de freiamento). A medida indireta, "in vitro", obtida pela análise do sangue, urina, ar exalado, fezes, etc., é mais adequada para radioisótopos emissores de partículas alfa ou partículas beta de baixa energia. Por terem os métodos suas limitações o ideal seria fazer-se uma associação das medidas diretas e indiretas a fim de permitir uma avaliação mais exata do grau de contaminação interna do indivíduo.

Dos métodos indiretos, empregados na determinação da incorporação de substâncias radioativas, a análise de urina é o mais simples, constituindo-se em amostra ideal, pois, é fácil de obter, contém somente os radio-nuclídeos metabolizados e pode ser, convencionalmente, colhida por períodos de tempo bem definidos sem dificuldade.

A análise de urina pode ser utilizada para três propósitos:

- a) Monitorar as assimilações de material radioativo pelos trabalhadores para se assegurar que a carga corporal esteja abaixo dos máximos permissíveis. No caso de haver resultados elevados as condições de trabalho devem ser averiguadas.

- b) Verificar a possibilidade de assimilação após algum acidente.
- c) Seguir assimilações conhecidas para definir os níveis de carga corporal e os valores de meia-vida efetiva e determinar assim, a dose de radiação recebida.

Vários são os radioisótopos a que estão expostos os trabalhadores que manuseiam fontes de radiação e as medidas de proteção adotadas são adequadas a cada caso. Dentre eles, o urânio natural e o trítio, o primeiro por ser um emissor alfa e o segundo um emissor beta fraco, enquadram-se perfeitamente no grupo de elementos cuja "monitoração interna" faz-se mais facilmente pela análise dos excretas.

O urânio e o trítio são elementos muito difundidos na indústria nuclear. O urânio é utilizado como elemento combustível em reatores nucleares e seus compostos são manuseados em quantidades apreciáveis em todas as fases do chamado "ciclo de combustíveis". O trítio é usado em numerosas investigações médicas e biológicas, é empregado como elemento alvo em alguns aceleradores, é utilizado como pigmento luminóforo em relógios de relógio e além disso, se forma em quantidade apreciável em reatores refrigerados a água pesada e pode ser liberado em usinas de reprocessamento de combustíveis.

O interesse em relação ao trítio deve crescer nos próximos decênios por causa do aumento da sua produção e liberação no meio ambiente.

Com o intuito de obter uma melhor visão da importância de desenvolver-se um programa de bioanálise para os elementos urânio e trítio daremos sucintamente algumas de suas características físicas e químicas bem como seus aspectos toxicológicos.

1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO URÂNIO

O urânio natural consiste de uma mistura de 3 radioisótopos: ^{238}U (99,2739%), ^{235}U (0,7204%) e ^{234}U (0,0057%). As principais pro

3

priedades nucleares destes isótopos e seus principais descendentes estão agrupados nas tabelas 1 e 2.

1.2. PROPRIEDADES NOCIVAS DO URÂNIO NATURAL

As principais situações nas quais os compostos de urânio podem provocar danos são:

- a) *Pela simples exposição.* O risco de exposição à radiação causado pelos compostos de urânio limitam-se a alguns descendentes emissores beta. Os isótopos do urânio são emissores alfa e gama de baixa energia e, portanto, como a radiação alfa é pouco penetrante e a gama é de energia baixa, a dose recebida pela exposição aos isótopos do urânio é mínima.
- b) *Por contaminação externa.* Esta se dá pela deposição dos compostos de urânio sobre a pele. Os danos causados pela radiação são locais. Por causa de sua baixa penetração, a radiação alfa não consegue ultrapassar a camada morta da epiderme. O maior risco, nesta situação, seria uma possível contaminação interna posterior.
- c) *Por contaminação interna.* Esta constitui o maior risco potencial causado pelos compostos de urânio natural, tanto pela sua toxicidade radioativa como pela química. As partículas alfa emitidas transferem sua energia numa porção localizada da matéria e, por isso, causam maior dano.
- d) *Por piroforicidade e/ou explosão.* Por causa dessa propriedade dos compostos de urânio, podem ocorrer acidentes graves. Estes riscos dependem, essencialmente, da forma química e física do com

TABELA 1 - SÉRIE DO URÂNIO^b

NUCLÍDEO	TIPO DE DECAIMENTO	MEIA-VIDA	ENERGIA α MeV	ENERGIA β MeV	ENERGIA γ MeV
²³⁸ U	alfa	$4,51 \cdot 10^9$ anos	4,14 (25%) 4,20 (75%)	-	0,048
²³⁴ Th	beta	24,1 dias	-	0,10(35%) 0,19(65%)	0,029 a 0,091
^{234m} Pa	beta (99%) T.I. (1%)*	1,8 minutos	-	2,31(90%) 1,50 (9%)	0,043 a 1,83
²³⁴ Pa	beta	6,6 horas	-	0,5	0,043 a 1,68
²³⁴ U	alfa	$2,5 \cdot 10^5$ anos	4,717(28%) 4,768(72%)	-	0,051

*T.I. - Transição Isomérica

TABELA 2 - SÉRIE DO ACTÍNIO^b

NUCLÍDEO	TIPO DE DECAIMENTO	MEIA-VIDA	ENERGIA α MeV	ENERGIA β MeV	ENERGIA γ MeV
²³⁵ U	alfa	$7,1 \cdot 10^8$ anos	4,37 (18%) 4,58 (8%) 4,40 (57%)	-	0,074 a 0,38
²³¹ Th	beta	25,6 horas	-	0,30 e menos	0,017 a 0,31
²³¹ Pa	alfa	$3,3 \cdot 10^4$ anos	4,67 a 5,05	-	0,027 a 0,36...

posto e não da composição isotópica.

- e) *Por problemas de criticalidade.* De um modo geral acidentes de criticalidade são confinados ao urânio enriquecido. A geometria do sistema e a massa crítica são fatores que influenciam na ocorrência deste tipo de acidente.

1.3. TOXICOLOGIA DO URÂNIO

A toxicologia e a farmacologia dos compostos de urânio foram objetos de intensa pesquisa a partir da segunda guerra, sendo os principais trabalhos publicados no período entre 1949 e 1953^{87,88}. Nestes trabalhos a maior parte dos dados foi colhida de experiências realizadas em animais. Posteriormente, vários estudos foram executados e muitos resultados foram computados sobre exposições de homens a compostos de urânio^{5,13,58,6}, incluindo resultados de análises de tecidos de autópsias^{74,21,40,16}. Estes dados são de grande valor, pois, o comportamento nos homens não deve ser exatamente o mesmo que para os animais.

Como para qualquer outra substância, a "biotransformação" dos compostos de urânio apresenta as seguintes etapas: assimilação do composto e sua passagem à corrente sanguínea; transferência do sangue para os diversos sítios do organismo e eliminação do urânio pelas vias de excreção.

1.3.1. VIAS DE INTRODUÇÃO E ABSORÇÃO

Do ponto de vista de higiene industrial no caso do urânio, a mais importante via de entrada é a respiratória, pois, a ingestão de material radioativo pode ser prevenida proibindo-se o trabalhador de comer, beber e fazer uso de cosméticos nos locais de serviço, além de outras normas de higiene como lavar as mãos após o término do trabalho.

Além disso, a fração absorvida pelo trato gastro-intestinal é somente cerca de 1% do total ingerido, mesmo para os compostos mais solúveis^{24,25}. A absorção através da pele intacta pode ser desprezada, exceto, talvez, no caso de soluções em solventes orgânicos. Pode-se, pois, afirmar que é por meio de inalação, em atmosferas contendo urânio, que se verifica a principal ação do urânio com riscos de intoxicação.

Um fator importante a considerar na absorção é a solubilidade em água, do composto em questão. Por extensão, para propósitos de Proteção Radiológica, supõe-se que a solubilidade seja a mesma para os fluidos do organismo apesar do fenômeno, na realidade, ser mais complexo¹⁹. Em se tratando de um composto dito "solúvel" a passagem para o sangue é muito rápida e no caso de "insolúvel" a passagem é lenta. Na literatura encontram-se tabelas de solubilidade dos compostos de urânio em água^{18,3} e em fluidos pulmonares simulados¹⁹. Os compostos de urânio dependendo da sua solubilidade encontram-se distribuídos nas seguintes classes: Classe D, W e Y, onde D é a classe dos compostos muito solúveis, Y é a dos insolúveis e W a dos compostos de solubilidade intermediária⁴⁶. Outro fator que deve ser levado em conta é a granulometria das partículas inaladas; se o diâmetro das partículas for pequeno^{3,28,48,55} elas podem ser absorvidas mesmo que a solubilidade seja baixa. Não se deve esquecer do fator fagocitose que aumenta o valor da fração absorvida.

O modelo padronizado, aceito pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP)⁴⁶, indicando o destino das partículas que atingem o trato respiratório por inalação, é dado na tabela 3 (usada quando dados específicos são omitidos). Os valores máximos permissíveis, recomendados pelo ICRP, estão baseados neste modelo^{46,47}.

Um modelo pulmonar mais atualizado, baseado em comparativos anatômicos foi desenvolvido por grupos do ICRP^{43,48}. Neste modelo a transferência do material dos pulmões faz-se do seguinte modo:

Classe D - 100% rapidamente transferidos para o sangue.

Classe W - 15% diretamente para o sangue com T_{1/2} de 50 dias, 5% para os gânglios linfáticos com T_{1/2} de 50 dias e depois 5% para o

TABELA 3 - RETENÇÃO DE PARTÍCULAS NO TRATO RESPIRATÓRIO DO HOMEM PADRÃO*6

DISTRIBUIÇÃO	COMPOSTOS MUITO SOLÚVEIS %	OUTROS COMPOSTOS %
EXALADO NO AR	25	25
DEPOSITADO NAS VIAS AÉREAS SUPERIORES E POSTERIORMENTE DEGLUTIDA	50	50
DEPOSITADO NOS PUL MÕES (VIAS AÉREAS INFERIORES	25	25*
	FRAÇÃO TOTAL ABSORVIDA	

* Desta fração metade é retirada dos pulmões e a seguir deglutida, perfazendo um total de 52,5% de material deglutido. Os remanescentes 12,5% são retidos nos pulmões e a seguir absorvidos pelo organismo com uma meia-vida de 120 dias. Isto para uma exposição única; em se tratando de exposição crônica a meia-vida biológica para os pulmões é de 360 dias.

sangue com T1/2 de 50 dias.

Classe Y - 5% diretamente para o sangue com T1/2 de 500 dias, 15% para os gânglios linfáticos com T1/2 de 500 dias e depois 13,5% para o sangue com T1/2 de 1.000 dias.

Um fato de grande importância é que, em alguns trabalhos^{21, 3} realizados em tecidos de autópsia a quantidade de urânio encontrada nos pulmões e gânglios linfáticos foi menor que a esperada, obtida por meio de cálculos usando dados de exposição e o modelo pulmonar atual.
18

1.3.2. DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO

Qualquer que seja a via de entrada, o urânio, após a absorção, segue o mesmo caminho de distribuição e excreção. Absorvido, o urânio difunde-se pelo sangue e dispersa-se pelo meio extracelular concentrando-se em determinados órgãos. Não existe uma fixação definitiva mas sim, um equilíbrio entre os vários compartimentos. Uma certa fração da quantidade circulante no sangue é eliminada diariamente.

É provável, com exceção da injeção intravenosa de compostos tetravalentes, que os compostos de urânio sejam convertidos na forma hexavalente após a absorção⁶⁶. É provável, também, que o urânio se encontre no sangue sob duas formas, uma indifusível, ligada às proteínas (40%) e uma difusível, ligada ao bicarbonato (60%)⁶⁶. Sob condições fisiológicas, o urânio associado à proteína causa pouca ou nenhuma desnaturação (a ligação se dá com os grupos carboxila). A fração ligada ao bicarbonato é filtrada através dos glomérulos renais e o íon bicarbonato é reabsorvido nos túbulos renais. Simultaneamente à queda de concentração de bicarbonato, o íon urânio livre pode se combinar com grupos ativos das células que revestem os túbulos renais resultando aí o dano celular⁶⁶. Por auto radiografia dos rins constatou-se que o urânio não se distribui de maneira uniforme^{5, 21}, concentrando-se, principalmente, nas estruturas corticais e sobre as células do túbulo contornado proximal.

O urânio não permanece fixo a nenhum tecido mole em particular mas tem grande afinidade pelo tecido ósseo (troca com os íons cálcio). A dissociação do urânio do osso faz-se de maneira lenta⁶⁶.

A transferência do urânio do sangue se dá do seguinte modo⁴⁵: Aproximadamente, 67% são excretados diretamente no 1º dia após a absorção, enquanto os 33% restantes são depositados nos ossos. Destes, 13% são excretados rapidamente no 1º dia e os remanescentes 20% são excretados numa taxa representada pela função $0,5 \cdot t^{-1,5}$.

O destino de todo urânio absorvido é, portanto, o armazenamento no osso ou excreção na urina. Os valores de meia vida biológica no caso do urânio são de 100 dias para o organismo inteiro, 15 dias para os rins e 300 dias para o osso¹⁸.

1.3.3. TOXICIDADE

Os efeitos tóxicos do urânio natural variam segundo a quantidade absorvida e a velocidade de passagem através do epitélio de proteção. Se a absorção for maciça, a quantidade no sangue exerce a maior influência e o urânio comporta-se como um tóxico químico agudo. Por outro lado, se a absorção for lenta, o urânio permanecerá por tempo maior nas portas de entrada e os efeitos tóxicos manifestar-se-ão neste local onde o urânio comporta-se como um tóxico radioativo. Assim, o urânio apresenta, ao mesmo tempo, toxicidade química e radioativa; uma ou outra será importante dependendo também, da solubilidade do composto em questão. O dano primário causado pela inalação de compostos solúveis de urânio natural é a toxicidade química para os rins. Para compostos insolúveis, após inalação, o fator crítico é a irradiação dos pulmões e, portanto, a radiotoxicidade¹⁸.

Como foi dito anteriormente, o urânio concentra-se na parte cortical dos rins, principalmente nos túbulos contornados proximais, sendo esta a primeira região a sofrer danos. O íon uranilo combina-se com as proteínas das células renais, bloqueando a ação da hexoquinase, pela formação do complexo ATP-uranil-hexoquinase, impedindo o mecanismo de fosforilação celular, podendo provocar a morte das células renais¹⁸.

frase)^{89, 55}.

Um sinal precoce dos efeitos tóxicos é a presença de albumina na urina. A dose mínima injetada para produzir albuminúria no homem é cerca de 0,1 mg U (VI)/kg de peso⁵⁸; experiências realizadas com estimativas de U na urina parecem confirmar este nível^{14, 13}. A albuminúria torna-se importante para teores de urânio acima de 1 mg/l de urina, pelo menos¹⁴.

Se compostos solúveis de urânio natural são administrados a animais, por injeção intravenosa, a dose letal varia de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg de peso do animal dependendo da espécie em questão⁶¹. Pela experiência ganha em casos humanos extrapolou-se que a dose letal para o homem é de 1 mgU/kg de peso (comparável com a do rato)⁵⁸. Assim, 70 mg ou possivelmente menos na corrente sanguínea do homem padrão, de uma vez, pode levar à morte. A concentração máxima permissível no sangue foi estipulada em 2,7 mg de urânio³.

De acordo com a classificação da IAEA⁴³, o urânio natural está situado no grupo de menor toxicidade entre vários radioisótopos. Para tanto, basearam-se na baixa atividade específica do urânio natural. Já na classificação do ICRP⁴⁶ o urânio estaria no grupo de núclídeos mais tóxicos, pois está entre os elementos cuja concentração máxima permissível no ar é baixa (tabela 4). Diante deste impasse, DUGGAN²² estudou o problema e concluiu que em qualquer classificação de toxicidade de radionuclídeos, quando se tratar de situações que envolvam exposições contínuas em condições industriais, o urânio natural deverá estar situado nas categorias de maior toxicidade.

Em vista da toxicidade do urânio natural foram estabelecidos limites de concentração no ar, na água, assim como cargas corporais máximas permissíveis. Estes valores encontram-se na tabela 4.

No caso de compostos de urânio solúveis, são válidos os seguintes máximos permissíveis para uma única assimilação⁴⁷:

Inalação : 2,5 mg de U/dia
Ingestão : 150 mg de U/dois dias

Baseados nas concentrações máximas permissíveis que se

TABELA 4 - CARGAS CORPORAIS MÁXIMAS PERMISSÍVEIS E CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS PERMISSÍVEIS NA ÁGUA E NO AR PARA URÂNIO NATURAL^{238, 235, 234}.

TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS RADIOATIVOS (EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL)							TRABALHADORES QUE NÃO MANUSEIAM COMPOSTOS RADIOATIVOS	MEMBROS DO PÚBLICO EM GERAL
FORMA	ÓRGÃO CRÍTICO (TOX)	CARGA CORPORAL MÁXIMA PERMISSÍVEL ADMINISTRADA µCi	CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS PERMISSÍVEIS (µCi/cm ³)					
			40 h/semana		168 h/semana			
			ÁGUA	AR	ÁGUA	AR		
SOLÚVEL	RINS	$5 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-8}$	$7 \cdot 10^{-11}$	$6 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-11}$	0,1x(Oc.40)*	0,1x(Oc.168)*
INSOLÚVEL	PULMÕES GI	$2 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-11}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-11}$		

* Oc.40 e Oc.168 significam valores cotados para exposição ocupacional de 40 horas e 168 horas semanais respectivamente.

GI = Trato Gastro-Intestinal.

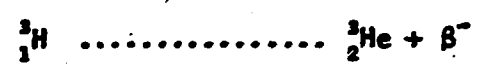
encontram na tabela 4 e em dados adquiridos por meio da experiência, os centros especializados estabeleceram limites de excreção urinária. No presente trabalho adotamos, para fins de controle, os limites de excreção urinária discriminados a seguir, baseando-nos para tanto nos níveis utilizados em centros nucleares de vários países ^{6, 40, 9, 55, 18, 49, 91} :

- 50 microgramas U/l de urina : nível de investigação.
- 100 microgramas U/l de urina : nível de ação.

Para qualquer amostra que ultrapasse o valor de 50 microgramas de U/l é pedida outra amostra de urina do indivíduo. No caso do valor de 100 microgramas U/l ser ultrapassado tomam-se medidas para verificar as condições ambientais em que se encontram os trabalhadores.

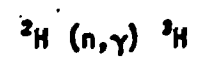
1.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO TRÍTIIO

O trítio, ^3_1H ou T, é o isótopo radioativo do hidrogênio, cuja massa atômica é de 3,016050. Desintegra-se por meio da emissão de β^- (e um neutrino) segundo a reação:

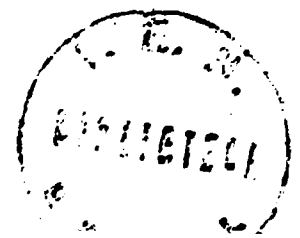
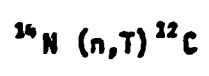


Sua meia-vida física é de 12,26 anos; a energia máxima das partículas emitidas é de 18,6 KeV e a energia média é de aproximadamente 5,6 KeV³⁶.

O trítio pode provir de fontes naturais e artificiais. O trítio natural forma-se a partir da ação da radiação cósmica sobre a atmosfera, a altas altitudes, produzindo neutrons por reações nucleares e estes por sua vez podem interagir com um deuteron e produzir o trítio²⁷ :

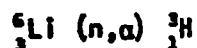


Ou, então, podem interagir com o nitrogênio produzindo trítio na reação:



O hidrogênio em todas as formas livres ou combinadas contém traços de trítio.

O trítio artificial pode resultar de numerosas reações nucleares sendo a de maior interesse a causada pela irradiação do lítio por neutrons têrmicos:



1.5. PROPRIEDADES NOCIVAS DO TRÍTIO

Por causa da baixa energia das partículas β emitidas, o trítio apresenta pouco risco de exposição às radiações.

No tocante à contaminação externa o maior problema seria a contaminação interna secundária pela absorção dos compostos de trítio. O dano local da contaminação externa é muito superficial por causa do curto alcance das partículas beta emitidas. 50% das partículas são absorvidas por uma camada de tecido de 0,3 μm ; 80% , por uma camada de 1 μm e 99% por uma camada de 2,5 μm que parece ser, praticamente, o alcance máximo em material biológico²⁷ . Em se tratando de água tritiada a contaminação externa torna-se importante pois a absorção deste composto processa-se em larga escala através da pele intacta, dos pulmões e do trato gastrointestinal.

Para os compostos de trítio a contaminação interna é a que oferece maior risco de dano. A toxicidade do trítio deve-se às radiações emitidas.

1.6. TOXICOLOGIA DO TRÍTIO

Os primeiros estudos sobre a radiotoxicidade do trítio datam de 1950, após a água tritiada tornar-se disponível para trabalhos com

traçadores. Recentemente, com o aumento do uso de precursores tritiados de ácidos nucleicos, intensificaram-se os estudos sobre efeitos biológicos causados pelo trítio incorporado ao material genético⁸¹.

A toxicidade varia com o tipo de molécula marcada, dependendo, portanto, do metabolismo particular de cada uma delas e dos seus sítios intracelulares de incorporação.

O trítio pode ser encontrado na forma elementar, na forma de óxido ou substituindo o hidrogênio em qualquer composto. A forma mais comum encontrada é a água tritiada cujo metabolismo e toxicologia foram tomados como protótipo para este trabalho. Com exceção das moléculas orgânicas marcadas, que seguem metabolismo próprio, pode-se dizer que a única forma de assimilação pelo organismo é a água tritiada. Na forma elementar gasosa T_2 , HT ou DT o trítio, praticamente, não é incorporado aos tecidos.

PINSON E LANGHAN⁷¹ realizaram várias experiências sobre a fisiologia e toxicologia do trítio em animais e em homens e muitas das conclusões obtidas por eles são mantidas até hoje. Revisões mais recentes sobre aspectos do metabolismo e máximos permissíveis de trítio para o homem e o ambiente são encontradas na literatura^{68,81}.

1.6.1. VIAS DE INTRODUÇÃO E ABSORÇÃO

As três vias de introdução, cutânea, respiratória e digestiva são importantes.

Em se tratando de trítio elementar gasoso a absorção é desprezível, a não ser por uma fração mínima de 0,2 a 3%⁶⁸ causada pela oxidação (oxidação espontânea ou troca isotópica com vapor de água). Cerca de 1,6%⁷¹ do trítio gasoso é solúvel nos fluidos do corpo mas sua conversão para óxido é lenta e a eliminação é similar à dos gases inertes.

Compostos tritiados, outros que não a água, podem ser

inalados, ingeridos ou absorvidos através da pele e sua taxa de absorção depende das propriedades do composto em questão. A probabilidade de contaminação por estes compostos cresce com o aumento do emprego de moléculas marcadas na biologia, medicina e na indústria.

A absorção da água tritiada pelo trato gastro-intestinal é linear com o tempo e proporcional ao volume ingerido pelo menos até 1 litro^{71,70}. Inicia-se de 2 a 9 minutos após a ingestão e atinge o equilíbrio em 40 a 45 minutos⁷¹.

A água tritiada é absorvida pelo sistema respiratório em cerca de 98 a 99% da atividade inspirada⁷¹. A passagem por esta via para a corrente sanguínea é rápida (alguns segundos após a exposição) e decai exponencialmente ao equilíbrio e um tempo médio de 12 minutos.

A absorção da água tritiada pela pele dá-se por difusão. Ela parece difundir-se através da barreira inerte da epiderme em um tempo médio de três minutos, sendo sua taxa de absorção, pela pele total, de 10 $\mu\text{Ci}/\text{min}$. para cada $\mu\text{Ci}/\text{l}$ de ar. A quantidade de água absorvida pela pele total é igual à quantidade absorvida pelos pulmões em exposições à mesma atmosfera de vapor de HTO⁷¹.

1.6.2. DISTRIBUIÇÃO E EXCREÇÃO

Qualquer que seja a via de introdução a água tritiada difunde-se e dilui-se rapidamente na água do sangue e nos líquidos extra e intracelulares (espaço água total). Cerca de duas horas após a absorção, o estado de equilíbrio é atingido, caracterizado por uma distribuição uniforme em todos os compartimentos aquosos do organismo⁶⁵. Outro autor⁹⁰ diz que o tempo exato deste equilíbrio depende da via de entrada e da duração da exposição mas é postulado que uma distribuição uniforme é atingida em 24 horas. Isto significa que, em condições normais, os fluidos do corpo têm, essencialmente, a mesma concentração de água tritiada.

O trítio da água do corpo pode ser trocado com cerca de 10% do hidrogênio do corpo, com um tempo de troca que varia de segu!

dos a horas e pode ser incorporado em locais onde não há praticamente movimento dinâmico de troca^{71, 82, 15}. A troca com moléculas orgânicas aumenta com o tempo de exposição²⁴. WOODARD fez um trabalho de revisão sobre taxa e mecanismos de incorporação de trítio³⁰.

A eliminação da água tritiada do corpo ocorre predominantemente pela urina mas ocorre, também, pelo suor, fezes, ar exalado e todas as vias de perda de água do organismo.

A meia-vida biológica do trítio depende da massa de água do corpo, da taxa de excreção e, portanto, de variações climáticas e da idade da pessoa. Efetuaram-se vários trabalhos para a determinação da meia-vida biológica no homem^{32, 11, 12}, e os valores encontrados variaram entre 4 a 20 dias, parecendo ser em média, de 10 dias. A Comissão Internacional de Proteção Radiológica admite para o homem padrão uma meia-vida biológica de 12 dias para o trítio⁴⁶ obtida pelos seguintes cálculos:

$$T_b = \frac{4,3 \times 10^4}{2.500} \times \ln 2 = 12 \text{ dias}$$

levando-se em conta que o homem padrão possui 43 litros de água e bebe 2.200 ml por dia mais 300 ml de água formadas nas reações internas. Esta seria a meia-vida calculada a partir do metabolismo da água, não levando em conta o trítio acumulado por troca com as moléculas orgânicas; neste caso têm-se um sistema bicompartimental representado por duas meias-vidas, uma de 9 e outra de 34 dias, segundo certos autores⁸³ ou, representada por três meias-vidas, de 6, 23, e 345 dias, segundo outros autores⁷.

1.6.3. TOXICIDADE

Os efeitos tóxicos do trítio gasoso, água tritiada e demais compostos de trítio não podem ser outros que os radiotóxicos causados pela irradiação local das células e tecidos⁶⁵. As partículas beta emitidas produzem ionizações e excitações dos átomos que podem resultar em lesões do organismo.

Como a água tritiada reparte-se no espaço "água total", todos os tecidos do corpo são considerados órgãos críticos. Os órgãos ou tecidos mais irradiados são aqueles cujo teor de água é mais elevado.

A injeção de 1 mCi de HTO/g de peso provoca a morte de 50% dos ratos em 30 dias. Por extrapolação admite-se que uma carga acidental de 4 a 5 Ci seria, aproximadamente, a dose letal 50% para o homem padrão⁶⁵. Os cálculos parecem indicar que a inalação única de 10 a 12 Ci de HTO podem resultar numa exposição letal dentro de aproximadamente 1 semana⁵².

As cargas corporais máximas admissíveis e as concentrações máximas permissíveis de compostos de trítio, no ar e na água, são dados pelo ICRP^{46, 47} e reproduzidos na tabela 5.

Adotou-se como limite de excreção de trítio, para controle rotineiro, o valor de 23 $\mu\text{Ci}^3 \text{H/l}$ de urina que é reportado na literatura⁷⁷. Alguns admitem como valor de excreção máximo 28 $\mu\text{Ci}^3 \text{H/l}$ de urina^{52, 91, 65} e outros o valor de 30 $\mu\text{Ci}^3 \text{H/l}$ ⁵⁰, igual ao máximo permissível na água de beber. A quantidade excretada varia de região para região, dependendo das condições climáticas peculiares a elas. Por não se conhecer as relações de excreção do homem padrão brasileiro, tomamos como limite o valor mais restritivo.

TABELA 5 - CARGAS CORPORAIS MÁXIMAS PERMISSÍVEIS E CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS PERMISSÍVEIS DE TRÍTIO NO AR E ÁGUA PARA EXPOSIÇÕES OCUPACIONAIS**

RADIONUCLÍDEO	ORGÃO CRÍTICO	CARGA CORPORAL MÁXIMA PERMISSÍVEL μCi	CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS PERMISSÍVEIS (μCi/cm ³)			
			40 h/semana		168 h/semana	
			ÁGUA	AR	ÁGUA	AR
³ H(HTO ou T ₂ O) sol	TECIDO DO CORPO INTEIRO	10 ³	0,1	5x10 ⁻⁶	0,03	2x10 ⁻⁶
B ⁻	CORPO INTEIRO	2x10 ³	0,2	8x10 ⁻⁶	0,05	3x10 ⁻⁶
³ H ₂	PELE TOTAL	-	-	2x10 ⁻³	-	4x10 ⁻⁶

2. REVISÃO DOS MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE URÂNIO E TRÍTIU

Os métodos analíticos requeridos para verificar as condições de trabalho e permitir o controle toxicológico por meio de bioanálise, devem satisfazer certas características peculiares para serem usados em caráter rotineiro. Assim:

- a) O método de análise deve ser simples, rápido e econômico.
- b) Em geral a sensibilidade requerida é elevada pois os valores máximos permissíveis na urina são baixos.
- c) O método deve ser seletivo para evitar interferências de outros elementos.
- d) Não há necessidade de grande precisão, pois, os fatores limitantes na bioanálise são mais de caráter metabólico e fisiológico do que metodológicos.

2.1. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DE URÂNIO

2.1.1. CONSIDERAÇÕES QUANTO À AMOSTRA

A amostra normalmente usada no controle de rotina por

bioanálise é a urina, por suas próprias características e, também, pela biotransformação do urânio que tem pouco tempo de permanência no sangue e é praticamente todo eliminado por via urinária. A determinação nas fezes é feita em caráter adicional para descobrir contaminações e/ou determinar a fração eliminada dos pulmões e que é deglutida a seguir. A determinação do urânio nas fezes não mede a fração absorvida porque o urânio, praticamente, não é absorvido pelo trato gastro-intestinal.

No presente trabalho decidimos adotar a urina como material para controle de contaminações de urânio pois esta é a técnica comumente usada, além de ser a mais simples.

Outras considerações quanto à amostra são o tempo de colheita e a frequência de análises exigida para o controle da contaminação interna. Adotamos como tempo de colheita de urina o período de 24 horas porque a taxa de excreção urinária do urânio não é constante durante o dia. Escolhemos frequência de análise de 30 dias, aconselhada na literatura⁵⁰.

2.1.2. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO URÂNIO

Para a escolha do método levamos em conta os vários fatores acima citados, o que garante uma sensibilidade de, no mínimo, 5 µg de U/l de urina e que representa 1/10 da concentração máxima permissível.

A baixa atividade específica do urânio natural (0,3 microcurie/g de U), também obriga à seleção de métodos de análise não radiométricos (diretos).

Dentre os métodos que atingem a sensibilidade requerida tem-se: análise por ativação neutrônica, espectroscopia de emissão e fluorimetria. A análise por ativação tem como principal inconveniente a necessidade de uma fonte de neutrons, além de outros equipamentos de medidas radiométricas. A análise por espectroscopia de emissão não é particularmente adequada pois está sujeita a uma série de interferências e, além disso, o alto custo do equipamento e a dificuldade de sua instala

ção, impedem maior uso. O método fluorimétrico, por sua vez, oferece vantagens com respeito à seletividade, baixo custo do equipamento e do material utilizado e simplicidade da técnica, embora apresente menor reprodutibilidade.

Uma revisão da literatura mostra que a maioria dos laboratórios especializados^{23,26,31,42,50,51,59,70,79,86,91,2}, utilizam a fluorimetria por ser ainda, a mais conveniente. Isto justifica o fato de termos escolhido este método para a determinação do urânio.

PRICE⁷² e CENTANNI⁷⁷ realizaram trabalhos sobre determinação de urânio por fluorimetria e RODDEN^{76,75} fez um retrospecto sobre o assunto.

O princípio básico da técnica fundamenta-se na fluorescência característica, emitida dos sais de urânio ao serem excitados por luz ultra-violeta. A fluorescência máxima dá-se na região de 555nm quando o comprimento de onda de excitação for de cerca de 365 nm. Estes picos são bem característicos do urânio⁶⁹.

NICHOLS e SLATTERY⁶⁷ mostraram que traços de urânio fundidos com fluoreto de sódio dão fluorescência mais intensa do que o sal de urânio puro. Outras substâncias como o bórax, fosfato de sódio, fluoreto de lítio, também intensificam a fluorescência⁷⁰. A fusão com fluoreto de sódio permite a determinação de até $4 \cdot 10^{-10}$ g U ($\pm 10\%$) sem muita dificuldade e a intensidade de fluorescência é proporcional à concentração de urânio na faixa de baixas concentrações ($\pm 10^{-3}$ ppm a ± 10 ppm)²⁸.

A maior desvantagem da técnica de fluorimetria em meio sólido é causada por elementos que diminuem a fluorescência. Esta inibição depende da quantidade total de elementos inibidores por amostra, isto é, não depende da relação entre concentração de inibidores e concentração de urânio. Três recursos são comumente utilizados para reduzir, eliminar ou determinar o grau desta interferência:

- a) A técnica da "diluição" que usa uma tomada de ensaio suficientemente pequena de modo a diminuir a quantidade de inibidor presente por amostra e que

foi usada originalmente por PRICE⁷².

- b) A técnica de padronização interna que permite calcular o valor da inibição e baseia-se na comparação da intensidade de fluorescência da amostra adicionada de uma certa quantidade de padrão de urânio, com a intensidade da mesma quantidade de padrão sem a amostra.
- c) Outro recurso é separar o urânio da amostra, de seus inibidores, por meio de precipitação, extração por solventes, troca iônica, etc..

De todas as técnicas de separação, a mais utilizada é a extração por meio de solventes orgânicos^{26, 59, 78, 89} e, dentre estes, um dos mais usados para extração do urânio da urina é o acetato de etila na presença de nitrato de alumínio^{37, 38}. Isto não significa que não existam outras técnicas, como por exemplo separação por troca iônica^{54, 88}, cromatografia⁵³, etc..

No presente trabalho escolhemos a técnica de "diluição", associada à técnica de padronização interna, para a determinação direta do urânio na urina e no caso de fazermos a separação adotamos a técnica descrita por SCHOCH⁷⁹ que consta de uma mineralização seguida de uma extração por solvente.

2.2. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DE TRÍTIO

2.2.1. CONSIDERAÇÕES QUANTO À AMOSTRA

O trítio é encontrado no organismo quase que exclusivamente na forma de água, sendo excretado preferencialmente pela urina. Cerca de 2 horas após a absorção do trítio, sua concentração nos compartimentos aquosos atinge o equilíbrio. Assim, utilizamos a urina como

amostra para controle de contaminação interna pois de todos os fluídos aquosos é o mais fácil de ser colhido e manuseado.

No caso do trítio não há necessidade de um tempo de colheita definido colhendo-se qualquer amostra do dia. Como frequência de análises é aconselhado um intervalo de colheita entre amostras de urina de 2 semanas⁸, pois, a meia vida biológica do trítio é de 12 dias⁴⁶.

2.2.2. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO TRÍTIO

Como a concentração máxima permissível de trítio na urina é de 23 $\mu\text{Ci/l}$ ^{77,99}, um método que tenha sensibilidade de $1 \mu\text{Ci/l}$ é suficientemente adequado para controle da contaminação interna.

HURSH⁴¹ compara 3 métodos adequados ao objetivo do trabalho de bioanálise: eletrômetro de palheta vibratória, contador Geiger-Müller interno e contador de cintilações em meio líquido. Os três tipos de instrumentação mostram resultados similares e são capazes de determinar atividades de trítio da ordem de $1 \mu\text{Ci/l}$ de urina. As duas primeiras técnicas exigem um tratamento prévio da amostra, enquanto na cintilação ele pode ser dispensado.

O método pelo eletrômetro de palheta vibratória é o mais barato e indicado para analisar de 4 a 6 amostras por dia¹⁰. Com o cintilador pode-se analisar um maior número de amostras com grande simplicidade e rapidez mas, a principal desvantagem do método é o alto custo do equipamento.

Por causa da simplicidade da técnica, por dispormos do equipamento e por prestar-se mais à rotina, escolhemos o método de cintilação em meio líquido para a determinação de trítio na urina.

O princípio geral da cintilação em meio líquido consiste na mistura da amostra com uma substância cintiladora (cintilador) que funciona como material sensível (detecor). A amostra radioativa é comumente solubilizada no cintilador. As misturas cintiladoras constam de

um sistema solvente e do soluto cintilador, de composições diferentes, adequadas para cada caso ^{10,57}.

Quando a substância radiativa é colocada em contacto com a mistura cintiladora o processo que se realiza é o seguinte:

A energia da partícula primária, no caso presente radiação beta, é transferida para o solvente provocando ionizações e excitações de suas moléculas. Daí a energia é transferida para o soluto primário (cintilador) que fluoresce, emitindo luz característica do soluto empregado. Algumas vezes é usado um soluto secundário (alterador de comprimento de onda ou de espectro) para absorver a luz emitida pelo soluto primário e alterar o espectro de emissão para dentro da faixa de resposta da fotomultiplicadora, que é o sistema comumente utilizado para medir a quantidade de luz gerada no sistema.

A quantidade de luz gerada no sistema e o tamanho do pulso elétrico na saída da fotomultiplicadora são proporcionais à energia das partículas beta contadas.

Uma das vantagens da cintilação em meio líquido é que a geometria do sistema é esférica e não há absorção da radiação na janela do detetor ou no ar, daí seu largo emprego na medida de emissores beta de baixa energia que são completamente absorvidos pela substância cintiladora, dando uma alta eficiência.

O tamanho do pulso que sai do sistema pode diminuir nas seguintes condições:

- a) Se alguma energia for perdida ou absorvida antes de encontrar o cintilador.
- b) Se impurezas da amostra reduzirem a eficiência da transferência de energia.
- c) Se a luz emitida for absorvida antes de atingir o fotocátodo.

Interferências dessa espécie são conhecidas como "ex

extinção" (quenching) e diminuem a eficiência de contagem, devendo ser determinada, diminuída ou eliminada.

Sabe-se que nem todas as desintegrações ocorridas na amostra produzem um pulso elétrico. A eficiência de contagem é igual à razão da taxa de contagem observada (por exemplo em contagens por minuto) pela taxa de desintegração real (por exemplo em desintegrações por minuto). A eficiência é dada geralmente em %, assim:

$$\frac{\text{cpm}}{\text{dpm}} \cdot 100 = E\%$$

A eficiência depende do instrumento e da composição da amostra. Os métodos comumente usados, em cintilação em meio líquido, para determinar a eficiência de contagem para cada amostra são:

- a) Método de padronização interna.
- b) Método de padronização externa.
- c) Método de "razão de canais".

No método de padronização interna faz-se a contagem da amostra em condições normais. Depois, adiciona-se uma quantidade conhecida de um padrão de trítio à amostra e efetua-se a contagem. Sabendo-se a atividade de padrão adicionada, calcula-se a eficiência pela razão entre os dois valores obtidos.

O método de "razão de canais" é um dos recursos utilizados para padronizações, possível em vários cintiladores. A técnica baseia-se na razão matemática que é obtida pela comparação das contagens em duas janelas ou duas condições de contagem, as quais se espera sejam afetadas de modos diferentes por uma mudança de espectro que acompanha a extinção.

A padronização externa faz uso do princípio de deslocamento do espectro. Uma fonte gama de atividade moderada e meia-vida longa (^{226}Ra , ^{133}Ba , ou ^{137}Cs) é colocada próximo à amostra e contada conjuntamente, após a contagem da amostra já haver sido determinada. O espectro de energia se altera dependendo da extinção provocada pela amostra.

tra. Esta alteração pode ser observada na mudança da razão das taxas de contagem de dois canais de contagem fixos chamados "canais padrões".

Estas técnicas tem suas vantagens e desvantagens sendo a escolha de uma delas dependente do objetivo da análise, recursos instrumentais, etc.. De acordo com SPRINGEL⁸⁴ a melhor técnica para análise de trítio em urina seria a padronização interna, apesar de ser a mais trabalhosa. Decidimos, portanto, adotar inicialmente esta técnica.

3. OBJETIVO E FINALIDADE

A montagem de técnicas analíticas, viáveis para a determinação de urânio e trítio na urina, constitui o objetivo principal do presente trabalho.

O método adotado deve ser sensível de modo a permitir a análise de amostras de urina com teores do elemento em estudo, pelo menos, dez vezes menores que as concentrações máximas permissíveis recomendadas pelas Organizações de Proteção Radiológica e de Saúde Pública.

As técnicas depois de estabelecidas e padronizadas deverão ser aplicadas a amostras de urina de trabalhadores que manuseiam compostos de urânio e trítio para, em seguida, serem adotadas em caráter rotineiro.

As análises executadas seriam indicadoras de possível contaminação interna e serviriam como medida para manter a segurança do trabalhador do ponto de vista de sua saúde física.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. DETERMINAÇÃO DO URÂNIO POR FLUORIMETRIA EM MEIO SÓLIDO.

4.1.1. MATERIAL

- Fluorímetro Galvanek-Morrison da Jarrell-Ash Division/Fisher Scientific Company.
- Mufla com temperatura controlada até 1.200°C.
- Maçarico de gás-ar comprimido.
- Lâmpada infra-vermelho.
- Dessecador.
- 24 discos de platina para a fusão, de 1,6 cm de diâmetro (figura 1).
- 4 discos de platina para a fusão, de 3,6 cm de diâmetro.
- Dosador de pó. (figura 1).
- Suporte de tijolo refratário (figura 1).
- Misturas fundentes utilizadas:

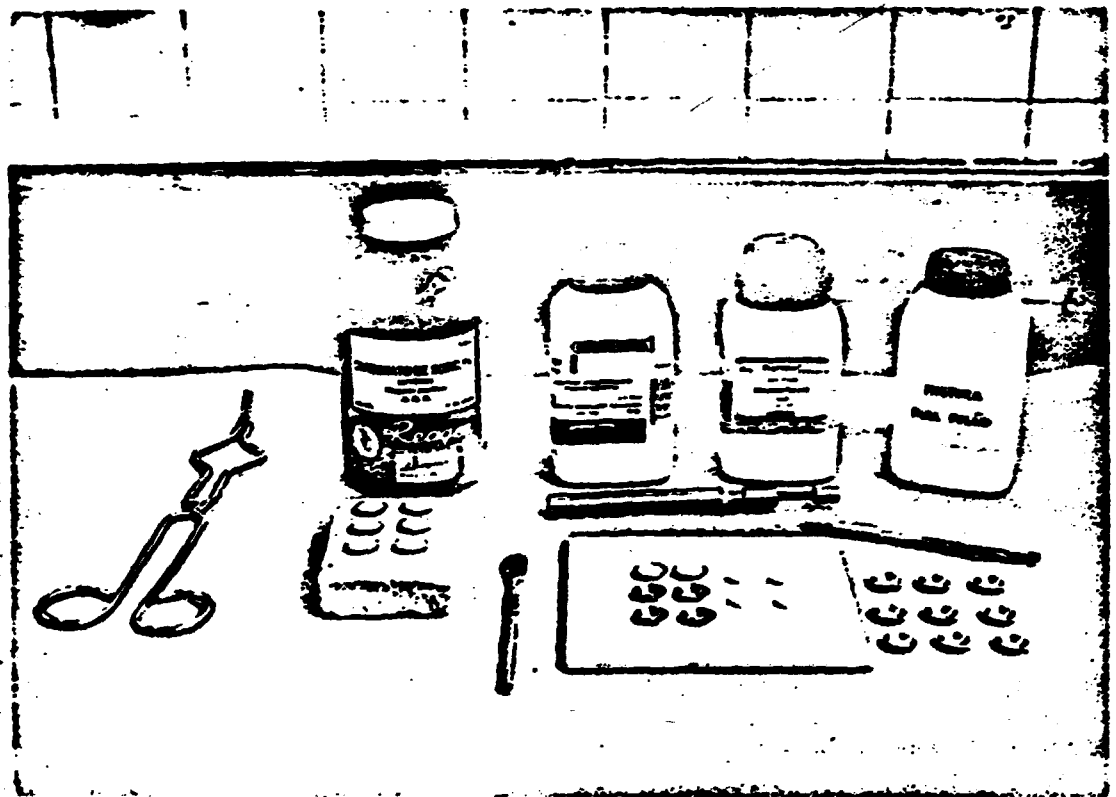


FIGURA 1 - MATERIAL UTILIZADO PARA EXECUTAR A FUSÃO

- a) NaF, Na₂CO₃, e K₂CO₃, na proporção, em peso, de 9: 45,5: 45,5 respectivamente. Reagentes P.A.
- b) NH₄F, Na₂CO₃, e K₂CO₃, na proporção, em peso, de 9: 45,5: 45,5 respectivamente. Reagentes P.A.
- c) NaF e LiF na proporção, em peso, de 98:2 respectivamente. Reagentes "suprapur" da MERK.

- Micropipetas de 100 microlitros.

- Soluções de padrão de urânio nas seguintes concentrações:

ções:

- a) Solução estoque 1 mg U/ml (1 g U/l).
- b) Solução trabalho 1 micrograma U/ml (1 mg U/l).
- c) Solução trabalho 0,1 micrograma U/ml (0,1 mg U/l).

O urânio utilizado para preparação do padrão é o purificado no Centro de Engenharia Química do Instituto de Energia Atômica. Parte-se do diuranato de amônio puro que é calcinado na mufla a 900°C até peso constante. Do óxido obtido é pesada a quantidade desejada para obter-se concentração de 1 g U/l. O óxido é dissolvido em ácido nítrico concentrado e, a seguir, o volume é completado com água destilada. A partir da solução inicial preparam-se as diluições em água destilada e adiciona-se ácido nítrico suficiente para que as soluções finais fiquem levemente ácidas (aproximadamente 5% em ácido nítrico).

4.1.2. MÉTODO

- Pipetam-se 100 microlitros da amostra a ser analisada em um disco de platina próprio para fusão.

- Evapora-se até secura, sob lâmpada infra-vermelha.

- Calcina-se a amostra num maçarico para eliminar a matéria orgânica.
- Adicionam-se 300 ou 400 mg de mistura fundente (pó), por meio do dosador, no mesmo disco.
- Coloca-se o disco sobre o suporte pré-aquecido e procede-se a fusão, mantendo a temperatura do forno a 710°C, durante exatamente 2 minutos.
- Deixa-se a pastilha formada esfriar num dessecador durante no mínimo 15 minutos.
- Procede-se a leitura no fluorímetro e relaciona-se a fluorescência obtida com a intensidade de fluorescência de um ensaio padrão (0,01 microgramas de U) executado nas mesmas condições, determinando assim a concentração de urânio na amostra.
- Paralelamente são feitos ensaios em branco e ensaios de padrão (0,1 micrograma de U) usado para calibrar o instrumento. O fluorímetro é calibrado na leitura 100, com a pastilha de 0,1 µg de U, comprimindo a tecla 0,1 e sensibilidade 6.
- As amostras devem ser analisadas, pelo menos, em duplicata.
- As IRF (intensidade relativa de fluorescência) das amostras são descontadas do valor do ensaio em branco.
- No caso da amostra provocar "extinção", determinar esta pela padronização interna, bastando para tanto fazer um ensaio numa amostra à qual se adiciona 0,01 micrograma de urânio. A fluorescência deste ensaio "estocado" é comparada com aquela obtida no ensaio do padrão e o valor da inibição é determinado.

De posse das IRF obtidas, determina-se a concentração de urânio na amostra por meio dos seguintes cálculos:

a) Amostras analisadas sem adição de padrão:

A = IRF de 0,1 ml de amostra

B = IRF do ensaio em branco

C = IRF de P μg de padrão de urânio

A quantidade de urânio na amostra será:

$$x = \frac{P(A-B)}{C-B} \mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$$

b) Amostras analisadas pela técnica de padronização interna:

A = IRF de 0,1 ml de amostra

B = IRF do ensaio em branco

C = IRF de P μg de padrão de urânio

D = IRF da amostra + 0,01 μg de padrão de U

E = IRF de 0,01 μg de padrão de U

ζ = Valor da inibição ["quenching"]

$$\zeta = \frac{D-A}{E-B}$$

A quantidade de urânio na amostra será:

$$x = \frac{P(A-\zeta B)}{(C-B)\zeta} \mu\text{gU}/0,1 \text{ ml}$$

4.2. SEPARAÇÃO E EXTRAÇÃO DO URÂNIO DA AMOSTRA

Quando se deseja aumentar a sensibilidade da técnica em vez de analisar-se diretamente a urina, pode-se lançar mão de métodos que permitam separar o urânio da amostra.

4.2.1. MATERIAL

- Balão de destilação de 500 ml conjugado a um condensador.

- Ácido nítrico concentrado P.A.
- Peróxido de hidrogênio 130 vol. P.A.
- Solução saturada de nitrato de alumínio P.A.
- Ácido nítrico 1,5 N
- Acetato de etila P.A.

4.2.2. MÉTODO

O método utilizado para separação prévia consta de mineralização em meio nítrico executada no balão de destilação (especial, pois é soldado ao condensador). O resíduo obtido é, em seguida, submetido a sucessivos tratamentos com ácido nítrico e água oxigenada. Em linguas gerais consiste do seguinte:

- Tratam-se 100 ml de amostra de urina com 20 ml de ácido nítrico concentrado. Coloca-se no balão de destilação.

- Destila-se até um volume final de 5 a 10 ml. O destilado é lançado diretamente no esgoto.

- Transfere-se o resíduo para um bequer de 100 ml e adicionam-se 3 ml de ácido nítrico concentrado e 3 ml de água oxigenada.

- Leva-se à secura em banho de areia.

- Retoma-se o resíduo em ácido nítrico e água oxigenada tantas vezes quantas necessário para obter cristais brancos.

Após a mineralização da amostra procede-se à extração do seguinte modo:

- Dissolvem-se os cristais provenientes da mineralizção em cerca de 2 ml de ácido nítrico 1,5 N e transfere-se para um funil de separação de 60 ml.

- Adicionam-se 15 ml de solução saturada de nitrato

de alumínio.

- Extrai-se duas vezes com 10 ml de acetato de etila, agitando durante dois minutos.

- Reunem-se as fases orgânicas em um bequer de 50 ml e evapora-se até seca em corrente de ar quente.

- Retoma-se o resíduo em água destilada e leva-se a 10 ml em balão volumétrico.

- Submete-se a amostra preparada a análise fluorimétrica de acordo com a técnica descrita em 4.1.

O esquema analítico do método utilizado na análise de urânio na urina acha-se na figura 2.

4.3. APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO PARA ANÁLISE DE URÂNIO EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES.

Determinamos a concentração de urânio em amostras de urina coletadas de trabalhadores do Centro de Engenharia Química do Instituto de Energia Atômica, segundo os métodos descritos nos itens anteriores.

Colhemos as urinas durante o período de 24 horas que foram conservadas em refrigerador após a colheita.

O sistema geral de proteção dos trabalhadores da Usina de Enriquecimento de Urânio e da Unidade Piloto de Produção de Tetrafluoreto de Urânio, ambas do IEA, bem como os fluxogramas dos processos utilizados nestas Usinas, já foram objeto de estudos anteriores^{1, 22, 33, 63}, mostrando os pontos críticos importantes para a Proteção Radiológica e os vários compostos manuseados. Estes dados serviram de orientação quanto a proteção que deveria ser realizada.

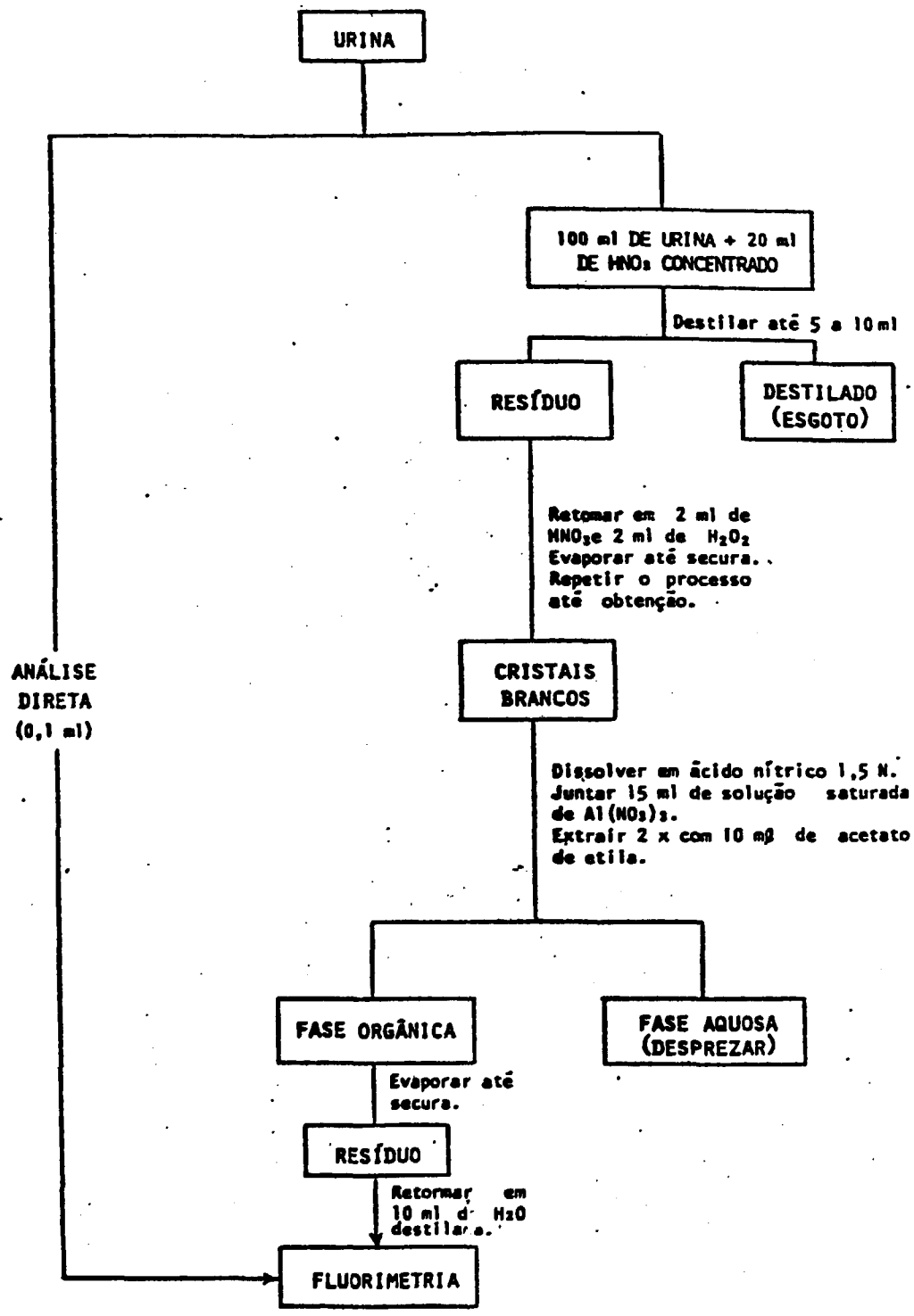


FIGURA 2 - ESQUEMA ANALÍTICO DO MÉTODO UTILIZADO NA ANÁLISE DE URÂNIO NA URINA.

4.4. TRATAMENTO PRÉVIO DA AMOSTRA PARA DETERMINAÇÃO DO TRÍTIIO

4.4.1. MATERIAL

- Placas de Petri de 10 cm de diâmetro.
- Chapa aquecedora.
- Carvão ativo.
- Papel de filtro faixa azul.

4.4.2. MÉTODO

Testaram-se dois tipos de tratamento prévio, um por filtração em carvão ativo e outro por evaporação.

No tratamento com carvão ativo procedemos do seguinte modo:

- Adiciona-se cerca de 1 grama de carvão ativo a 30 ml de urina.
- Filtra-se em papel de filtro faixa azul.

No tratamento por evaporação adotamos a seguinte técnica:

- Colocam-se aproximadamente 30 ml de urina na placa de Petri.
- Aquece-se sobre a chapa aquecedora.

- Recolhe-se em um bequer de 50 ml, o vapor que se condensa na tampa superior da placa de Petri.

4.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE TRÍTIO POR CINTILAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO

4.5.1. MATERIAL

- Cintilador ISOCAP/300 model 6868 Nuclear Chicago Searle Analytic Inc. Liquid Scintillation System.

- Frascos de vidro para cintilação de 20 ml de capacidade com baixo teor de potássio.

- Micropipetas de 100 microlitros.

- Seringa de 20 ml de plástico descartável.

- Mistura cintiladora de:

4 g de PPO (2,5 difenil oxazol)-scintillation grade da Amershan - Searle.

50 mg de dimetil-POPOP (1,4 bis [2(4 metil 5 fenil-oxazolil)] benzeno)-scintillation grade da Amershan Searle.

120 g de Naftaleno P.A.

1000 ml de p-dioxano P.A.

- Padrão de água tritiada da Amershan - Searle - solução estoque com 4,0 mCi/ml em 21.06.76.

- Solução padrão de água tritiada com aproximadamente 0,1 microcurie ^3H /ml para adição. Solução trabalho.

4.5.2. MÉTODO

- Coloca-se 1 ml da amostra a ser analisada (urina ou o produto do tratamento prévio) no frasco de cintilação.

- Adicionam-se 15 ml da mistura cintiladora, com o auxílio de seringa.

- Conta-se no cintilador durante 10 minutos.

- Paralelamente, em outra alíquota de 1 ml da mesma amostra, adiciona-se 0,1 ml da solução trabalho de padrão de água trítia e 15 ml de mistura cintiladora, efetuando-se a contagem da mesma forma.

- Em um terceiro frasco, procede-se ao ensaio em branco de urina.

- A atividade de trítio na amostra é determinada por meio dos seguintes cálculos:

a) Cálculo da eficiência (E)

$$E = \frac{(\text{cpm atp}) - (\text{cpm amostra})}{\text{dpm padrão}}$$

Onde:

- cpm atp = contagem por minuto da amostra mais o padrão adicionado.

- cpm amostra = contagem por minuto da amostra.

- dpm padrão = desintegrações por minuto do padrão adicionado.

b) Cálculo da atividade de trítio na amostra (x):

$$x = \frac{(\text{cpm amostra}) - (\text{cpm branco})}{E \times 2.220} \mu\text{Ci/l}$$

Onde:

- cpm amostra = contagem por minuto da amostra.
- cpm branco = contagem por minuto de um branco de urina.
- E = eficiência de contagem.

4.6. APLICAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO PARA ANÁLISE DE TRÍTIUM EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES.

Determinamos a atividade de trítio em amostras de urina colhidas de trabalhadores dos Centros de Engenharia Nuclear e Aplicações Biológicas de Radioisótopos e Radiações do Instituto de Energia Atômica. Determinou-se, também, a atividade de trítio em amostras de urina de pessoas que trabalham em Indústria de relógios e marcam os mostradores de relógios com pigmentos luminóforos à base de trítio.

Colhemos amostras de uma única micção do dia que foram conservadas em refrigerador até serem analisadas.

5. RESULTADOS

Damos a seguir uma série de tabelas e figura demonstrativas dos resultados obtidos nas diferentes fases do nosso trabalho.

5.1. RESULTADOS DA PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DO URÂNIO POR FLUORIMETRIA EM MEIO SÓLIDO.

A figura 3 mostra os resultados de Intensidade Relativa de Fluorescência (IRF) obtidos para soluções de padrão de urânio de $2 \cdot 10^{-3}$ até $1 \mu\text{gU}/0,1 \text{ ml}$.

A tabela 6 dá os valores de IRF obtidos para soluções de padrão de urânio até um mínimo de $5 \cdot 10^{-4} \mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$.

A tabela 7 traz os resultados de IRF obtidos para ensaios paralelos realizados para uma solução de padrão de urânio de $5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$ e para uma amostra obtida após mineralização e extração de 100 ml de urina enriquecida com 5 μg de urânio. A tabela inclui, também, a análise estatística dos dados obtidos.

A tabela 8 mostra os valores de urânio encontrados em amostras de urina adicionadas de padrão.

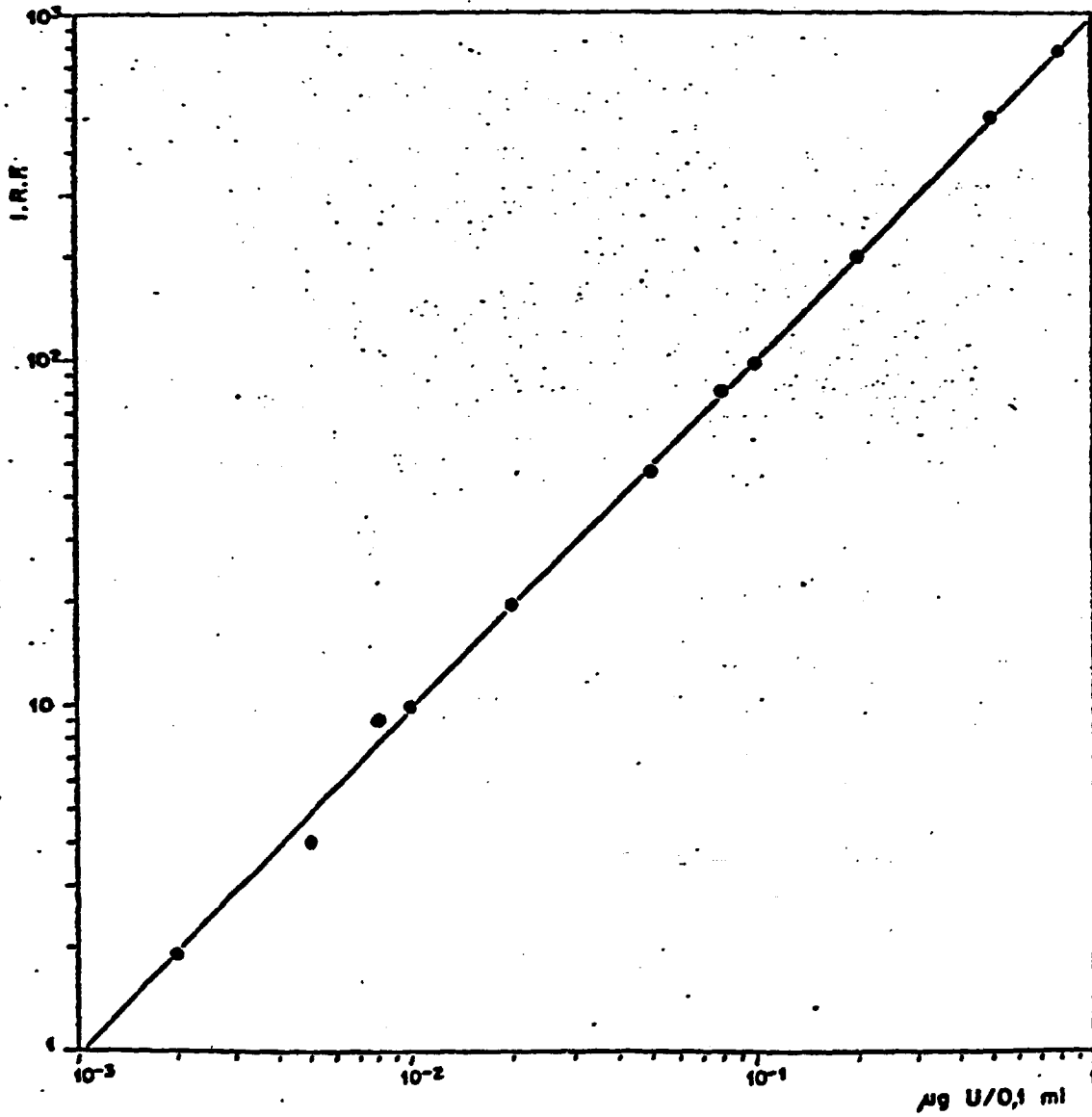


FIGURA 3 - VARIACÃO DA IRF COM A CONCENTRAO DE URÂNIO. (REGRESSÃO LINEAR PELO MÉTODOS DOS MÍNIMOS QUADRADOS).

TABELA 6 - VALORES DE IRF OBTIDOS EM AMOSTRAS COM VÁRIAS CONCENTRAÇÕES DE PADRÃO DE URÂNIO.

CONCENTRAÇÃO µg U/0,1 ml	VALORES DE IRF	VALOR MÉDIO DE IRF	IRF/LÍQUIDO
$5 \cdot 10^{-1}$	550 - 520 - 500	523	523
$1 \cdot 10^{-1}$	99 - 100 - 100	99,7	99,3
$1 \cdot 10^{-2}$	10,5 - 11,0 - 11,0	10,8	10,4
$1 \cdot 10^{-3}$	1,6 - 1,1 - 1,4	1,4	1,0
$5 \cdot 10^{-4}$	0,8 - 0,9 - 1,0	0,9	0,5
BRANCO	0,4 - 0,2 - 0,5	0,4	-

Desvio padrão do ensaio em branco = 0,27 unidades de IRF (10 ensaios).

TABELA 7 - ANÁLISE DA REPRODUTIBILIDADE DAS IRF OBTIDAS EM ENSAIOS PARALELOS DE AMOSTRAS DE PADRÃO E DE URINA.

0,05 µg U/0,1 ml	URINA + PADRÃO
IRF	IRF
52,0	36,0
50,0	39,0
63,0	40,0
56,0	34,0
60,0	39,0
56,0	38,0
52,0	36,0
62,0	34,0
63,0	33,0
51,0	34,0
59,0	32,0
58,0	34,0
40,0	32,0
54,0	32,0
48,0	28,0
59,0	32,0
	32,0
	28,0
	38,0

média - 55,0

branco - 2,7

desvio padrão - 6,2

coeficiente de variação - 11%

média - 34,0

branco - 0,5

desvio padrão - 3,5

coeficiente de variação - 10%

TABELA 8 - RECUPERAÇÃO DE URÂNIO DETERMINADA EM AMOSTRAS DE URINA ENRIQUECIDA (MEDIDA DIRETA NA URINA).

QUANTIDADE DE URÂNIO ADICIONADA ($\mu\text{g}/\text{l}$)	QUANTIDADE DE URÂNIO ENCONTRADA ($\mu\text{g}/\text{l}$)	RECUPERAÇÃO %
0	<5,0	ABAIXO DA SENSIBILIDADE
2,0	<5,0	ABAIXO DA SENSIBILIDADE
10,0	8,7	87
20,0	22,0	110
50,0	44,0	88
100,0	93,0	93
500,0	430	86

5.2. RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS DE URÂNIO NATURAL.

A tabela 9 traz os resultados preliminares obtidos em amostras de urina de trabalhadores.

A tabela 10 apresenta os resultados de concentração de urânio em amostras de urina de trabalhadores; numa fase em que o programa de bioanálise visava com maior ênfase as pessoas mais expostas ao risco de contaminação interna por compostos de urânio natural. A tabela 11 fornece os mesmos resultados colocados de outra maneira, de modo a permitir uma melhor visualização do grau de contaminação.

5.3. RESULTADOS DA PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DO TRÍTIUM POR CINTILAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO.

As tabelas 12, 13 e 14 ilustram os resultados das contagens por minuto (cpm) obtidos em uma série de ensaios realizados diretamente na urina, após tratamento com carvão ativo e após evaporação. Em todas, as eficiências de contagem são apresentadas.

As tabelas 15 e 16 indicam os resultados dos ensaios realizados para determinar a sensibilidade e a precisão do método adotado.

5.4. RESULTADOS OBTIDOS EM AMOSTRAS DE URINA DE TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS DE TRÍTIUM.

A tabela 17 fornece os resultados das análises efetuadas em amostras de urina de pessoas expostas a compostos de trítio.

TABELA 9 - CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO EM AMOSTRAS DE URINA DO PESSOAL DA CEQ (RESULTADOS PRELIMINARES).

SETORES DA CEQ	Nº DE AMOSTRAS	Nº DE AMOSTRAS NOS INTERVALOS DE CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO EM µg/l						
		<10	11 - 20	21 - 30	31 - 40	41 - 50	51 - 80	>80
USINA (8 PESSOAS)	45	5	7	7	14	2	10	0
LABORATÓRIO ANALÍTICO (23 PESSOAS)	71	29	14	17	2	5	4	0
ASSISTÊNCIA TÉCNICA À USINA. (10 PESSOAS)	34	10	8	9	4	3	0	0
SECRETARIA (1 PESSOA)	3	3	0	0	0	0	0	0
TOTAL	153	47	29	33	20	10	14	0

TABELA 10 - RESULTADOS DAS ANÁLISES REALIZADAS EM AMOSTRAS DE URINA DO PESSOAL DO CENTRO DE ENGENHARIA QUÍMICA (CEQ)

LOCAL DE TRABALHO	USINAS																			ASSISTÊNCIA TÉCNICA					LABORATÓRIOS				NÃO EXPOSTOS	
CÓDIGO DO TRABALHADOR	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	T ₁₁	T ₁₂	T ₁₃	T ₁₄	T ₁₅	T ₁₆	T ₁₇	T ₁₈	T ₁₉	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	M ₁	M ₂
CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO NAS VÁRIAS AMOSTRAS (µg U/l)	3,0	<5,0	<5,0	50,0	33,0	17,0	10,0	<5,0	40,0	60,0	60,0	8,0	<5,0	8,0	20,0	<5,0	<5,0	6,0	20,0	3,0	2,0	2,0	2,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
	5,0	<5,0	9,0	70,0	12,0	21,0	6,7	<5,0	20,0	20,0	20,0		18,0	<5,0	4,0	<5,0	<5,0	22,0	<5,0		7,0			<5,0						
	8,0		<5,0	3,0	6,0		17,0		18,0	4,0	4,0		<5,0		10,0	<5,0			7,0		27,0									
	2,0		<5,0	6,0	9,0		21,0		4,0	8,0	8,0		15,0		2,0						4,0									
	10,0			2,0	20,0		14,0		6,0	2,0	20,0				10,0															
	29,0			2,0	12,5		30,0		2,0	3,7	4,0				8,0															
	5,2			13,0	1,0				11,0	1,0	2,0				11,0															
	18,0			12,0	10,0				0,7		47,0				7,0															
	6,0			8,0	1,0				14,0		13,0				4,0															
	8,6			6,6	<5,0				2,2		23,0				12,0															
	<5,0			7,6	13,0				<5,0		19,0				6,0															
	12,0			5,0	<5,0				<5,0		5,0				<5,0															
	<5,0			13,0	7,0				<5,0		<5,0				12,0															
	<5,0			<5,0					<5,0		10,0				<5,0															
				6,0							22,0				<5,0															
				<5,0							<5,0				8,0															
			<5,0							35,0																				
			33,0							<5,0																				
			<5,0							<5,0																				
										22,0																				
										<5,0																				

TABELA 11 - CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO EM AMOSTRAS DE URINA DO PESSOAL DA CEQ (1972 A 1976)

SETORES DA CEQ	Nº DE AMOSTRAS	Nº DE AMOSTRAS NOS INTERVALOS DE CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO EM µg/l							
		<5	5 - 10	11 - 20	21 - 30	31 - 40	41 - 50	51 - 100	>100
USINA	136	55	34	29	9	4	2	3	0
LABORATÓRIOS	8	7	0	0	1	0	0	0	0
ASSISTÊNCIA TÉCNICA À USINA	9	7	1	1	0	0	0	0	0
PESSOAS NÃO EXPOSTAS	2	2	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	155	71	35	30	10	4	2	3	0

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DAS EFICIÊNCIAS DE CONTAGEM ENTRE AMOSTRAS DE URINA ENRIQUECIDA COM PADRÃO DE TRÍTIO E DE SOLUÇÕES DE PADRÃO PURO. (ANÁLISE DIRETA).

URINA	URINA + PADRÃO		PADRÃO 0,0145 μ CI DE ^3H	
(cpm)	(cpm)	E%	(cpm)	E%
63	7822	24	10276	
51	7982	25	10497	
44	8038	25	MÉDIA = 10386	32
38	8569	26		
82	7663	24		

19

TABELA 13 - COMPARAÇÃO DAS EFICIÊNCIAS DE CONTAGEM
ENTRE AMOSTRAS DE URINA ENRIQUECIDA E
SOLUÇÕES DE PADRÃO PURO, APÓS, TRATAMENTO
PRÉVIO DA AMOSTRA COM CARVÃO ATIVO .

URINA	URINA + PADRÃO		PADRÃO 0,0133 μ CI DE 3 H	
(cpm)	(cpm)	E%	(cpm)	E%
44	9535	32	9930	
85	9229	31	10077	
48	9532	32	9951	
46	9088	31	9998	
37	9547	32	MÉDIA = 9989	34
52	9199	31		

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DAS EFICIÊNCIAS DE CONTAGEM ENTRE AMOSTRAS DE URINA ENRIQUECIDA E SOLUÇÕES DE PADRÃO PURO, APÓS, TRATAMENTO PRÉVIO DA AMOSTRA POR EVAPORAÇÃO.

URINA	URINA + PADRÃO		PADRÃO 0,0133 μ CI DE ^3H	
(cpm)	(cpm)	E%	(cpm)	E%
39	9914	34	9858	
41	10070	34	9918	
35	9931	34	10001	
36	9980	34	9650	
40	9856	33	MÉDIA = 9857	33
37	9875	33		

TABELA 15 - SENSIBILIDADE DA TÉCNICA DE DETERMINAÇÃO DE TRÍTIUM POR CINTILAÇÃO EM MEIO LÍQUIDO.

ATIVIDADE $\mu\text{Ci/m}$	CONTAGENS LÍQUIDAS (cpm)
$7,7 \cdot 10^{-3}$	4388
$3,1 \cdot 10^{-3}$	1827
$8,0 \cdot 10^{-4}$	572
$8,0 \cdot 10^{-5}$	57
$8,0 \cdot 10^{-6}$	10
$8,0 \cdot 10^{-7}$	-

- Desvio padrão do ensaio em branco = 4,11cpm (10 ensaios).

TABELA 16 - CONCENTRAÇÃO DE TRÍTIO ENCONTRADA EM 20 DIFERENTES ENSAIOS DE UMA MESMA AMOSTRA PARA VERIFICAÇÃO DA PRECISÃO.

Nº DA ANÁLISE	Nº DE CONTAGENS (cpm)	ATIVIDADE $\mu\text{Ci/l}$ URINA
1	273,0	0,323
2	270,0	0,320
3	282,2	0,336
4	278,1	0,330
5	272,9	0,323
6	278,2	0,330
7	288,6	0,345
8	275,1	0,326
9	271,1	0,320
10	276,8	0,328
11	286,6	0,342
12	289,3	0,346
13	280,8	0,334
14	280,7	0,334
15	279,1	0,332
16	296,0	0,356
17	289,2	0,346
18	287,4	0,343
19	283,1	0,337
20	286,2	0,342

Branco médio = 43,6
 $0,0132 \mu\text{Ci HTO} = 9752,0 \text{ cpm}$
Amostra + $0,0132 \mu\text{Ci HTO} = 9674,0 \text{ cpm}$
Eficiência (E) = 0,32

Média = 0,335
Desvio padrão = 0,012
Coeficiente de variação = 3,6%

TABELA 17 - RESULTADOS DE ANÁLISES DE URINAS DE TRABALHADORES QUE MANUSEIAM COMPOSTOS DE TRÍTIO.

AMOSTRA	SETOR	TIPO DE COMPOSTO USADO	ATIVIDADE DE TRÍTIO		
			cpm	cpm liq.	µCi/l URINA
1	Van de Graaf (IEA)	ALVO DE ^3H (GÁS)	50,4	6,8	<0,008
2	"	"	47,0	3,4	<0,008
3	"	"	47,2	3,6	<0,008
4	RADIOBIOLOGIA (IEA)	ÁGUA TRITIADA	279,1	235,5	0,33
5	"	"	130,9	87,3	0,12
6	APLICAÇÕES MÉDICAS (IEA)	HORMÔNIO MARCADO	52,6	9,0	0,01
7	"	"	49,4	5,8	<0,008
8	"	"	59,4	18,6	0,03
9	"	"	50,1	9,3	0,01
10	"	"	50,0	9,2	0,01
11	"	"	43,6	2,8	<0,008
12	"	"	45,0	4,2	<0,008
13	ENG. QUÍM. (IEA)	NÃO EXPOSTOS	39,2	1,4	<0,008
14	"	"	40,7	2,9	<0,008
15	"	"	35,2	-	<0,008
16	"	"	35,7	-	<0,008
17	PROTEÇ. RADIOD. (IEA)	RESÍDUO DE ^3H	40,0	2,2	<0,008
18	"	"	36,8	-	<0,008
19	IND. RELÓGIOS	COMPOSTOS LUMINÓFOROS.	59.301	-	102,7
20	"	"	17.548	-	30,4
21	"	"	26.798	-	46,4
22	"	"	38.092	-	66,0
23	"	"	5.814	-	10,0
24	"	"	34.903	-	60,5
25	"	"	4.687	-	7,3
26	"	"	10.108	-	15,5
27	"	"	27.686	-	41,5
28	"	"	39.732	-	55,8
29	"	"	12.638	-	18,3
30	"	"	4.262	-	6,1
31	"	"	3.054	-	4,2
32	"	"	4.072	-	5,7

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A meta do trabalho foi selecionar, adaptar e padronizar técnicas analíticas de determinação de urânio natural e trítio em urina e, em seguida, aplicá-las a amostras provenientes de trabalhadores que manuseiam compostos destes elementos.

6.1. URÂNIO

Em nossas primeiras experiências de determinação de urânio em urina, utilizamos a técnica descrita por FLOH e ABRÃO³⁰, desde 1968 desenvolvida no Centro de Engenharia Química do IEA de São Paulo. Posteriormente, modificamos esta técnica a fim de adaptá-la convenientemente às nossas necessidades.

A técnica de determinação por fluorimetria em meio sólido tem como fase crítica o desenvolvimento da fusão e, portanto, todos os pormenores têm que ser analisados para que haja uniformidade durante o processo. Desse modo, após vários ensaios, optamos pela utilização do disco pequeno de platina, de 1,6 cm de diâmetro, tendo em vista, principalmente, os seguintes fatores:

- a) Maior facilidade para a execução da análise.
- b) Menor tempo gasto para proceder a fusão.
- c) Menor quantidade de mistura fundente.

d) Os discos praticamente não se deformam durante a fusão.

e) Maior número de fusões realizadas ao mesmo tempo.

Com relação à mistura fundente, das três ensaiadas, adotamos a de composição, Na_2CO_3 : K_2CO_3 : NaF na proporção de 45,5 : 45,5 : 9, respectivamente, por ser aquela que forneceu pastilhas homogêneas, de fácil desprendimento do disco de fusão, além de, praticamente, não agir sobre a platina. Devemos salientar, também, que a temperatura de fusão dessa mistura é de cerca de 650°C, facilitando o trabalho.

Era importante, por outro lado, estabelecer a quantidade ideal de mistura fundente. Desta forma, realizamos ensaios padrão com 200, 300 e 400 mg da mistura fundente. Embora os resultados encontrados fossem comparáveis entre si, optamos pela quantidade de 400 mg por fornecer a pastilha de maior espessura.

Para que o ataque ao disco de platina seja desprezível o processo de fusão deve ser feito no menor tempo e a uma temperatura do forno a mais baixa possível. Procedemos, então, a ensaios entre 680 e 700°C, variando-se os tempos de observação. A tabela 18 indica que, a temperatura de 700°C, bastam 2 minutos para que a fusão seja total.

TABELA 18 - RELAÇÃO ENTRE TEMPERATURA DO FORNO
E TEMPO DE FUSÃO

TEMPERATURA (°C)	TEMPO (MIN)	FUSÃO
680	4	PARCIAL
700	3	TOTAL
700	2	TOTAL
700	1,5	PARCIAL

Para viabilizar os procedimentos de colocação e retirada dos discos na mufla, idealizamos um pequeno suporte de tijolo refratário que, sendo friável, possibilitou a escavação de pequenas concavidades onde foram depositados os discos. De tal forma que pudemos processar 6 amostras simultaneamente.

Devemos salientar que o método de fluorimetria em meio sólido parece ser bastante específico para o urânio. Isto foi reforçado quando, acidentalmente, o reagente de nitrato de alumínio usado na extração, parecia estar contaminado com urânio por causa da fluorescência elevada no ensaio do branco. Traçamos num espectrofluorímetro os espectros de emissão e excitação da amostra de nitrato de alumínio, paralelamente com os de um padrão de urânio. As figuras 4 e 5 são representativas da análise dos espectros obtidos, verificando-se que a amostra estava realmente contaminada com urânio, o que vem reafirmar a alta seletividade do método.

No presente trabalho comprovamos os dados da literatura^{17,72} no tocante à proporcionalidade da fluorescência em relação à concentração de urânio na amostra. O gráfico da figura 3 mostra a linearidade para concentrações de urânio de $2 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$ até $1 \mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$.

Com respeito à sensibilidade, a tabela 6 mostra que a menor concentração que se pode determinar foi de $5 \cdot 10^{-4}$ $\mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$. Como, normalmente, considera-se como valor mínimo significativo de IRF, um número duas vezes maior que o valor do desvio padrão do ensaio do "branco", verificamos pelos nossos resultados que valores iguais a aproximadamente 0,5 unidade de IRF são considerados significativos. Assim, as sensibilidades alcançadas, nas técnicas ensaiadas, foram: $5 \mu\text{g U}/1$ de urina na análise direta e $0,5 \mu\text{g U}/1$ de urina na análise após extração.

Para verificar a precisão da medida fluorimétrica efetuamos ensaios utilizando uma solução padrão de urânio a $0,05 \mu\text{g}/0,1 \text{ ml}$ e uma amostra de 100 ml de urina enriquecida com $5 \mu\text{g}$ de urânio e que foi submetida aos processos de mineralização e extração antes da medida fluorimétrica. Os resultados da tabela 7 mostram que a precisão é de cerca de 10% para concentrações de urânio em torno de $0,05 \mu\text{g}/0,1 \text{ ml}$.

Para o cálculo da concentração de urânio na amostra, a partir da IRF obtida, adotamos a técnica de fazer, paralelamente com esta, em

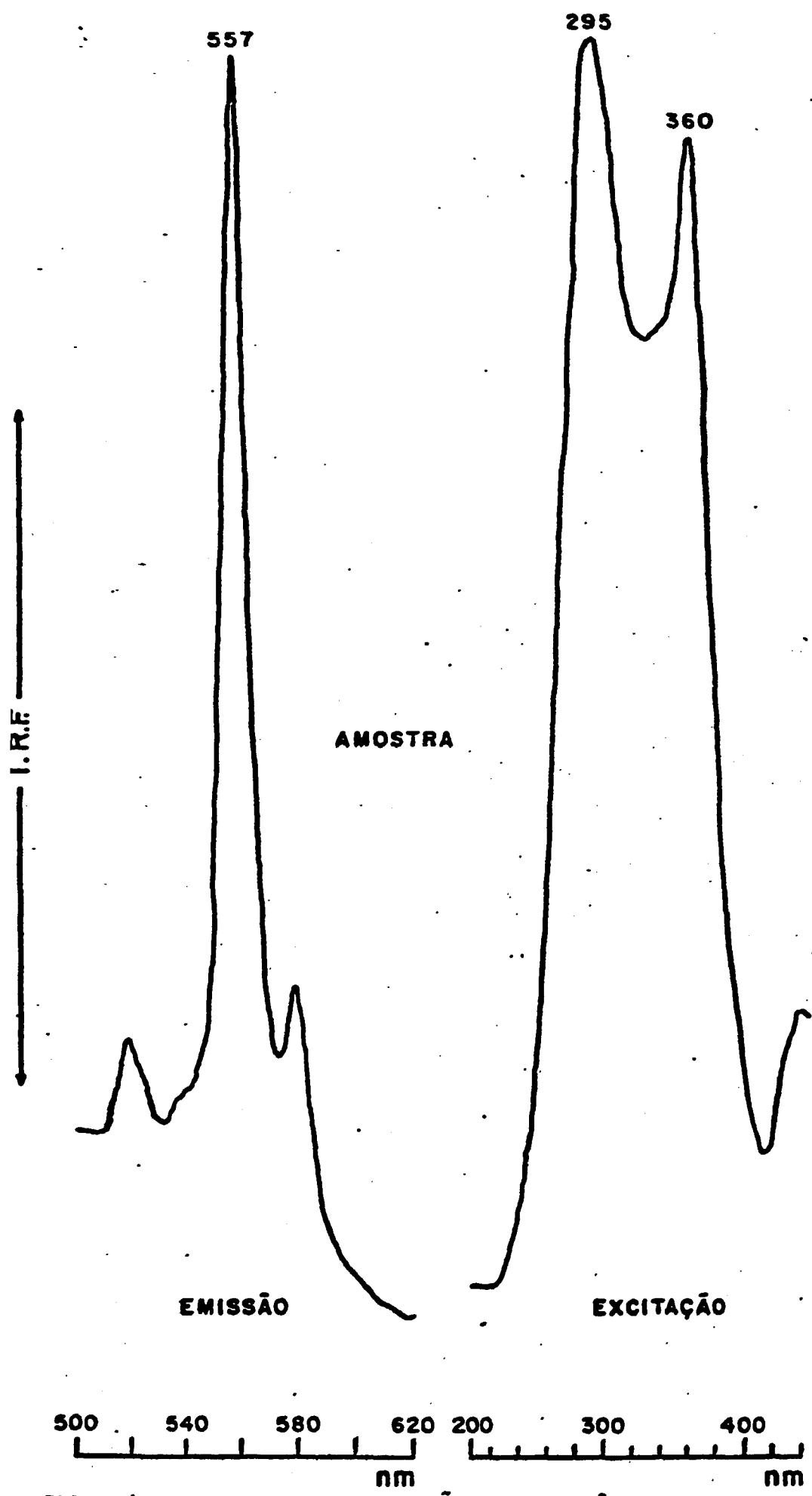
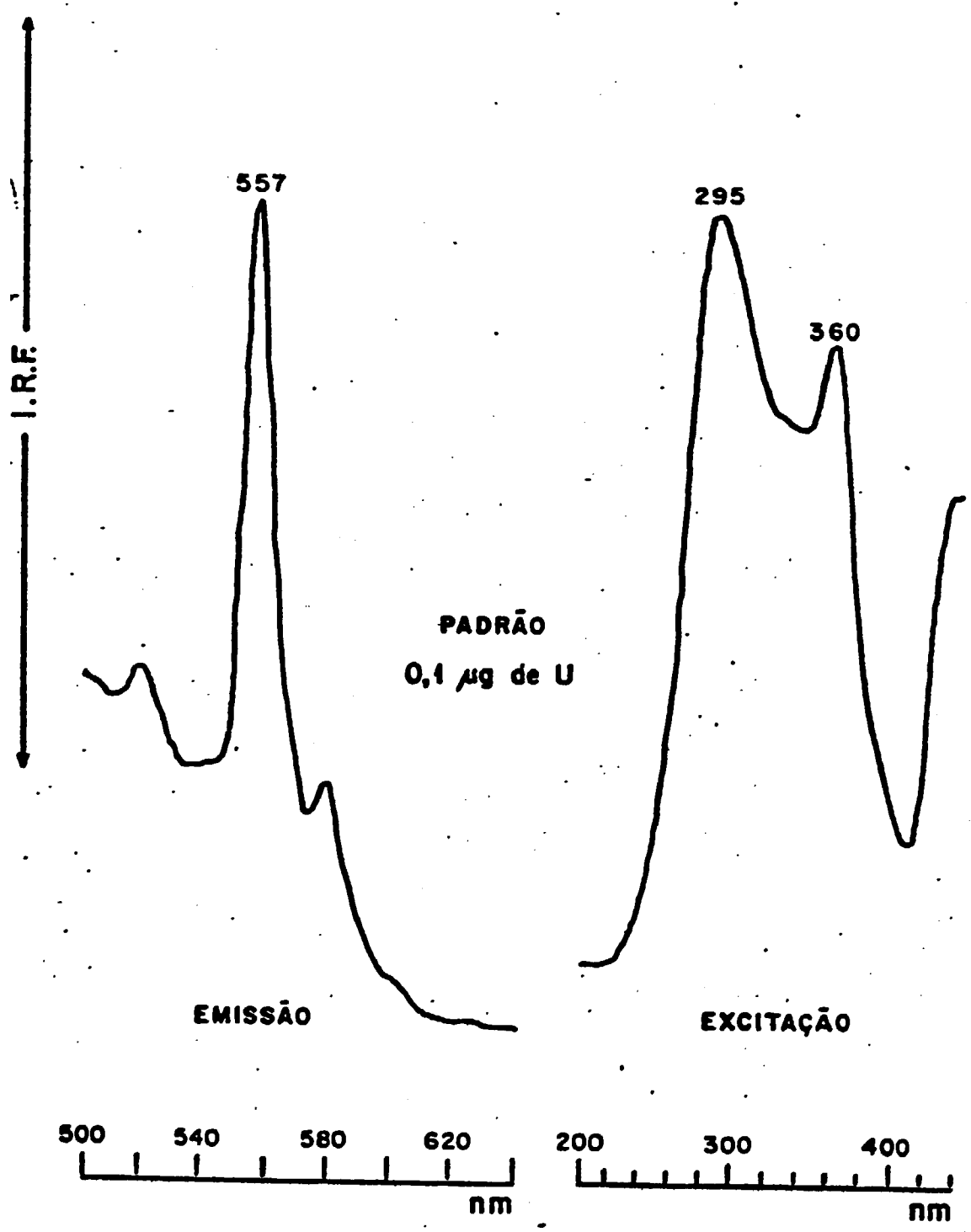


FIGURA 4 - ESPECTROS DE EMISSÃO E EXCITAÇÃO FLUORESCENTES DE UMA AMOSTRA DA SOLUÇÃO DE NITRATO DE ALUMÍNIO CONTAMINADA



FIGURAS- ESPECTROS DE EMISSÃO E EXCITAÇÃO FLUORESCENTES DE U:
PADRÃO DE URÂNIO.

salos de padrões, comparando as IRF dos mesmos diretamente com as da amostra. Não adotamos a técnica de traçar curvas de calibração por causa da dificuldade de manter-se a reprodutibilidade da determinação fluorimétrica.

Com o intuito de obter maior sensibilidade na determinação do urânio, testamos a técnica de mineralização da urina e extração do urânio da amostra. O método selecionado, para a mineralização, mostrou-se eficaz, não apresentando importunação odorífera acentuada, sendo o tempo gasto por amostra de cerca de um dia de trabalho. Na extração ensaiamos, primeiramente, o método indicado por CENTANI¹⁷, em que o urânio é extraído de uma única vez, com exatamente, 10 ml de acetato de etila. Os resultados das análises realizadas com várias soluções de padrão de urânio encontram-se na tabela 19 e mostram a porcentagem de extração obtidas para as várias concentrações de urânio.

TABELA 19 - RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO OBTIDOS EM SOLUÇÕES DE PADRÃO DE URÂNIO COM UMA ÚNICA EXTRAÇÃO COM EXATAMENTE 10 ML DE ACETATO DE ETILA.

CONCENTRAÇÃO µg U/0,1 ML	% DE EXTRAÇÃO
0,005	94
0,01	82
0,02	80
0,06	78
0,1	72

A mesma técnica de extração quando aplicada a amostras de urina adicionadas de padrão (5 µg U/100 ml) apresentou rendimento médio em torno de 30%. Isto nos levou a fazer duas extrações consecutivas com 10 ml de acetato de etila, com posterior evaporação das fases orgânicas e recuperação em 10 ml de água destilada. Por este método, com técnicas descritas em 4.1.2 e 4.2.2 tratamos mais de 20 amostras, quer de padrões puros quer de amostras de urina adicionadas de padrão. Os rendimentos obtidos nestas extrações foram, em média, de 70%, para concentrações de urânio da ordem de 50 µg U/l.

Sabendo que a concentração de ácido nítrico na solução a ser extraída afeta a % de extração, fizemos uma série de ensaios com solução padrão de urânio em várias concentrações de ácido nítrico, para determinar a concentração na qual o rendimento é maior. Pelos resultados da tabela 20 verifica-se que a % de extração é maior para baixas concentrações de ácido nítrico, decaindo bastante para concentrações acima de 3N. Portanto, para fazer a extração de urânio, escolhemos a concentração de 1,5 N de ácido nítrico.

TABELA 20 - RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO PARA SOLUÇÕES DE URÂNIO EM VÁRIAS CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO NÍTRICO.

CONCENTRAÇÃO HNO ₃ (N)	RENDIMENTO MÉDIO (%)
0,92	65,3
1,49	69,3
2,02	68,7
3,04	45,3

Deve ser aconselhada, portanto, a determinação do urânio natural diretamente na urina, como medida rotineira de controle da contaminação interna, bem como o procedimento da mineralização da urina e extração do urânio da amostra, somente quando houver necessidade de maior sensibilidade e, neste caso, o rendimento da extração deve ser conhecido.

Depois de padronizado, o método de análise de urânio foi aplicado a amostras de urina de trabalhadores do Centro de Engenharia Química. De início como não sabíamos o grau de contaminação do pessoal fizemos análises das urinas de todos os trabalhadores, inclusive, dos administrativos. Os resultados dessas análises encontram-se na tabela 9, verificando-se que o grupo mais sujeito à contaminação, como era de se esperar, é do pessoal que trabalha nas Usinas. Partindo-se destes dados, analisamos, rotineiramente, amostras do grupo que trabalha nas Usinas, constituindo este o grupo principal de controle, pois é o que está em maior contacto com quantidades apreciáveis de urânio. Efetuaram-se também, análises das urinas de trabalhadores dos laboratórios ou da assistência técnica que estavam sujeitos a maior risco de contaminação interna. Os resultados individuais destas análises encontram-se na tabela 10.

Pelos resultados da tabela 9 vemos que a concentração de 50 $\mu\text{g U/l}$ só foi ultrapassado em 14 amostras e que, em nenhuma delas foi ultrapassado o valor de 80 $\mu\text{g U/l}$. Estes valores são preliminares e, muitos deles, foram obtidos quando ainda não havia sido totalmente implantado um esquema de proteção ⁶³ e, também, com o aperfeiçoamento da técnica de determinação, os resultados diminuíram, como se pode ver pelos resultados da tabela 11. Analisando-os nota-se que a maioria se encontra na faixa abaixo de 5 $\mu\text{g U/l}$ de urina, sendo que somente em 3 amostras foi ultrapassado o valor de 50 $\mu\text{g U/l}$ e, em nenhuma delas chegou-se ao valor de 100 $\mu\text{g U/l}$. Os resultados mais elevados referem-se ao ano de 1972, quando a produção de compostos de urânio era mais intensa. Atualmente a maioria das análises situa-se na faixa abaixo de 10 $\mu\text{g U/l}$, refletindo melhores condições de trabalho entre outros fatores.

Comparando-se os resultados das análises obtidos no presente trabalho com os de outras Instituições similares ^{44, 9, 49, 55, 39, 20}, de outros países, nota-se que, como aqueles, a maior porcentagem dos valores encontrados situa-se no intervalo de menos 5 a 10 $\mu\text{gU/l}$ de urina.

6.2. TRÍTIO

Procuramos inicialmente fazer a determinação do trítio, por cintilação, diretamente nas amostras de urina. Acontece, porém, que as amostras apresentaram-se turvas e coloridas influenciando na eficiência da contagem como mostram os resultados da tabela 12. Por esta vê-se que a eficiência de contagem foi cerca de 25% para as amostras adicionadas de padrão, contra 32% para o padrão puro. Portanto, a menos que a rotina exigida seja muito grande, aconselhamos que se faça um tratamento prévio da amostra antes da medida por cintilação.

Ensaíamos dois tipos de tratamento da urina, um por simples evaporação e outra com carvão ativo e posterior filtração. Os resultados das eficiências de contagem obtidas para amostras enriquecidas e submetidas aos dois tipos de tratamento encontram-se nas tabelas 13 e 14. Verificamos por estas tabelas que a eficiência de contagem para as amostras é comparável com a do padrão puro em ambos tipos de tratamento. Como no tratamento com carvão ativo algumas amostras ainda se apresentaram ligeiramente turvas ou coloridas optamos pelo tratamento por evaporação onde a solução apresentou-se límpida.

A técnica de evaporação realizada em placa de Petri mostrou-se simples e de fácil execução e comprovamos, experimentalmente, que não há risco de contaminação de uma amostra para outra, mesmo que a evaporação seja feita em conjunto, sobre uma mesma chapa aquecedora. Para tanto, evaporamos ao mesmo tempo uma amostra com 59.000 cpm/ml, uma de 5.800 cpm/ml e uma urina de pessoa não exposta com 34 cpm/ml verificando que não houve contaminação de uma amostra para outra.

Para a determinação do trítio por cintilação em meio líquido adotamos a composição da mistura cintiladora indicada por BUTLER¹⁰ que a estudou detalhadamente, inclusive, determinando a proporção ideal da mistura em relação à amostra. Comprovamos, então, que 1 ml de urina, após tratamento por evaporação, solubiliza-se perfeitamente em 15 ml de mistura cintiladora.

Preferimos adotar o tempo de contagem de 10 minutos por oferecer maior precisão na medida, quando comparada com as contagens obtidas

o tempo de 1 minuto aconselhado por BUTLER¹⁰. O tempo de contagem de 1 minuto pode ser usado se a precisão na medida não for fator crítico para a análise e quando uma rotina intensa a exigir.

Os resultados da tabela 15 mostram que o método adotado determina quantidades de trítio até uma atividade de $8 \cdot 10^{-6}$ $\mu\text{Ci/ml}$ da amostra o que dá como sensibilidade para a técnica o valor de $8 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{Ci de } ^3\text{H/l}$ de urina. No presente caso consideramos que a contagem líquida de uma amostra é considerada significativa quando for maior que duas vezes o desvio padrão do "branco". Os ensaios realizados nos levaram a um valor de cerca de 8 cpm como valor mínimo significativo de uma amostra em relação ao branco.

Para avaliarmos a precisão da técnica de determinação do trítio por cintilação em meio líquido fizemos 20 análises de uma mesma amostra de urina, usando tratamento por evaporação e tempo de contagem de 10 minutos. Os resultados das análises encontram-se na tabela 16 e a análise estatística mostra que o erro é de cerca de 4% para concentrações de trítio em torno de 0,34 $\mu\text{Ci/l}$ de urina.

Depois de padronizada, a técnica foi aplicada a amostras de urina de trabalhadores que manuseiam compostos de trítio. Os resultados destas análises estão agrupados na tabela 17. Por esta verifica-se que somente 6 amostras, das colhidas no IEA, deram valores superiores ao limite de $8 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{Ci de } ^3\text{H/l}$, estando, mesmo assim, bem abaixo do limite máximo permissível de trítio na urina que é de 23 $\mu\text{Ci/l}$. As amostras 4 e 5 que deram os maiores valores, foram colhidas de pessoa que trabalha com padrão de água tritiada com atividade de aproximadamente 4 mCi/l. Os resultados foram coerentes, pois, sob a forma de água o risco de contaminação interna é maior.

As amostras colhidas de pessoas que trabalham em indústrias de relógios mostram valores altos, inclusive alguns maiores do que o máximo permissível. Estes resultados não podem ser generalizados, pois, os mesmos, foram obtidos em indústrias onde as condições de proteção não parecem suficientes. Estes resultados, porém, são de grande importância, pois evidenciaram a necessidade de melhorias no sistema de proteção para diminuir o risco de contaminação interna. Um sistema de monitoração por bioanálises deve ser feito nas indústrias e laboratórios que utilizam

compostos de trítio a fim de controlar o nível de contaminação interna e, ao mesmo tempo, indiretamente, verificar se as condições do ambiente de trabalho são adequadas.

7. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

- Pelos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se dizer que os métodos analíticos montados para a determinação de urânio e trítio em urina satisfazem as condições exigidas para serem usados em um programa rotineiro de bioanálise.

- A sensibilidade da técnica de análise de determinação do urânio por fluorimetria em meio sólido foi de $5 \cdot 10^{-4}$ $\mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$ e a precisão foi de cerca de 10% para concentrações em torno de $0,05 \mu\text{g U}/0,1 \text{ ml}$.

- A sensibilidade da técnica de análise de determinação de trítio por cintilação em meio líquido foi de cerca de $8 \cdot 10^{-3}$ $\mu\text{Ci } ^3\text{H}/1$ e a precisão foi de cerca de 4% para concentrações de trítio em torno de $0,34 \mu\text{Ci}/1$.

- A análise de urânio na urina vem sendo realizada de maneira rotineira há alguns anos e constitui, ainda, o único controle feito para avaliar o grau de contaminação interna do trabalhador, pois, não se tem um sistema contínuo de monitoração do ar e não se tem, também, um programa de monitoração interna "in vivo".

- O programa de bioanálise de urânio tornar-se-á mais importante quando se produzir no Brasil, em escala industrial ou semi-industrial, o hexafluoreto de urânio (UF_6), composto utilizado no enriquecimento do urânio e que é volátil e altamente solúvel, oferecendo, portanto, maior risco de contaminação interna.

- O método de análise de trítio ainda não foi usado de maneira rotineira mas deverá ser adotado em futuro breve, principalmente, no contro

le de contaminações em indústrias, por intermédio da Comissão Nacional de Energia Nuclear.

- Futuramente os resultados das análises de urina serão utilizados para o cálculo da carga corporal e da dose interna, fazendo parte do Programa de Dosimetria Interna. Atualmente, o principal propósito é controlar o nível de contaminação interna, servindo de apoio às demais precauções tomadas e verificar, indiretamente, as condições do ambiente de trabalho.

- No trabalho fica demonstrada a diversificação de dados que o toxicologista tem que conhecer para escolher e adaptar métodos de análise que atinjam seus objetivos. O ideal seria usar um mesmo método de análise para vários elementos, o que acontece raramente, pois os radioelementos têm, em geral, propriedades físicas e químicas diferentes. No presente caso não há um método de análise que permita determinar juntamente o urânio e o trítio na urina, pois, eles têm características completamente distintas. Assim sendo, eles se apresentam como dois problemas independentes, a não ser por um ponto em comum: para ambos, o controle de contaminação interna faz-se mais facilmente por um programa de bioanálise dos excreta.

- Esse programa de bioanálise estender-se-á a outros elementos como tório, iôdo-131, plutônio, polônio-210, etc., igualmente importantes como contaminantes internos.

S U M M A R Y

Methods for the determination of natural uranium and tritium in urine were developed.

The technique of fluorimetry in solid state was adopted for the analysis of uranium. The sensitivity was $5 \cdot 10^{-4} \mu\text{g. U}/0,1, \text{ml}$ and the precision obtained was about 10% at the concentration of $0,05 \mu\text{g. U}/0,1, \text{ml}$.

0.5 mg/l

For the determination of tritium, the method of liquid scintillation was utilised. The method could determine less than $8 \cdot 10^{-3} \mu\text{Ci}^3\text{H} / \text{l}$ and the error at the concentration level of $0,34 \mu\text{Ci}^3\text{H}/\text{l}$ was 4%.

After the techniques were developed, these were applied to the urine samples of workers exposed to uranium or tritium, to check for the possible internal contamination with these radioisotopes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. ABRÃO, A. & FRANÇA JR., J.M. Usina piloto de purificação de urânio por troca iônica em funcionamento no Instituto de Energia Atômica. São Paulo, Instituto de Energia Atômica, ago. 1970. (IEA-219).
2. ADAMS, J.A.S. & MAECK, W.J. Fluorimetric and colorimetric micro determination of uranium in rocks and minerals. Analyt. Chem., Easton, Pa., 26:1635-9, 1954.
3. ALEXANDER, R.E. Applications of bioassay of uranium: appendix F. Washington, D.C., USAEC Directorate of Regulatory Standards, June 1974. (WASH-1251).
4. BENNELICK, E.J. A review of the toxicology and potential hazards of natural, depleted and enriched uranium. Harwell, Barks, UKAEA, Authority Health and Safety Branch, Mar. 1966. (AHSB(RP) R 58).
5. BERNARD, S.R. & STRUXNESS, E.G. A study of the distribution and excretion of uranium in man: an interim report. Oak Ridge, Oak Ridge Lab., June 1957. (ORNL-2304).

* De acordo com as normas preconizadas pela ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

6. BOBAACK, H.W. & HEATHERTON, R.C. Bioassay aspects of a UF₆ fume release. Cincinnati, Ohio, National Lead Co. of Ohio, 1966. (NLCO-986).
7. BOND, V.P. Evaluation of potential hazards from tritium water. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Vienna. Proceedings of a symposium on environmental aspects of nuclear power stations, held in New York, 10-14 August 1970. Vienna, 1971 (CONF-700810). Paper 6.
8. BRIOT et alii. Surveillance radiotoxicologique des personnes exposées à la contamination par l'eau tritiée. Gif-sur-Yvette, Fr., CEA, Service de Documentation CEN, Saclay, nov. 1974. (CEA-R-4604).
9. BRÜCKING, D. et alii. Arbeitsbericht 1970 der Zentralabteilung Strahlenschutz. Jülich, Kernforschungsanlage, Sep. 1971. (JUL-787-ST).
10. BUTLER, F.E. Determination of tritium in water and urine liquid scintillation counting and rate-of-drift determination. Analyt. Chem., Easton, Pa., 33:409-14, 1961.
11. BUTLER, H.L. Observed effective half life of tritium at the Savannah River Plant. In: SAVANNAH RIVER PLANT, Aiken, S.C. Papers presented at the eight annual meeting on bio-assay and analytical chemistry, October 18, and 19, 1962, Augusta, Georgia, Aiken, S.C., Du Pont de Nemours [s.d.]. (DP-831). p.38-45.
12. _____ & LEROY, J.H. Observation of biological half-life of tritium. High Phys., Oxford, 11:283-5, 1965.
13. BUTTERWORTH, A. Human data on uranium exposure. In: UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION, Health and Safety Laboratory, New York. Symposium on occupational health experience and practices in the uranium industry, held in New York City, October 15-17, 1958. New York, Sep. 1959. (HASL-58). p.41-6.
14. _____. The significance and value of uranium in urine analy

sis. Trans. Ass. ind. med. Offrs, London, 5(2):36-46, 1955.

15. CAHILL, D.F. & YUILE, C.L. Tritium: some effects of continuous exposure in utero on mammalian development. Radiat. Res., New York, 44: 727-37, 1970.
16. CAMPBELL, E.E.; McINROY, J.F. & SCHULTE, H.F. Uranium in the tissue of occupationally exposed workers. Los Alamos, Los Alamos Scientific Lab., Apr. 1975. (LA-UR-75-1610).
17. CENTANNI, F.A.; ROSS, A.M. & DESESA, M.A. Fluorometric determination of uranium. Analyt. Chem., Easton, Pa., 28:1651-7, 1956.
18. CHALABREYSSE, J. Toxicologie de l'uranium naturel: essai d'evaluation de la contamination interne chez l'homme. Gif-sur-Yvette, Fr., CEA, Service Central de Documentation da CEA, Mars 1968. (CEA-R-3361).
19. COOKE, N. & HOLT, F.B. The solubility of some uranium compounds in simulated lung fluid. Hlth Phys., Oxford, 27:69-77, 1974.
20. CURRIE, L.A.; FRANCE, G.M. & MULLEN, P.A. Radiochemical determination of uranium of low activity. Hlth Phys., Oxford, 10:751-5, 1964.
21. DONAGHUE, J.K.; YSON E.D.; HISLOP, J.S.; LEACH, A.M. & SPOOR, N.L. Human exposure to natural uranium. Br. J. ind. Med., London, 29:81-9, 1972.
22. DUGGAN, M.J. The toxicity classification of Th-NAT and U-NAT. Hlth Phys., Oxford, 22:102-3, 1972.
23. EAKINS, J.D.; LALLY, A.E.; MORGAN, A. & SANDALLS, F.J. Analytical procedures used by the Bioassay Section at A.E.R.E., Harwell. Harwell, Berks, UKAEA, Atomic Energy Research Establishment, Research Group, Apr. 1968. (AERE-AM-103).
24. EVANS, A.G. New dose estimates from chronic tritium exposures. Hlth Phys., Oxford, 16:57-63, 1969..

25. EVE, I.S. Some suggested maximum permissible single intakes of uranium. Hlth Phys., Oxford, 10:773-6, 1964.
26. EVERETT, R.J. et alii. Chemical and radiochemical analytical procedures. Albuquerque, N. Mex., Sandia Corporation, Feb. 1964. (SC-4783(RR)).
27. FEINENDEGEN, L.E. Tritium-labeled molecules in biology and medicine. New York, Academic Press, 1967.
28. FISCHOFF, R.L. The relationship between and the importance of the dimensions of uranium particles dispersed in air and the excretion of uranium in the urine. Ind. Hyg. J., Chicago (Jan. Feb.): 26-33, 1965.
29. FLETCHER, M.H. A study of critical factors in direct fluorimetric determination of uranium. Bull- U.S. geol. Surv., Washington, D.C. (1006):51-68, 1955.
30. FLOH, B. & ABRÃO, A. The intake of uranium by fluorimetric technique for personal working at the Brazilian Uranium Purification Plant. [Relatório interno do Centro de Engenharia Química, do Instituto de Energia Atômica].
31. FLUORIMETRIC determination of uranium in urine. In: HARLEY, J.H. Manual of standard procedures. New York Operations Office, Sep. 1970. (NYO-4700, 3 ed).. p.E-U-01-01 - E-U-01-05.
32. FRANÇA JR., J.M. Estudo comparativo entre os rendimentos dos processos de purificação de urânio por troca iônica e por extração com solvente em colunas pulsadas, na preparação de urânio nuclearmente puro. São Paulo, Instituto de Energia Atômica, out. 1971. (IEA-249).
33. _____ . Unidade piloto de tetrafluoreto de urânio pelo processo de "leito móvel" em operação no IEA. São Paulo, Instituto de Energia Atômica, jan. 1975. (IEA-381).
34. FURST, M.; KALLMANN, H. & BROWN, F.H. Increasing fluorescence

efficiency of liquid-scintillation solutions. Nucleonics, New York, 13 (4): 58-60, 1955.

35. GALVANEK JR., P. & MORRISON JR, T.J. A new fluorimeter for the determination of uranium. Winchester, Mass., American Cyanamid Co., Raw Materials Development Lab., May 1954. (ACCO-47).
36. GOLDMAN, D.T. & ROESSER, J.R. Chart of nuclides. 9.ed.rev. Schenectady, N.Y., Knolls Atomic Power Lab., July 1966.
37. GRIMALDI, F.S. & LEVINE, H. The rapid fluorimetric determination of uranium in low-grade ores: a preliminary report. Washington, D.C., Geological Survey, Apr. 1948. (AECD-2824).
38. GUEST, R.J. & ZIMMERMAN, J.B. Determination of uranium in uranium concentrates: use of ethyl acetate. Analyt. Chem., Easton, Pa., 27:931-6, 1955.
39. HEATHERTON, R.C. & HUESING, J.A. A uranium refinery and metal plant mine programe and data. In: UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION, Health and Safety Laboratory, New York. Symposium on occupational health experience and practices in the uranium industry, held in New York City, October 15-17, 1958. New York, Sep. 1959. (HASL-58). p.69-76.
40. HEID, K.R.; WALSH, W.P. & HOUSTON, J.R. Uranium in man based on urinary excretion data. Richland, Wash., Battelle Pacific Northwest Labs, 1974. (BNWL-SA-5380).
41. HURSH J.B. Chemical methods for routine bioassay. Rochester, N. Y., University of Rochester, Nov. 1958. (AECU-4024).
42. IMPROVEMENT in natural uranium urinalysis. In: KNOLLS ATOMIC POWER LABORATORY, Schenectady, N.Y. Semiannual progress report of radiological development activities in health physics, July-December, 1956. Schenectady, N.Y., Apr. 1958. (KAPL-1887) p.47.
43. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Vienna. A basic toxicity

classification of radionuclides. Vienna, 1963. (Technical reports series, 15).

44. _____ . Radiological health and safety in mining and milling on nuclear materials: proceedings of a symposium ...in Vienna, 26.31 August 1963. Vienna, 1964, 2 v.
45. INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION, Sutton, UK. The assessment of internal contamination resulting from recurrent or prolonged uptakes: a report of Committee 4 ...Oxford, Pergamon, 1971. (ICRP publ. 10A).
46. _____ . Recommendations of the ICRP: report of Committee 11 on permissible dose for internal radiation, 1959. London, Pergamon, 1959. (ICRP publ. 2).
47. _____ . Recommendations of the ICRP as amended 1959 and revised 1962. London, Pergamon, 1964. (ICRP publ. 6) apud CHALA BREYSSE, J. Toxicologie de l'uranium naturel: essai d'évaluation de la contamination interne chez l'homme. Gif-sur-Yvette, Fr., CEA, Service Central de Documentation du CEA, Mars 1968. (CEA-R-3361).
48. _____ . Task Group on Lung Dynamics, Sutton, U.K. Deposition and retention models for internal dosimetry of the human respiratory tract. Health Phys., Oxford, 12:173-207, 1966.
49. IRANZO GONZALES, E. Los problemas de protección en las fábricas de uranio y sus compuestos. Energia nucl., Madrid, 7(25):42-59, 1963.
50. JACKSON, S. & TAYLOR, N.A. A survey of the methods used in the United Kingdom Atomic Energy Authority for the determination of radionuclides in urine. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Vienna. Assessment of radioactivity in man: proceedings of the symposium on ... at Heidelberg, 11-16 May 1964. Vienna, 1964. v.1, p.169-94.
51. JEANMARIE, L. & JAMMET, H. Analyses radiotoxicologiques urinaï

res. Annls Radiol., Paris, 2(9-10):703-22, 1959.

- ~~52.~~ JOHNSON, A.G. Tritium considerations associated with the operation of Cockcroft-Walton-type neutron generators. Berkeley, Calif., AEC, Division of Compliance, Apr. 1965. (CONF-650616 - 25).
- ~~53.~~ KENNEDY, R.H. The use of the paper column separation in the estimation of microgram quantities of uranium. Boston, Massachusetts Institute of Technology, Mineral Engineering Lab., June 1950. (AECD-3187).
- ~~54.~~ KORKISCH, J. & STEFFAN, I. Determining uranium in urine specimens after separation by anion exchange. [Transl. from Mikrochim. Acta (2):273-8, 1973] . Livermore, California Univ., Lawrence Radiation Lab., Sep. 1973. (UCRL-Trans-10709).
- ~~55.~~ LARA SAENZ, M.D. Toxicología del uranio natural: contribución al control de contaminación interna. Energia nucl., Madrid, 13(62):511-25, 1969.
- ~~56.~~ LIPPMANN, M.; ONG, L.D.Y. & Harris, W.B. The significance of urine excretion data. New York, USAEC, Health and Safety Laboratory, 1962. (HASL-120).
- ~~57.~~ LKB-PRODUKTER AB, Bromma, Sueden. LKB-WALLAC 81000 liquid scintillation counter: instruction manual. Turku, Finland, Aug.1973. p.1:6.
- ~~58.~~ LUESSENHOP, A.J.; GALLIMORE, J.C.; SWEET, W.H.; STRUXNESS, E.G. & ROBINSON, J. The toxicity in man of hexavalent uranium following intravenous administration. Am. J. Roentg., New York, 79:83-100, 1958.
- ~~59.~~ LUND, D.M. & RINDFLEISCH, J.A. Extraction-Fluorophotometric determination of uranium. In: CRAWFORD, J.M., ed. Analytical methods manual. 1. Methods used by the Remote and Service Analysis Laboratory. Idaho Falls, Idaho Chemical Programs-Operations, Oct. 1973. (ICP-1029). p.U-Fluor-1, 1-11.

60. MASON, H.G. & BURR JR, R.R., revs. Recommended bioassay procedures for uranium. In: HURSH, J.B., ed. Chemical methods for routine bioassay. Rochester, N.Y., Univ. Rochester, Nov. 1958. (AECU-4024). p.59-73.
61. MAYNARD, E.A. & DOWNS, W.L. Toxicology and pharmacology - Animal data. In: UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION, Health and Safety Laboratory, New York. Symposium on occupational health experience and practices in the uranium industry, held in New York City, October 15-17, 1958. New York, Sep. 1959. (HASL-58). p.30-3.
62. McEWAN, A.C. The critical organ for tritium gas. Hi th Phys., Oxford, 23:742-4, 1972.
63. MEYER, M.; OLIVEIRA, E.C.; SORDI, G.A.A. & ABRÃO, A. Health physics system scheme for the uranium purification plant. São Paulo, Instituto de Energia Atômica, fev. 1976. (IEA-400).
64. MILLIGAN, M.F. Fluorimetric determination of uranium in urine and air. In: HOOVER, R.L., ed. Proceedings of bio-assay and analytical chemistry meeting, October 6 and 7, 1955. Cincinnati, National Lead Co. of Ohio, Mar. 1956. (NLC0-595). p. 15-21.
65. MIROUZE, J.; MION, C.; FABRE, J. MAZAURY, E.; HENRY, P. & MERCIER, J. Utilization des méthodes d'épuration extra-renalé dans le traitement de la contamination par l'eau tritiée. CEA, CEN, Saclay, Mai 1970. (CEA-R-3974).
66. NEWMAN, W.F. Urinary uranium as a measure of exposure hazard. Int. Med. Surg., Chicago, 19 (4):185-91, 1950.
67. NICHOLS, E. & SLATTERY, M.K. J. Opt. Soc. Amer., 12, 449(1926) apud PRICE, G.R.; FERRETTI, R.J. & SCHWARTZ, S. Fluorophotometric determination of uranium. Analyt. Chem., Easton, Pa., 25 331, 1953.
68. OSBORNE, R.V. Permissible levels of tritium in man and the

environment. Radiat. Res., New York, 50:197-211, 1972.

69. PATTORET, A. Fluorimétrie. In: PASCAL, P. Nouveau traité de chimie minérale, v.15: Uranium et transuraniens. Paris, Masson, 1960. fasc.1, p.628-30.
70. PINSON, E.A. Water exchanges and barriers as studied by the use of hydrogen isotopes. Physiol. Rev., Baltimore, Md., 32:123-34, 1952.
71. _____ & LANGHAN, W.H. Physiology and toxicology of tritium in man. J. appl. Physiol., Washington, D.C., 10:108-26, 1957.
72. PRICE, G.R.; FERRETTI, R.J. & SCHWARTZ, S. Fluorophotometric determination of uranium. Analyt. Chem., Easton, Pa., 25:322-31, 1953.
73. QUASTEL, M.R.; TANIGUCHI, H.; OVERTON, T.R. & ABBAT, J.D. Excretion and retention by humans of chronically inhaled uranium dioxide. Hi th Phys., Oxford, 18: 233-44, 1970.
74. QUIGLEY, J.A.; HEATHERTON, R.C. & ZIEGLER, J.F. Studies of human exposure to uranium. In: UNITED STATES ATOMIC ENERGY COMMISSION, Health and Safety Laboratory, New York. Symposium on occupational health experience and practices in the uranium Industry, held in New York City, October 15-17, 1958. New York, Sep. 1959. (HASL-58). p.34-40.
75. RODDEN, C.J. Analytical chemistry of uranium. Analyt. Chem., Easton, Pa., 25:1598-601, 1953.
76. _____ & WARF, J.C. Uranium. In: RODDEN, C.J., ed. Analytical chemistry of the Manhattan Project. New York, McGraw-Hill, 1950. p.3-159.
77. SCHIEFERDECKER, H.; KÖNIG, L.A. & RITZ, H. Ergebnisse der Tritium-Inkorporationsüberwachung im Kernforschungszentrum Karlsruhe im Jahre 1974. Karlsruhe, Kernforschungszentrum, June 1975. (KFK-Ext-23/75-1).

78. SCHNEIDER, R.A. & HARMON, K.M. Fluorimetric determination of uranium. In: HANFORD ATOMIC PRODUCTS OPERATION, Richland, Wash. Analytical technical manual. Richland, Wash., Feb. 1961. (HW-53368). p.U. Fluorimeter, 1-21.
79. SCHOCH, J. Fluorometrische Uran-Bestimmung in Urin. Jülich. Kernforschungsanlage, Jan. 1965. (Aktivlabor 61.22/3-L; Laborbericht Nr. 19).
80. SCOTT, L.M. & WEST, C.M. An evaluation of U_3O_8 exposure with an estimate of systemic body burden. Hlth Phys., Oxford, 13: 21-6, 1967.
81. SILINI, G.; METALLI, P. & VULPIS, G. Radiotoxicity of tritium in mammals: critical analysis of the extrapolation to man of the results of tritium incorporation into animal tissues. Rome, It., Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, Centro di Studi Nucleari della Casaccia, 1973. (EUR-5033e).
82. SIRI, W. & EVERS, J. Tritium exchange in biological systems. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Vienna. Tritium in the physical and biological sciences: proceedings of the symposium on held in Vienna, 3-10 May 1961. Vienna, 1962. v.2, p.71-84.
83. SNYDER, W.S.; FISH, B.R.; BERNARD, S.R.; FORD, M.R. & MUIR, J. R. Urinary excretion of tritium following exposure of man to HTO - A two exponential model. Physics Med. Biol., London, 13:547-59, 1968.
84. SPRINGELL, P.H. Inadequacy of an external standard in correcting for quenching in liquid scintillation counting of tritiated water in biological material. Int. J. appl. Radiat. Isotopes, New York, 20:743-6, 1969.
85. TANNENBAUM, A. Toxicology of uranium. New York, McGraw-Hill, 1951.
86. TOUZET, R.E.; NOVELLO, E.P. & CLEIN, O.A. Método rápido pa

- ra la separación y determinación radiométrica de trazos de uranidos en orina. Buenos Aires, Comisión Nacional de Energía Nuclear, Gerencia de Protección Radiológica y Seguridad, nov. 1970.
87. VOEGTLIN, C. & HODGE, H.C. Pharmacology and toxicology of uranium compounds, pt. 1-3. New York, McGraw-Hill, 1949-53.
88. WELFORD, G.A.; MORSE, R.S. & ALERCIO, J.S. Urinary levels in non-exposed individuals. Ind. Hyg. J., Chicago, (Fev.):68-70, 1960.
89. WODKIEWICZ, L. Détermination fluorométrique de l'uranium dans l'urine [Trad. de Chem. anal., Polska, 5:985-92, 1960]. Gif-sur-Yvette, Fr., CEA, Centre d'Etudes Nucleaires de Saclay, nov. 1964. (CEA-tr-X-597).
90. WOODARD, H.Q. The biological effects of tritium. New York, USAEC, Health and Safety Laboratory, May 1970. (HASL-229).
91. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Geneva. Methods of radiochemical analysis. Geneva, 1966.
92. WYLIE, K.F.; BIGLER, W.A. & GROVE, G.R. Biological half-life of tritium. Hlth Phys., Oxford, 9:911-4, 1963.