

TRABAJO FINAL  
CARRERA DE ESPECIALIZACIÓN EN  
APLICACIONES TECNOLÓGICAS DE LA  
ENERGÍA NUCLEAR

**Calibración de Equipos de Centelleo Líquido en H-3  
y C-14 con Fines de Protección Radiológica en  
Personal Radiológicamente Expuesto en Centrales  
Nucleares de Agua Pesada. Asignación de Dosis de  
Ambos Radionucleídos a los Agentes Evaluados.**

**Autor: Facundo Lautaro Villavicencio.**

Director  
**Ing. Sebastián Poletti.**

Comisión Nacional de Energía Atómica  
Universidad Nacional de Cuyo – Instituto Balseiro  
Universidad de Buenos Aires – Facultad de Ingeniería

Diciembre 2019



# 1 ÍNDICE

2	RESUMEN .....	3
3	ABSTRACT .....	3
4	INTRODUCCIÓN .....	3
5	DESARROLLO .....	4
5.1	CONCENTRACIÓN DE TRITIO EN EL CUERPO .....	4
5.2	CARBONO 14 EN EL CUERPO .....	5
5.3	LA PARTÍCULA BETA Y LA PRODUCCIÓN DE FOTONES .....	5
5.4	MEDICIÓN DE RADIACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ISÓTOPOS .....	7
5.5	LA TÉCNICA DE CENTELLEO LÍQUIDO .....	7
5.5.1	El papel del solvente .....	7
5.5.2	El papel de los fósforos (centelladores) .....	8
5.5.3	EL CONTADOR DE CENTELLEO .....	9
5.5.4	INTERFERENCIAS: QUENCHING .....	13
5.5.5	tSIE y SIS .....	15
5.5.6	MÉTODOS PARA DETERMINAR EL CONTENIDO RADIATIVO DE LAS MUESTRAS 16	
6	MATERIALES Y MÉTODOS .....	18
6.1	PARTES DEL EQUIPO .....	18
6.1.1	CASSETTES DE MUESTRAS .....	18
6.1.2	INDICADORES DE PROTOCOLO .....	19
6.2	MATERIAL NECESARIO .....	19
6.3	METODOLOGÍA .....	20
6.3.1	REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE MEDICIÓN .....	20
6.3.2	REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN .....	21
7	RESULTADOS .....	23
7.1	MEDICIÓN DE MUESTRAS DE TRITIO Y CARBONO 14 .....	26
7.2	PIPETAS AUTOMÁTICAS .....	26
7.2.1	CALIBRACIÓN DE PIPETAS .....	26
7.2.2	ERRORES DE MEDICIÓN .....	27
7.2.3	CÁLCULO DEL ERROR SISTEMÁTICO (EXACTITUD) .....	27
7.2.4	CÁLCULO DEL ERROR ALEATORIO .....	27
8	DISCUSIÓN .....	30

9	CONCLUSIONES .....	31
10	REFERENCIAS.....	31
11	ANEXO I .....	33
11.1	SECUENCIA PARA LA REALIZACIÓN DEL PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN .....	33
11.2	SECUENCIA PARA LA REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE MEDICIÓN .....	38
11.3	ASOCIACIÓN DEL PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN A UN NÚMERO DE PROTOCOLO DETERMINADO .....	46

## 2 RESUMEN

La exposición a radiación interna en reactores de agua pesada presurizada (PHWR) representa aproximadamente el 20 ~ 40% de exposición total a la radiación; la mayor exposición a la radiación interna se atribuye al tritio. El carbono 14 no es un nucleído dominante en la exposición a la radiación de los trabajadores, pero es uno potencial para ser necesariamente monitoreado. El carbono 14 es un emisor beta de baja energía y pasa relativamente fácil al cuerpo de los trabajadores por inhalación, pues su forma química dominante es el dióxido de carbono radiactivo ( $^{14}\text{CO}_2$ ). La mayor parte del carbono inhalado es rápidamente exhalada del organismo del trabajador, pero una pequeña cantidad queda dentro y es excretada vía orina.

El objetivo de este trabajo es, previa calibración de un equipo de centelleo líquido, desarrollar un método para medir en forma simultánea el contenido de Tritio y el eventual de C-14 a cada muestra de orina que realiza un trabajador del Complejo Nuclear Atucha, y establecer un protocolo especial para lograr un conteo dual de ambos radionucleídos con mayor exactitud en orina de una persona en caso de ser necesario o para corroborar aquellas mediciones en la cuales se sospeche presencia del mismo. A partir de las mediciones de cuentas, se asignará la dosis interna a cada trabajador.

Palabras clave: centelleo líquido, conteo dual, tritio, carbono 14, asignación de dosis interna.

## 3 ABSTRACT

Internal radiation exposure at PHWRs accounts for approximately 20 ~ 40% of total radiation exposure; most internal radiation exposure is attributed to tritium. Carbon-14 is not a dominant nuclide in the radiation exposure of workers, but it is one potential nuclide to be necessarily monitored. Carbon-14 is a low energy beta emitter and passes relatively easily into the body of workers by inhalation because its dominant chemical form is radioactive carbon dioxide ( $^{14}\text{CO}_2$ ). Most inhaled carbon-14 is rapidly exhaled from the worker's body, but a small amount of carbon-14 remains inside the body and is excreted by urine.

The objective of this work is, prior calibration of a liquid scintillation device, to develop a method to simultaneously measure the content of Tritium and C-14 to every urine sample submitted by a worker at Atucha Nuclear Power Plant, and establish a special protocol to achieve the dual counting of both radionuclides with greater accuracy in a person's urine if necessary or to corroborate those measurements in which the presence of those nucleides is suspected. From the counting results, the internal dose will be assigned to each worker.

Keywords: Liquid Scintillation, Dual Counting, tritium, carbon-14, internal dose assignment.

## 4 INTRODUCCIÓN

El tritio, el isótopo radiactivo del hidrógeno, se produce como un subproducto de las reacciones nucleares en las centrales nucleares. En un reactor de agua pesada presurizada (PHWR) se genera actividad de tritio en los sistemas de transporte de calor y moderador debido a la activación de neutrones del deuterio en agua pesada utilizada en estos sistemas. El tritio, producido por las reacciones inducidas por neutrones en diferentes sistemas en el

reactor, se somete a múltiples procesos, como escape a través de fugas, almacenamiento, transferencia a ubicaciones externas, descomposición, evaporación y difusión y descarga a través de corrientes de desechos [1]. Por ello, los trabajadores que ingresan a áreas controladas por radiación tienen probabilidad de tener exposición interna por inhalación de tritio.

Además, en los PHWR, el carbono-14 generalmente es producido por irradiación del oxígeno presente como impurezas en el sistema del moderador mediante la reacción  $^{17}\text{O}(n, \alpha)^{14}\text{C}$ . Como la liberación de carbono 14 se lleva a cabo principalmente como dióxido de carbono ( $^{14}\text{CO}_2$ ), es fácilmente inhalado en el cuerpo de los trabajadores [2, 3, 4]. La mayor parte del carbono 14 inhalado se exhala rápidamente del cuerpo del trabajador, pero una pequeña cantidad permanece dentro de él y se excreta por la orina.

La evaluación de dosis interna para el tritio y el carbono 14 se realiza utilizando los resultados de la medición de ambos radionucleídos en muestras de orina de los trabajadores de la planta. Como el tritio y el carbono 14 son emisores beta de baja energía, para su detección se emplea la técnica de conteo por centelleo líquido (LSC), que es la detección de una radiación ionizante a través de la luz de centelleo producida en ciertas soluciones, y que permite la detección de radiaciones de baja energía evitando la autoabsorción en la muestra o problemas de interfaz.

En el presente trabajo se describe el método de evaluación de tritio y C-14 en muestras de orina, su medición y el cálculo de dosis por incorporación de ambos radionucleídos en operarios del Complejo Nuclear Atucha (CNA I-II).

## 5 DESARROLLO

### 5.1 CONCENTRACIÓN DE TRITIO EN EL CUERPO

El conocimiento de la distribución promedio de tritio en el tiempo y el espacio (en agua corporal y tejidos blandos) es un requisito previo para la dosimetría. Una vez dentro del cuerpo, el tritio se difunde libre y rápidamente a través de la membrana del tejido blando, equilibrándose en toda el agua corporal. El agua tritiada (HTO) se distribuye en el agua corporal intracelular y extracelular; en consecuencia, la retención de tritio en el cuerpo sigue la biocinética del agua corporal. La concentración en orina, algunas horas después de la exposición, se espera que sea igual que en otros fluidos corporales.

Para la evaluación de la dosis interna, es necesario asumir que las muestras de orina se envían cuando la concentración de tritio dentro del cuerpo ha alcanzado el equilibrio; es decir, que las muestras enviadas son representativas cuya concentración de tritio no difiere de la de las muestras de orina recogidas dentro de las próximas 24 horas u otros períodos especificados [3, 5] Según informes técnicos de la Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP), las empresas nucleares canadienses y los procedimientos estándar de la Corporación de Energía Hidroeléctrica y Nuclear de Corea (KHNP), el tritio dentro del cuerpo en general alcanza la concentración de equilibrio después de aproximadamente 2 horas de la incorporación [6.7.8]. Si las muestras de orina se envían antes de que la concentración de tritio dentro del cuerpo alcance el equilibrio, no pueden ser muestras representativas y cualquier evaluación de dosis

interna basada en los resultados de monitoreo de estas muestras es incorrecta. Por lo tanto, en centrales nucleares, los trabajadores deben presentar muestras de orina después del equilibrio después del trabajo de radiación. [6]

## **5.2 CARBONO 14 EN EL CUERPO**

La ICRP proporcionó información el sobre carbono-14 en su publicación número 10, indicando que el CO<sub>2</sub> inhalado permanece dentro del cuerpo por un período de retención de 0.4 días, y que el 30% del CO<sub>2</sub> inhalado se deposita en los huesos. En la publicación 30 de ICRP, se presentaron resultados que mostraron que el 99% del CO<sub>2</sub> inhalado exhibe dos comportamientos a corto plazo que tienen un período de retención de 5 o 60 minutos y que el 1% final de carbono-14 residual permanece dentro del cuerpo por aproximadamente 40 días. Este metabolismo del carbono se basa en resultados de pruebas en animales [9]

En Canadá, se llevaron a cabo experimentos para examinar la tasa de excreción de carbono-14 para voluntarios que inhalaban niveles bajos del radionucleído, y para quienes se conocía la densidad del <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> inhalado; estos experimentos se realizaron para estimar la exposición interna de trabajadores de centrales nucleares. Se descubrió que el radiocarbono excretado estaba presente como bicarbonato en la orina y que tenía períodos de retención de 0.4, 1.2 y 40 días, respectivamente [10,11,12,13].

Debido al semiperíodo biológico (aproximadamente 0,4 días) que presenta este radionucleído uno de los puntos críticos es la toma de muestras de orina. Es de suma importancia tomar las muestras lo más cerca posible de la fecha de incorporación por inhalación. Es muy importante definir los grupos críticos que puedan incorporar C-14 analizando las tareas a realizar sobre aquellos sistemas en los cuales se encuentre C-14. Luego hacer un seguimiento con muestreos de orina más frecuentes a cada persona del grupo crítico para tener exactitud de la actividad incorporada. Los factores dosimétricos utilizados para calcular la dosis por incorporación de C-14 varían de un día a otro y a su vez varían si la fecha de incorporación es conocida o si la misma es desconocida. Estos factores fueron extraídos de un programa de investigación realizado en Ontario Hydro, Canadá.

## **5.3 LA PARTÍCULA BETA Y LA PRODUCCIÓN DE FOTONES**

El decaimiento nuclear es un proceso altamente complejo que involucra hasta las leyes de la relatividad, entonces esta descripción naturalmente es una simplificación de la radiactividad.

En su forma más simple un elemento consiste de un núcleo, formado por protones y neutrones y en donde se encuentra la mayor parte de la masa, y electrones orbitando a su alrededor. Los protones tienen carga positiva, los neutrones tienen una masa aproximadamente igual pero son eléctricamente neutros, y los electrones tienen carga negativa y son mucho menos masivos, siendo su masa aproximadamente 2000 veces menos que la de los protones o neutrones. Generalmente, a medida que el peso atómico crece en la tabla periódica se da un desbalance entre el número de neutrones y protones, los primeros excediendo a estos últimos. Como resultado de este desbalance, el elemento se vuelve inestable y de cierta manera busca reorganizarse hacia la estabilidad. Este reacomodo representa un decaimiento o evento radiactivo y en él se libera energía en forma de radiación.

Para entender lo que sucede en un contador por centelleo líquido en el análisis de emisores beta es necesario entender la naturaleza del decaimiento beta.

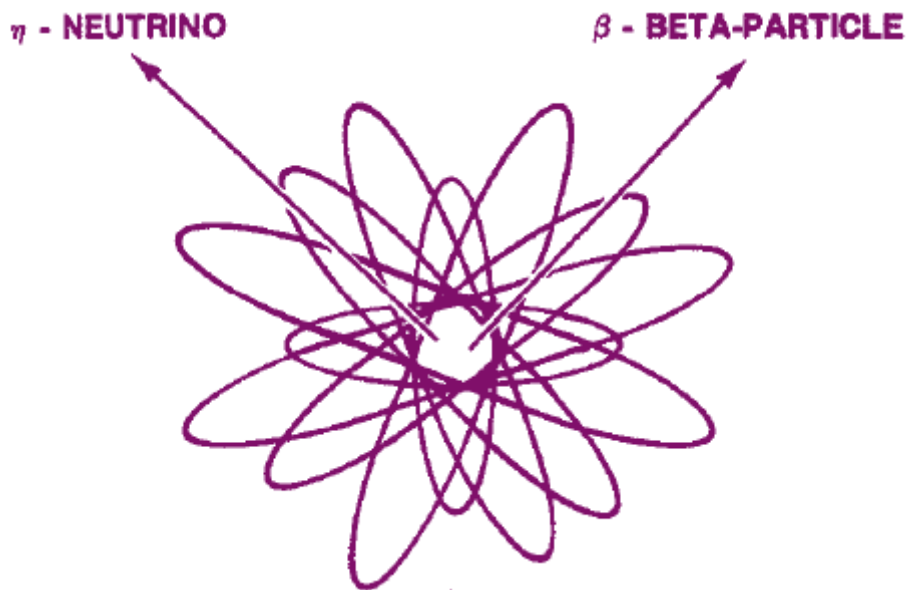


Fig.1. Decaimiento beta de un radionucleído.

Se considera el caso del carbono 14. Este es un isótopo radiactivo del carbono, químicamente igual que el carbono estable pero con un exceso de 2 neutrones (6 protones vs. 8 neutrones). El decaimiento resulta en la emisión de dos partículas, una partícula beta y un neutrino, y el carbono pasa a ser nitrógeno (fig. 2).

Las dos partículas son emitidas simultáneamente y llevan la energía de decaimiento del núcleo. Esta energía es característica del radionucleído y en el caso del carbono 14 es de 156 keV. El neutrino no es de importancia en el conteo por centelleo líquido y la energía de 156 keV es compartida al azar entre la partícula beta y el neutrino. Así, teóricamente, la partícula beta puede tener cualquier energía entre 0 y 156 keV.

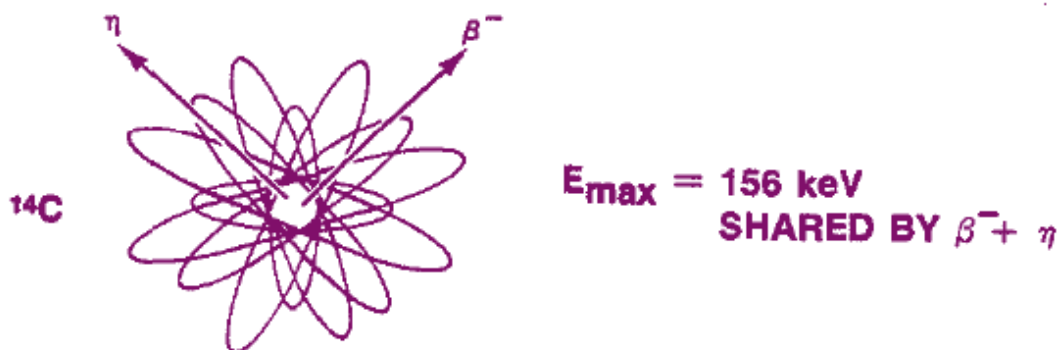


Fig.2. Decaimiento radiactivo del Carbono 14.



Dicha energía es cinética. Como cualquier masa en movimiento, la partícula beta disipa su energía por colisiones en el medio donde es liberada. En un líquido, que es un medio relativamente denso, la partícula beta viajará pequeñas distancias antes de que toda su energía cinética se disipe. La energía es absorbida por el medio en tres formas: calor, ionización y excitación de las moléculas de la solución, siendo esta última la forma de interés en la técnica de centelleo líquido.

## 5.4 MEDICIÓN DE RADIACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ISÓTOPOS

La mayoría de las aplicaciones de investigación de radioisótopos, en algún momento, requieren cuantificación del isótopo, que se realiza midiendo la intensidad de radiación emitida. La nomenclatura común expresa esta intensidad como desintegraciones por minuto (DPM). La unidad del SI para la radiación, el Becquerel (Bq), corresponde a 60 DPM (una desintegración por segundo). El curie, una medida aún vigente, es igual a  $3.7 \times 10^{10}$  Bq. Una medición verdaderamente precisa de DPM requeriría que detectar y contar cada evento de emisión, lo que no es posible en la mayoría de las situaciones. Además, los isótopos naturales y la radiación cósmica contribuyen con una radiación de "fondo" significativa. Correcciones para la eficiencia y el fondo son necesarias para convertir CPM, los conteos por minuto medidos, en DPM, el número de eventos de descomposición que realmente ocurrió. Se han desarrollado técnicas para aplicar estas correcciones, y una gran cantidad de investigación se ha llevado a cabo para mejorar la eficiencia del conteo, usando varios sistemas de detección.

## 5.5 LA TÉCNICA DE CENTELLEO LÍQUIDO

El conteo por centelleo líquido es hoy en día una de las técnicas más sensibles y usadas para la detección y cuantificación de la radiactividad. Esta es una técnica analítica que mide la actividad de radionucleídos a partir de la tasa de fotones emitidos por una muestra líquida, y es aplicable a todas las formas de decaimiento nuclear (emisiones alfa y beta, captura electrónica, y radionucleídos emisores gamma).

La técnica de centelleo líquido involucra la ubicación de la muestra en un contenedor plástico o de vidrio llamado vial de centelleo y la adición de una mezcla especial de componentes orgánicos llamada cóctel de centelleo.

Los cócteles de centelleo líquido absorben la energía emitida por los radioisótopos y la reemiten como destellos de luz. Para lograr estas dos acciones, absorción y reemisión, los cócteles contienen dos componentes básicos, el solvente y el (los) fósforo (s). El solvente lleva a cabo la mayor parte de la absorción de energía. Disuelto en el solvente, moléculas de fósforo convierten la energía absorbida en luz. Muchos cócteles contienen materiales adicionales para ampliar su rango de uso a diferentes muestras, pero el solvente y el fósforo proporcionan el centelleo de la mezcla.

### 5.5.1 El papel del solvente

El solvente en un cóctel para LSC comprende del 60 al 99% de la solución total. Cuando un radioisótopo disuelto en el cóctel se somete a un evento de emisión, es muy probable que la partícula o rayo encuentre solo moléculas solventes antes de gastar su energía. Por esta razón, el solvente debe actuar como un colector eficiente de energía, y debe conducir esa energía a las moléculas de fósforo en lugar de disipar dicha energía por algún otro mecanismo. El

solvente no debe interferir con el centelleo del fósforo y, finalmente, el solvente debe disolver el fósforo para producir una solución estable y que pueda ser medida.

Los compuestos orgánicos aromáticos han demostrado ser los mejores solventes para LSC. El solvente prototípico de LSC es el tolueno. La nube  $\pi$  del anillo de tolueno (o cualquier anillo aromático) proporciona un blanco para la interacción  $\beta$ , que captura la energía de la partícula incidente.

Esta energía capturada generalmente se pierde por transferencia a otra molécula solvente, ya que el tolueno tiene poca tendencia a emitir luz o someterse a otros modos de decaimiento alternativos. Por lo tanto, un paso de partículas  $\beta$  a través de una solución de tolueno deja una cantidad de moléculas de tolueno energizadas. La energía de estas moléculas pasa de un lado a otro entre los sistemas de anillos solventes, lo que permite una captura eficiente por fósforos disueltos. (Fig.4).

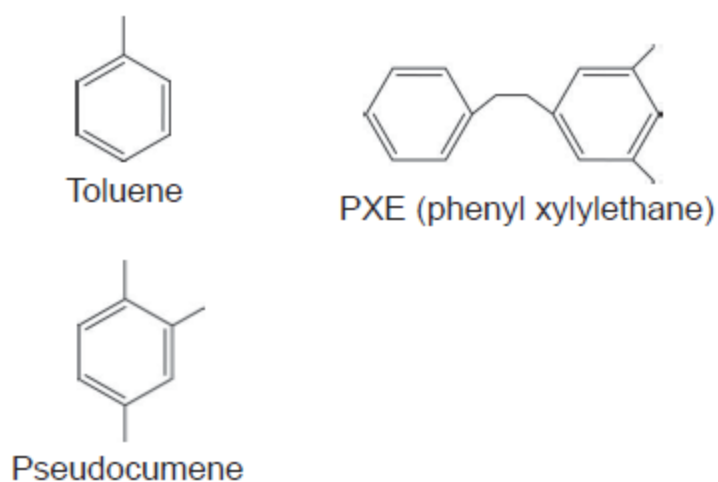


Fig.3. Solventes empleados en cócteles de centelleo líquido. Estos poseen anillos aromáticos que absorben la energía de la radiación incidente.

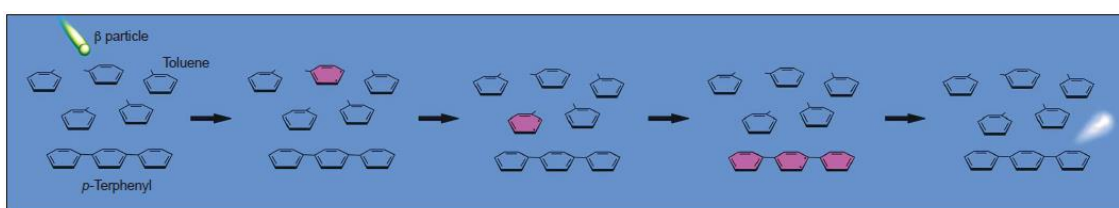


Fig.4. Las moléculas de solvente en un cóctel de centelleo absorben una porción de la energía de una partícula beta. La energía pasa entre las moléculas de solvente hasta que la energía alcanza a un fósforo, que absorbe la energía y la reemite como luz.

### 5.5.2 El papel de los fósforos (centelladores)

Los fósforos se dividen ampliamente en dos clases: primarios y secundarios. Incluidos en 0.3-1% del volumen de la solución, los centelleadores primarios proporcionan la conversión de energía capturada en emisión de luz. Los centelleadores primarios deben ser capaces de ser excitados a un estado emisor de luz por moléculas solventes excitadas, y deben ser solubles en el solvente a una concentración suficiente para dar una captura de energía eficiente.

Un centelleador secundario captura la energía de fluorescencia del centelleador primario excitado, y lo vuelve a emitir como una señal de longitud de onda más larga. Los centelleadores secundarios mejoran la eficiencia en muchos casos y todavía se incluyen en la mayoría de los cócteles.

La muestra radiactiva es puesta en el cóctel de centelleo y mezclada hasta formar una solución homogénea.

En resumen, la interacción de la radiación con las moléculas del solvente del cóctel de centelleo (las cuales están en la mayor concentración en la mezcla) transfiere la energía liberada en el proceso de desintegración nuclear. El resultado es la formación de moléculas de solvente orgánico activadas, las cuales transfieren su energía al centelleador. Este acepta esa energía y produce moléculas de centelleador activadas las cuales rápidamente pierden su energía y vuelven a su estado original por el mecanismo de fluorescencia.

La energía es liberada como "flashes" de luz en una longitud de onda entre 375 a 480 nm para cada evento radiactivo que ocurra en el cóctel de centelleo.

La intensidad del flash es directamente proporcional a la energía nuclear original disipada en el cóctel: cuanto mayor es la energía, más brillante es el flash.

Un ejemplo de esto último podría hacerse comparando el tritio que tiene una energía de 18,6 KeV (baja energía) con el Sr 89 (1500 KeV), en donde en el segundo se producirán flashes 100 veces más brillantes.

De esta manera la intensidad de luz emitida por el centelleador refleja la energía de la desintegración radiactiva y el número de flashes producidos es proporcional a la actividad de la muestra.

### **5.5.3 EL CONTADOR DE CENTELLEO**

Una muestra de centelleo líquido consta de una vial que contiene un radionucleído y una mezcla de centelleo. Como se vio anteriormente cuando un átomo radiactivo decae en la muestra, las moléculas del centelleador se excitan y rápidamente regresan al estado fundamental emitiendo el exceso de energía en forma de fotones. Considerando el ejemplo del carbono 14, con una partícula beta de 156 keV se emitirán alrededor de 1000 fotones pues se requieren aproximadamente 150 eV para producir un fotón.

Para detectar el fotón emitido de manera eficiente, se necesita un dispositivo fotosensible para amplificar la luz y traducir los fotones detectados en una forma fácil de trabajar. Este dispositivo se conoce como tubo fotomultiplicador o fototubo (fig.5).

La cara interior de un fototubo se cubre uniformemente con un material fotosensible que tiene la propiedad de convertir la luz absorbida en energía eléctrica por la emisión de fotoelectrones. Los electrones se ven atraídos por un electrodo dentro del tubo en el cual se aplica un potencial positivo y el resultado es la producción de más electrones. Estos electrones son atraídos a un segundo electrodo donde un proceso similar tiene lugar.

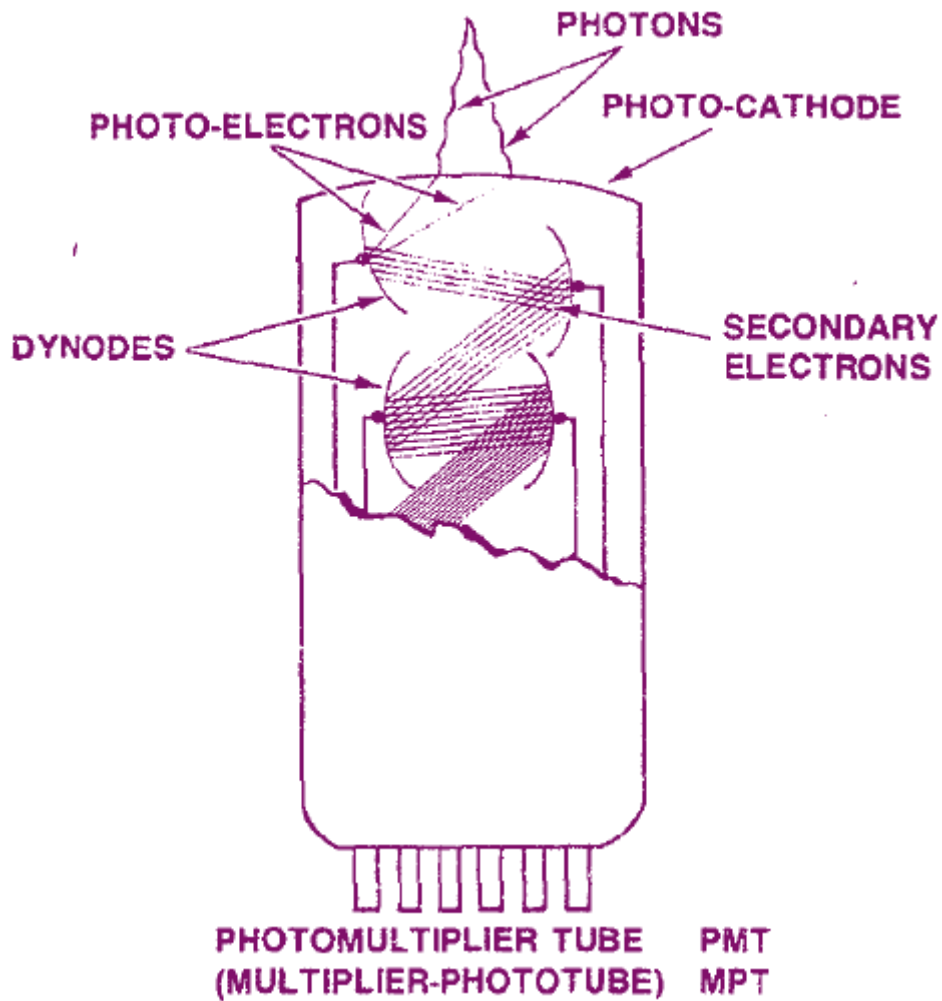


Fig.5. Esquema de un fototubo.

El tubo consiste de un número de electrodos (usualmente de 11 a 13). El pasaje de electrones secundarios con una amplificación en cada electrodo produce una cascada de electrones al final del electrodo. Esto crea un pulso eléctrico, representativo de los fotones emitidos. El tubo fotomultiplicador es un dispositivo lineal, entonces la amplitud del pulso es directamente proporcional al número de fotones detectados por el fotocátodo. Registrando cada pulso durante el tiempo de la medición es un indicativo del número de eventos de centelleo ocurriendo en ese tiempo. (Fig.6).

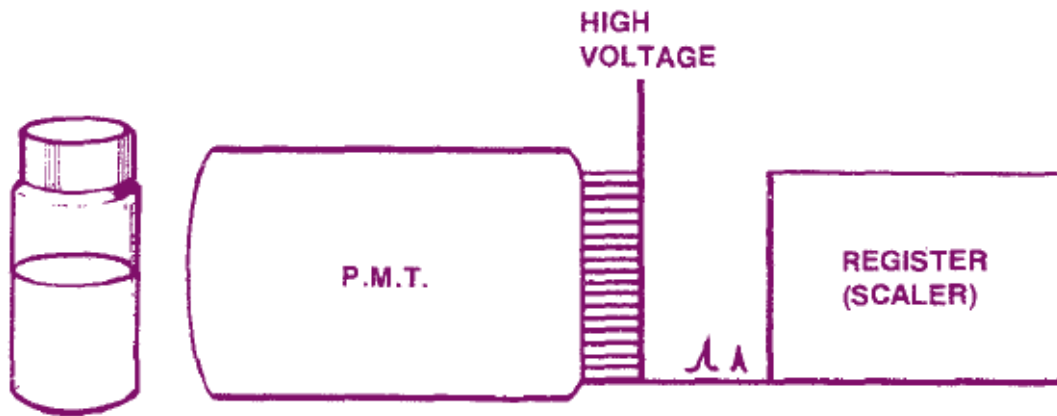


Fig.6. Sistema de centelleo líquido simplificado.

En términos del conteo por centelleo líquido, todos los eventos del decaimiento radiactivo son eventos multifotónicos. El contador de centelleo aprovecha esto y usa dos tubos fotomultiplicadores para separar los decaimientos nucleares reales de los eventos que no se corresponden con decaimientos, fig.7. Por ejemplo, cuando un evento nuclear produce 1000 fotones, en promedio, cada fototubo “verá” la mitad de ellos. Cuando se produce el primer fotoelectrón por estos fotones en uno de los tubos fotomultiplicadores, la señal resultante abre una compuerta electrónica en el circuito de coincidencias que permanece abierto por aproximadamente 20 nanosegundos. Si, durante este tiempo, otra señal viene del otro fototubo, la señal se transmite como una señal legítima debida a un decaimiento nuclear.

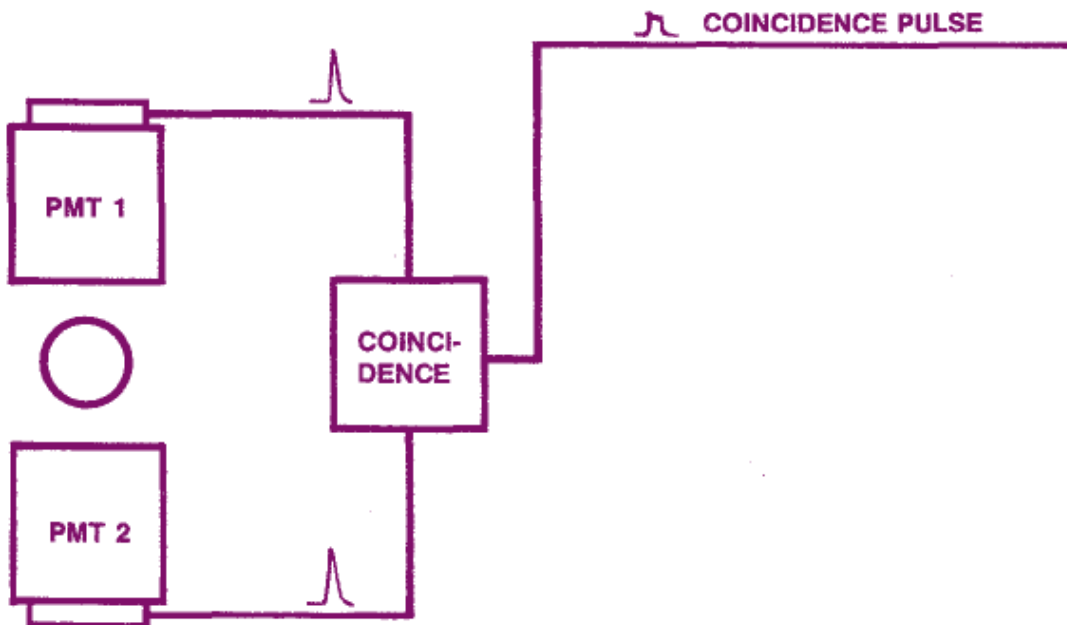


Fig.7. Circuito de coincidencias.

En otras palabras, el contador solo reconocerá eventos coincidentes para el procesamiento. El circuito de coincidencias evita que la mayoría de los eventos de fotón único se transmitan para el análisis. Estos eventos no nucleares incluyen reacciones químicas que generan

quimioluminiscencia y/o fotoluminiscencia en la muestra, descarga de electricidad estática desde el vial de la muestra durante días secos y ruido eléctrico que se origina desde el interior de los tubos fotomultiplicadores. Una vez que una señal legítima se transmite por el circuito de coincidencia y se digitaliza, se almacena como una cuenta en un analizador multicanal de 4000 canales. Un diagrama simplificado de un contador con un analizador multicanal se muestra en la fig.8. Un resultado típico almacenado en el analizador multicanal luego de contar un emisor beta se muestra en la fig.9. En esta figura, cada columna sobre el eje horizontal representa un dado nivel de energía. El nivel de energía se incrementa secuencialmente desde cero a 2000 keV. El máximo de 2000 keV incluye todos los radionucleídos comúnmente ensayados por conteo por centelleo líquido. Como hay 4000 canales, cada canal equivale a 0,5 keV. Cada canal del analizador de espectros registra el número total de cuentas acumulado en ese particular nivel de energía. Si la fig.9 fuera el resultado de contar carbono 14, entonces todas las cuentas estarían almacenadas entre los canales 0 y 312, pues la energía máxima de ese radionucleído es 156 keV. Por lo tanto, si se quiere el número total de cuentas en una muestra de carbono 14, se tendría que sumar todas las cuentas almacenadas entre los canales 0 y 312, constituyendo esto una región de conteo.

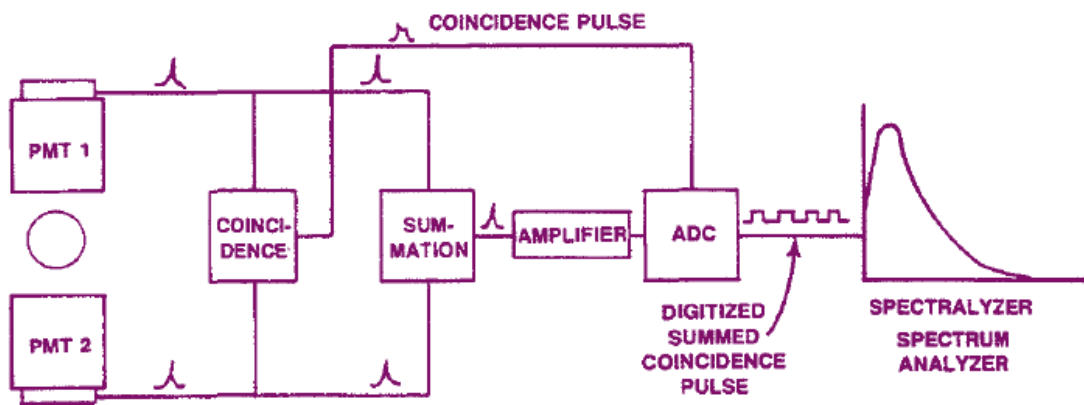


Fig.8. Sistema de conteo simplificado.

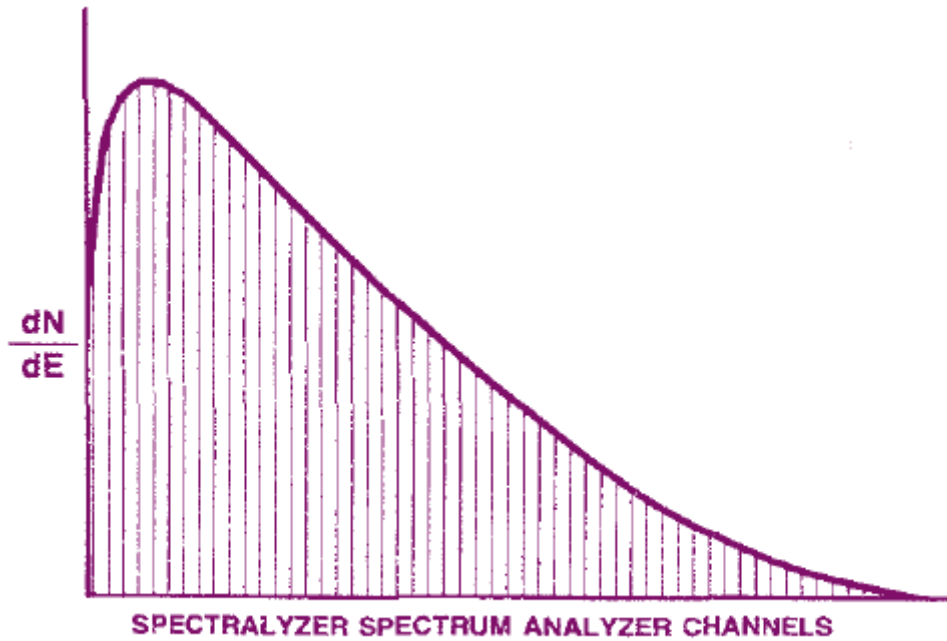


Fig.9. Espectro beta de una muestra.

#### 5.5.4 INTERFERENCIAS: QUENCHING

Usando los espectros de muestras, el sistema de LSC puede realizar diversos cálculos de corrección de recuento y determinar conteos por minuto (CPM) para cada muestra. Para calcular desintegraciones por minuto (DPM), el instrumento determinará la eficiencia de conteo de cada muestra. Usando una curva de extinción (quench), el instrumento calcula el índice de extinción para las muestras a partir de la relación con un estándar externo, y obtiene la eficiencia para dicha muestra y posteriormente calcular las DPM para las muestras desconocidas. La fig. 10 proporciona una visión general de este proceso.

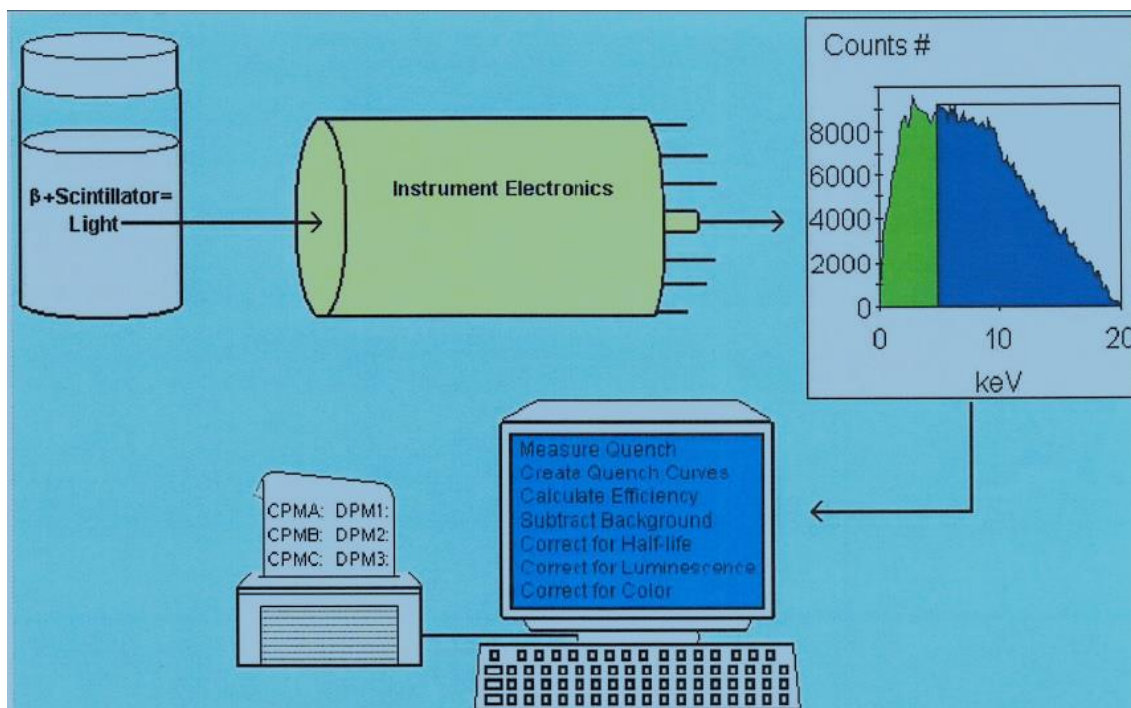


Fig.10. Esquema del proceso de conteo de una muestra desconocida mediante la técnica de centelleo líquido.

Se entiende por quenching a la reducción en la cantidad de luz emitida y, por lo tanto, la atenuación de las alturas de los pulsos, lo que causa una reducción importante en la eficiencia de conteo. Se produce quenching por presencia de impurezas en la solución centelladora, las cuales inhiben la transferencia de energía (quenching químico) o por color en la muestra que absorbe la luz emitida (quenching de color). Esto se ilustra en la fig.11.

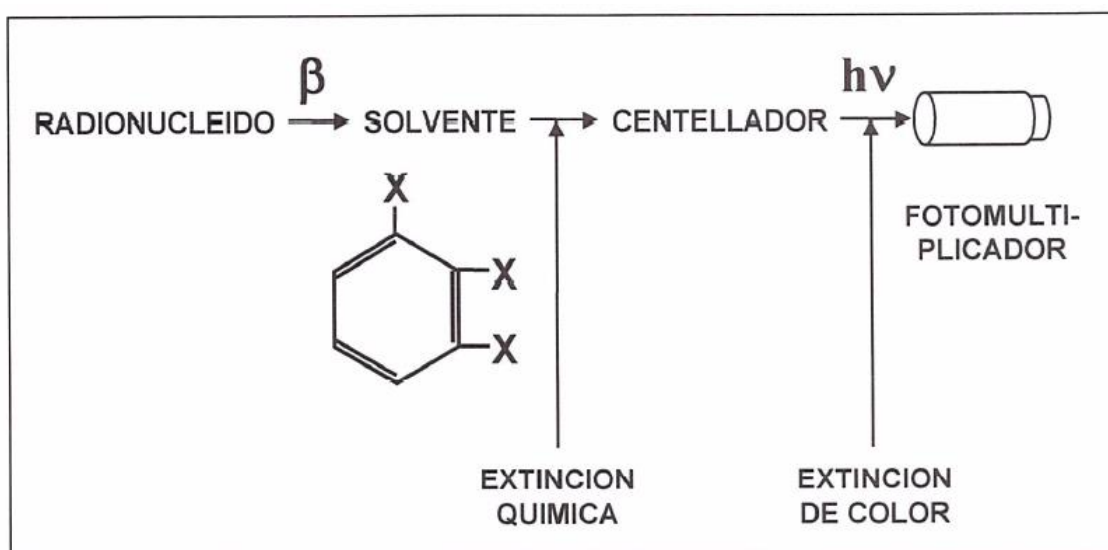


Fig.11. El quenching químico y el de color pueden impedir que la energía de un evento radiactivo llegue al tubo fotomultiplicador.

Los componentes coloreados, particularmente aquellos que son amarillos en solución, interfieren absorbiendo la luz emitida, produciendo quenching de color, y los componentes



tales como el tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) interfieren tanto en la transferencia de energía del solvente al centellador como en la emisión de luz por el mismo.

Dado que la mayoría de las muestras producen quenching en distintos grados, especialmente a altas concentraciones, la eficiencia de medición puede variar de una muestra a otra. Es importante estimar la eficiencia de medición en cada muestra. Esto se logra generalmente, mediante el método de relación de canales (SIS), el método de estándar interno o el de la relación de estándar externo (tSIE).

#### 5.5.5 tSIE y SIS

Ambos son definidos como parámetros indicadores del grado de extinción de la muestra. Como se mencionó anteriormente, son obtenidos a través de diferentes métodos. Mediante fórmulas matemáticas se obtendrán en ambos casos, valores que definirán el grado de extinción de la muestra.

-SIS (índice Espectral de la Muestra-Spectral Index Sample): básicamente el SIS utiliza la interacción entre la actividad de la muestra y el centellador para determinar el quenching. Este parámetro es calculado desde la altura media del pulso en keV del espectro de la muestra. Si hubiera más nucleídos, este parámetro realiza una aproximación utilizando el punto final del radionucleído sin quenchar.

Este parámetro es independiente del tipo de cóctel, es independiente de la tasa de conteo y sirve para la identificación de espectros. Su principal desventaja es que es dependiente del conteo total, lo cual hace que para muestras de poca actividad haya que contar tiempos muy largos, ya que la precisión estadística está limitada por la precisión del total de cuentas acumuladas.

-tSIE (Índice Espectral Transformado de un Estándar Externo-Transformed Spectral Index of the External Standard): es la interacción entre la actividad de un patrón externo de Ba-133 (fuente gamma de alta energía) y el centellador en el vial de la muestra. El espectro Compton que se obtiene es transformado matemáticamente. Es independiente del isótopo y es una función de la calidad o nivel de extinción del centellador.

Otra ventaja que este parámetro tiene sobre el SIS, es que es independiente del conteo de la muestra, pero depende del número de cuentas creado por la fuente gamma externa y los resultantes electrones Compton con el centellador.

Curvas de extinción preparadas con el método del estándar externo proveen valores en DPM que son independientes del volumen de muestra, tamaño del vial y material del vial y es el único método que puede ser usado para una medición cuantitativa de muestras que contienen varios radionucleídos.

En los equipos del laboratorio, las calibraciones se llevan a cabo utilizando el método tSIE. Valores más bajos de tSIE significan mayor grado de quenching de la muestra.

### 5.5.6 MÉTODOS PARA DETERMINAR EL CONTENIDO RADIACTIVO DE LAS MUESTRAS

El objetivo de cualquier procedimiento de conteo es determinar el contenido radiactivo de la muestra en cuestión. Cuando se prepara y se cuenta una muestra, el contador determina la tasa de cuentas en término de las cuentas recibidas por minuto, cpm, el cual es un valor relativo. Lo que se debería hacer con los datos del conteo es convertir la tasa relativa en un valor absoluto, desintegraciones por minuto, dpm. La relación entre cpm y dpm está dada por:

$$dpm = \frac{cpm}{\text{eficiencia de conteo}}$$

La eficiencia de medición de un contador de centelleo líquido está determinada por varios factores, tales como la energía del radionucleído, la temperatura, la preparación de la muestra, el quenching, etc. El grado de quenching puede variar de una muestra a otra, por lo cual se debe determinar la eficiencia de medición para cada muestra.

En el conteo por centelleo líquido, los términos quenching y eficiencia de conteo son sinónimos. Cualquier reducción en la emisión de fotones resulta en una pérdida de la eficiencia de conteo y un corrimiento del espectro beta a la izquierda (fig.12).

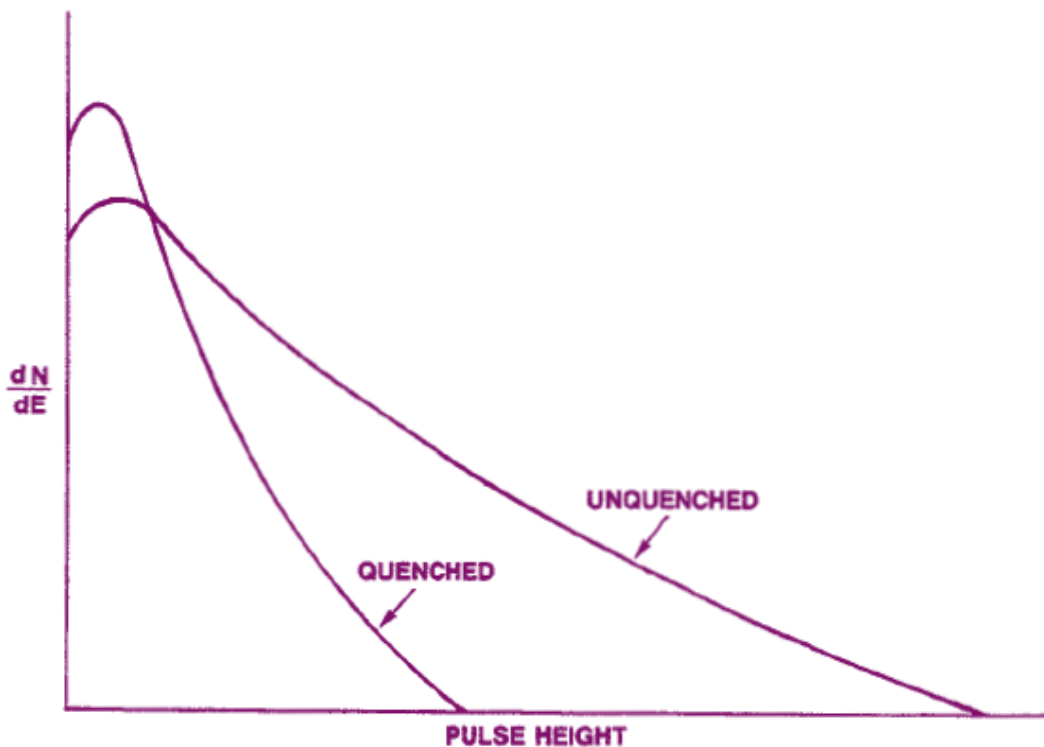


Fig.12. Ejemplo del fenómeno de quenching.

Básicamente, los métodos para determinar la eficiencia de conteo caen en tres categorías

- El método del estándar interno.
- Métodos dependientes del contenido radiactivo de la muestra.
- Métodos dependientes del uso de un estándar externo.

#### **5.5.6.1 MÉTODO DEL ESTÁNDAR INTERNO**

Este es un método clásico y el más confiable en la determinación de eficiencias. En este procedimiento, primero se cuenta la muestra. Luego una cantidad conocida de estándar radiactivo sin quenchar del mismo radionucleído se añade y se vuelve a contar la muestra. Las cuentas adicionales debidas al estándar agregado se usan para calcular la eficiencia de conteo.

#### **5.5.6.2 MÉTODOS QUE USAN EL CONTENIDO RADIATIVO DE LA MUESTRA**

Este método usa la distribución de cuentas sobre el eje de energías para monitorear el quenching. Por ejemplo, pesando cada pulso por su energía, el pulso medio del espectro para cualquier muestra puede ser determinado. Este pulso medio, llamado el índice espectral de la muestra (SIS), se correlaciona con la eficiencia de conteo o quenching.

#### **5.5.6.3 MÉTODOS QUE USAN UN ESTÁNDAR EXTERNO**

Estos métodos se basan en el hecho que cuando el vial de la muestra y la solución son irradiados por una fuente gamma, se producen electrones Compton dentro de la muestra. La premisa básica es que estos electrones se comportan como partículas beta emitidas por la fuente radiactiva en solución y cualquier quencheo presente en la muestra resulta en un quencheo proporcional de los electrones Compton. El número de electrones Compton producido se relaciona con la intensidad de fuente gamma, la cual se ajusta para producir un número estadísticamente significativo dentro de un período adicional de tiempo de conteo. Las ventajas de este método son: su independencia de la actividad de la muestra, la automatización, confiabilidad, exactitud, velocidad y su aplicación al análisis simultáneo de varios radionucleídos.

El contador por centelleo líquido usado en este trabajo emplea una fuente gamma de Ba-133 y la corrección del quenching se hace en términos del parámetro tSIE. La fuente produce electrones Compton con una energía máxima de 207 keV.

## 6 MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 PARTES DEL EQUIPO

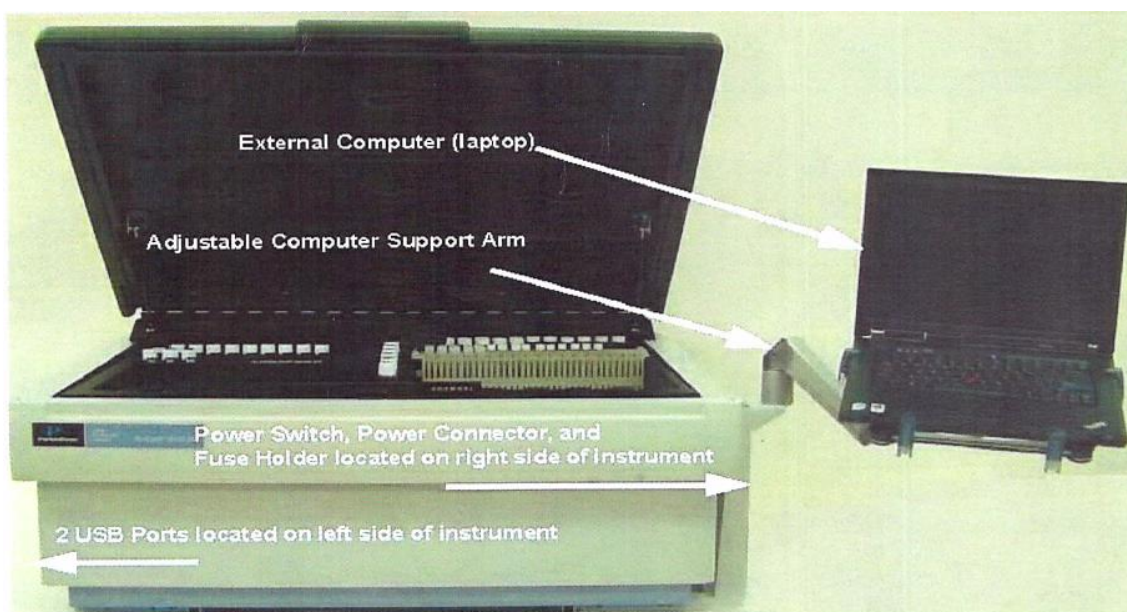


Fig.13. Frente del equipo de centelleo líquido.

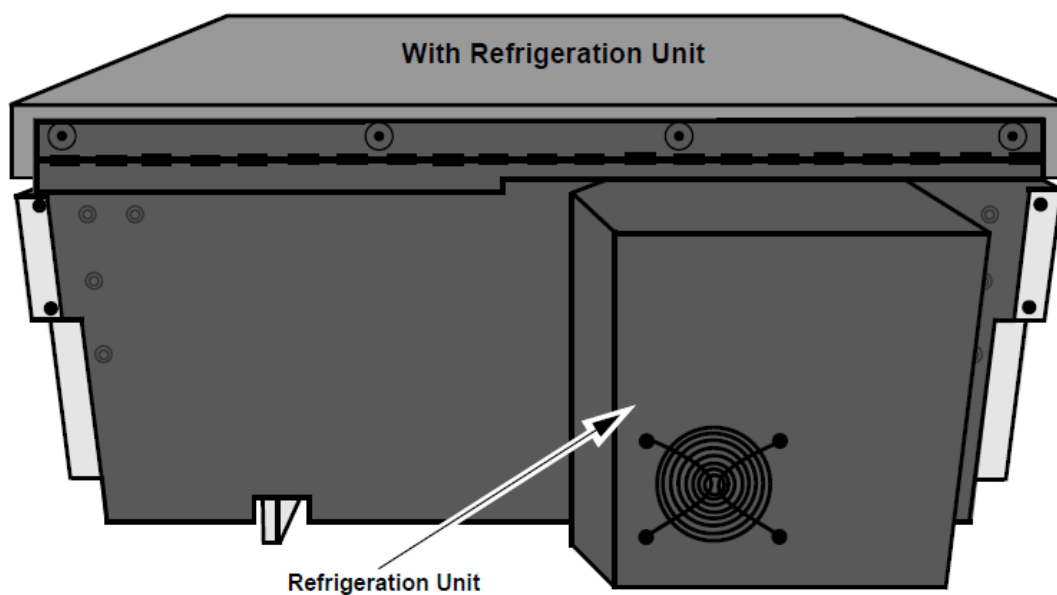


Fig.14. Cara posterior del equipo.

#### 6.1.1 CASSETTES DE MUESTRAS

Los cassettes son los bastidores de plástico que sostienen los viales con las muestras y permiten moverlos en la plataforma del cambiador de muestras. El cassette estándar tiene capacidad de hasta 12 viales de 15-20 mL. Un indicador de protocolo, que el usuario adjunta al cassette,

identifica el protocolo y las condiciones del ensayo que se haya definido para usar con las muestras. Los cassettes individuales se identifican con números únicos (ID de cassettes) situados en el extremo de cada cassette. El indicador de protocolo y el ID son leídos en forma automática por el equipo.

### 6.1.2 INDICADORES DE PROTOCOLO

Los indicadores de protocolo son dispositivos de plástico, numerados, que contienen un metal reflectante codificado, que el instrumento usa para identificar los parámetros apropiados de conteo del ensayo para un conjunto de muestras. Los parámetros de conteo que el instrumento usa corresponden a los parámetros que el usuario define durante el proceso de definición del ensayo. Estos parámetros de ensayo se convierten en parte funcional de un protocolo una vez que el usuario asocia el ensayo con un número de protocolo.

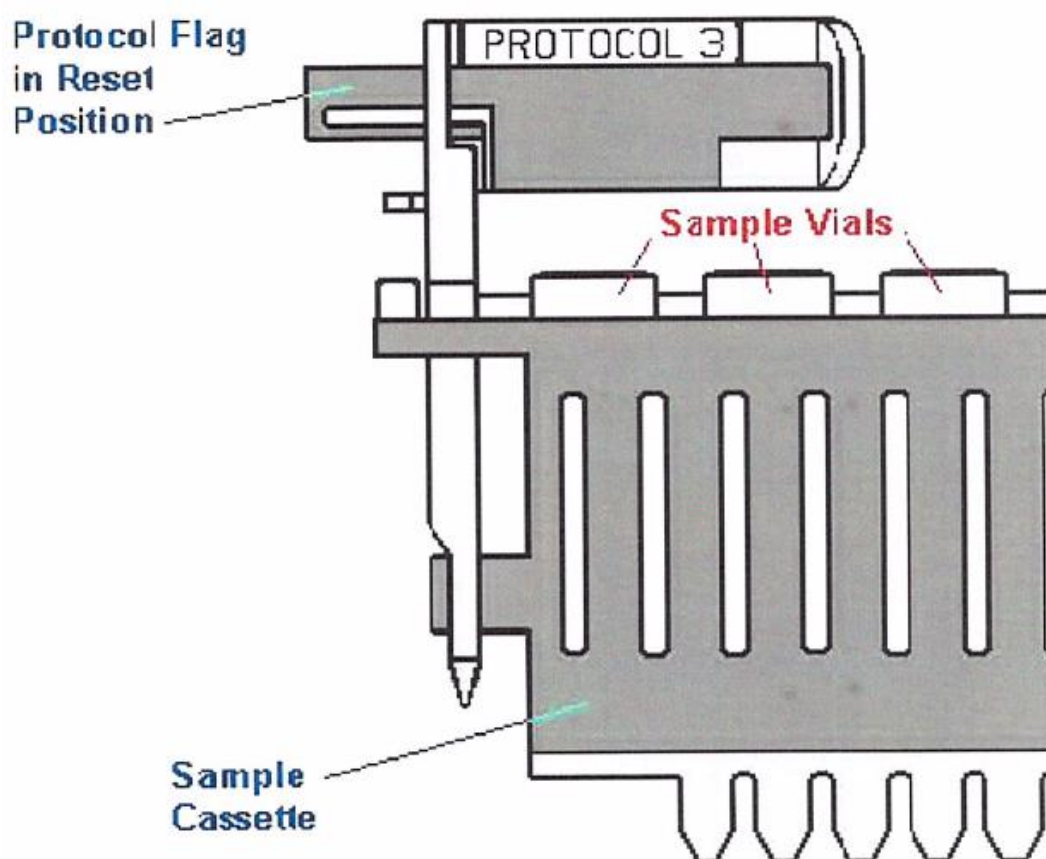


Fig.15. Cassette de muestras con viales.

## 6.2 MATERIAL NECESARIO

- Equipo analizador de centelleo líquido TriCarb modelo 2910.
- Cassettes de muestras.
- Recipientes de medición (viales): son de propileno y poseen características transparentes a la radiación emitida por los centelladores. Luego de cada medición, se vacía el contenido del vial en una bacha, se enjuaga el mismo para ser luego reutilizado.
- Computadora asociada al equipo.

- Pipeta automática variable de entre 100µL a 1000µL marca Eppendorf.
- Centellador: tanto para la medición de tritio como para la de carbono se usa el líquido Ultima Gold (UG).
- Estándares de H-3 y C-14 fabricados por autoridad de la ARN, empleados en la fabricación de la curva de calibración dual y en la preparación de muestras.

## 6.3 METODOLOGÍA

### 6.3.1 REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE MEDICIÓN

#### 6.3.1.1 IPA/SNC

Antes de contar las muestras, se debe normalizar y calibrar el sistema (Auto Normalización y Calibración-SNC) y evaluar el desempeño del instrumento (IPA Instrument Performance Evaluation). El protocolo SNC/IPA requiere un indicador especial de protocolo y carga de cassette (que contiene el estándar de calibración de carbono-14, estándar de tritio sin quenchar y el fondo estándar [fig.16]).

El tritio y el carbono 14 cumplen la función para el cálculo de la eficiencia del sistema. El estándar blanco se utiliza para la determinación del fondo del sistema y posibles contaminaciones.

Con los valores de eficiencia y fondo, el sistema determina la relación  $E^2/B$  o figura de mérito (FOM) que representa un parámetro específico de la sensibilidad del sistema de detección.

Todos los valores puntuales obtenidos en las diferentes calibraciones, son graficados internamente y ploteados a requerimiento de los usuarios para visualizar el comportamiento temporal del sistema.

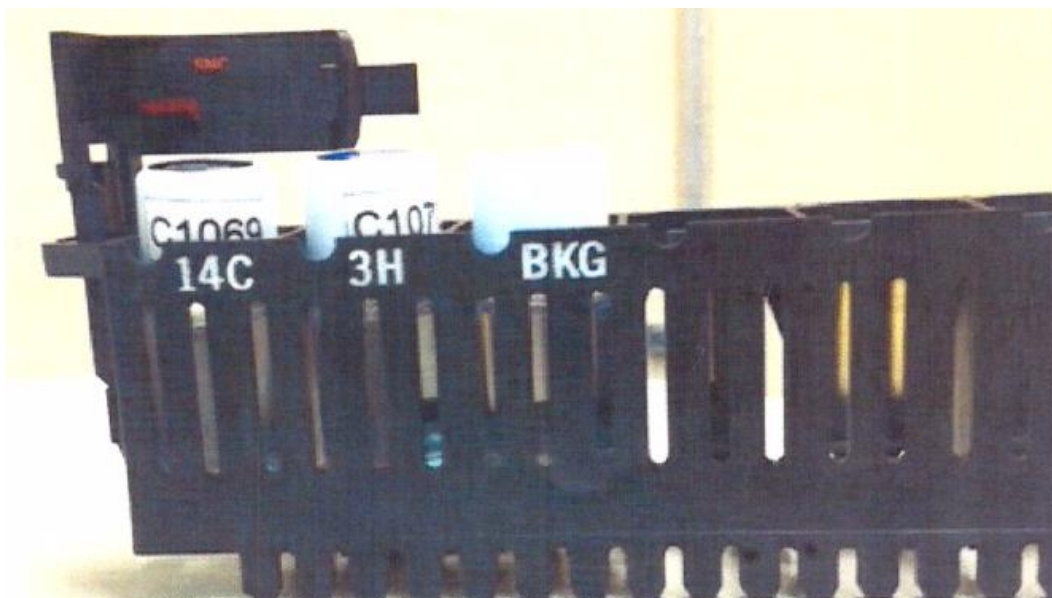


Fig.16. Set de viales empleados en el protocolo inicial SNC/IPA.

La normalización y calibración SNC está diseñada para asegurar que el instrumento cuantifique con precisión la energía de todas las emisiones de partículas beta.

Durante la Evaluación de Desempeño del Instrumento (IPA), el instrumento mide fondo, contando eficiencia, sensibilidad, y la reproducibilidad de recuento de la muestra.

Durante el proceso de calibración, la tensión aplicada a cada fototubo es ajustada individualmente, hasta que ambos estén sincronizados o normalizados en su respuesta frente al estándar de C-14.

Luego se ajustan ambos fototubos, hasta que el punto final del espectro de C-14 esté apropiadamente posicionado en el analizador espectral.

El rack conteniendo el set Packard debe permanecer intercalado entre los tándem de muestras porque el protocolo se activará automáticamente cada 23 horas.

La normalización, calibración y los procedimientos IPA ocurren automáticamente. Cuando el indicador de protocolo SNC es leído por el instrumento, se verifica un temporizador de 23 horas. Si han transcurrido 23 horas desde la previa normalización y calibración, el instrumento realizará el procedimiento SNC/IPA. Si no ha transcurrido dicho tiempo, el cassette SNC/IPA se omite. Idealmente, la normalización y calibración de instrumentos e IPA deben ser realizadas en este ciclo cronometrado.

### 6.3.2 REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN

Para obtener la curva de calibración del tritio y del carbono 14 es necesario contar con sets de estándares de actividad conocida de dichos radionucleídos (fig.17). Dichos estándares se encuentran quencheados en distinto grado, en un ambiente de centellador UG y están certificados por el fabricante, garantizando así la actividad de los patrones a utilizar (figs. 18 y 19).



Fig.17. 10 estándares de carbono 14 y 10 estándares de tritio. Ambos quencheados y centellador UG.



92

### Certificate of Radioactivity / Traceability

**Product**  $^{14}\text{C}$  Ultima Gold Quenched Standard Set  
**Part Number** 6007601  
**Radionuclide**  $^{14}\text{C}$  (Carbon-14)  
**Lot No. = Assay Date** November 2, 2018  
**Average Activity Assay** 127,500 dpm/std.  $\pm$  2%  $\sim$  0.574  $\mu\text{Ci/set}$  21.25 kBq/set  
**Serial Number** 10  
**Expiration Date** May 2, 2021

**REFERENCE STANDARD:** National Institute of Standards and Technology SRM 4222C

**METHOD OF STANDARDIZATION:**

The  $^{14}\text{C}$  bulk solution is standardized by liquid scintillation counting using SRM 4222C as the reference material. The total uncertainty of the assay is  $\pm$  1.3 %

**COMMENTS:**

The dpm value of each set of standards is confirmed by liquid scintillation counting against a reference standard set. The assigned value is automatically calculated by the liquid scintillation spectrometer using an appropriate algorithm.

The glass vial may have some imperfections due to the vendor's manufacturing process. These imperfections do not affect the performance of the product.

I hereby certify that the above information is accurate.

Approved by:

Donna Novi  
Chemist

Date: December 4, 2018

Fig.18. Certificado de la actividad del estándar de carbono 14 dado por Perkin Elmer.



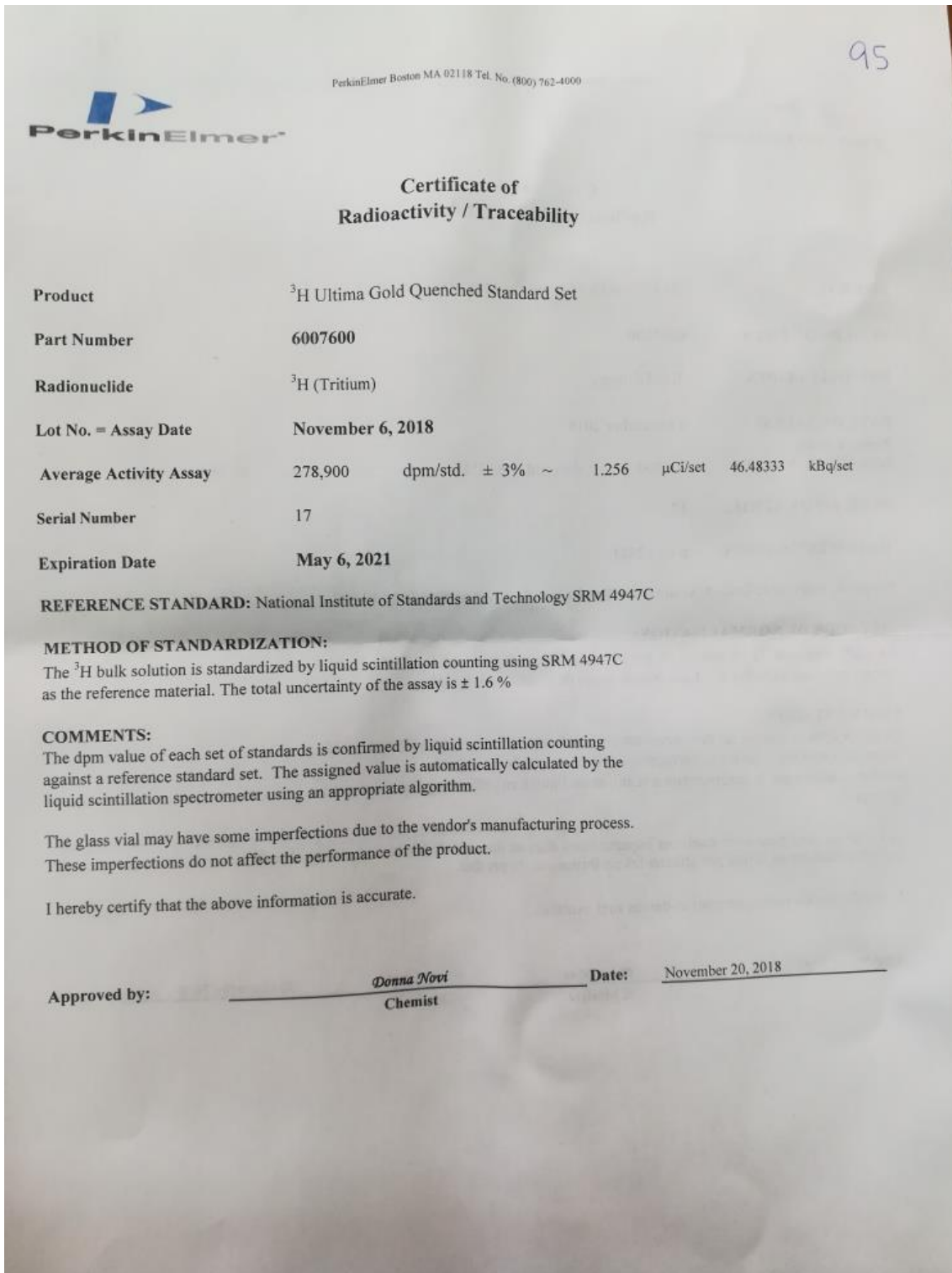


Fig.19. Certificado del estándar de tritio dado por Perkin Elmer.

## 7 RESULTADOS

La operatoria que se siguió es la siguiente:

De los estándares certificados a utilizar en la calibración se tomaron las actividades (dpm) y las fechas de referencia. Luego se calcularon las actividades del patrón a la fecha de medición de la curva de quenching (12/12/2019), utilizando la expresión:

$$A = A_0 \exp(-\lambda t) = A_0 \exp\left[-\left(\frac{\ln 2}{T}\right) t\right]$$

Siendo

$A$ =Actividad corregida al tiempo  $t$ .

$A_0$ =Actividad inicial.

$T$ =Semiperíodo de desintegración del tritio o carbono 14.

$t$ = Tiempo transcurrido desde la fecha de referencia de los patrones al 12/12/2019.

Así, para ambas fuentes:

Fuente	Radionucleído Ppal	Tipo de Emisión	Estado	Fecha de ref. Certificado	Actividad <sub>0</sub> (DPM)	T1/2 (años)	Fecha actual	Diferencia (años)	Actividad actual (DPM)
B092	C14	BETA	Líquido	02/11/2018	127500	5730,00	12/12/2019	1,11	127482,89
B095	H3	BETA	Líquido	06/11/2018	278900	12,30	12/12/2019	1,10	262159,96

Tabla 1. Actividad para ambos radionucleídos estándares a la fecha 12/12/2019.

En el Anexo I se muestra en detalle cómo se procede para definir los protocolos para las curvas de calibración individuales y dual. El procedimiento es el siguiente: se cuentan los 10 estándares de tritio y se obtiene su curva de calibración, luego se hace lo propio con los 10 estándares de Carbono 14 y, en un protocolo aparte, se realiza una calibración simultánea (dual) de ambos radionucleídos. Esta última se usará luego en el análisis de muestras que contienen tanto tritio como carbono 14, para separar eventos y estimar la contribución de actividad de cada isótopo.

Las curvas obtenidas son las siguientes:

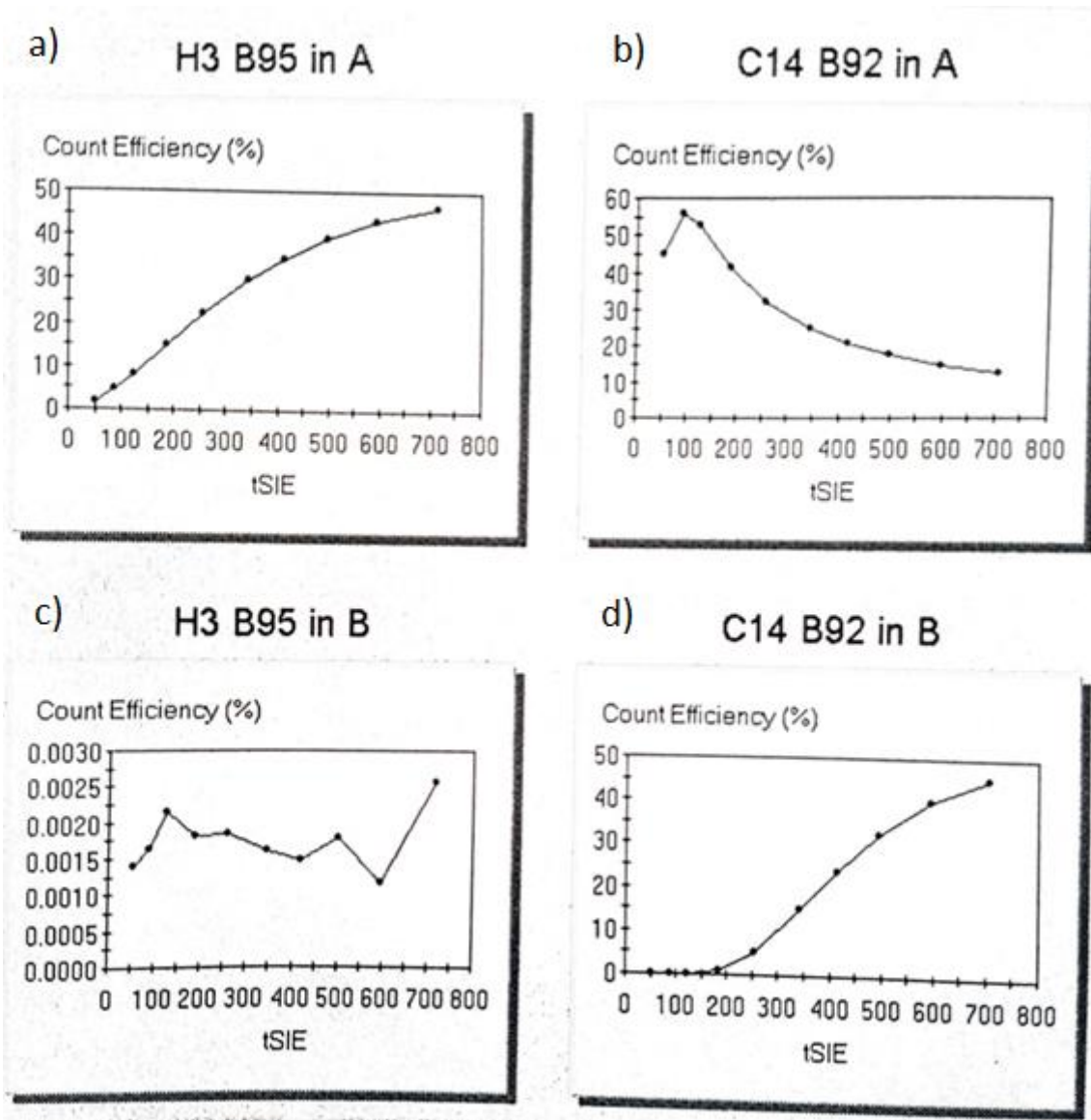


Fig.20. a) Curva de Quench de tritio en la venta A. b) Curva de Quench de carbono 14 en la ventana B. c) Curva de tritio en la ventana B. d) Curva de carbono 14 en la ventana B.

Las regiones A y B de la fig.20 están definidas como (ver anexo I):

Región	LL (keV)	UL (keV)
A	1 (2)	9 (12)
B	30	85
C	0	2000

Tabla 2. Definición de las regiones de energía para el análisis de datos. La ventana A es para el tritio, la B es para carbono 14 y la C para otros radionucleídos.

La razón de la definición de las regiones efectivas dadas en la tabla 2 se debe a que se encontró que el 95,6% del total de las cuentas de tritio se encuentran dentro del intervalo 0-12 keV, y en el caso del carbono 14, el mismo porcentaje de cuentas se encuentra dentro del rango 0-42 keV [2]. Además, en esta definición se tuvo en cuenta que idealmente la eficiencia

de conteo (%) de un radionucleído debe ser mínima en la ventana del otro. Definiendo las regiones como en la tabla 2, se observa en la fig. 20.b) que la eficiencia de C-14 en la ventana del H-3 es mínima para los tSIE que se manejan en este trabajo (como se verá más adelante, las muestras analizadas tienen un tSIE del orden de los 500). Y en la fig.20.c) se aprecia que la eficiencia de conteo del tritio en la ventana de carbono es despreciable. Los valores de LL y UL entre paréntesis para tritio son una modificación de las ventanas para optimizar el contaje de muestras, como se verá más adelante.

## **7.1 MEDICIÓN DE MUESTRAS DE TRITIO Y CARBONO 14**

Una vez que se tiene la curva de calibración asociada a un protocolo (ver anexo I), se procede a preparar las muestras para ser contadas.

Debido a los volúmenes de muestra en cada vial en este trabajo van de 250 a 500  $\mu\text{L}$ , se hace necesario el uso de pipetas automáticas para su manejo.

## **7.2 PIPETAS AUTOMÁTICAS**

Las pipetas son dispositivos que se caracterizan por carecer de depósito y que se utilizan para medir o transvasar pequeños volúmenes de líquido de un recipiente a otro con gran exactitud.

La pipeta mecánica o de pistón funciona generalmente transmitiendo la fuerza que un operador, de forma manual, ejerce sobre un émbolo que se encuentra unido a un pistón mediante un eje que lo desplaza a lo largo de un cilindro de longitud fija, forzando un volumen predefinido de líquido fuera de la pipeta. Las pipetas a pistón son en general de dos tipos: las de volumen fijo, que dispensan un volumen predeterminado de líquido, el cual es conocido como volumen nominal ( $V_n$ ) y las de volumen variable que permiten ajustar el volumen dispensado dentro de un rango determinado en las especificaciones de la pipeta. La variación en el volumen se logra modificando la longitud de la carrera del pistón dentro del émbolo mediante un micrómetro. En estas de volumen variable el volumen nominal es el límite superior del rango de volumen de la pipeta, de acuerdo con las especificaciones dadas por el fabricante. Todas las pipetas de pistón disponen de puntas desechables para minimizar los riesgos de contaminación.

Los dos tipos más comunes de pipetas que se pueden encontrar en los laboratorios son pipetas tipo Gilson o tipo Eppendorf. Cada tipo tiene sus particularidades, pero el procedimiento de calibración es el mismo para ambas.

### **7.2.1 CALIBRACIÓN DE PIPETAS**

Por calibración de pipetas se entiende la comparación entre el volumen real y el volumen teórico. El volumen real se determina por vía gravimétrica por lo que para ello se necesita agua destilada o desionizada y una balanza adecuada.

Para realizar la calibración de una pipeta se siguen las directrices dadas por la norma ISO 8655 (aparatos volumétricos operados por pistón). Los premisas principales de dicha norma se centran en 3 puntos fundamentales:

1º.- Condiciones ambientales.

2º.- Utilizar una balanza adecuada.

3º.-Minimizar el efecto de la evaporación en volúmenes inferiores a 50 microlitros o tomar medidas adicionales para evitarla.

### 7.2.2 ERRORES DE MEDICIÓN

Cada pipeta posee cierto error en las mediciones que realiza. Este error puede ser determinado experimentalmente y descrito por dos valores para un volumen de prueba: uno de ellos es el error sistemático, que da cuenta de la exactitud; y el otro es el error aleatorio, que da cuenta de la precisión.

Para obtener estos valores en el laboratorio se debe tomar varias muestras del mismo volumen de agua destilada, en un ambiente con temperatura y humedad controlada, y se pesan en una balanza analítica. Con la masa medida se calcula el volumen de agua, según densidad a la temperatura de trabajo y teniendo en cuenta el error por evaporación.

La diferencia entre el promedio de los volúmenes medidos y el volumen nominal (el que se indicó en la pipeta) es el error sistemático y nos dice que tan alejado está el valor que medimos realmente del que queríamos medir. Por ejemplo un valor sistemático de -0,022 ul determinado midiendo 2 ul, dice que cuando se quiera medir 2 ul en realidad se medirá 1.978 ul.

La desviación estándar de los volúmenes medidos es el error aleatorio y nos da una idea de la precisión de la medición. Por ejemplo, un error aleatorio igual a 0,012 ul (que se puede obtener del certificado de la pipeta), implica que 68,27% (intervalo de confianza para una desviación estándar) de las mediciones que se hagan tendrán una diferencia menor a 0,012 ul del promedio. El 95,45 % (intervalo de confianza para dos desviaciones estándar) de las mediciones estarán a no más de 0,024 ul del promedio.

### 7.2.3 CÁLCULO DEL ERROR SISTEMÁTICO (EXACTITUD)

$$\bar{x} = \frac{\sum \text{todos los valores de medición}}{n} * Z$$

Donde:

$n$ =cantidad de valores medidos.

Para calcular los valores medidos en los valores de volumen se utiliza el factor de corrección  $Z$  para la dependencia del líquido de ensayo de la temperatura y la presión del aire en cada valor.

El error sistemático  $e_s$  en microlitros es:

$$e_s = \bar{x} - x_{nominal}$$

El error sistemático en porcentaje resulta:

$$e_s = \frac{\bar{x} - x_{nominal}}{x_{nominal}} 100$$

### 7.2.4 CÁLCULO DEL ERROR ALEATORIO

Error de medición aleatorio como estándar de repetición:

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x_i * Z - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Los resultados de los cálculos de ambos errores se muestran a continuación:

n° PESADA (gramos)	Marca/ Modelo				FACTOR Z:	1,0038					
	Eppendorf	Eppendorf	Eppendorf	Eppendorf			FECHA				
	500 uL 13-dic	500 uL 13-dic	250 UI 13-dic	250 uL 13-dic							
1	0,49800	0,49742	0,24800	0,24834	PRESION (hPa)	1020					
2	0,49700	0,49612	0,25100	0,25117	TEMPERATURA (°C)	24					
3	0,49600	0,49598	0,24500	0,24563	HUMEDAD REL AMB %	68					
4	0,50100	0,50123	0,25100	0,25121							
5	0,49900	0,49923	0,24700	0,24709							
6	0,49500	0,49549	0,24400	0,24424							
7	0,49900	0,49934	0,25200	0,25218							
8	0,50000	0,50002	0,25200	0,25232		<b>INCERT.</b>	<b>LC sup</b>	<b>LC inferior</b>	<b>% E Sist.(*)</b>	<b>% CV</b>	
9	0,49500	0,49516	0,24700	0,24751	SEGÚN ISO 8655-2 Socorex 500 uL 343094 (CQ)	<b>EXPANDIDA</b> <b>0,5072</b>	500,51	499,49	1	0,5	
10	0,50000	0,50011	0,24800	0,24805	Socorex 500 uL 343094 (MQ)	0,5019	500,50	499,50	1	0,5	
11	0,50200	0,50229	0,24900	0,24921	Socorex 5 ml (MQ)	5,0856	5,1140	5,0490	1	0,5	
12	0,49900	0,49941	0,24400	0,24411							
13	0,49600	0,49609	0,25100	0,25123							
14	0,4980	0,4980	0,25000	0,25002							
15	0,4940	0,4944	0,24900	0,24923							
STD	0,0024	0,0024	0,0027	0,0027							
PROMEDIO * Z	0,4999	0,4999	0,2495	0,2497							
	SISTEMATICO	SISTEMATICO	SISTEMATICO	SISTEMATICO							
	-0,0215	-0,0182	-0,2089	-0,1123							
	ALEATORIO	ALEATORIO	ALEATORIO	ALEATORIO							
	0,4750	0,4840	0,1091	0,1076							
	<b>ISO 8655-2</b>	<b>ISO 8655-2</b>	<b>ISO 8655-2</b>	<b>ISO 8655-2</b>							
<b>SISTEMATICO</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>							
<b>ALEATORIO</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>	<b>APROBADA</b>							

**Referencias:**  
Error Sistemático  
 Error propio del instrumento utilizado

Coefficiente de Variación (usado como error Aleatorio)  
 Error propio del método analítico (observación, repetibilidad, etc)

Tabla 3. Verificación de las pipetas Eppendorf fijadas en capacidad de 500 uL y 250 uL, usando dos balanzas diferentes.

Una vez verificadas las pipetas, se procedió a preparar las siguientes muestras:

- 10 mL de centellador UG+0,5 mL de tritio.
- 10 mL de centellador UG+0,5 mL de carbono 14.
- 10 mL de centellador UG+ 0,25 mL de tritio+0,25 mL de carbono 14.
- 10 mL de centellador UG+0,5 mL de tritio+0,5 mL de carbono 14.

Los radionucleídos fueron provistos por la ARN y tienen la siguiente actividad:

$$A_{H3} = 178,2 \frac{Bq}{g} \pm 3\%$$

$$A_{C14} = (2876 \pm 36) DPM$$

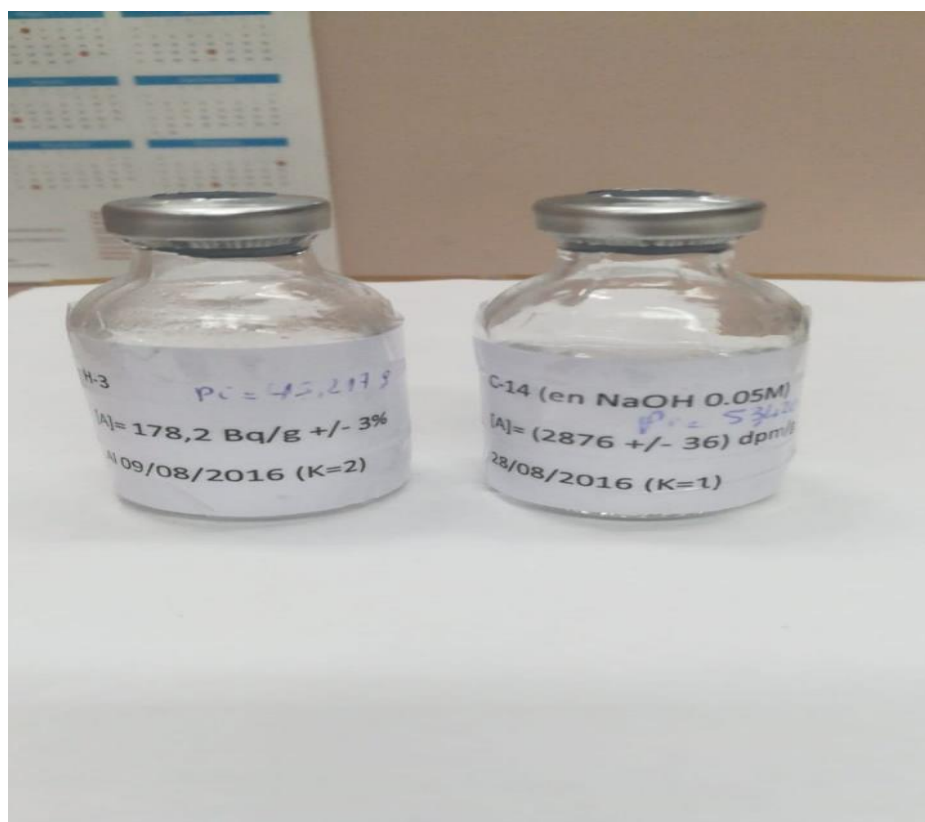


Fig.21. Estándares de tritio y carbono 14 fabricadas por la ARN.

El propósito de preparar muestras con actividad conocida es verificar si el equipo de centelleo líquido puede determinar el mismo conteo que el expresado en la etiqueta para los volúmenes elegidos (dentro de los errores experimentales), usando la curva de calibración dual confeccionada con anterioridad. Si esto se logra, entonces se induce que el equipo podrá determinar correctamente la concentración de tritio y carbono 14 en muestras de orina.

La actividad de los estándares de la fig. 21 al 13/12/2019 es:

Fuente	Radionucleído Ppal	Tipo de Emisión	Estado	Fecha Certificado	Actividad <sup>o</sup> (DPM/mL)	T1/2 (años)	Fecha de referencia	Diferencia (años)	Actividad actual (DPM/mL)
ARN1	C14	BETA	Líquido	28/08/2016	2876	5730,00	13/12/2019	3,29	2874,85
ARN2	H3	BETA	Líquido	09/08/2016	10692	12,30	13/12/2019	3,35	8855,35

Tabla.4. Actividad decaída de las muestras de la ARN.

Así, los resultados del conteo para las muestras fueron:

Muestra	Actividad teórica H-3 (DPM)	Actividad teórica C-14 (DPM)	1ª Actividad medida H-3 (DPM)	1ª Actividad medida c-14 (DPM)	2ª Actividad medida H-3 (DPM)	2ª Actividad medida c-14 (DPM)
0,497 mL C14	-	1432	45	1404	-	1381
0,495 mL H3	4385	-	4054	4	4326,00	3
0,498 mL C14+0,496 mL H3	4394	1432	4100	1465	4412,00	1426
0,247 mL C14+0,244 mL H3	2162	710	2087	516	2261,00	660
0,51420 mL C14	-	1479	2	1441	3,00	1421
0,49994 mL H3	4429	-	3933	4	4289,00	7
0,51111 mL C14+0,49521 mL H3	4387	1470	4107	1655	4228,00	1525
0,25420 mL C14+0,24950 mL H3	2210	731	2108	629	2259,00	709

Tabla 5. Conteo de muestras de H-3 y C-14

En la tabla anterior, la primera actividad medida corresponde a una ventana de tritio de 1 a 9 KeV, la segunda actividad medida corresponde una ventana de H-3 de 2 a 12 KeV.

## 8 DISCUSIÓN

Del resultado para el conteo de las muestras de tritio y carbono 14 presentado en la tabla 5, se puede concluir que hay una coincidencia, dentro de la incerteza experimental, entre la actividad teórica del carbono 14 y la actividad medida de dicho radionucleído. Existe una discrepancia entre los valores esperados y experimentales para el caso del tritio, pero dicha diferencia se ve disminuida al variar la región de energía atribuida a este isótopo en el análisis de datos. Esto se puede deber a que al mover la ventana, se está reduciendo el ruido que puede estar siendo introducido por otros radionucleídos de fondo. Si se sigue variando la ventana del tritio, se podrá lograr una coincidencia entre el contaje teórico y experimental para este isótopo y por consiguiente, también habrá concordancia entre teoría y práctica de la contribución de cada nucleído de la muestra a la actividad total. Una vez que se tiene la certeza que el equipo está contando adecuadamente las muestras, se podrán analizar muestras de orina realizar la correspondiente asignación de dosis mediante una conversión de DPM a concentración de actividad y luego a dosis usando factores de actividad y dosimétricos, respectivamente.

En este trabajo se utilizó una curva de calibración construida con estándares quencheados dados por el fabricante. En la práctica, resulta más acertado disponer de fuentes patrones de gran actividad como para colocar en cada vial un volumen que se corresponda con una



actividad del orden de las 150 mil DPM por vial, sin sobrepasar los 0,5 mL de muestra que se usa en el complejo Atucha para el análisis de orina. El grado de quenching se varía agregando un químico extinguidor (generalmente tetracloruro de carbono) y el volumen de muestra restante se completa con orina. En este trabajo, las actividades de las fuentes de tritio y carbono 14 eran bajas y para alcanzar las 150 mil dpm, se debería poner en cada vial una cantidad de fuente bastante superior a los 0,5 mL de muestra.

## 9 CONCLUSIONES

- Se logró establecer un protocolo para medir en forma simultánea el contenido de tritio y de carbono 14 en muestras preparadas con fuentes patrones dadas por la ARN.
- Los parámetros introducidos en dicho protocolo permiten predecir la contribución de carbono 14 a la actividad de la mezcla.
- Modificando la ventana de medición para el tritio, será posible saber el contenido de dicho radionucleído en una mezcla.
- Establecidas las condiciones óptimas de medición del tritio y el carbono 14, se podrá utilizar la curva de calibración diseñada en el conteo de muestras de orina del personal del Complejo Nuclear Atucha y hacer las correspondientes asignaciones de dosis interna de ambos radionucleídos a cada trabajador.

## 10 REFERENCIAS

[1] Tritium accounting for PHWR plants. Nair, P.S. (Operating Plants Safety Division, Atomic Energy Regulatory Board, Mumbai (India)); Duraisamy, S. (Operating Plants Safety Division, Atomic Energy Regulatory Board, Mumbai (India)).

[2] Development of the Dual Counting and Internal Dose Assessment Method for Carbon-14 at Nuclear Power Plants. HEE GEUN KIM, TAE YOUNG KONG, SANG JUN HAN and GOUNG JIN LEE. JOURNAL OF RADIATION PROTECTION, VOL.34 NO.2 JUNE 2009.

[3] Whillans DW, Thind KS. Internal Dosimetry for Short- Range Emitters. In: Health Physics Society 1995 Summer School (Radiation Protection at Nuclear Reactors). Medical Physics Publishing Madison, Wisconsin. 1995.

[4] Korea Electric Power Corporation. Final Safety Analysis Report for Wolsong Unit 2,3,4 Nuclear Power Plants, Rev. 31. 2000.

[5] International Atomic Energy Agency, Methods for Assessing Occupational Radiation Doses Due to Intakes of Radionuclides, Safety Report Series No. 37, (2004).

[6] Korea Hydro and Nuclear Power Co., Standard Procedure in Nuclear Power Plants: Measurement and Assessment of Internal Dose, Radiation-06, (2008).

[7] International Commission on Radiological Protection, Individual Monitoring for Internal Exposure of Workers, Replacement of ICRP Publication 54, ICRP Publication 78, Annals of the ICRP, Pergamon Press, Oxford, UK, (1997).

- [8] International Atomic Energy Agency, Methods for Assessing Occupational Radiation Doses Due to Intakes of Radionuclides, Safety Report Series No. 37, (2004).
- [9] Kim HG, Lee HS, Ha GH. An Analysis of Carbon-14 Metabolism for Internal Dosimetry at CANDU Nuclear Power Plants. Journal of Radiation Protection 2003 Sep.;28(3):207-213.
- [10] Korea Hydro & Nuclear Power Corporation. Development on the C-14 Internal Dosimetry for Nuclear Power Plant Workers. 2008.
- [11] Korea Electric Power Research Institute. Technical Report of the Analysis Method of Tritium and C-14 in Urine Samples of Radiation Workers. Technical Memo. 2007.
- [12] Atomic Energy Control Board. Bioassay Technical Reference Criteria Radioactive Carbon - Report of the AECB Working Group on Internal Dosimetry. 1994.
- [13] Whillans DW. Structure of a Physiologically Based Biokinetic Model for Use in <sup>14</sup>C and Organically Bound Tritium Dosimetry. Radiation Protection Dosimetry 2003:105(1-4).

## 11 ANEXO I

### 11.1 SECUENCIA PARA LA REALIZACIÓN DEL PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN

Hacer doble click en el ícono Quanta Smart para abrir el software del equipo.

Con el programa abierto, clicar en FILE/ NEW ASSAY/ QUENCH STANDARDS/ OK. Tal como se indica en la fig. A1:

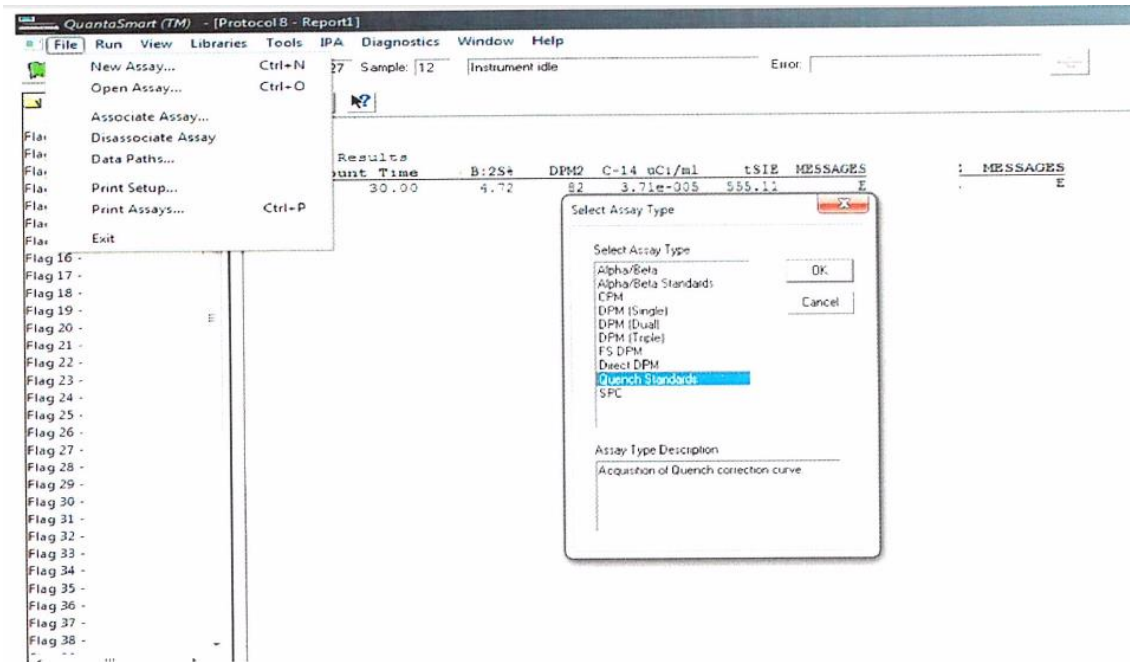


Fig.A1. Creación de un ensayo.

Se abrirá entonces la siguiente ventana:

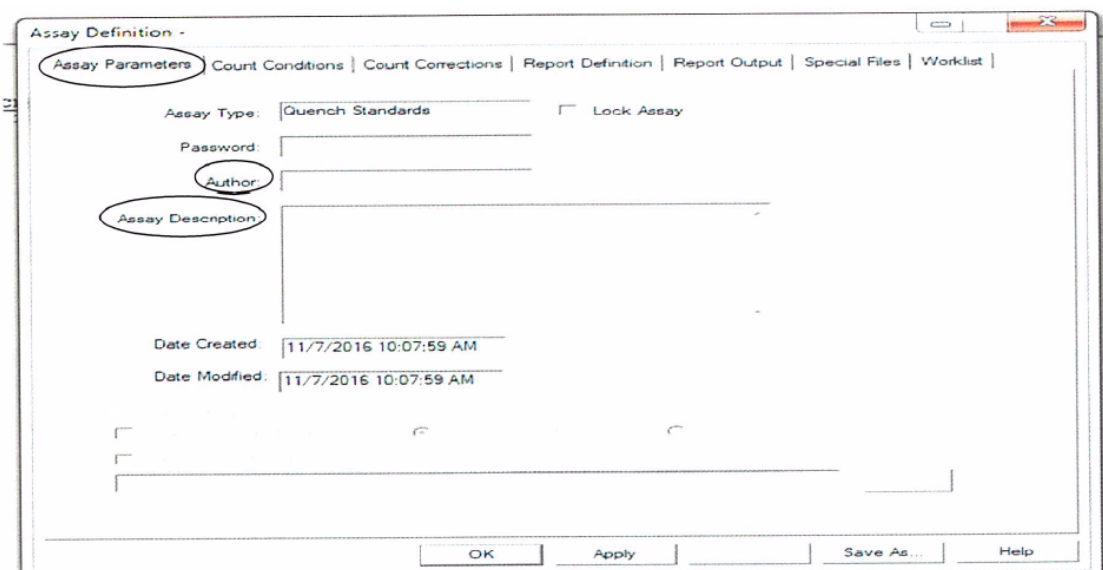


Fig.A2. Definición de un ensayo.

En la solapa **Assay Parameters** se deberán completar los siguientes campos:

**Author:** nombre del usuario que realiza la curva.

**Assay Description:** se dará una breve descripción de la curva a realizar.

Clickear luego en la solapa **Count Conditions**, aparecerá la siguiente pantalla:

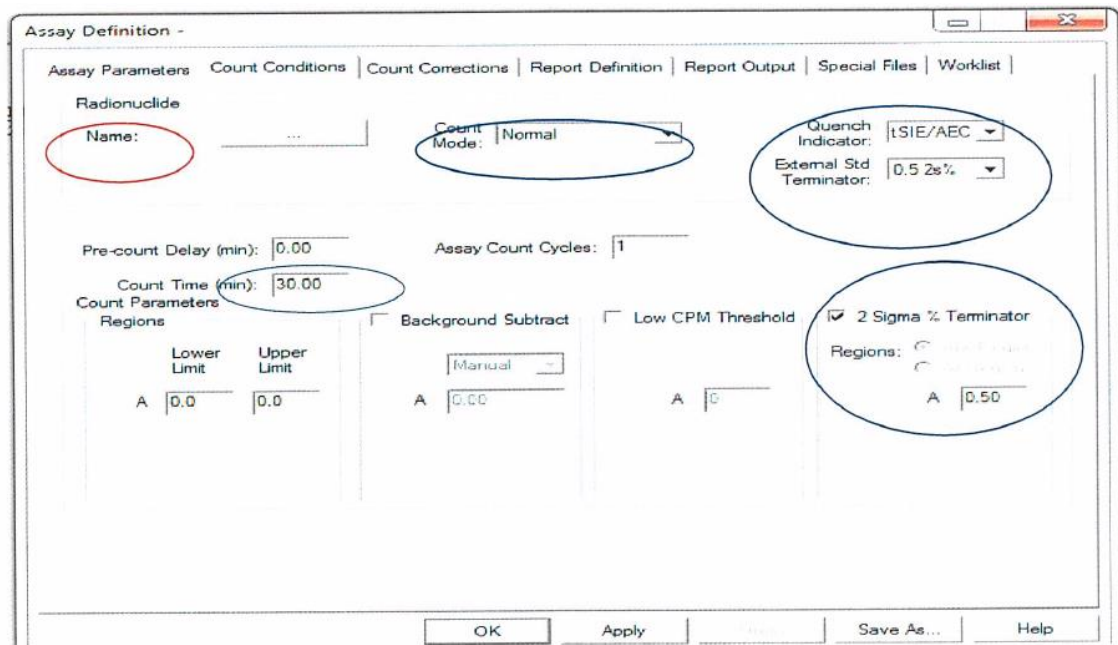


Fig.A3. Establecimiento de las condiciones de conteo del ensayo.

En esta solapa verificar que los campos redondeados en la fig.A3 estén completos. En este trabajo se estableció:

**Count mode:** high sensitivity.

**Quench Indicator:** tSIE/AEC.

**External Std Terminator:** 60 sec.

**Count Time:** 30 min.

Luego, sobre la misma solapa, hacer click en **Name**, se abrirá la ventana Quench Standards:

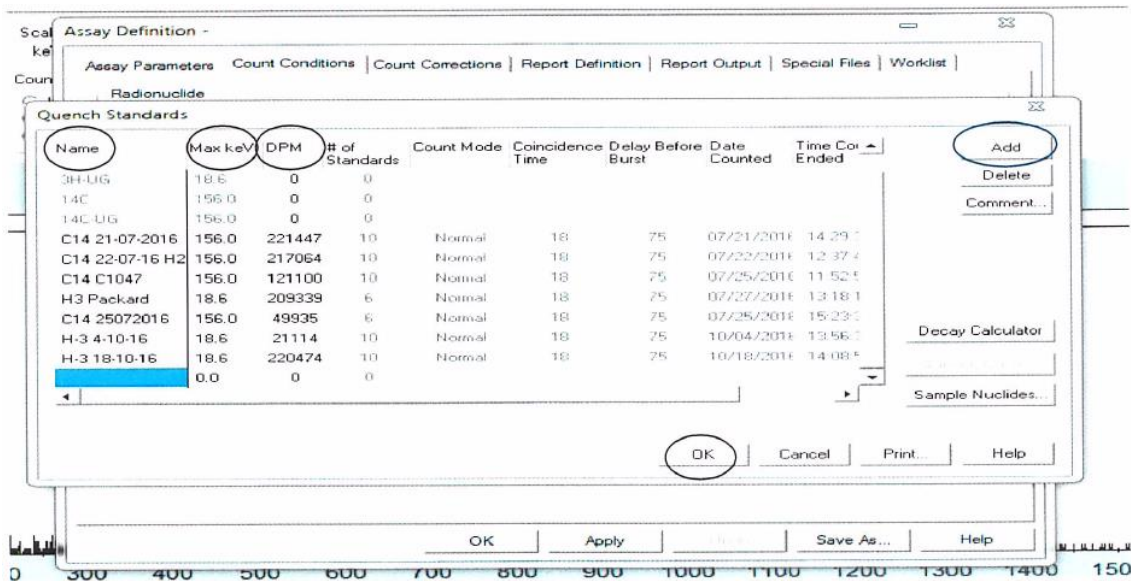


Fig.A4. Selección de estándares y sus parámetros.

Clickear en **Add** y se habilitará una nueva fila, para completar con los datos de la curva a realizar, las siguientes columnas:

**Name:** Emisor  $\beta$ - más la fecha de realización. En este trabajo, para el tritio: H-3 06-11-18. Para el carbono 14: C-14 02-11-18.

**Max. KeV:** es la máxima energía para el emisor. En el caso del tritio el valor de energía máxima es 18,6 KeV y para el C-14, dicho valor es 156,0 KeV.

**DPM:** valor obtenido del estándar dado por el fabricante y corregido por decaimiento a la fecha de la calibración.

Finalmente, clickear **OK**.

Pasar luego a la solapa **Count Corrections** y aparecerá la siguiente pantalla:

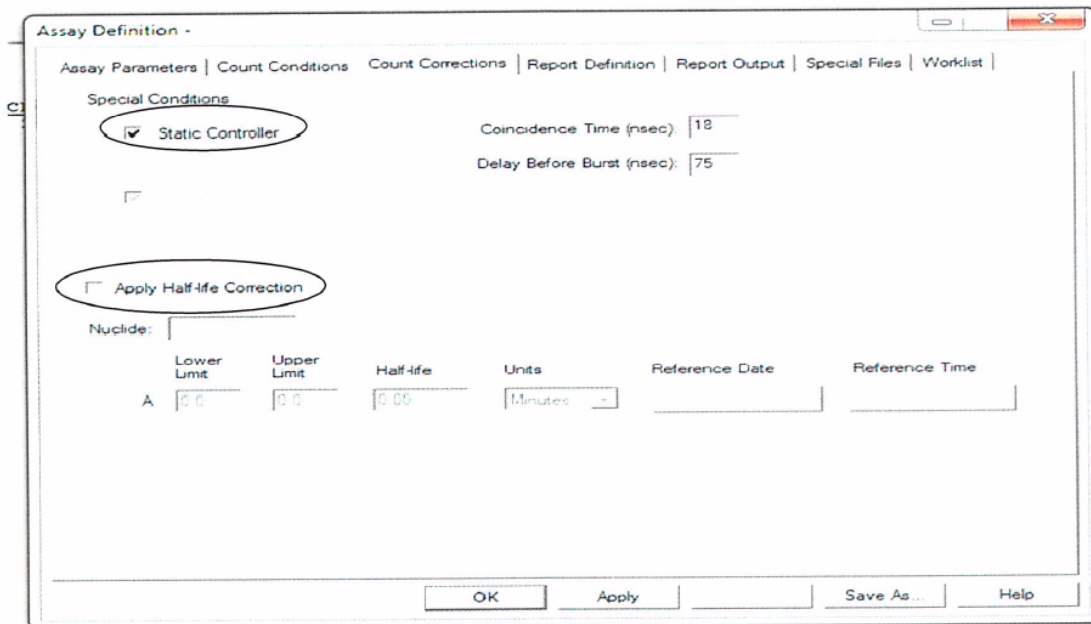


Fig. A5. Definición de las correcciones de conteo.

Verificar en esta pantalla que esté tildado **Static Controller** y que no esté tildado **Apply Half-Life Correction**, como muestra la fig. A5, si es que la actividad fue corregida manualmente.

Pasar luego a la solapa de **Report Definition**:

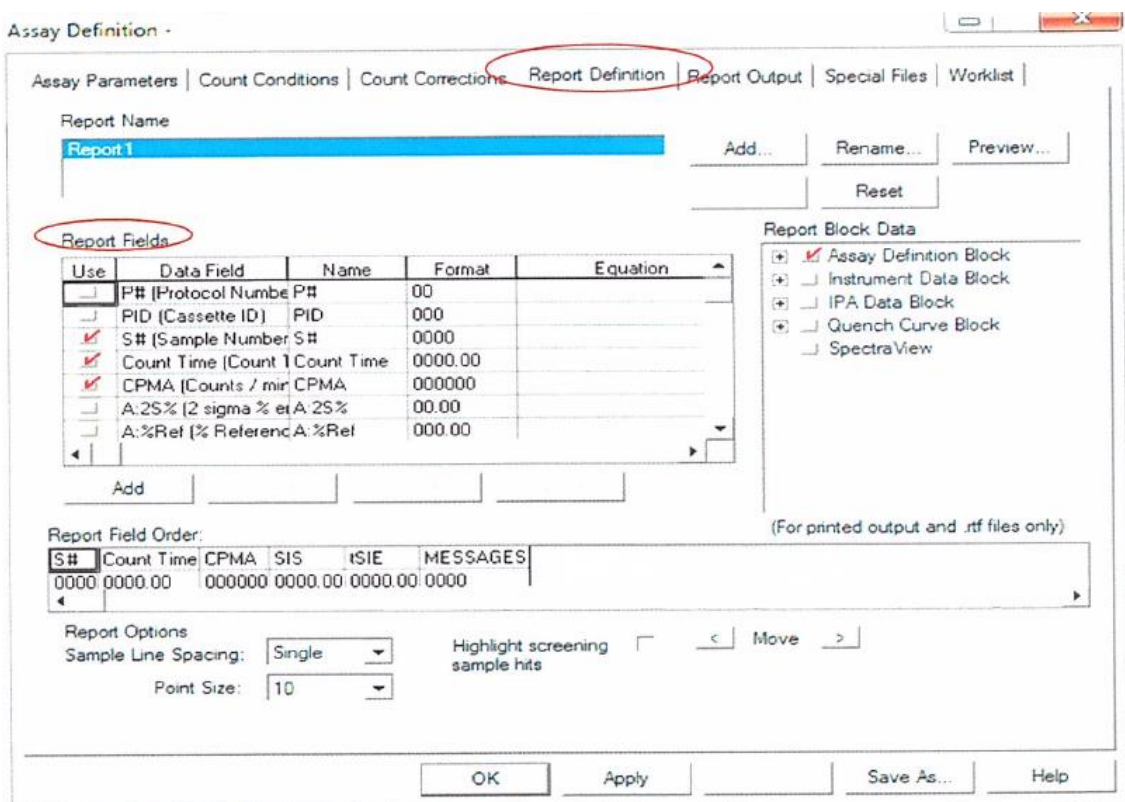


Fig. A6. Definición del reporte de calibración a imprimir.

En esta pantalla se tildarán los valores que se esperan ver en el reporte de calibración, es decir, a partir de esta solapa se le da formato al reporte que luego se imprimirá.

En el campo de **Report Fields**, se tildará lo siguiente:

-Nº de muestra.

-Cont. Time.

-CPMA.

-tSIE.

En el campo **Report Bolck Data**, se tildará lo siguiente:

-Assay definition.

-Quench Curve Block.

En el campo **Report Field Order**, se muestra una vista previa parcial del orden en el que saldrán impresos los valores a reportar. En caso de querer cambiar ese orden, seleccionar la columna a mover y luego con las flechas ubicadas alrededor de la palabra **Move**, moverse hacia la izquierda o la derecha, según se desee.

Finalmente clickear **OK** y aparecerá la ventana para guardar el protocolo de calibración:

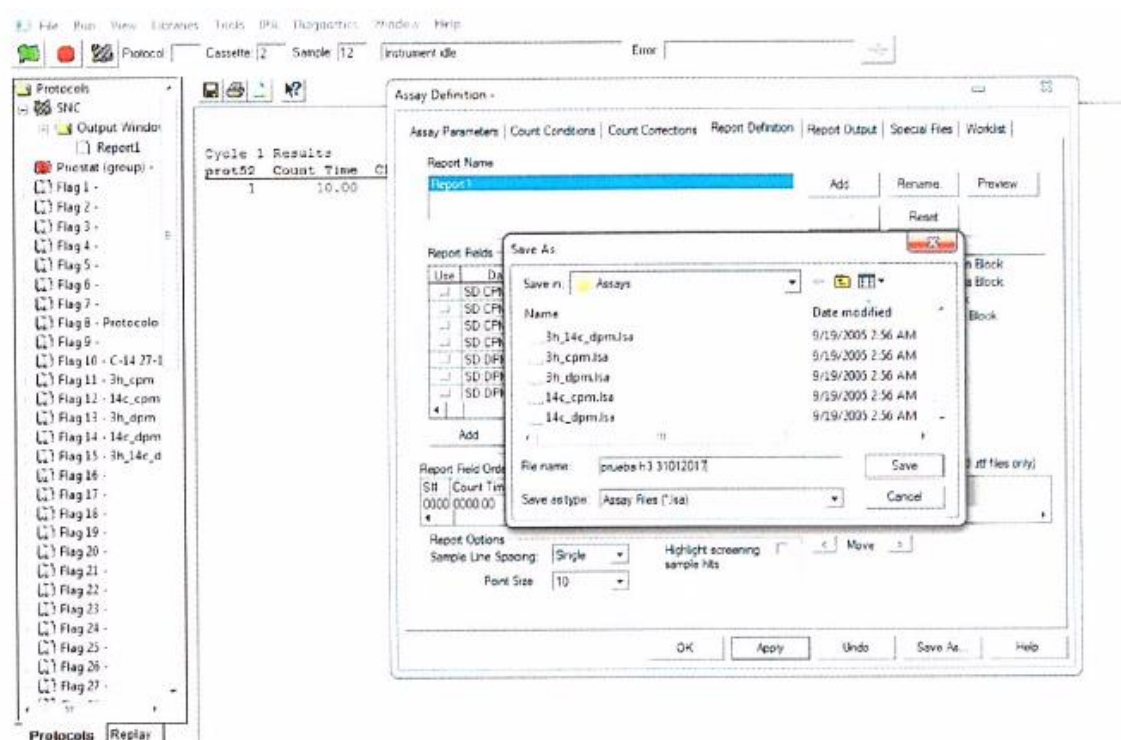


Fig.A7. Guardar un ensayo.

En **FILE NAME**, designarle un nombre a la curva de calibración, clickear en **SAVE** y automáticamente se guardará el archivo en la carpeta de **ASSAY** (carpeta de protocolos).

## 11.2 SECUENCIA PARA LA REALIZACIÓN DE UN PROTOCOLO DE MEDICIÓN

En la barra del menú del software Quanta Smart, clicar en **FILE/ NEW ASSAY/ DPM (Dual)**  
**OK**

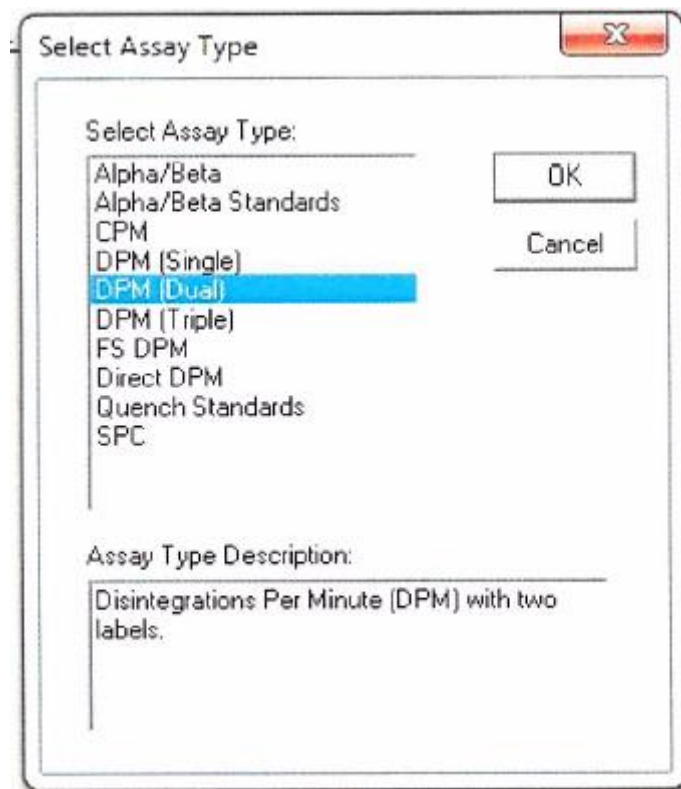


Fig.A8. Selección de un ensayo dual para tritio y carbono 14.

Aparecerá entonces la ventana de **Assay Definition**,

En **Assay Definition** es donde se definirán los parámetros para el nuevo ensayo. La primera solapa "**Assay Parameters**", se utiliza para designar el autor y proporcionar información descriptiva del ensayo. En este trabajo se definió el ensayo como "CURVAS DE CALIBRACIÓN B92 Y B95 DE PERKIN ELMER CON CENTELLADOR ULTIMA GOLD LLT VOLUMEN TOTAL 15 ML".



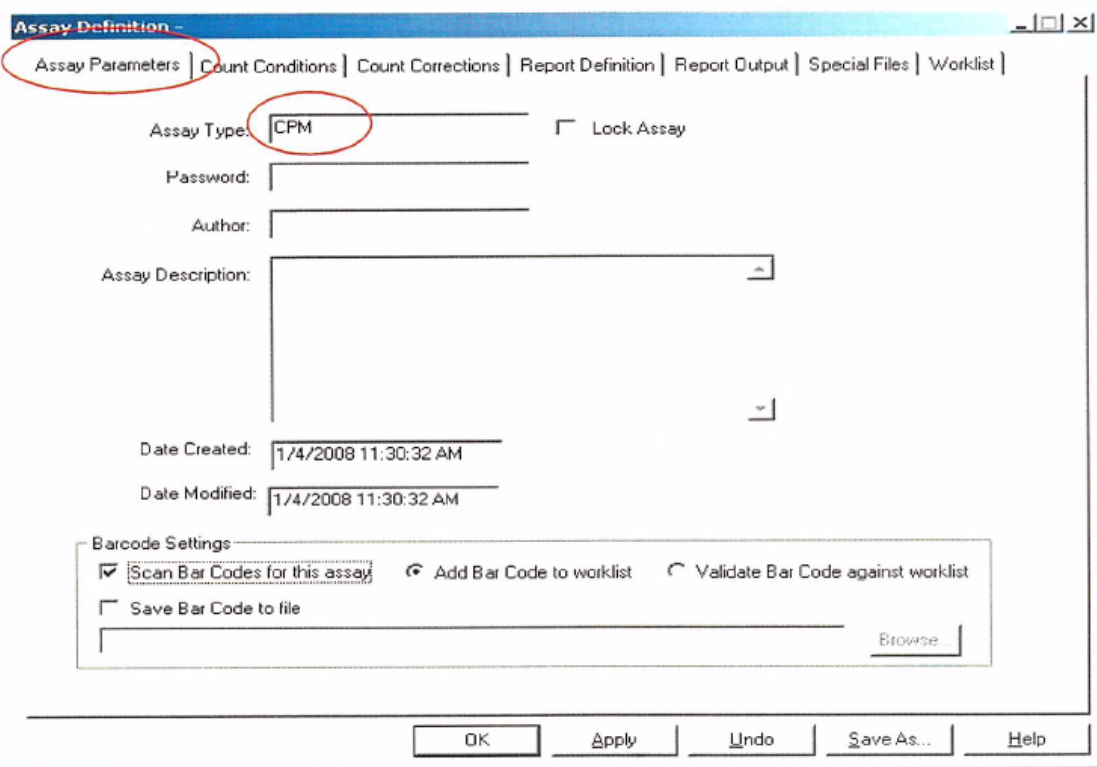


Fig.A9. Definición de la información descriptiva para el ensayo.

Pasar luego a la solapa de **“Count Conditions”**,

En esta solapa es donde se definen los parámetros específicos de conteo para el ensayo. Dentro de ella, se debe controlar lo siguiente (en este caso, que se trabajó para el ensayo dual de tritio y carbono 14):

- Count Mode: High Sensitivity.
- Quench Indicator: tSIE.
- External Std Terminator: 60 sec.
- Count Time: 1 min.

Assay Definition - C:\Packard\TriCarb\Assays\14c\_cpm.lsa

Assay Parameters | Count Conditions | Count Corrections | Report Definition | Report Output | Special Files | Worklist

Radionuclide

Name:  Count Mode:  Quench Indicator:  External Std Terminator:

Pre-count Delay (min):  Assay Count Cycles:   Calculate % Reference

Repeat Sample Count:  #Vials/Sample:

Count Parameters

Regions		Background Subtract	Low CPM Threshold	2 Sigma % Terminator
	Lower Limit	Upper Limit		
A	<input type="text" value="0.0"/>	<input type="text" value="156.0"/>	<input type="text" value="Manual"/>	<input type="text" value="0.00"/>
B	<input type="text" value="4.0"/>	<input type="text" value="156.0"/>	<input type="text" value="0.00"/>	<input type="text" value="0.00"/>
C	<input type="text" value="0.0"/>	<input type="text" value="0.0"/>	<input type="text" value="0.00"/>	<input type="text" value="0.00"/>

Regions:  Any Region  All Regions

OK Apply Undo Save As... Help

Fig.A10. Parámetros específicos para el conteo dual.

Clickear en **Radionucleide/Name**, y aparecerá la siguiente biblioteca de muestras de nucleídos:

Sample Nuclides										+
Nuclide Name	A: LL	A: UL	A: Half-life	A: Units	B: LL	B: UL	B: Half-life	B: Units	C: L	Add
3H	0.0	18.6	4530.37	Days	2.0	18.6	0.00	Minutes		Delete
<b>14C</b>	0.0	156.0	5728.49	Years	4.0	156.0	0.00	Minutes		Clear Quench Sets
3H-14C	0.0	12.0	4530.37	Days	12.0	156.0	5728.45	Years		Comment...
32P	5.0	1700.0	14.29	Days	50.0	1700.0	0.00	Minutes		
125I	0.0	70.0	59.24	Days	6.0	70.0	0.00	Minutes		
3H-125I	0.0	12.0	4530.37	Days	12.0	70.0	59.24	Days		
3H-32P	0.0	16.0	4530.37	Days	16.0	1700.0	14.29	Days		
3H-14C-32P	0.0	12.0	4530.37	Days	12.0	156.0	5728.45	Years		
3H Ultima Gold	0.0	18.6	4530.37	Days	2.0	18.6	0.00	Minutes		
14C Ultima Gold	0.0	156.0	5728.45	Years	4.0	156.0	0.00	Minutes		
3H Low Level	0.0	18.6	4530.37	Days	2.0	18.6	0.00	Minutes		

OK Cancel Print... Help

Fig.A11. Biblioteca de radionucleídos existentes o a crear.

Esta ventana permite introducir nuevos nucleídos o seleccionar alguno ya existente.

Clickear en **ADD** y se habilitará un renglón vacío para introducir un nuevo nucleído. Luego se deberá proceder a completar cada una de las ventanas correspondientes a las regiones A, B y C, y sus respectivos límites inferiores (LL) y límites superiores (UL), del siguiente modo:

**A:LL=1 (2)**

**A:UL=9 (12)**

**B:LL=30**

**B:UL=85**

**C:LL=0**

**C:UL=2000**

Se deberá contar también con el dato de tiempo de vida media del nucleído en cuestión. La ubicación dicho valor en la tabla dependerá del isótopo.

Para el H-3. El tiempo de vida media (4530,37 días) deberá introducirse en la ventana **A: Half-Life**.

Para el C-14, el tiempo de vida media (5728,49 años) deberá introducirse en la ventana **B: Half-Life**.

Una vez ingresados estos datos, en la misma tabla, moverse con el cursor hacia la derecha, hasta tener la siguiente visualización:

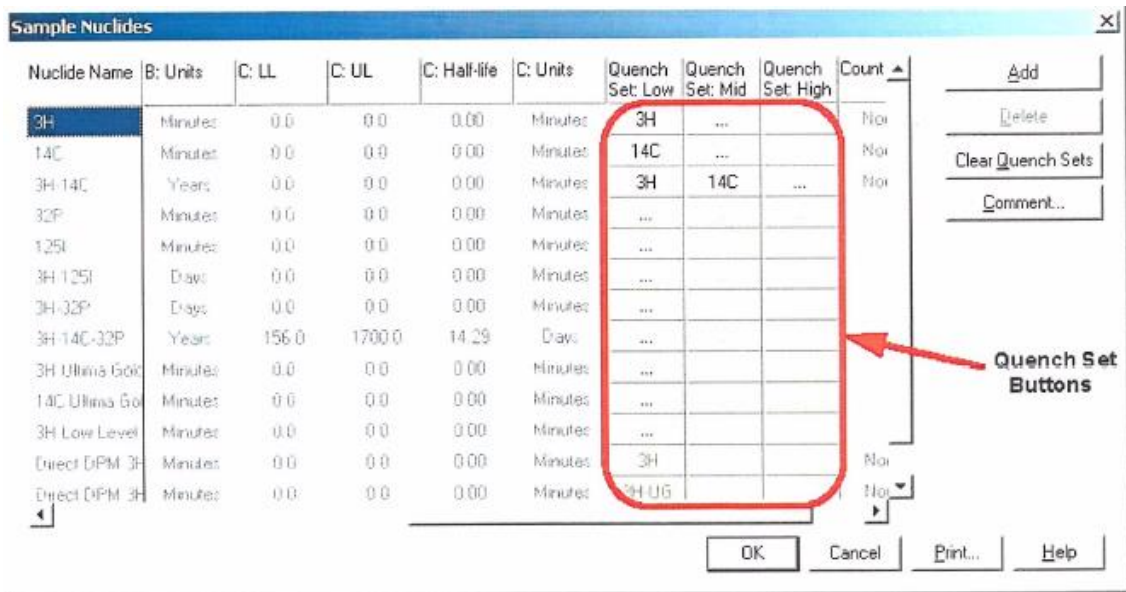


Fig.A12. Biblioteca de nucleídos en donde se asignan curvas de calibración al nucleído que se ingresa.

Los Quench set buttons, permiten asignarles curvas de calibración al nucleído que se esté ingresando. En este trabajo se clickeó sobre **“Quench Set Low”** y se buscó del listado la curva vigente para el tritio. Luego se clickeó en **“Quench Set Mid”** y se buscará del listado que aparezca la curva vigente para el carbono 14.

Volviendo al cuadro de Assay Definition, posicionarse luego sobre la solapa de **“Report Definition”**.

Esta pestaña permite especificar los datos que se reportan y el formato para la presentación de informes.

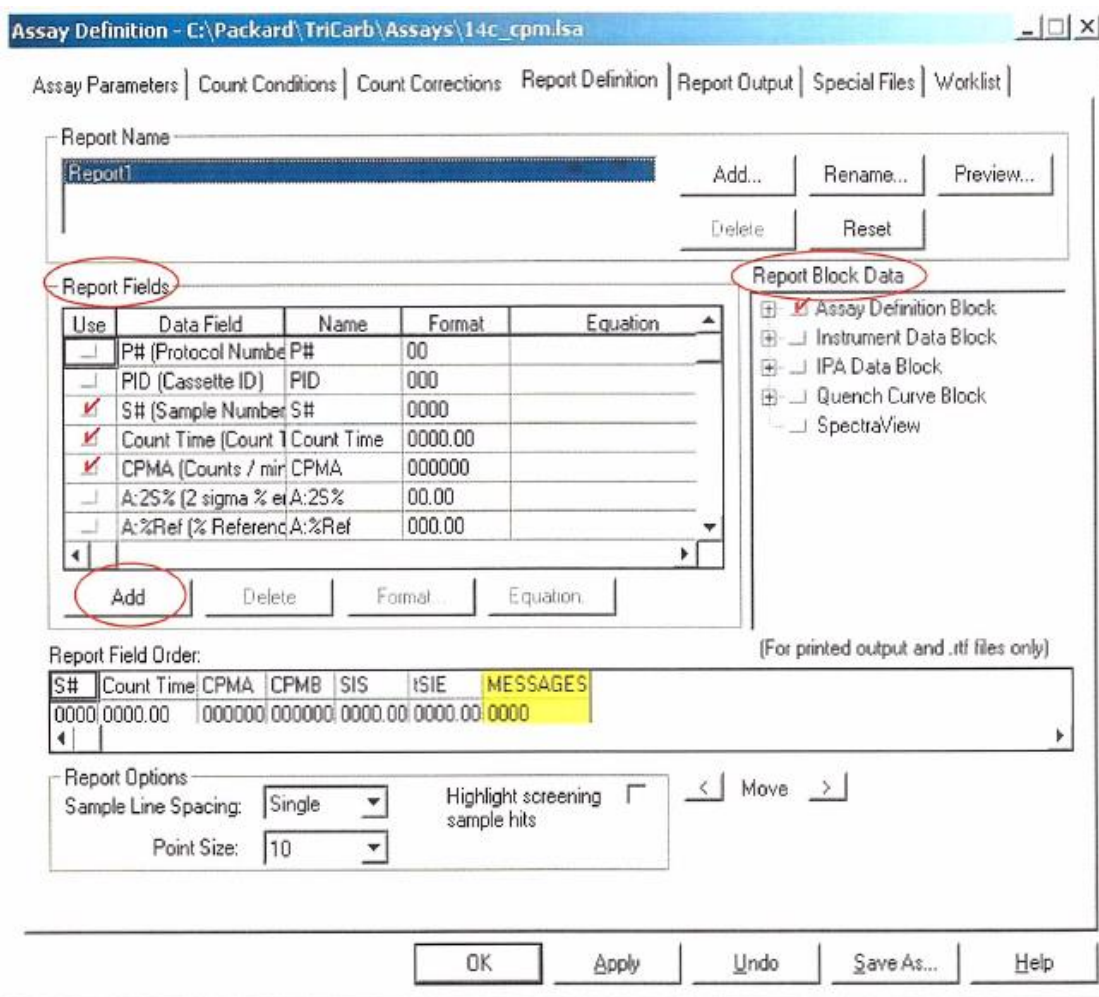


Fig. A13. Datos del conteo a reportar.

En el cuadro de **Report Fields**, se tildan los siguientes campos:

- S# (Sample Number).
- CPMA.
- DPM1.
- uCi/l H3.
- mSv H3.
- CPMB.
- DPM2.
- uCi/l C14.
- mSv C14.

En el cuadro **Report Block Data**, se debe tildar:

-Assay Definition Block.

Donde uCi/l H3, mSv H3, uCi/l C14 y mSv C14 se incuyeron como modificaciones en el reporte.

Para introducir modificaciones en el reporte, se deberá clicar **ADD** para agregar un campo de informe personalizado a los ya disponibles en la lista de campos. En este caso se quiere expresar la actividad específica (uCi/ml) y la dosis en mSv asociadas a cada radionucleído. Al clicar sobre ADD aparecerá un nuevo renglón a completar:

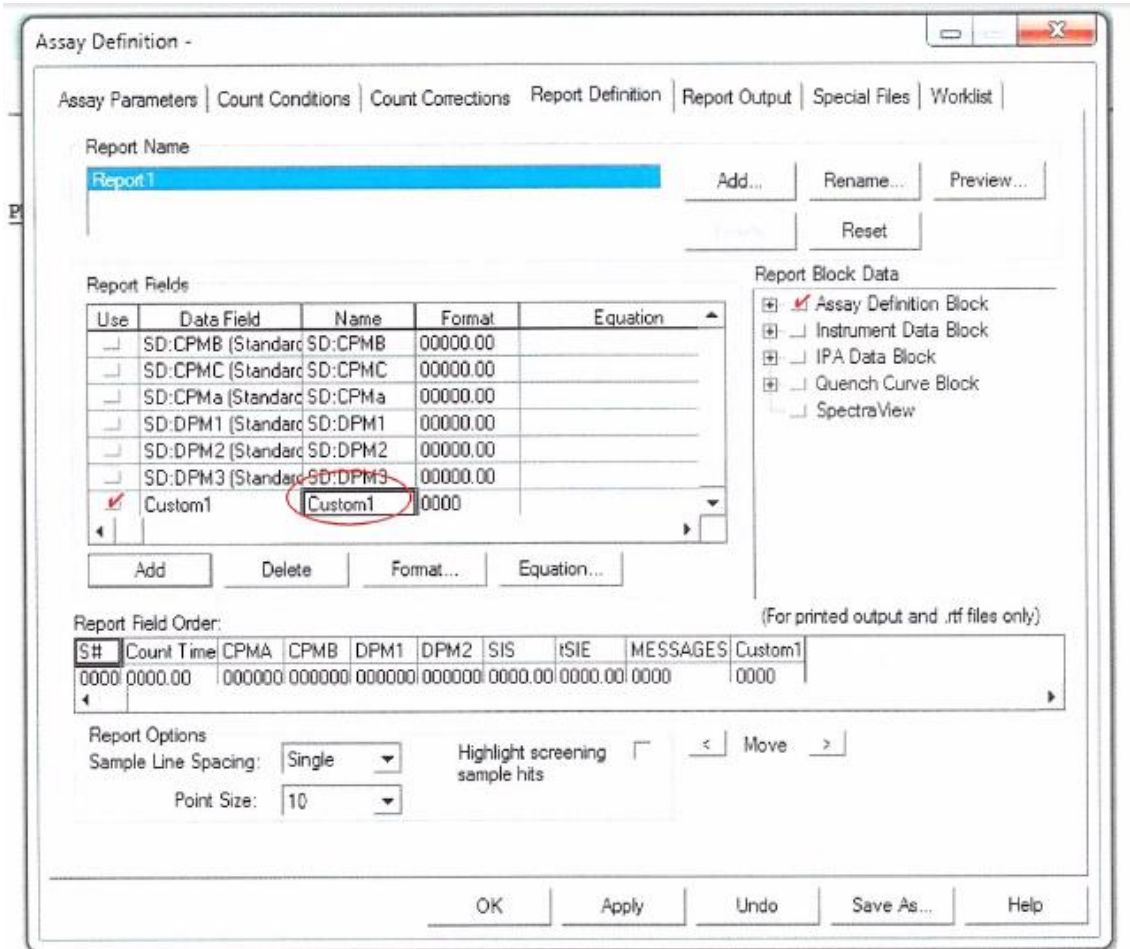


Fig.A14. Modificaciones en el reporte para agregar actividad específica y dosis.

Sobre la columna de "Name" reemplazar la palabra Custom1 por uCi/l H3, por ejemplo. Luego clicar en "Format" y aparecerá la siguiente pantalla:

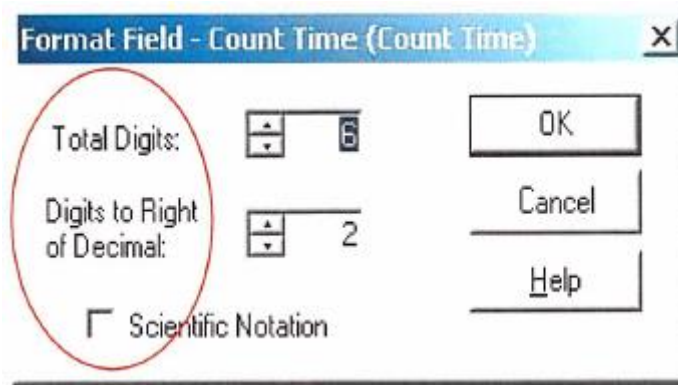


Fig.A15. Cantidad de dígitos con que se presentará el parámetro.

De esta manera se definirá el formato de los informes del campo de datos seleccionado.

Volviendo al recuadro de Report Definition, clicar en “**Equation**” de custom1, aparecerá el siguiente recuadro:

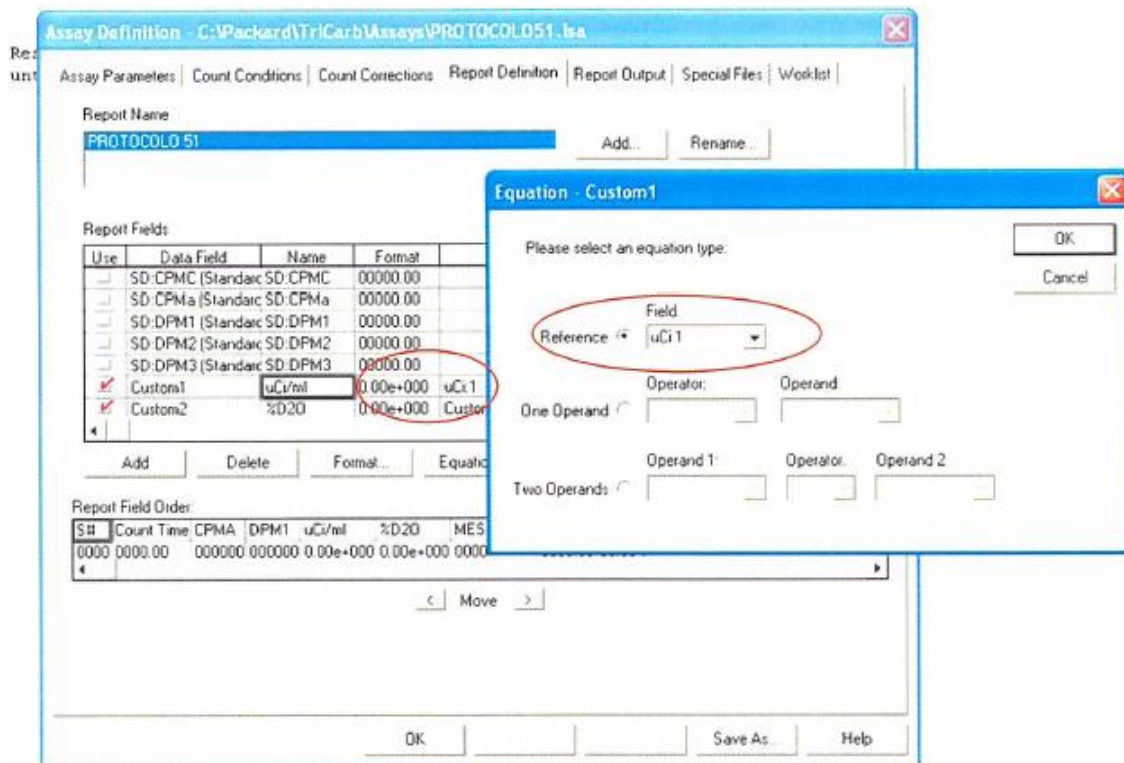


Fig. A16. Definición de las ecuaciones para el cálculo de dosis.

En Reference seleccionar uCi1. Esto es para 1mL de muestra por vial.

En equation tildar **two operands**.

En operand1: poner uCi1.

En operator, \* (multiplicación).

En operand2, el factor de actividad de H-3 vigente.

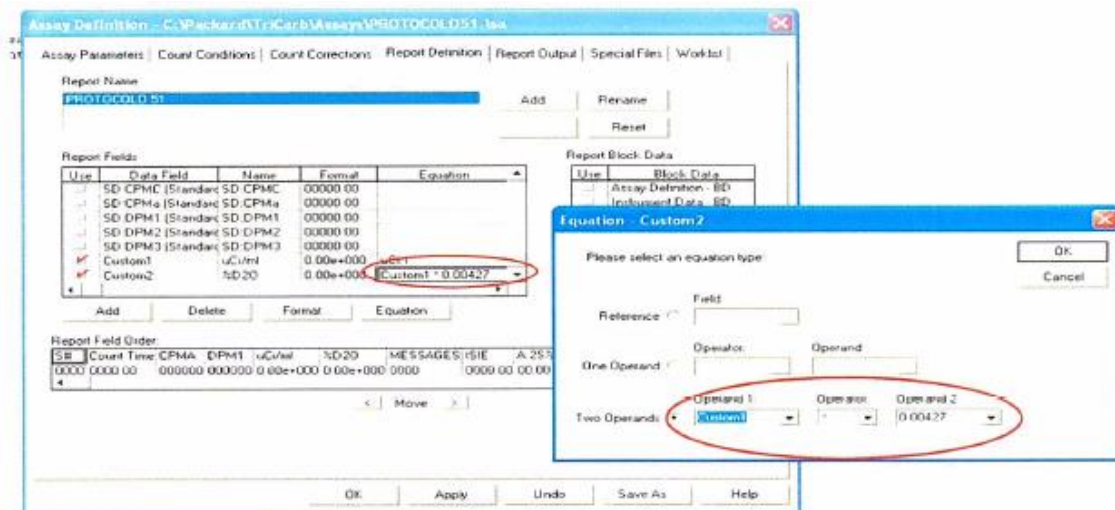


Fig. A17. Cálculo de dosis afectada por factor de actividad.

Finalmente, en **FILE NAME**: designarle un nombre al archivo que sea descriptivo al protocolo,. Clickear en **SAVE** y automáticamente se guardará el archivo en la carpeta **ASSAY**. Una vez que se haya guardado los parámetros del ensayo, es necesario asociar el ensayo a un número de protocolo. Para ello se debe proceder como sigue:

### 11.3 ASOCIACIÓN DEL PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN A UN NÚMERO DE PROTOCOLO DETERMINADO

Para finalizar con la realización de la curva de calibración, se debe asociar el protocolo de la curva a un número de protocolo o bandera-

Para ello se procede del siguiente modo:

-Definir un número de protocolo o bandera que no se encuentre en uso. En este trabajo, se definió el protocolo 16.

- En el árbol de protocolos de la fig. A18, hacer click derecho en el número de indicador de protocolo que se quiera asociar a la curva.



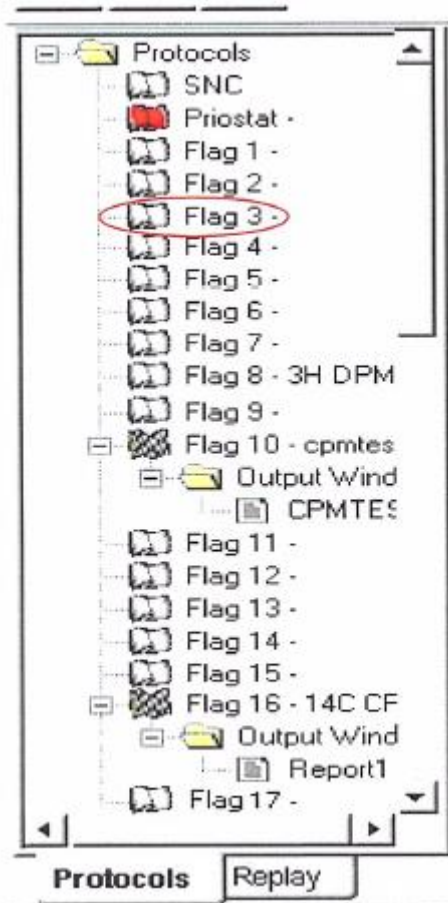


Fig. A18. Árbol de protocolos.

-Aparecerá el recuadro **Associate Assay** y aparecerá el siguiente recuadro:

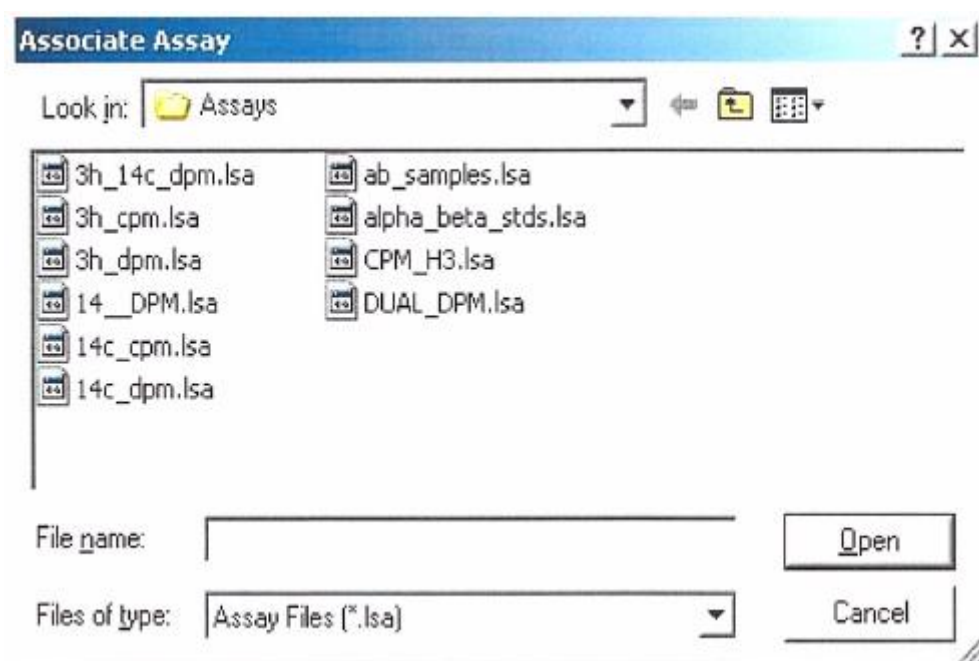


Fig. A19. Asociación de una curva de calibración al protocolo.

En el listado, clicar sobre el archivo correspondiente a la curva de calibración que se le designó a dicho protocolo y luego clicar **Open**.

-Aparecerá entonces el siguiente recuadro:

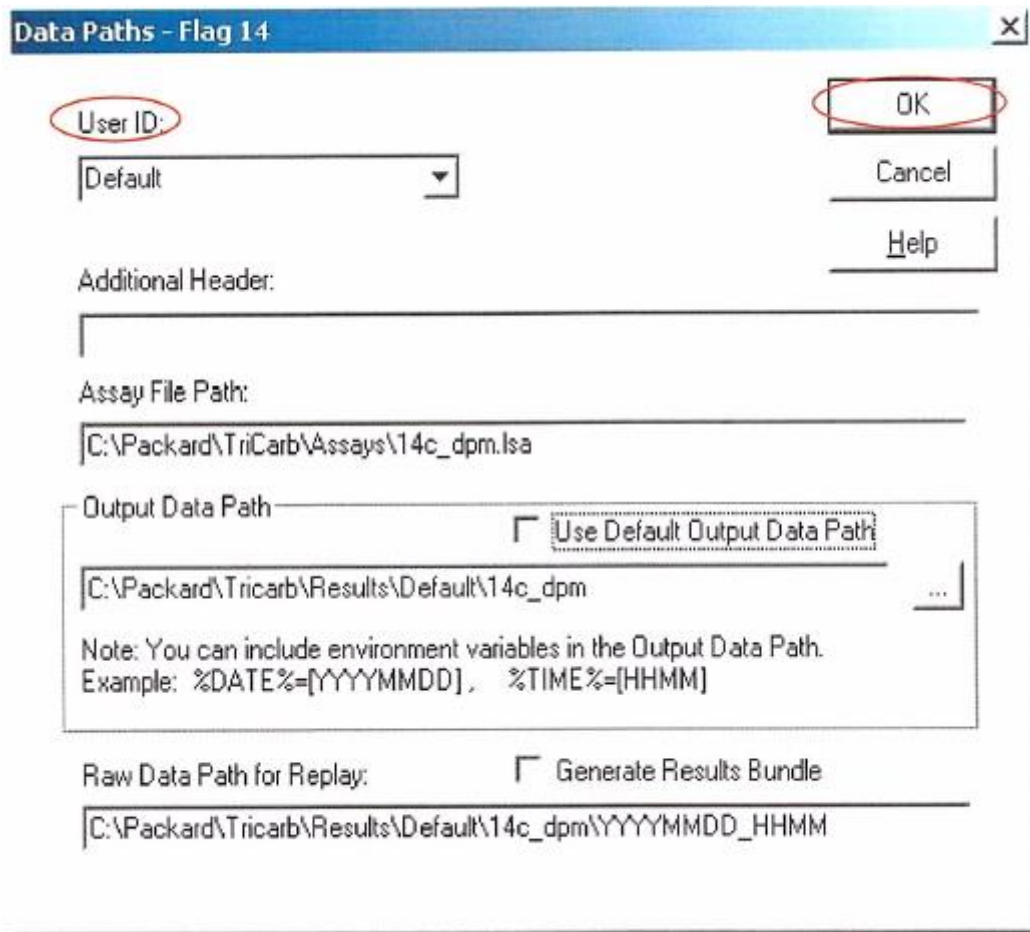


Fig.A20. Asociación de una curva a un protocolo.

Completar el recuadro de **User ID**, clicar en **OK**, y automáticamente se asociará el protocolo a la curva en cuestión.