

**SOLUÇÕES CINTILADORAS – APONTAMENTOS RELATIVOS À FÍSICA,
INSTRUMENTAÇÃO, METODOLOGIA E APLICAÇÕES PRÁTICAS**

Carlos Henrique de Mesquita

**INFORMAÇÃO IPEN 2
IPEN - Inf - 2**

MAIO/1980

CONSELHO DELIBERATIVO

MEMBROS

Dr. Luiz Cintra do Prado – Presidente

Dr. Edgardo Azevedo Soares Júnior – Vice-Presidente

CONSELHEIROS

Dr. Hécio Modesto da Costa

Dr. Ivano Humbert Marchesi

Dr. Admar Cervellini

Dr. Waldyr Muniz Olive

REPRESENTANTES

Dr. Jacob Charcot Pereira Rios

Dr. Paolo Enrico Maria Zaghen

SUPERINTENDENTE

Hermani Augusto Lopes de Amorim

**SOLUÇÕES CINTILADORAS – APONTAMENTOS RELATIVOS À FÍSICA,
INSTRUMENTAÇÃO, METODOLOGIA E APLICAÇÕES PRÁTICAS**

Carlos Henrique de Mesquita

**CENTRO DE APLICAÇÕES BIOMÉDICAS DE RADIOISÓTOPOS E RADIAÇÕES
CABRR - AAMRR 1**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO -- BRASIL**

Série INFORMAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

E41

E42

LIQUID SCINTILLATION DETECTORS: Scintillation counters

RADIATION DETECTORS: Liquid scintillation detectors

SCINTILLATION COUNTERS: Liquid scintillations detectors

SCINTILLATION QUENCHING: Liquid scintillation detectors

LIQUID SCINTILLATORS: Phosphors

FLUORESCENCE: Luminescence

BETA SPECTROMETRY: Beta detection

PHOSPHORS: Phosphorescence

PHOSPHORESCENCE: Luminescence

RADIOIMMUNOASSAY: Isotope applications

SUMÁRIO

	Página
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Propriedades Essenciais, Interação e Alcance das Partículas Beta	2
RESUMO DO CAPÍTULO 1	6
2 – PRINCÍPIOS DO MÉTODO	7
2.1 – Introdução	7
2.2 – Conversão da Energia da Radiação em Excitação das Moléculas do Solvente	7
2.3 – Transferência da Energia nas Moléculas do Solvente	8
2.4 – Transferência da Energia entre Moléculas SOLVENTE → SOLUTO	9
2.5 – Processos de Desexcitação Radiante das Moléculas: Luminescência, Fluorescência e Fosforescência	10
2.6 – Processo da Transferência de Energia entre Moléculas SOLUTO PRIMÁRIO 'Y' → SOLUTO SECUNDÁRIO 'Z'	10
3 – DIAGRAMAS DE BLOCOS DO EQUIPAMENTO	10
3.1 – Introdução	10
3.2 – Efeito da Temperatura no Ruído de Fundo	11
3.3 – Alguns Componentes Eletrônicos de Destaque no Equipamento	12
3.3.1 – FM → Fotomultiplicadora	12
3.3.2 – Unidade de Alta Tensão	13
3.3.3 – Pré-Amplificadores	13
3.3.4 – Somador de Sinais	13
3.3.5 – Circuito Logaritmador	14
3.3.6 – Amplificadores	15
3.3.7 – Circuito Porta (GATE)	15
3.3.8 – Circuito de Coincidência	15
3.3.9 – Analisador de Altura de Pulso	15
3.3.10 – Registradores	16
3.3.11 – Circuito Antiempilhamento	16
4 – EFEITO DA REDUÇÃO DA EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE FÓTONS NA SOLUÇÃO CINTILADORA – 'QUENCH'	16
4.1 – 'Quench' Físico (côr)	16
4.2 – 'Quench' Químico	17

	Página
4.3 – Efeito dos Processos de ‘Quench’ na Análise de Espéctros	17
4.4 – Determinação da Eficiência de Contagem pelo Método da Razão de Canais	17
4.5 – Método da Razão de Canais Utilizando Contagens de Fonte Gama Externa à Amostra	19
4.6 – Método do Padrão Interno	21
RESUMO DO CAPÍTULO 4	21
5 – TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES CINTILADORAS	21
5.1 – Introdução	21
5.2 – Escolha dos Solventes	22
5.3 – Classificação dos Solventes quanto ao seu Emprego em Soluções Cintiladoras	24
5.4 – Grau de Pureza dos Solventes	24
5.5 – Escolha dos Solutos	25
5.6 – Terminologia	26
5.7 – Relação entre a Concentração do Cintilador e a Eficiência da Solução	26
5.8 – Ajuste do Espectro de Fluorescência a Sensibilidade do Fotocatodo – (Fator de Matching).	26
5.9 – Critério Quantitativo de Escolha do Cintilador para Amostras sem ‘Quench’ de Cór	29
6 – CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ALGUNS CINTILADORES	29
6.1 – p-Terfenil	29
6.2 – PPO → 2,5-Difeniloxazol	29
6.3 – PBD e butil-PBD	30
6.4 – BBOT – (2,5-bis-2-(5-t-butil benzoxazolil) Tiofeno	30
6.5 – Resistência ao ‘Quench’	30
7 – ESCOLHA DOS SOLUTOS SECUNDÁRIOS	31
7.1 – Índice de Mérito para as Soluções Ternárias XYZ	31
7.2 – Protocolo para a Determinação das Concentrações Ideais de Dois Cintiladores	32
7.3 – Alguns dos Cintiladores Secundários Frequentemente Utilizados	33
8 – TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS RADIATIVAS PARA A DETECÇÃO COM SOLUÇÕES CINTILADORAS	33
8.1 – Introdução	33
8.2 – Soluções Aquosas	35
8.3 Diagramas de Fase e Índice de Mérito EV	35

	Página
9 – EMULSÕES DE CONTAGEM	37
9.1 – Introdução	37
9.2 – Eficiência de Contagem em Função do Volume Aquoso	37
9.3 – Determinação das Proporções Ideais dos Constituintes das Emulsões	39
9.4 – Determinação da Eficiência de Contagem das Emulsões	41
10 – APÊNDICE → INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS DOS CINTILADORES	43
11 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

SOLUÇÕES CINTILADORAS – APONTAMENTOS RELATIVOS À FÍSICA, INSTRUMENTAÇÃO, METODOLOGIA E APLICAÇÕES PRÁTICAS

Carlos Henrique de Mesquita

RESUMO

A mensuração de emissores beta de baixa energia, em particular trítio e carbono-14, tornou-se a etapa final da quase totalidade dos procedimentos analíticos que envolvem constituintes corpóreos orgânicos ou substâncias de interesse biológico que não possam ser marcadas convenientemente com outros radionuclídeos.

Devido a extremamente baixa eficiência ou mesmo a impossibilidade de medi-los pelos métodos convencionais (cintiladores sólidos, contadores gasosos, etc.) levou ao desenvolvimento de técnicas que utilizam soluções cintiladoras líquidas. A possibilidade de se obter geometria de contagem de 4π para a fonte radioativa, incrementou enormemente a eficiência dos sistemas de detecção que utilizam as soluções cintiladoras, permitindo eficiência global da ordem de mais de 50% para ^3H e ^{14}C .

As bases teóricas do emprego dessas soluções, os sistemas eletrônicos em bloco, as características químicas e físicas dos cintiladores e dos solventes utilizados, os critérios para a seleção dos mesmos e os cuidados no preparo das amostras para a determinação de atividade foram reunidos nestes APONTAMENTOS.

Intencionalmente foram chamados de APONTAMENTOS, pois constam de uma coletânea de informações (por vezes difíceis de serem obtidas pelos não iniciados ou pelos que não dispõem de recursos bibliográficos amplos) que embora seguindo uma linha racional na oferta das informações, não constituem um corpo homogêneo de doutrina e de prática.

As referências bibliográficas foram selecionadas no sentido de oferecer, a quem deseje um aprofundamento pouco maior, poder se iniciar no campo do emprego de soluções cintiladoras em área biológica.

1 – INTRODUÇÃO

Compostos de pequeno peso molecular como os esteróides, prostaglandinas, digitálicos e drogas diversas são oferecidos comercialmente marcados com os radioisótopos trítio ^3H (meia vida física $t_{1/2} = 12.26$ anos) ou ^{14}C ($t_{1/2} = 5570$ anos) e podem ser usados com relativo êxito em ENSAIOS RADIOLIGANTES.

A marcação de produtos com esses dois elementos apesar de não oferecer a simplicidade operacional das radioiodações é compensada pela:

- a) alta estabilidade e identidade estrutural que esses traçadores conferem as moléculas orgânicas pelo fato de não serem estranhos as mesmas.
- b) disponibilidade e oferta a custo relativamente baixo.

A utilização do ^{14}C restringe acentuadamente a sensibilidade do radioensaio em virtude da sua elevada meia vida física e por essa razão a experiência o tem preterido em favor do ^3H .

Aprovada para publicação em Maio/1980.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do Autor.

No texto subsequente será dado ênfase as radiações beta do ^3H , ^{14}C e eventualmente do ^{32}P em vista dos níveis energéticos dessas radiações serem especialmente adequados a metodologia do sistema líquido cintilador.

Durante as atividades diárias de um laboratório ocorre com frequência ter de decidir ou propor técnicas de medidas para a determinação da radioatividade de amostras. Nessas circunstâncias é necessário conhecer, pelo menos a nível básico, as propriedades e processos de interação da radiação com a matéria. Certamente serão essas informações que permitirão utilizar adequadamente a metodologia dos radioisótopos β emissores de baixa energia.

1.1 – Propriedades Essenciais, Interação e Alcance das Partículas Beta

Existem dois tipos de partículas β : o nêutron (β^-) e o pósitron (β^+). As partículas β^- são elétrons que tiveram sua origem no decaimento radioativo, possuindo as mesmas propriedades desses elétrons.

Quando o núcleo possui excesso de nêutrons em relação ao seu isóbaro (mesmo número de massa) mais estável, consegue alcançar maior estabilidade rearranjando-se internamente mediante a emissão do nêutron (β^-), conforme esquema:

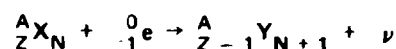


Ao contrário quando o núcleo apresenta excesso de prótons em relação ao isóbaro mais estável, o núcleo tende a estabilidade pelo incremento de um nêutron conseguido as custas de dois fenômenos nucleares alternativos:

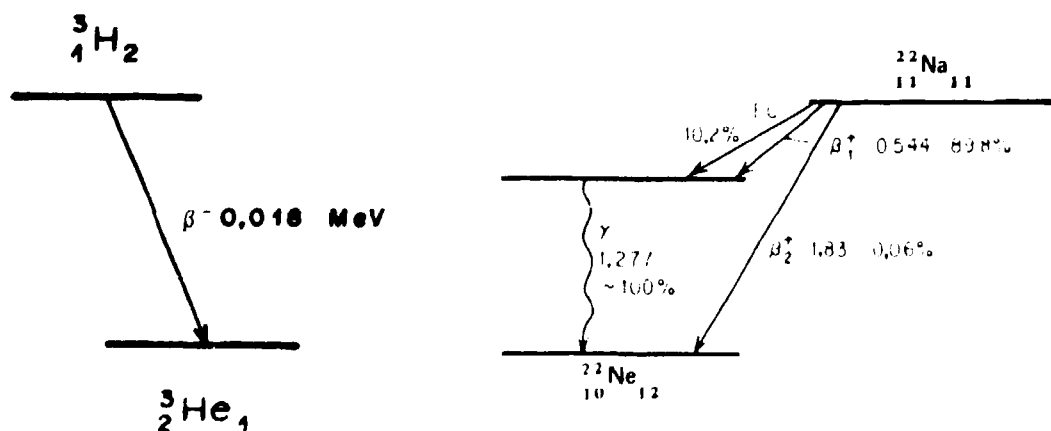
- 1) Pela emissão do pósitron (β^+)



- 2) Pela captura de um elétron pelo núcleo atômico (captura de elétrons, abreviadamente EC)

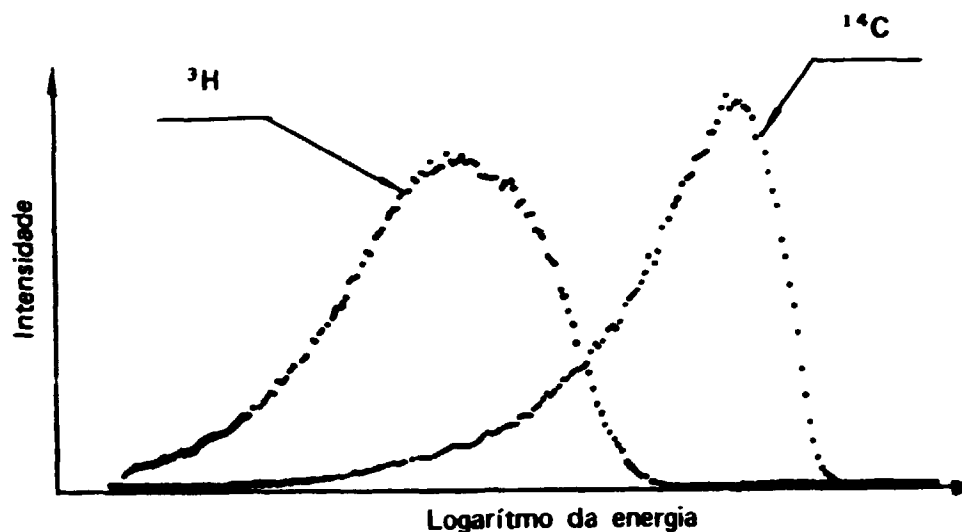


As figuras a seguir ilustram o decaimento de nuclídeos segundo o esquema dos três fenômenos nucleares citados.



Em todos esses esquemas de decaimento aparece a entidade neutrino (ν) ou antineutrino ($\bar{\nu}$) que corresponde a uma partícula de massa de repouso igual a zero e desprovida de carga elétrica.

Quando da emissão de qualquer partícula beta a energia correspondente a transição nuclear é compartilhada entre a partícula beta, o neutrino e uma parcela que permanece no núcleo desintegrado (energia de recuo, semelhante ao recuo da massa de um canhão que dispara). Apesar da transição nuclear ter carácter discreto o espectro beta é contínuo conforme se infere das curvas espectrais dos radioemissores beta ^3H e ^{14}C a seguir:



Não obstante a distribuição de energia da partícula beta ser contínua, costuma-se caracterizá-la pela energia máxima de emissão. Nesse particular nível de energia a partícula beta assume toda a energia disponível, nada cabendo ao neutrino na partição da energia cinética. A Tabela 1.1.A mostra alguns radioemissores de interesse marcante na área das biociências, indicando suas meias vidas físicas ($t_{1/2}$) e suas energias características.

Naturalmente, certas informações de ordem prática podem ser melhor manipuladas conhecendo-se o valor médio da energia de emissão da partícula beta.

Um modo prático de estimar essa "energia média" consiste na aplicação da fórmula empírica:

$$\bar{E} = 1/3 E_{MAX}$$

A Tabela 1.1.B sumariza algumas propriedades das radiações beta que permitem o cotêjo das mesmas com os respectivos valores de outras radiações. Como se pode inferir a partícula beta possui pequeno alcance na matéria e é relativamente menos ionizante do que a partícula alfa (cerca de 25 X

Tabela L.1A

Alguns Radioisótopos que Podem ser Mensurados com o Sistema Líquido Cintilador

ISÓTOPO	TIPO DE PARTÍCULA	ENERGIA (MeV)	MEIA-VIDA
^3H	β^-	0.018	12.3 anos
^{14}C	β^-	0.156	5688 anos
^{22}Na	β^+ γ † γ †	0.54 1.277 0.51	2.58 anos
^{24}Na	β^- γ	1.30 1.37; 2.75	14.97 horas
^{32}P	β^-	1.71	14.22 dias
^{35}S	β^-	0.167	87 dias
^{36}Cl	β^-	0.714	3.08×10^5 anos
^{40}K	β^- γ raios-X	1.33 1.46 0.0032	1.25×10^9 anos
^{45}Ca	β^-	0.254	164 dias
^{51}Cr	γ raios-X	0.325 0.0055	27.8 dias
^{55}Fe	raios-X	0.0065	2.60 anos
^{59}Fe	β^- γ	0.27; 0.46 1.1; 1.3	45.1 dias
^{63}Ni	β^-	0.067	125 anos
^{65}Zn	β^+ (1.5% do decaimento) γ raios-X	0.324 1.12 0.009	245 dias
^{90}Sr	β^-	0.545	27.7 anos
^{125}I	γ raios-X	0.036 0.033	60 dias
^{129}I	β^- γ	0.15 0.038	1.7×10^7 anos
^{131}I	β^- γ	0.336; 0.608 0.284, 0.384 0.637	8.08 dias
$^{137}\text{Cs}/$ $^{137\text{m}}\text{Ba}$	β^-	0.514; 1.20 0.66	26.6 anos

† Radiação de Aniquilamento

Tabela 1.1B
Propriedades das Radiações

RADIÇÕES	CARGA	INTERVALO DE ENERGIA	INTERVALO DE ALCANCE		ORIGEM	IONIZAÇÃO ESPECÍFICA APROXIMADA
			AR	ÁGUA		
			Partículas			
Alfa	+ 2	3-9 MeV	2-8 cm	20-40 μ	Núcleo pesado	2.500
Beta β^-	1	0-3 MeV	0-10 m	0-1 mm	Núcleo com alta razão n/p	100
β^+	+ 1	0-3 MeV	0-10 m	0-1 mm	Núcleo com baixa razão n/p	100
Néutrons	0	0-10 MeV	0-100 m	0-1 m	Bombardamento nuclear	0.1
Electromagnética						
Raios X	Desprovida	ee-1000 KeV	mm-10 m	μ -cm	Transições entre orbitais eletrônicas	10
Raios γ	Desprovida	10 KeV - 10 MeV	cm-100 m	mm-10 cm	Transições nucleares	1

menos). Essas propriedades a tornam comparativamente pouco competentes para sensibilizarem os detectores mais convencionais como os representados na figura a seguir:

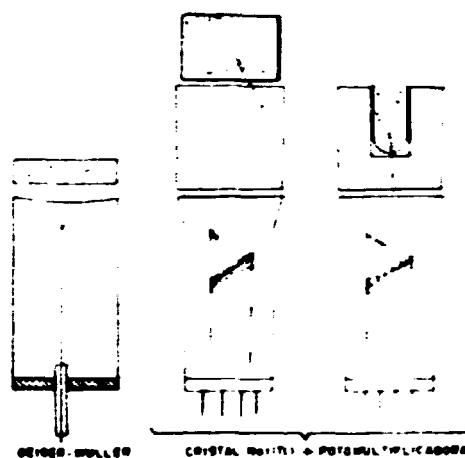


Figura 1.2 – Esquema simplificado de alguns detectores apropriados a detecção de radiações que conseguem vencer a barreira da autoabsorção
 A - Detector Geiger-Müller
 B - detector cintilador sólido de NaI(Tl) plástico com face plana
 C - Detector cintilador sólido tipo poço

As partículas beta sofrem acentuadamente o efeito da auto absorção, i.e., o próprio meio da amostra absorve parte ou toda a radiação, limitando sua detecção.

O efeito da autoabsorção é contornado se a amostra for dispersa no próprio meio detector. Essa possibilidade foi demonstrada no início da década de 50 quando se descobriu que certas substâncias quando dissolvidas em solventes orgânicos eram capazes de produzir um sinal luminoso mensurável quando atingidas por radiações ionizantes. De acordo com essa técnica de contagem a amostra radioativa é solubilizada ou dispersa na solução cintiladora, criando condições de geometria de contagem altamente eficiente, contornando assim, o efeito da autoabsorção da radiação.

Na solução cintiladora a radiação ionizante (α , β , γ , X, etc) dissipa inicialmente sua energia interagindo com as moléculas do solvente. Certa fração dessa energia é convertida na emissão de fótons de luz mediante fenômenos típicos da luminescência. Esses mecanismos serão mais detalhadamente abordados em capítulos subsequentes.

RESUMO DO CAPÍTULO 1

O detector de líquido cintilador (LC) apresenta elevada eficiência global de contagem o que o torna preferido sempre que esta qualidade seja essencial.

Devido a alta sensibilidade e facilidade operacional tem sido aplicado em larga escala no estudo da datação de amostras, controle ambiental e determinações micro analíticas, tais como: determinação de elementos traços em amostras orgânicas e inorgânicas. A atual aplicação dos radioensaios vem popularizando ainda mais o LC junto aos laboratórios de análises clínicas.

A sua capacidade de distinguir energias γ (ou X) próximas (decorrente da resolução intrínseca é relativamente precária devido a baixa densidade dos componentes do LC, sendo utilizado, entretanto, na mensuração de radioemissores que emitem fótons de baixa energia, como por exemplo ^{55}Fe (6.5 keV).

De um modo geral o LC é utilizado mais frequentemente na detecção de amostras de radioemissores β de baixa energia.

O quadro a seguir compara algumas das características do LC com as de outros sistemas em uso corrente.

Análise Comparativa das Principais Características dos Diversos Detectores

DETECTOR	EFICIÊNCIA	SENSIBILIDADE	RESOLUÇÃO	CUSTO DO EQUIPAMENTO	CUSTO/ AMOSTRA
GEIGER-MULLER	•	•	•	■	~
CRISTAL NaI(Tl)	•	~	■	■	■
PLÁSTICOS	•	~	~	■	■
SEMI-CONDUTORES	•	~	■	~	~

~ = Semelhantes

• = Vantagem do cintilador líquido

■ = Desvantagem do líquido cintilador

2 – PRINCÍPIOS DO MÉTODO

2.1 – Introdução

O detetor que utiliza o líquido cintilador (LC) é constituído de:

- 1) solução cintiladora (solvente + soluto) capaz de emitir fótons de luz ao interagir com radiações
- 2) sistema que transforma os fótons de luz num fluxo de elétrons que possa ser convertido num pulso elétrico.

A solução cintiladora é basicamente composta por um solvente aromático 'X' (tolueno, p-xileno dentre outros), um soluto primário 'Y' (PPO, butil-PBD etc) cuja concentração é $[Y] \sim 10^{-2}$ M e, via de regra, por soluto secundário 'Z' de concentração $[Z] \sim 10^{-3}$ M.

Nesta solução a radiação nuclear dissipa inicialmente sua energia no solvente X e uma fração dessa energia é convertida na emissão de fótons de luz.

Esta solução binária XY ou ternária XYZ, em contacto com o ar, satura-se de oxigênio numa proporção de $[O_2] = 2 \times 10^{-3}$ M, a menos que seja desoxigenada pelo borbulhamento de nitrogênio ou outro recurso qualquer.

A adição do material radioativo na solução cintiladora introduz impurezas 'Q' no meio cintilador. Essas impurezas podem variar com a composição do próprio material da amostra ou são introduzidas na forma de solubilizantes, dispersantes, descolorantes e outros agentes eventualmente empregados com a finalidade de melhorar as características finais da solução cintiladora.

2.2 – A Conversão da Energia de Radiação em Excitação das Moléculas do Solvente

Numa solução pura do tipo 'XY' ou 'XYZ', devido a considerável predominância ($\sim 1000/1$) das moléculas do solvente 'X', a energia da radiação ionizante é transferida, primeiramente para as moléculas deste, salvo quantidades desprezíveis transferidas diretamente as outras espécies moleculares (Y, Z, O_2 , Q).

As radiações nucleares podem interagir com as moléculas X do solvente por diferentes processos, produzindo íons, liberando radicais, provocando reações, alterando o estado vibracional, rotacional e cinético das moléculas e elevando os níveis energéticos dos orbitais eletrônicos.

Somente cerca de 5% da energia da radiação ionizante é transformada em luminescência, o remanescente é dissipado em outras formas de energia (calor p.ex.).

É a energia de excitação eletrônica a responsável pela luminescência. Os processos acima mencionados podem eventualmente conduzir a excitação dos orbitais eletrônicos, como por exemplo as moléculas ionizadas ao se recombinarem com elétrons lentos originam moléculas excitadas.

O estado não excitado dos elétrons ' π ' das moléculas aromáticas é denominado de **estado fundamental singuleto**, símbolo S_0 , e caracterizado pelo emparelhamento dos spins eletrônicos. Quando esses elétrons ' π ' são excitados, ocorrem duas alternativas:

- 1) saltam para estados singuletos ocupando níveis mais elevados $S_1, S_2, S_3, \dots, S_n$ onde mantem-se o emparelhamento dos spins eletrônicos;

- 2) saltam para estados tripletos T1, T2, T3, ..., Tn ocorrendo o desemparelhamento dos spins.

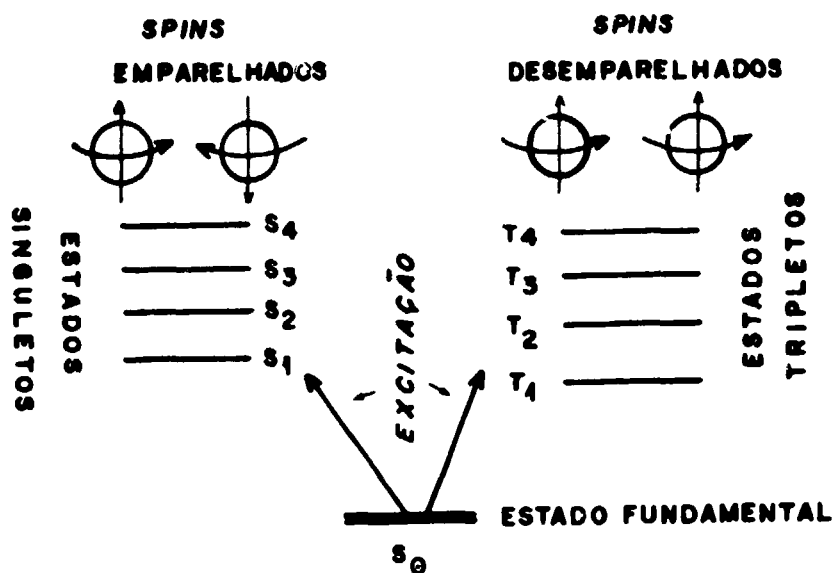
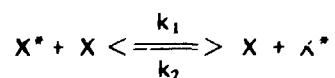


Figura 2.2 – Esquema do processo de excitação para os níveis singuletos ou tripletos

Tanto os estados singuletos como os tripletos possuem níveis de energia até o potencial de ionização da molécula.

2.3 – Migração da Energia nas Moléculas do Solvente

Em certas espécies moleculares a desexcitação da energia dos diversos níveis singuletos para o nível fundamental S_0 , de maior estabilidade, compete com o processo de migração da energia para moléculas adjacentes. Essa transferência de energia pode ser esquematizada pela reação:

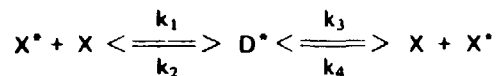


onde X^* corresponde a molécula excitada enquanto X a molécula adjacente que absorve a energia de excitação. A reação em epígrafe ocorre em tempos da ordem de 10^{-11} segundos.

A migração de energia entre moléculas pode ser explicada segundo três teorias: a) difusão térmica, b) formação de dímeros e c) interação do tipo dipolo-dipolo.

De acordo com a teoria da difusão térmica as moléculas de uma solução estão em contínuo movimento (movimento browniano) e deste modo a molécula excitada X^* ao colidir com outra não excitada X transfere sua energia, e assim numa sucessão de eventos, permitiria a migração da energia de excitação. Entretanto os valores experimentais da constante de transferência 'k' mostram-se discrepantes daqueles estimados pela teoria levando a supor que na migração da energia devem ocorrer outros processos.

Tem-se explicado a migração da energia na solução controladora utilizando-se modelo de reação que leva a formação do dímero, conforme esquema:



onde D^* é o dímero excitado formado. O dímero após criado tem vida efêmera de 10^{-12} segundos.

A terceira tentativa de explicar a migração de energia nas moléculas pressupõe a existência de interações a distância entre os dipolos moleculares, quando então, ocorreria a transferência. A amplitude da interação a distância por dipolo-dipolo mostra entre outros fatores, intrínseca relação com o ajustamento do espectro de emissão fluorescente do solvente com o espectro de absorção do soluto.

É importante salientar que todas essas teorias admitem que a eficiência do processo de migração poderá ser comprometida pela introdução de diluidores ou pela presença de impurezas (Q ou O), as quais impediriam a transferência de energia devido:

- não permitir o contato das moléculas X^* e X e
- despojar da energia de excitação a molécula X^* e consumindo-a em outras transformações físico-químicas.

Esses fenômenos causariam atenuação da intensidade da cintilação, efeito esse denominado de **extinção** ou 'quench'.

2.4 – Transferência de Energia entre Moléculas SOLVENTE → SOLUTO

O esquema de transferência da energia de excitação das moléculas do solvente para as moléculas do soluto é explicado de forma semelhante ao item 2.3, isto é, através da teoria dos dímeros e interações a distância tipo dipolo-dipolo. A Figura 2.4 esquematiza o processo de migração de energia entre as moléculas e a desexcitação por fluorescência:

SOLVENTE → SOLVENTE → → SOLVENTE → SOLUTO → FLUORESCÊNCIA

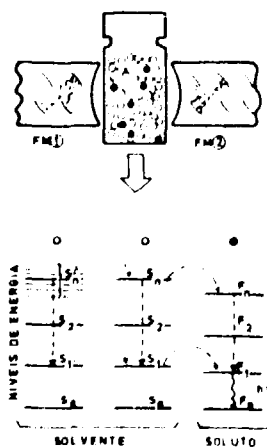


Figura 2.4 Esquema de transferência da energia de excitação. Primeiramente a energia migra nas moléculas do solvente \circ até que seja capturada pelas moléculas do soluto cintilador \bullet . Neste, o processo de fluorescência é altamente provável. Observar que os níveis excitados das moléculas do solvente são ligeiramente superiores aos níveis do soluto cintilador. Esse 'degrau' de energia é convertido em outras formas de energia (calor, p.ex.)

2.5 – Processos de Desexcitação Radiante das Moléculas: Luminescência, Fluorescência e Fosforescência

O decaimento da energia de excitação eletrônica inclui uma seqüência de eventos radiante (com emissão de fótons de luz) e não radiante conforme diagrama de Jablonski, a seguir: a fluorescência e a fosforescência são aqueles de maior importância na utilização do líquido cintilador.

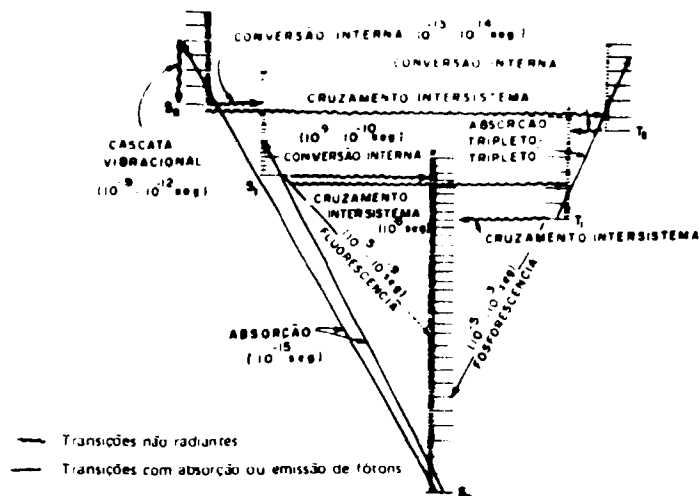


Figura 2.5 – Esquema simplificado dos processos prováveis de conversão de energia, proposto por Jablonski

Anteriormente havia-se usado indiscriminadamente o termo 'luminescência' para descrever a emissão de fótons de luz. Luminescência é o termo genérico para descrever a emissão de luz pelas espécies excitadas. A fluorescência descreve a emissão de fótons provenientes da transição do tipo $S \rightarrow S_0$, enquanto a fosforescência denota a luminescência devida a transferência dos estados tripletos $T \rightarrow S_0$. A fluorescência responde propriamente pelo processo de cintilação normal numa solução cintiladora convencional enquanto a fosforescência está relacionada com certos aspectos do efeito de 'quench'.

2.6 – Processo de Transferência de Energia entre Moléculas: SOLUTO PRIMÁRIO 'Y' → SOLUTO SECUNDÁRIO 'Z'

Devido à pequena concentração das moléculas Z a probabilidade da ocorrência das interações tipo 'FORMAÇÃO DE DÍMERO' e DIPOLO-DIPOLO é relativamente baixa. As moléculas do soluto secundário 'Z' recebem a energia de excitação absorvendo os fótons de luz emitidos pelo soluto primário (foto-captura) na fluorescência. A seguir essas moléculas 'Z' se desexcitam também pelo processo da fluorescência. Esses novos fótons são emitidos com menor energia, isto é, maior comprimento de onda associado.

3 – DIAGRAMAS EM BLOCOS DO EQUIPAMENTO

3.1 – Introdução

A primeira solução cintiladora líquida proposta para a detecção de radiações foi desenvolvida em fins da década de 40 e era composta de p-Terfenil dissolvido em solventes aromáticos. Comparando-se essa solução com as misturas cintiladoras atuais, verifica-se que houve pouca mudança. Confronto análogo no que toca a instrumentação utilizada leva a conclusões diferentes. Os primeiros contadores eram basicamente os mesmos utilizados na mensuração da radiação gama, com inexpressivas adaptações.

A Figura 3.1 mostra o esquema em blocos do precursor dos modernos sistemas eletrônicos. Nesse sistema de contagem conseguia-se detectar a radiação do ^3H (trítio) com aproximadamente 15% de eficiência apesar do elevado 'background' que se aproximava de 1000 cpm.

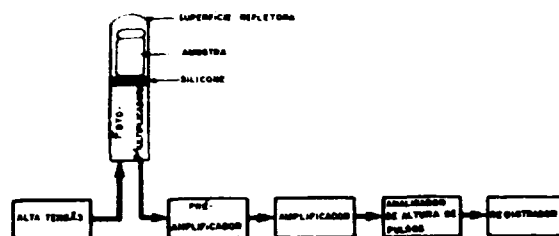


Figura 3.1 – Esquema em blocos do equipamento utilizado pelos pioneiros dessa metodologia

A principal contribuição desse 'background' origina-se do ruído eletrônico proveniente da fotomultiplicadora e do circuito amplificador.

A redução desse ruído envolvia um ciclo vicioso entre diminuir o ganho do amplificador compensando-o com o aumento da tensão de alimentação ou incremento dos estágios na válvula fotomultiplicadora. Todas essas alternativas implicavam também no acréscimo do ruído de contagem.

3.2 – Efeito da Temperatura no Ruído de Fundo

A Figura 3.2 mostra o efeito da temperatura sobre o ruído em dois tipos de fotomultiplicadoras. Em válvulas tipo S-11, considerada 'ruidosa', seria aconselhável operá-la em níveis de baixa temperatura, daí a incorporação de unidade de refrigeração encontrada nos instrumentos que utilizam esse tipo de fotomultiplicadora. A Figura 3.2 b refere-se a resposta de ruído para fotomultiplicadoras mais recentes tipo bi-alcálicas, denominadas de 'silenciosas'. Os equipamentos que dispõem dessas fotomultiplicadoras não necessitam da unidade de refrigeração para a exclusiva finalidade de redução do ruído termoiônico.

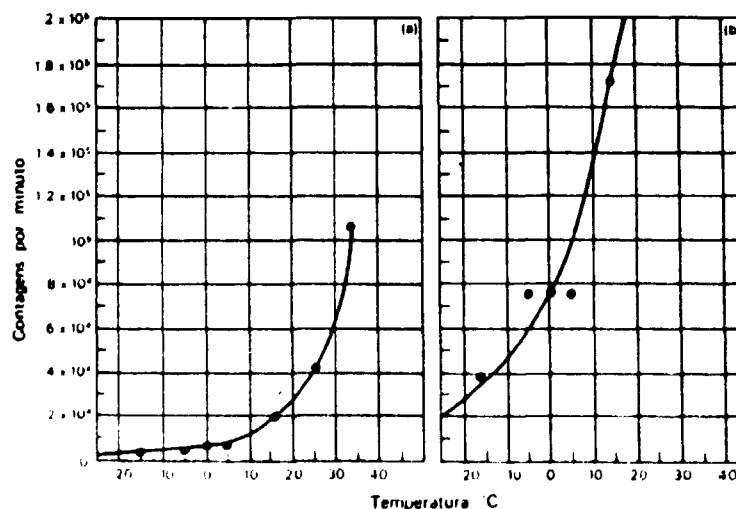


Figura 3.2 – Efeito da temperatura no ruído de contagem em fotomultiplicadoras: (a) 'ruidosas' e (b) 'silenciosas'

A redução da temperatura poderá também melhorar a eficiência de contagem quando se utilizam certos 'coquetéis' de contagem, conforme se infere da Figura 9.2.2 inserida no capítulo que trata das EMULSÕES DE CONTAGEM.

3.3 – Alguns Componentes Eletrônicos de Destaque no Equipamento

A utilização racional do equipamento LC impõe a compreensão de certos estágios eletrônicos que serão apresentados de forma sucinta. Para esse fim se utilizará do diagrama em blocos da Figura 3.3, o qual esquematiza genericamente os equipamentos modernos.

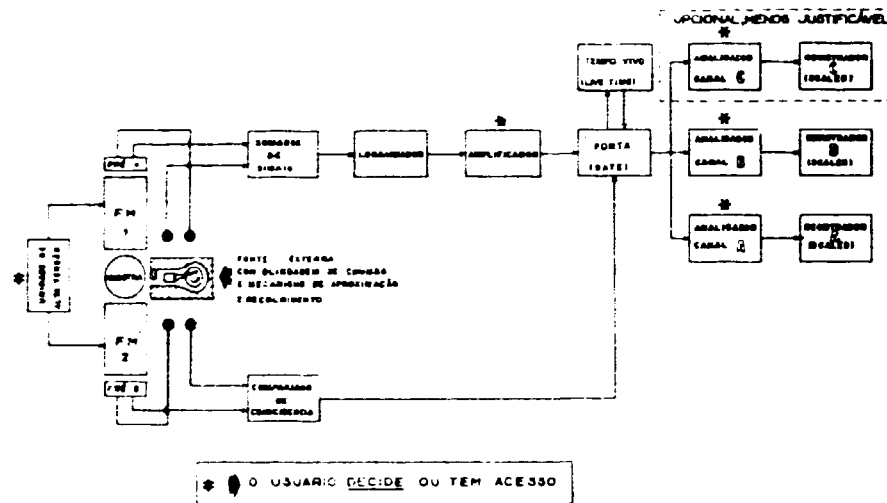


Figura 3.3 – Diagramas em blocos do sistema detector Líquido Cintilador

3.3.1 – FM → Fotomultiplicadora

A fotomultiplicadora FM é uma válvula eletrônica capaz de responder com um fluxo de elétrons a um sinal luminoso. A Figura 3.3.1, ilustra o esquema de uma fotomultiplicadora. Sua capacidade de ampliação pode ser equitativa pelo exemplo: para cada elétron ejetado do fotocátodo (sensível a luz) incidem cerca de 10^{10} elétrons no último dinodo (ânodo).

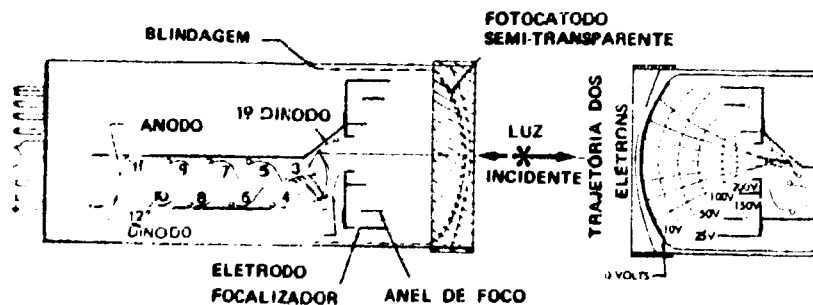


Figura 3.3.1 – Esquema de uma válvula fotomultiplicadora tipo Bi-Alcalina de 12 estágios

Parte A → vista geral

Parte B → destaque frontal da válvula mostrando as superfícies equipotenciais e as trajetórias dos fotoelétrons que incidem no primeiro dinodo

3.3.2 – Unidade de Alta Tensão

Para o adequado funcionamento da válvula fotomultiplicadora é necessário criar um gradiente de tensão no seu interior. Para essa finalidade submete-se a válvula a uma diferença de tensão da ordem de 700 a 2000 volts. O fluxo de elétrons, e consequentemente a capacidade de ampliação (ganho) da válvula, é função da tensão de alimentação.

Na maioria dos equipamentos o usuário tem acesso a essa unidade, devendo o mesmo selecionar a tensão que melhor convier as suas condições experimentais.

3.3.3 – Pré-Amplificadores

As fotomultiplicadoras guardam certa distância dos demais componentes eletrônicos devido a algumas imposições específicas do sistema. Quando a FM é acoplada ao restante do sistema por um cabo condutor longo, o sinal pode ser distorcido ou atenuado. Se o tempo de propagação do sinal por um cabo de determinado comprimento é curto quando comparado à duração do sinal a ele aplicado, o cabo condutor torna-se equivalente a um capacitor.

Em determinadas aplicações a carga capacitiva introduzida pelo cabo afeta o bom desempenho do sistema. Reduz-se este efeito excitando-se o cabo com uma fonte de baixa impedância.

Se os cabos utilizados forem longos ou quando se dispõe de pulsos rápidos, as propriedades de linha de transmissão do cabo se tornam dominantes. Nessas condições, além da carga capacitiva já mencionada, pode ocorrer reflexões na linha.

Este problema é contornado “casando-se” o cabo com sua impedância característica (50 – 150 Ω para a maioria dos cabos).

O pré-amplificador se presta essencialmente para reduzir o efeito do carregamento capacitivo introduzido por cabos longos e ‘casar’ impedâncias.

3.3.4 – Somador de Sinais

A Figura 3.3.4, associada com a tabela mostra o efeito da introdução do circuito somador de sinais das duas fotomultiplicadoras.

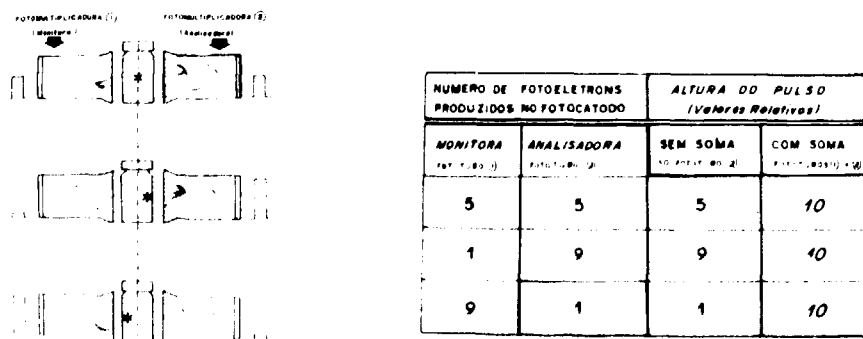


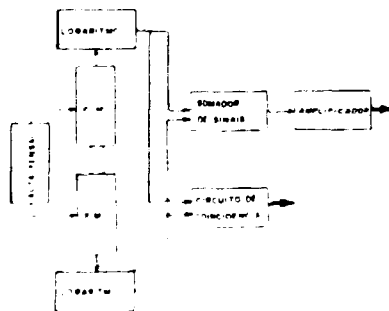
Figura 3.3.4 – Esquema demonstrativo do efeito local da cintilação no frasco de contagem e as respectivas respostas de duas fotomultiplicadoras hipotéticas denominadas de Analisadora e Monitora. Observar que em qualquer uma delas o sinal isoladamente é variável a despeito da hipótese de que nas três cintilações foram produzidos o mesmo número de fótons. A soma de sinais corrige esse efeito.

As vantagens da incorporação do circuito somador são as seguintes:

- 1) Aumenta-se o nível sinal a ser analisado sem o inconveniente aumento de ruído;
- 2) O sinal somado presta-se melhor para a análise espectrométrica. A Figura mostra que os sinais decorrentes da interação de radiações de mesma energia, porém originados em regiões distintas do frasco de contagem, podem acusar sinais diferentes em cada fotomultiplicadora;
- 3) Permite-se reduzir o ganho dos amplificadores reduzindo assim o ruído intrínsecos dos mesmos;
- 4) Embora possa não ser tão evidente, o circuito somador permite diminuir o lapso de tempo de comparação de coincidência de sinais nas duas fotomultiplicadoras;
- 5) Permite aumentar o número de estágios das fotomultiplicadoras e conseqüentemente aumentar o ganho das mesmas (maior sinal). Esse efeito acarreta o aumento do ruído, que no entanto é minimizado ao final, em virtude da vantagem número 4), já enumerada.

3.3.5 – Circuito Logaritador

Este circuito aparece em alguns equipamentos e é justificado pelo amplo intervalo dinâmico (fundo de escala) de energia que pode ser analisado sem modificações de calibração do equipamento. A título de ilustração, este circuito economiza 18 a 21 controles de um equipamento desprovido do circuito logaritador. A sua disposição no circuito lógico poderá ser outra daquela do esquema em epígrafe, como é o caso do sistema 'front-end' da Beckman. Nesse caso o circuito logaritador é colocado a seguir do pré-amplificador, conforme esquema:



É necessário alertar que os equipamentos que dispõem do circuito logaritador modificam a forma dos espectros energéticos, que se mostram deformados pela transformação logarítmica imposta aos valores da abscissa. As figuras a seguir ilustram os espectros do ^3H e do ^{14}C , obtidos por: a) equipamento com circuito logaritador b) equipamento sem o circuito logaritador.

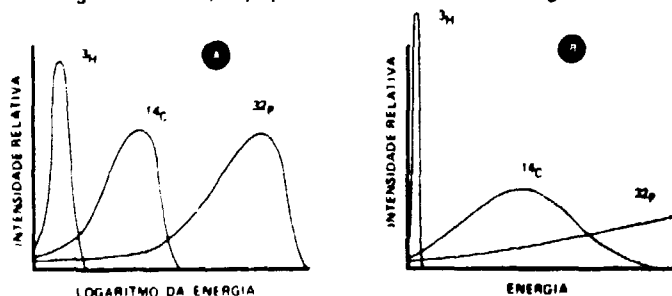


Figura 3.3.5 – Espectros analisados por equipamentos com resposta: (A) equipamento com circuito logaritador; (B) equipamento sem o circuito logaritador (resposta linear)

3.3.6 – Amplificadores

Sua função é amplificar convenientemente o sinal. O usuário tem acesso ao controle de ganho (ou atenuação), objetivando adequar a magnitude do sinal original (função da energia dissipada no detector) ao intervalo de análise (altura de pulso) do espectrômetro.

3.3.7 – Circuito Porta (GATE)

Esse componente tem a finalidade de abrir ou fechar o caminho do sinal para os demais estágios. Ele libera o sinal quando há simultaneidade de sinais nas duas fotomultiplicadoras, cancelando os sinais espúrios.

3.3.8 – Circuito de Coincidência

O próprio nome é suficiente para caracterizá-lo. Nos modernos equipamentos o espaço de tempo de comparação é da ordem de 20 a 30 nseg (nanossegundos). Se a frequência do ruído de cada fotomultiplicadora é da ordem de 10^6 ruídos/minuto, o circuito de coincidência reduz essa incidência para cerca de 1 ruído/minuto.

3.3.9 – Analisador de Altura de Pulso

Esse circuito é basicamente composto por dois discriminadores, que delimitam entre si um intervalo de altura de pulsos compatível com a progressão do sinal ao estágio eletrônico seguinte, ou seja o sistema registrador de eventos acusa somente os sinais que sejam simultaneamente:

- a) maiores que o estabelecido pelo discriminador inferior e
- b) menores que o estabelecido pelo discriminador superior.

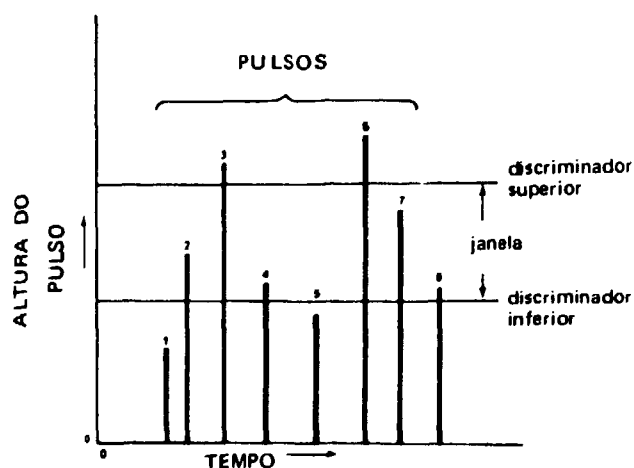


Figura 3.3.9 – Exemplo da ação dos dois discriminadores. Nesse caso somente os pulsos 2, 4, 7 e 8 são contados, os demais são rejeitados

Como a eficiência de contagem no sistema LC pode variar em função da concentração das impurezas 'Q', torna-se necessário dispor de um sistema que permita estimar com facilidade a eficiência de contagem de cada amostra. Isto é conseguido às custas de mais um analisador de sinais (canal). Normalmente os modernos equipamentos são equipados com dois ou três canais de análise. Com os

recursos desses canais adicionais costuma-se deixar cada canal pré-calibrado para mensurar dois radioisótopos, p.ex., ^3H , ^{14}C (e ^{32}P).

3.3.10 – Registradores

São partes do equipamento que acumulam (contam) cada sinal que consegue satisfazer todas condições estabelecidas (limiar, coincidência, discriminadores).

3.3.11 – Circuito Tempo Vivo (Live Time)

Quando incorporado no equipamento visa as determinações de amostras com alto nível de radioatividade. Quando dois eventos ocorrem num curto espaço de tempo, dois tipos de erros podem ocorrer:

- a) o segundo pulso é perdido na dependência do tempo morto do equipamento;
- b) o segundo pulso é adicionado ao primeiro (pulso empilhado)

A ocorrência descrita em b) acarreta ainda uma pseudo perda de resolução, visto que o espectro se apresenta distorcido.

Atualmente existem duas tendências para solucionar esse problema. Uma das alternativas é o desenvolvimento de circuitos eletrônicos mais rápidos. A segunda alternativa é a incorporação do circuito de tempo vivo. Esse circuito tem a função de interromper o relógio interno do equipamento durante o processamento do sinal de forma que somente é computado como tempo de medida aquele em que o sistema está apto para processar um pulso. Nessas condições o segundo pulso (ou demais) não é(são) contado(s) mas o tempo do equipamento foi compensado.

Nos sistemas providos do circuito de tempo vivo o tempo considerado pelo equipamento não coincide com o tempo real. Essa diferença é mais ou menos acentuada em função da atividade da amostra.

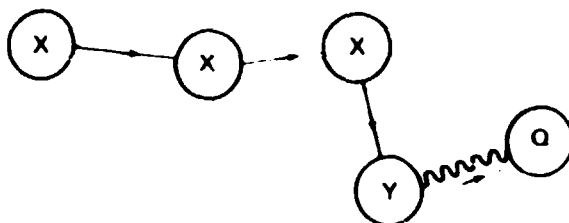
4 – EFEITO DA REDUÇÃO DA EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE FÓTONS NA SOLUÇÃO CINTILADORA – ‘QUENCH’

Como já se mencionou no capítulo 2.3 (pág.9) a eficiência do processo que transforma parte da energia da radiação em fótons de luz, mediante o processo da fluorescência, é comprometido pela introdução de impurezas genericamente denominadas de Q. Este efeito torna-se muito inconveniente quando desejamos comparar amostras com acentuada diferença de [Q].

4.1 – ‘Quench’ Físico (Cor)

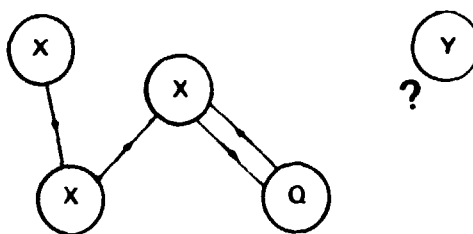
Nem sempre a transferência de energia para as moléculas da solução cintiladora se acompanha da fluorescência máxima possível. Ocorre por vezes, que a presença de moléculas ou partículas capazes de absorver fótons levam a um menor rendimento de luz e, conseqüentemente, a pulso elétrico de menor amplitude. O processo ‘quench’ físico é caracterizado por fenômenos exclusivamente de natureza física, ou mais sucintamente, fenômenos de conversão de energia.

A figura a seguir ilustra esquematicamente o ‘quench’ físico. Nesse caso, a molécula X absorveu a radiação, ocorreu a migração, a energia foi absorvida pela molécula Y do cintilador e foi emitido fóton de luz, entretanto esse fóton foi absorvido pela molécula Q do corante que poderá dissipá-la, p.ex., na modalidade de calor.



4.2 – ‘Quench’ Químico

Outro processo que inibe a emissão dos fótons é a interferência pela ocorrência de fenômenos de natureza química. Nesse esquema, ocorreu a migração da energia nas moléculas X porém o processo foi interrompido pela absorção da energia por uma molécula Q que a consumiu, induzindo fenômenos químicos. Neste exemplo, a molécula do cintilador Y não chegou a emitir fótons de luz.



4.3 – Efeito dos Processos de Quench na Análise de Espectros

É evidente que a redução da eficiência na produção de fótons provoca a diminuição do pulso produzido pela válvula fotomultiplicadora. A seqüência de figuras a seguir mostra o correspondente efeito no espectro de três amostras de um mesmo radionuclídeo porém contendo quantidades crescentes de impurezas Q (p.ex. Água).

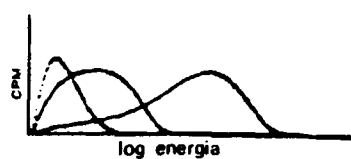


Figura 4.3 – Efeito da presença de impurezas na solução cintiladora. Aumentando-se a concentração das impurezas → o espectro é atenuado

Observa-se, nesses esquemas, que o espectro é atenuado com o aumento da concentração Q.

4.4 – Determinação da Eficiência de Contagem pelo Método da Razão de Canais

O nível de atenuação do espectro pode servir de índice de eficiência. Utilizando-se dois canais de análise, um canal A poderá ‘ver’ todo o espectro enquanto outro canal B poderá ‘ver’ somente a primeira parte desse mesmo espectro. A posição dos discriminadores é geralmente sugerida pelo próprio fabricante do equipamento.

De posse de um conjunto de soluções de referência (padrões), contendo quantidades crescentes de Q , pode-se traçar a curva Eficiência x razão de contagens B/A, conforme ilustração:

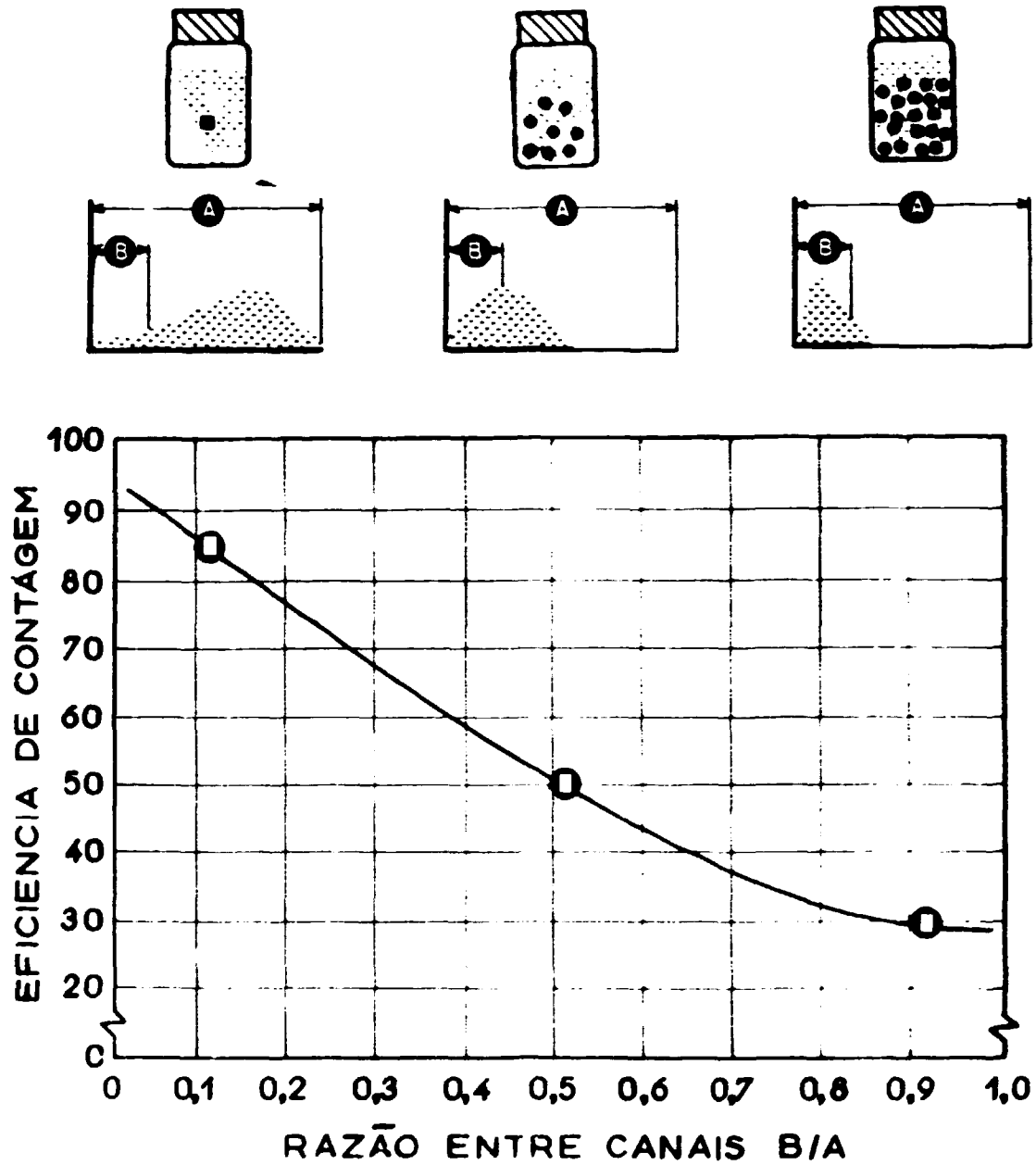


Figura 4.4 No esquema superior • indica a presença de moléculas que interferem no desempenho da produção de fótons. Quando o nível de concentração desses interferentes é aumentado observa-se conseqüente atenuação do espectro. Dispondo-se de dois canais de análise, **A** e **B**, convenientemente calibrados pode-se dispor da razão de contagem. Na figura essa contagem corresponde a área que cada canal 'vê'. Associa-se a essa razão a respectiva eficiência de contagem no canal **A**, traçando-se uma curva de calibração. A eficiência de contagem de qualquer amostra desconhecida é estabelecida por interpolação.

Deste modo, ao medir a atividade de uma amostra desconhecida efetua-se a razão de canais B/A e lê-se a respectiva eficiência de contagem na curva. A atividade em unidades "dpm" é calculada segundo a expressão:

$$A(\text{DPM}) = A(\text{CPM})/Ef$$

A principal desvantagem desse método está na própria atividade da amostra. Quando essa atividade é baixa, aumenta-se as incertezas nas contagens de cada canal e conseqüentemente o erro na razão B/A torna-se elevado comprometendo sobremaneira a estimativa da eficiência de contagem.

4.5 – Método da Razão de Canais Utilizando Contagens de Fonte Gama Externa à Amostra

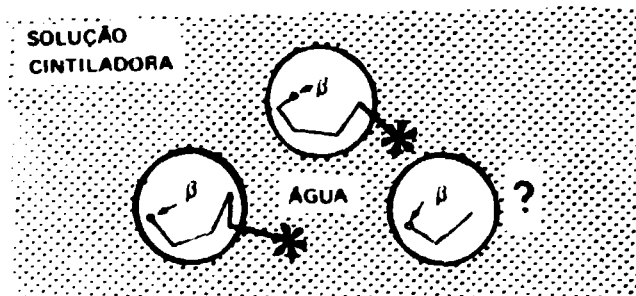
Para contornar a limitação mencionada em 4.4 propôs-se utilizar uma fonte gama externa à amostra. O princípio é basicamente o mesmo daquele descrito em 4.4 exceto feita ao emprego de fonte gama externa com atividade razoavelmente elevada. O procedimento, em particular, é o seguinte:

- 1) Mede-se a atividade por alguns segundos da amostra isoladamente.
- 2) Aproxima-se a fonte e mede-se a atividade total (amostra + fonte) por aproximadamente um minuto.
- 3) Nas contagens de 2) subtrai-se as contagens observadas em 1) com a devida correção de equalização de tempo.
- 4) Calcula-se a razão B/A.
- 5) mede-se a amostra nas condições pré-estabelecidas pelo usuário.
- 6) Lê-se na curva a eficiência de contagem usando a razão B/A.
- 7) Calcula-se a atividade da amostra em unidades DPM como descrito em 4.4.

Este método é extremamente prático e seguro de modo que praticamente todos os equipamentos modernos dispõem do recurso da fonte externa.

A semelhança do que já foi dito em 4.4, a posição dos discriminadores é sugerida pelo próprio fabricante do equipamento ou ainda corresponde a uma divisão pré-estabelecida, peculiar ao próprio equipamento, e, nestes casos, impossível de ser modificada pelo usuário.

A principal limitação desse método reside na determinação da eficiência de contagem em emulsões, comumente utilizadas nos radioimunoensaios. Nesses casos, o radionuclídeo, principalmente aqueles de baixa energia como o ^3H , pode estar enclausurado em forma particulada, conforme exemplo a seguir:



essas partículas poderão atenuar a radiação da partícula beta (pouco penetrante) e não permitir a transferência de energia para a solução cintiladora. O mesmo não sucede com a radiação gama da fonte externa. Nesse caso a razão B/A acusaria alta eficiência de contagem quando, na realidade, isto não se verifica.

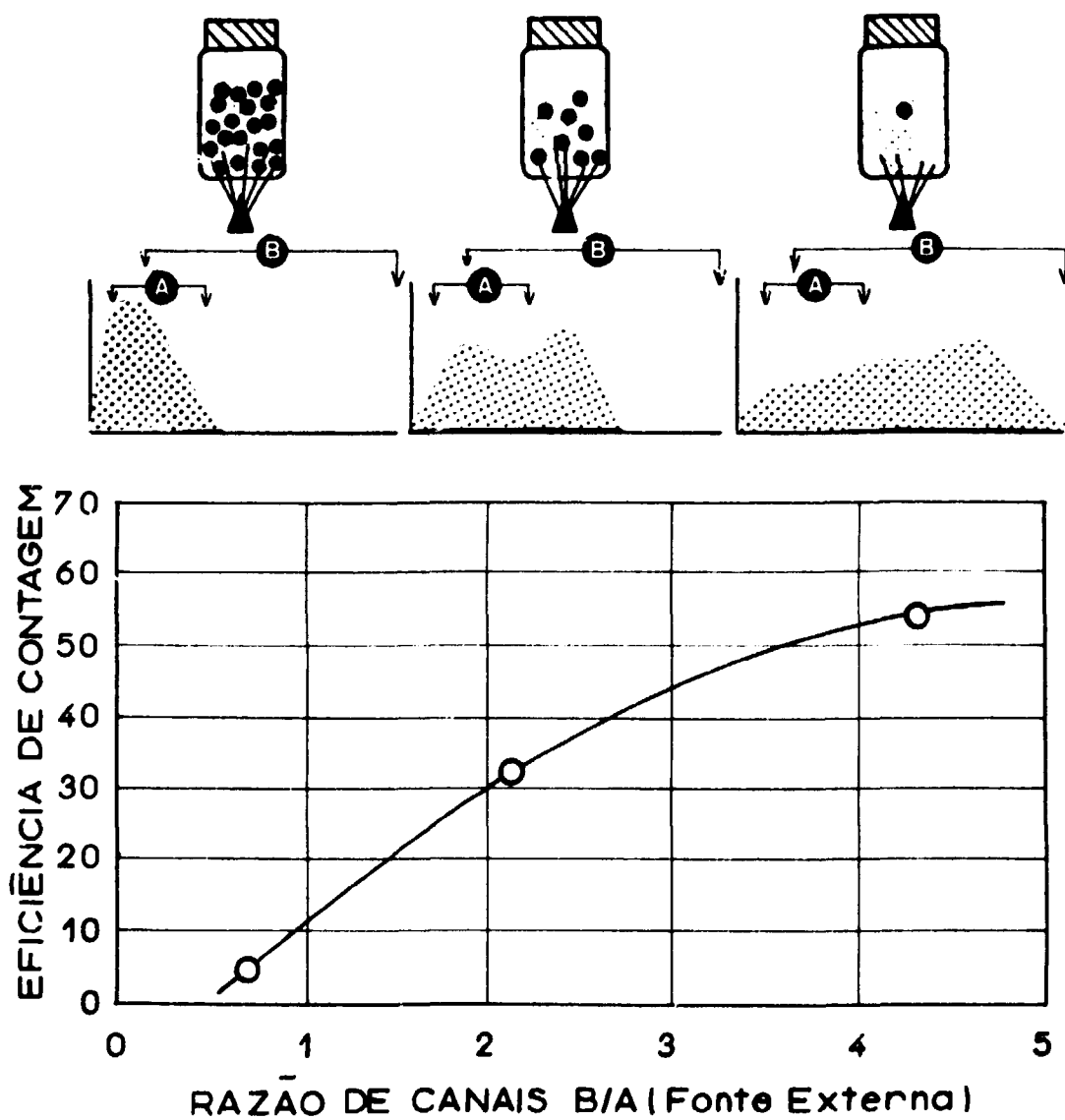


Figura 4.5 -- Utilização do espectro de uma fonte gama 'A' para a determinação da eficiência de contagem. Demais considerações vide legenda da Figura 4.4

4.6 – Método do Padrão Interno

Após a medida da amostra pode-se adicionar a atividade de um padrão, de modo que sua adição não interfira com a eficiência de contagem. Isso poderá ser alcançado com a utilização de padrão de Tolueno-³H ou Tolueno-¹⁴C ou outros solventes orgânicos marcados com esses radioisótopos.

Seja **P(DPM)** a atividade conhecida do padrão adicionado, **A(CPM)** a atividade da amostra medida pelo equipamento e **S(CPM)** a atividade da amostra mais o padrão adicionado. A eficiência de contagem nessas condições será:

$$E_f = (S - A)/P$$

e a atividade da amostra em unidades de 'DPM' será:

$$A(\text{DPM}) = A(\text{CPM})/E_f$$

Este procedimento é considerado o método relativo de maior eficiência, entretanto tem o inconveniente de 'estragar' a amostra para posteriores experimentos ou mesmo para eventual confirmação de etapas experimentais.

RESUMO DO CAPÍTULO 4

Existem dois processos que diminuem a eficiência da produção de fótons numa solução cintiladora: a atenuação física e a química ('quençh' de cor e químico).

O efeito da atenuação do 'flash' de luz depende da concentração das impurezas Q incorporadas pela solução cintiladora. A eficiência de contagem poderá ser estimada por qualquer dos seguintes métodos relativos:

- 1) Método da razão de canais → a eficiência de contagem é lida em curva de referência.
- 2) Método da razão de canais com fonte externa → a eficiência de contagem é lida em curva de referência.
- 3) Adição de padrão subsequentemente à medida da amostra. A eficiência de contagem é calculada pela expressão:

$$E_f = (S - A)/P$$

Existem métodos **absolutos** para determinar a atividade da amostra, porém a complexidade envolvida nesses métodos transcende os propósitos deste trabalho e não tem maior importância nos ensaios radioligantes.

5 – TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES CINTILADORAS

5.1 -- Introdução

Anteriormente descreveram-se os aspectos teóricos relativos às soluções cintiladoras considerando seus componentes básicos (solvente + cintiladores) e não se detendo a analisar os critérios e técnicas para homogeneizar as amostras radioativas e fixar suas proporções adequadas.

A escolha dos processos de preparação da amostra envolve ampla parcela de informações empíricas e individuais, não existindo regras definitivas. O leitor menos experiente defrontar-se-á no decorrer da leitura deste texto, com considerações sobre as soluções cintiladoras e seus componentes, que lhe parecerão inconclusivas. Isso se deve ao fato das eventuais decisões serem da sua exclusiva competência. O autor procura, tão somente, fornecer os elementos básicos que servem de orientação. Essa observação sensibilizará certamente o investigador maduro que saberá reconhecer a utilidade das informações descritas a seguir.

A primeira diretriz na escolha do método de preparo da amostra deve considerar:

- 1) a característica físico-química da amostra;
- 2) a natureza radioisotópica da amostra; e
- 3) o nível esperado de radioatividade.

A característica físico-química determinará a combinação de solventes e aditivos utilizados, bem como a dos preparos prévios da amostra. Por exemplo, o pH da amostra poderá torná-la solúvel ou não, conseqüentemente o seu ajuste poderá ser útil na solubilidade como na redução do efeito secundário da luminescência química.

Quanto à natureza do material radioativo, poderá este por a opção de selecionar 'coquetéis' de contagem ou utilizar água aproveitando-se, por exemplo, do efeito Cerenkov nas medidas de ^{131}I .

O nível de radioatividade presente na amostra coloca o investigador diante do dilema de utilizar solventes menos dispendiosos ou recorrer à fabricação de frascos de contagem especiais.

5.2 – Escolha dos Solventes

Os principais critérios para a escolha do solvente são:

- 1) solubilidade adequada para o cintilador;
- 2) capacidade de conversão da energia da radiação em excitação molecular;
- 3) transparência aos fótons emitidos pelo cintilador;
- 4) capacidade de dissolver a amostra em seu meio, com ou sem a adição de agentes solubilizantes ou dispersores;
- 5) funcionalidade à temperatura de medição;
- 6) capacidade de homogeneizar a amostra radioativa;
- 7) custo e disponibilidade.

A Tabela V.2 mostra algumas das características de vários solventes. No computo geral, aceita-se que os alquíil-benzenos são os solventes mais apropriados. O benzeno, apesar de reunir boas qualidades na maioria dos itens da Tabela V.2, é preterido devido à sua elevada volatilização e ponto de congelação.

Tabela V.2

Características de Alguns Solventes Usados no Preparo do Líquido Cintilador

SOLVENTE	CONGELAÇÃO (°C)	EFICIÊNCIA ϕ	EFICIÊNCIA 's'	ABSORÇÃO (Å)	EMISSÃO (Å)	TEMPO DE DECAIMENTO (nseg)
p-Xileno	+ 13	0.34	107	2660	2910	30
m-Xileno	- 47	0.14		2650	2890	30.8
o-Xileno	- 25	0.16		2650	2890	32.2
Xileno (mistura m+p+o)	< - 20		97			
Fenil-ciclo Hexano	+ 8		102			
Tolueno	- 95	0.14	100	2630	2850	34
Etil Benzeno	- 94		96			
Benzeno	+ 5	0.06	85	2550	2830	29
Metoxi benzeno	- 37	0.26	83	2700	2960	27.4
1,3 - Dimetoxi benzeno	- 52		81			
n-Heptano	- 90		70			
1,4-Dioxana	+ 12	0.03	70	1850	2470	2.1
1,2-Dimetoxi etano	- 71		60			
Álcool benzílico	- 15		38			
Acetona	- 94		12			
Éter etílico	- 116		4			
Álcool etílico	- 114		0			
Etileno glicol	- 13		0			
1,2,4-Tri metil benzeno		0.33		2700	29300	27.2

O tolueno tem sido amplamente preferido por reunir as condições de exequibilidade: é disponível em alto grau de pureza a custo acessível. O xileno contendo seus três isômeros apresenta índice de desempenho menor que o do tolueno, entretanto, seu isômero p-xileno mostra-se ligeiramente superior ao tolueno. Outros hidrocarbonetos aromáticos são pouco utilizados devido principalmente ao elevado custo no nível de pureza requerida.

Na Figura 5.2 observam-se as variações da eficiência relativa ao tolueno de diversos solventes em função dos valores crescentes da razão 'volume de solvente/volume tolueno', para uma mesma concentração de cintilador (PPO 3g/l). A resposta para cada proporção foi apreciada pela altura de pulso produzida pelo 'flash' de luz gerado pela radiação de fonte externa. Alguns dos solventes provocam variações rápidas nessa altura de pulso indicando inadequação de seu uso como solvente, enquanto outros mostram pequena diminuição ou equivalência do sinal, indicando eficiência similar ao tolueno. Finalmente, um terceiro grupo acusa andamento intermediário. Esses solventes atuam como diluidores.

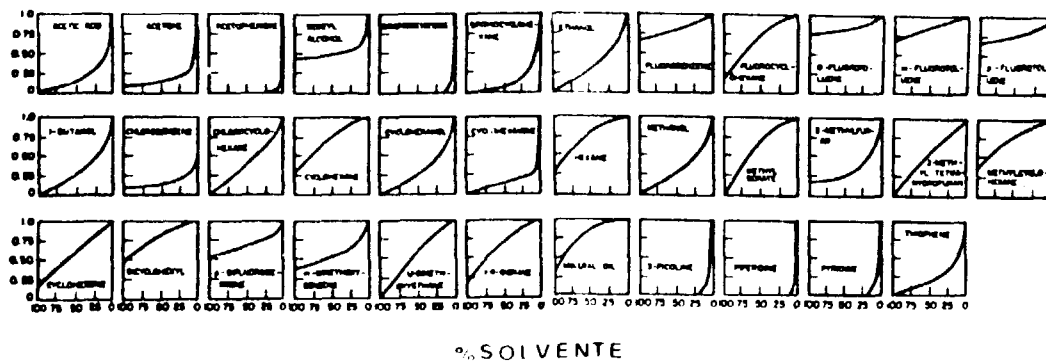


Figura 5.2 – Eficiência relativa de vários solventes em relação ao tolueno quando em solução 3g/l de PPO. (Figura adaptada de HORROCKS⁽³⁾)

5.3 – Classificação dos Solventes quanto ao seu Emprego em Soluções Cintiladoras

Os solventes assim caracterizados classificam-se em três grupos:

- 1) solventes efetivos: a maioria dos solventes aromáticos
- 2) solventes diluidores: alguns hidrocarbonetos saturados ou com eficiência 's' entre 15% a 80%
- 3) solventes atenuadores: solventes com eficiência relativa 's' < 15% tais como álcoois, ésteres, cetonas etc.

Os solventes diluidores são especialmente úteis como agentes solubilizadores de compostos não solúveis em tolueno ou nos demais solventes do grupo 1. São usados também como anticongelantes. Apesar do 1,4-dioxano estar classificado como solvente diluidor é utilizado como solvente primário em vista de sua capacidade de incorporar água. Seu ponto de congelamento é relativamente alto (+12°C) o que prejudica seu emprego em equipamentos que operam a baixa temperatura. Este inconveniente é razoavelmente contornado adicionando-se agentes anti-congelantes (naftaleno p.ex.).

5.4 – Grau de Pureza dos Solventes

O grau de pureza, para fins de cintilação, de alguns solventes é recomendável. Existem alguns problemas na manutenção do grau de pureza do 1,4-dioxano. Esse solvente, em contato com o ar, forma peróxidos os quais são fortes agentes de 'quench'. Os peróxidos podem reagir com compostos da amostra

radioativa por oxidação dando origem ao fenômeno da luminescência química que causa aumento anormal da taxa de contagem (cpm). A deterioração do 1,4-dioxano poderá ser inibida pela adição de 0.001% de dibutil di-tiocarbonato de sódio ou di-etil-4-hidroxitolueno (BHT).

5.5 – Escolha dos Solutos

A adição de solutos cintiladores se deve as seguintes limitações dos solventes:

- 1) baixa eficiência na produção de fótons;
- 2) o comprimento de onda médio do espectro de fluorescência dos solventes varia entre 2000 a 3000 Å (vide Tabela V.2.), faixa na qual as fotomultiplicadoras não são muito sensíveis.
- 3) o efeito da autoabsorção dos fótons é considerável tendo em vista a grande sobreposição nos espectros de absorção e emissão;
- 4) o longo tempo de decaimento da fluorescência (30 nseg) favorece a desexcitação das moléculas do solvente por processos que competem com a emissão de fótons.

Para contornar essas limitações incorporam-se certos compostos que aumentam sensivelmente a qualidade e quantidade do 'flash' luminoso.

Alguns dos cintiladores comumente utilizados estão indicados no apêndice.

Os requisitos básicos para um bom cintilador são:

- 1) alta eficiência quântica q (eficiência de produção de fótons);
- 2) emissão de fótons com comprimento de onda compatível com a sensibilidade do fotocatodo;
- 3) solubilidade e estabilidade sob as condições impostas pela natureza da amostra e temperatura de contagem;
- 4) baixo efeito de autoabsorção dos fótons nas concentrações necessárias (vide sobreposição das curvas de absorção-emissão reunidas no apêndice);
- 5) tempo de decaimento da fluorescência curto (vide apêndice) e
- 6) baixo custo e franca disponibilidade.

Demonstrou-se que os melhores cintiladores possuem um conjunto de propriedades em comum, dentre as quais se destacam:

- 1) os melhores cintiladores apresentam cadeias aromáticas combinadas com ligações à semelhança da estrutura do p-Terfenil. As ligações de cadeias como a do antraceno mostram-se menos eficientes (veja Figura 5.5).
- 2) ligações com quatro cadeias, ao invés de três, mostram-se mais adequadas devido ao maior comprimento de onda dos fótons de fluorescência;
- 3) as cadeias que mostram melhor eficiência são: benzeno, naftaleno, furan, pirrole, oxazol, 1,3,4-oxadiazol, piridina, indol e benzoxazol e menos eficiente: tiazol, 1,3,4-tiazol, pirazina, piradazina e benzotiazol.

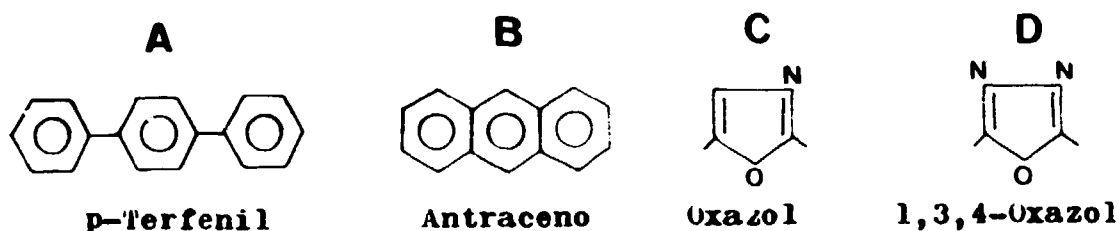


Figura 5.5 – (A), (C) e (D) são estruturas eficientes dos cintiladores; (B) é o tipo de estrutura relativamente menos eficiente

4) radicais substitutos que alteram a eficiência são: metil, metoxil, flúor e cloro.

5) radicais que diminuem o rendimento do cintilador incluem: bromo, iodo, nitro e hidroxil fenólico.

5.6 – Terminologia

A fim de simplificar a terminologia dos cintiladores convencionou-se identificá-los por siglas de acordo com suas subestruturas. Assim, p.ex., o Oxazol é designado 'O' pela letra O, oxadiazol = D, fenil = P, benzeno = B, naftil = N, tiofeno = T, metilestiril = MS. Assim o cintilador: fenil-fenil-oxazol será reconhecido simplesmente pela sigla PPO.

5.7 – Relação entre a Concentração do Cintilador e a Eficiência da Solução

A eficiência de transferência da energia de excitação das moléculas SOLVENTE → SOLUTO (eficiência quântica de transferência 'f') depende da concentração do cintilador, mas é praticamente independente da natureza do soluto cintilador.

A concentração molar 'c' do soluto é calculada dividindo-se a sua concentração em unidades (g/l) pelo seu peso molecular, isto é:

$$c(M) = (g/l) / (\text{Peso Molecular})$$

O peso molecular dos cintiladores mais utilizados encontram-se em apêndice. A Tabela V.7 mostra os valores da eficiência 'f' de transferência relativos a três solventes de uso corrente. Os valores para outros solventes são similares.

5.8 – O Ajuste do Espectro de Fluorescência e da Sensibilidade do Fotocatodo – (Fator de Matching)

A Figura 5.8 mostra o espectro de fluorescência de três cintiladores com o da curva de sensibilidade de uma fotomultiplicadora bi-alcálica. Na ponderação da escolha do cintilador é importante conhecerem-se as características da fotomultiplicadora do equipamento. Para o fotocatodo da Figura 5.8 o espectro do cintilador p-Terfenil mostra-se mais adequado do que o do PPO.

O fator 'm' de combinação ou ajuste ('matching') de três tipos de fotocatodos é mostrado na Tabela V.8.2. A Tabela V.8.3 relaciona três tipos de fotocatodo BA, S 11/13 e S-20 e vários modelos de fotomultiplicadoras com seus respectivos fabricantes.

Tabela V.7

Eficiência f de Transferência de Energia SOLVENTE \rightarrow SOLUTO

c (M)	Benzeno	Tolueno	Xileno
10^{-4}	0,095	0,11	0,12
2×10^{-4}	0,17	0,19	0,21
4×10^{-4}	0,30	0,32	0,35
6×10^{-4}	0,39	0,42	0,45
8×10^{-4}	0,46	0,49	0,52
10^{-3}	0,51	0,55	0,57
$1,5 \times 10^{-3}$	0,60	0,64	0,67
2×10^{-3}	0,68	0,71	0,73
3×10^{-3}	0,76	0,78	0,80
4×10^{-3}	0,81	0,83	0,84
5×10^{-3}	0,84	0,86	0,87
6×10^{-3}	0,86	0,88	0,89
8×10^{-3}	0,89	0,91	0,92
10^{-2}	0,91	0,92	0,93
$1,5 \times 10^{-2}$	0,93	0,94	0,95
2×10^{-2}	0,95	0,96	0,96
4×10^{-2}	0,98	0,98	0,98
10^{-1}	0,99	0,99	0,99

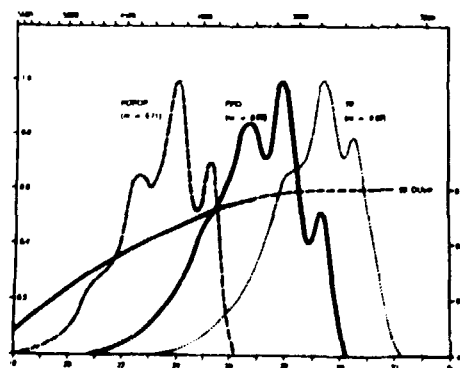


Figura 5.8 – Espectros de fluorescência dos cintiladores p-Terfenil, PPO e POPOP e o espectro de resposta de fotocátodo do tipo BA (bi-alcalino) usado na fotomultiplicadora modelo 56 DUVP da Phillips. O fator de ajuste entre os espectros de fluorescência é indicado para cada cintilador

Tabela V.8.2

Fator de Ajuste 'm' e Eficiência 'q' de Fluorescência de Diversos Cintiladores.
O Fator 'm' Corresponde à Média entre as Diversas Válvulas FM

SOLUTO	m			q
	BA	S-11/13	S-20	
PPO	0,97	0,96	0,94	0,8
PBD	0,96	0,96	0,93	0,8
butil-PBD	0,95	0,95	0,93	0,85
TP	0,97	0,90	0,90	0,85
POPOP	0,83	0,91	0,98	0,85
dimetil-POPOP	0,78	0,86	0,93	0,85
α -NPO	0,88	0,94	0,95	0,8
α -NPD	0,96	0,99	0,95	0,7
PPD	0,97	0,90	0,93	0,9
BBD	0,95	0,96	0,94	0,85
BBO	0,86	0,91	0,96	0,75
DPS	0,91	0,95	0,97	0,8

Tabela V.8.3

Tipos de Fotocátodos e seus Respectivos Fabricantes e Modelos

FOTOCÁTODO	EMI	PHILIPS	RCA
BA	9635 B/QB	56 DVP	4518
		56 DUVP	4523
			8575
S-11/13	6097 B/L/S 6255 B/S 9514 B/S 9634 R/QR/QB 9656 R/QR/KB/KS	56 AVP	6903
		56 UVP	7746
			7850
			8053
S-20	9558 B/QB	56 TVP	7265
			7326

5.9 – Critério Quantitativo de Escolha do Cintilador para Amostras sem 'Quench' de Cor

Define-se a cifra ou índice de mérito M como:

$$M = sfqm$$

O cálculo de M fornece subsídio para a escolha da composição da solução cintiladora. Tomando o exemplo de uma solução (a) tolueno + 3g/l de PPO e uma solução (b) xileno + 10 g/l de butil-PBD, dentre essas soluções qual será a mais indicada para um equipamento que dispõe de fotomultiplicadoras bi-alcálicas (BA)?

Para resolver essa questão calcula-se o valor de M_a e M_b utilizando-se dos dados fornecidos nas Tabelas V.2., V.7 e V.8.2.

No exemplo, efetuando os cálculos de M_a e M_b tem-se:

$$M_a = 73 \quad e \quad M_b = 80$$

conseqüentemente, para o exemplo figurado, a solução (b) contendo 10 g/l de butil-PBD em xileno é mais indicada para amostras que não contenham 'quenchers'. O critério de seleção baseado no índice de mérito 'M' tem sua principal utilidade na escolha de soluções cintiladoras com ausência de 'quench' de cor.

6 – CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ALGUNS CINTILADORES

6.1 – p-Terfenil

O pioneiro dos cintiladores foi o p-Terfenil utilizado por Kallman e Reynolds nos anos 40. Esse cintilador reúne qualidades de baixo custo, estabilidade e eficiência na produção de fótons. Caiu em desuso devido a sua fraca solubilidade em baixa temperatura. Seu pico de fluorescência em 3600 Å não o recomendava para as fotomultiplicadoras tipo S-11 da época dos primeiros equipamentos, as quais possuíam melhor rendimento próximo dos 4300 Å e necessitavam de unidade de refrigeração. Com o advento das modernas fotomultiplicadoras tipo BA (bi-alcálicas) que possuem resposta máxima na produção de fotoelétrons em 3800 Å desponta nova oportunidade de uso deste cintilador, (veja, por exemplo, a análise da Figura 5.8).

6.2 – PPO → 2,5-Difeniloxazol

O PPO, introduzido em 1953, foi a alternativa natural do p-Terfenil. Tem elevada solubilidade nos solventes de interesse, mesmo a baixa temperatura.

Apesar de mostrar ligeira inferioridade na produção de fótons, (Tabela V.8.2) pois funciona em nível de concentração maior, o que eleva o custo, ainda é o cintilador mais usado atualmente. Seu pico de fluorescência corresponde a 3650 Å, adequando-se as modernas fotomultiplicadoras. Nas dosagens de ^3H e em equipamentos com fotomultiplicadoras tipo S-11 recomenda-se adicionar soluto secundário (POPOP, dimetil-POPOP etc) a fim de absorver os fótons do PPO e re-emitir-los com maior comprimento de onda.

6.3 – PBD e Butil-PBD

O PBD reúne excelentes qualidades de cintilador, entretanto mostra o mesmo problema do p-Terfenil; sua solubilidade é baixa (veja apêndice). A técnica de introduzir pequenos grupos alquílicos na estrutura desse cintilador concorre para o aumento da solubilidade sem comprometer suas características intrínsecas de cintilador. Os derivados do PBD mostram-se mais solúveis sem alterar essencialmente suas qualidades. Dentre esses derivados destaca-se o butil-PBD que é cerca de 10 vezes mais solúvel do que o seu precursor PBD.

6.4 – BBOT – (2,5-Bis-2-(5-t-Butil Benzoxazolil) Tiofeno

Pouco antes da disponibilidade do butil-PBD o BBOT foi proposto como substituto do PPO. Seu pico de fluorescência em 4270 Å o recomenda para a maioria das situações. O melhor argumento de sua utilização reside na sua capacidade de atuar na solução cintiladora sem a adição do segundo soluto, tendo em vista seu espectro de absorção-emissão. Entretanto, verificou-se ter o BBOT somente 92% da eficiência da solução contendo PPO + POPOP. Outro inconveniente reside no efeito de autoabsorção de seus fótons, considerável em altas concentrações.

Uma aplicação interessante desse cintilador foi descrita por Claesem na medida de Tiocianato-¹⁴C. Esse complexo apresenta intensa absorção de fótons abaixo de 4300 Å. Nesse caso se for utilizado o sistema contendo dois cintiladores primário e secundário, teria rendimento fotônico diminuído pela absorção competitiva de fótons por parte do tiocianato (o soluto primário emite fótons na região de absorção do tiocianato). Esse efeito será minorado graças a utilização do BBOT, o qual absorveria a energia de excitação das moléculas do solvente emitindo fótons de comprimento de onda mais distanciados da faixa de absorção do tiocianato.

Cumpra mencionar que o BBOT possui elevada estabilidade química (superior a do PPO) e destaca-se pela sua resistência ao efeito do 'quencher'.

6.5 – Resistência ao 'Quench'

Alguns cintiladores mostram-se menos susceptíveis ao efeito de 'quenching'. Estudos comparativos do PPO e butil-PBD revelam a superioridade deste último quanto a resistência ao 'quencher'. A Figura 6.5 destaca o comportamento desses dois cintiladores quando da adição de três agentes de 'quencher': etanol, tetracloreto de carbono e água.

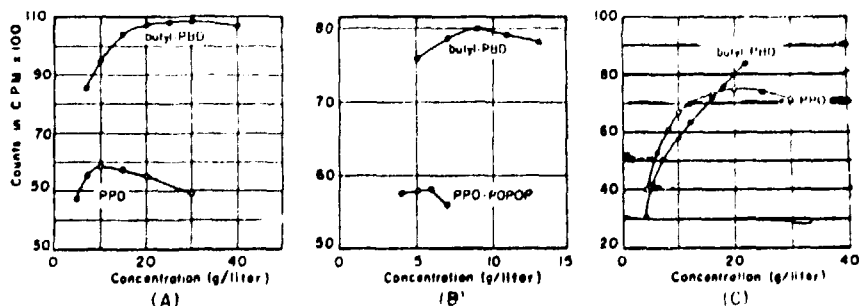


Figura 6.5 – Comparação entre o PPO e butil-PBD para medir tolueno triciado

(A) Solução contendo tolueno + 0,5% de CCl₄

(B) Solução de tolueno contendo 40% de etanol e

(C) Solução de p-dioxano contendo 20% de água

(Figura adaptada de Kobayashi e Maudsley⁽⁵⁾, pag. 43)

Nesses casos acusa-se a superioridade do butil-PBD. Deve-se notar que a comparação do butil-PBD deverá ser maior que a do PPO tornando-o mais dispendioso.

A Tabela VI.5 sugere inferioridade do butil-PBD com os agentes sulubilizantes NCS, Protosol e Eastman Tissue Solubilizer devido a coloração produzida por esses agentes na presença do butil-PBD. Nesses casos o PPO mostra-se mais indicado.

Tabela VI.5

Eficiência de Contagem Observada Após a Adição de 0.5 ml dos Agentes Indicados + Tolueno + Tolueno-³H

Solubilizadores	Eficiência % para ³ H	
	PPO	Butil-PBD
Ausentes	54	59
Hyamina	37	39
Soluene 100	48	27
NCS	46	37
Eastman	47	32
Protosol	46	46

7 – ESCOLHA DOS SOLUTOS SECUNDÁRIOS

Os cintiladores secundários são eventualmente adicionados à solução com o objetivo de ajustar as características da fluorescência com a máxima eficiência do fotocátodo. Para alcançar esse efeito dissolve-se cerca de 10^{-3} M de solutos secundários. Nessa proporção a grande maioria dos fótons emitidos pelo soluto primário são absorvidos pelo soluto secundário, excitando suas moléculas. No retorno ao estado fundamental dessas moléculas são emitidos fótons com comprimento de onda maiores (4200 Å), sendo mais adequados à produção de fotoelétrons de determinadas fotomultiplicadoras. Nas modernas válvulas FM a adição dos cintiladores secundários, via de regra, prejudica o desempenho da solução cintiladora.

7.1 – Índice de Mérito para as Soluções Ternárias XYZ

O índice ou fator de mérito para uma solução ternária é definida pela expressão:

$$M_z = M_y + s f_y f_z (q_z m_z - q_y m_y)$$

As variáveis indexadas com 'y' e 'z' são pertinentes aos solutos Y e Z respectivamente. Na ausência do 'quench' de cor a adição do cintilador Z somente traz vantagens quando $q_z m_z > q_y m_y$.

O exemplo seguinte elucida a aplicação do fator de mérito M_z .

O equipamento (a) dispõe de fotomultiplicadoras tipo BA

o equipamento (b) dispõe de fotomultiplicadoras tipo S 20

o equipamento (c) dispõe de fotomultiplicadoras tipo S-11/13

Numa solução a base de 3g/l de PPO, em quais dos equipamentos a inclusão de 200 mg/l de POPOP resulta em maior eficiência:

desenvolvendo o produto $q_z m_z$ e $q_y m_y$ para os três equipamentos tem-se:

Equipamento	$q_z m_z$	$q_y m_y$	CONCLUSÃO
A (BA)	$0.85 \times 0.83 = 0.71$	$0.8 \times 0.97 = 0.78$	NÃO CONVÉM
B (s-20)	$0.85 \times 0.98 = 0.83$	$0.8 \times 0.94 = 0.75$	CONVÉM
C (S-11/13)	$0.85 \times 0.86 = 0.73$	$0.8 \times 0.96 = 0.77$	CONVÉM

os valores de 'q' e 'm' são encontrados na Tabela V.8.2.

Observe-se que esse critério é independente das concentrações dos solutos cintiladores, porém quando necessários, suas adequadas proporções devem ser criteriosamente definidas conforme esquema 7.2.

Bush e Hansen fornecem outras sugestões práticas para a adição do cintilador secundário. Propõem que se deve adicionar o segundo soluto quando se registrarem uma ou mais das ocorrências seguintes:

- 1) a amostra contém compostos que absorvem os fótons do cintilador primário ou apresentam qualquer espécie de 'quenching';
- 2) o efeito da autoabsorção dos fótons no cintilador primário é acentuada para a concentração de uso do cintilador primário (ver curvas de absorção x emissão de fótons dos principais cintiladores fornecidas em apêndice, páginas: 43 a 55).
- 3) a amostra apresenta intensa absorção aos fótons próximos do ultravioleta;
- 4) sempre que for constatada haver melhor resposta do equipamento com a adição do segundo cintilador.

7.2 – Protocolo para a Determinação das Concentrações Ideais dos Dois Cintiladores

Litle e Neary sugerem o método descrito a seguir para a determinação da adequada composição da solução cintiladora que contenha dois cintiladores (sistema XYZ):

- 1) prepara-se 100 amostras com diferentes concentrações dos dois solutos cintiladores. Constrói-se o gráfico cartesiano dispondo na abcissa a concentração do cintilador primário e na ordenada a concentração do cintilador secundário. Mantém-se constante a atividade de todas as 100 amostras;

- 2) efetua-se a medida da radioatividade de todas as amostras e para cada par de concentração tabula-se a respectiva contagem ou atividade.
- 3) os contornos de isocontagens são definidos mediante interpolação dos resultados de cada amostra.

A Figura 7.2 mostra três dessas determinações, variando-se em cada uma delas a contribuição do agente de 'quenching'. A Figura 7.2A representa a amostra com saturação de ar, enquanto as demais B e C adicionou-se respectivamente, 0.2% e 0.4% de nitrometano. Esses resultados evidenciam a dependência das concentrações dos cintiladores em função do nível de 'quenchers' das amostras, chamando a atenção para a necessidade de se estabelecer as concentrações ideais segundo esse critério.

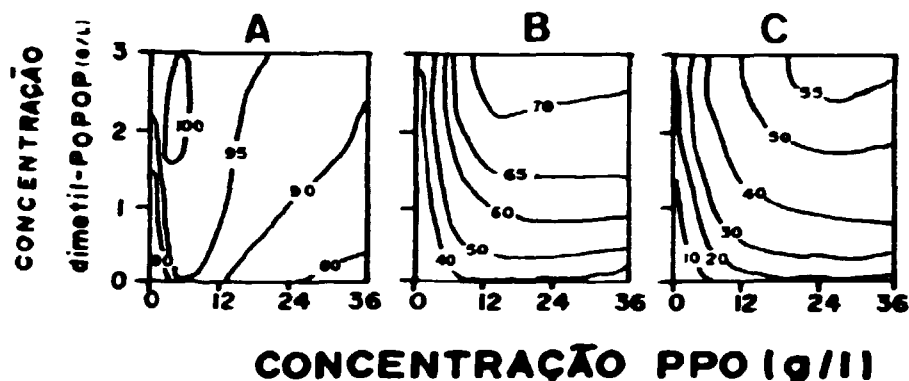


Figura 7.2 – Contornos de isocontagens para a solução contendo tolueno PPO e dimetil-POPOP em diferentes concentrações

A solução saturada de ar contendo tolueno- ^{14}C

B efeito de 'quench' com a adição de 0.2% de nitrometano

C efeito de 'quench' com a adição de 0.4% de nitrometano

(Figura adaptada de KOBAYASHI e MAUDSLEY⁽⁵⁾)

7.3 – Alguns dos Cintiladores Secundários Frequentemente Utilizados

Há dois cintiladores secundários amplamente utilizados atualmente, a saber: POPOP (1,4-bis(5-feniloxazolil) benzeno e o dimetil-POPOP (1,4-bis-2-(4-metil-5-feniloxazolil) cujos comprimentos de onda no pico máximo da fluorescência são 4170 e 4300 Å respectivamente.

Esses produtos tem custo semelhante. O POPOP mostra ligeira vantagem sob o dimetil-POPOP em função do seu comprimento de onda mais adequado para determinadas fotomultiplicadoras, por outro lado o dimetil-POPOP é mais solúvel e prescinde da demorada agitação necessária para a completa dissolução do POPOP.

Outro cintilador secundário que se destaca é o bis-MSB(p-bis-o-metilstiril) benzeno com pico de fluorescência em 4160 Å. Mostra maior solubilidade que o POPOP e o dimetil-POPOP além de elevada eficiência na detecção de ^3H , ^{14}C .

8 – TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS RADIOATIVAS PARA DETECÇÃO COM SOLUÇÕES CINTILADORAS

8.1 – Introdução

No trato da escolha dos solventes e cintiladores destacaram-se as múltiplas possibilidades de combinações entre solventes e cintiladores. Na prática, as quatro soluções apresentadas na Tabela VIII.1 mostram-se adequadas a medida da radioatividade no decorrer da maioria dos experimentos.

Tabela VIII.1

Composição das Soluções Cintiladoras mais Frequentemente Utilizadas

	COMPOSIÇÃO				APLICAÇÃO
	CINTILADOR PRIMÁRIO	CINTILADOR SECUNDÁRIO	ADITIVOS	SOLVENTE (p/1 L)	
A	PPO (5 g) ou butil-PBD (10 g)	bis-MSB (0.5 g) ou dimetil-POPOP (0.25 g)	—	TOLUENO	Todas as amostras solúveis em tolueno, insolúveis nas adsorvidas em suportes inertes
B	PPO (8 g) ou butil-PBD (10 g)	dimetil-POPOP (0.5 g) bis-MSB (1 g) ou	Etanol ou 2-etoxi- etanol (300 ml)	TOLUENO	Amostras aquosas até 3%
C	PPO (8 g) ou butil-PBD (10 g)	bis-MSB (0.5 g) ou dimetil-POPOP (0.5 g)	Naftaleno (150 g) Etilenoglicol (20 ml) e 2-ethoxyethanol (100 ml)	DIOXANA	Amostras aquosas até 20%
D	PPO (5 g) ou butil-PBD (10 g)	bis-MSB (0.5 g) ou dimetil-POPOP (0.5 g)	Triton X-100 ou Triton X-114 (~ 333 ml)	TOLUENO (~ 666 ml)	Amostras aquosa abaixo de 10% e acima de 20% com limite superior de até 40%

A solução 'A', tolueno + PPO ou butil-PBD é de uso geral. Quando as amostras não apresentam 'quenching' e o equipamento for dotado de fotomultiplicadoras bi-alcalinas o cintilador secundário pode ser omitido.

A solução 'B' é apropriada para amostras aquosas de pequeno volume. Nessa solução adiciona-se etanol ou 2-etoxietanol para permitir a solubilização da água, visto que a mesma não é miscível com tolueno.

A solução 'C' tem como solvente principal o dioxano. Essa solução originalmente proposta por Bray é aqui apresentada com pequena modificação. Há algum tempo essa solução era preferida para as amostras aquosas, entretanto tende a ser substituída por soluções mais eficientes que suportam maiores proporções de água.

A solução cintiladora 'D' é apropriada para amostras aquosas de maior volume (frasco com 20 ml suporta aproximadamente 8 ml de água). Nesta solução volumes de água acima de 20% (v.v) provocam a formação de geis. A importância atual desse tipo de solução merece destaque especial. (vide Capítulo 9).

8.2 – Soluções Aquosas

A característica de solvente universal da água torna frequente o número de suas amostras. Se a amostra aquosa contiver volume muito pequeno (5 a 10 μ l) ela poderá ser homogeneizada diretamente na solução 'A' da Tabela VIII.1 sem incorporação de aditivos. O quench produzido por essas amostras é ínfimo tornando possível medir ^3H (18 keV) com eficiência de 60% e radioelementos mais energéticos com 100% de eficiência. Na prática, entretanto, tais amostras tem volume da ordem de 0,5, 3 ml ou mais. Nestes casos a adição de solventes secundários ou aditivos se faz necessária. É imprescindível que se estabeleçam proporções adequadas dos solventes, a fim de melhorar as condições de detecção e alcançar a efetiva solubilização da amostra.

8.3 – Os Diagramas de Fase e o Índice de Mérito EV

Como foi visto na etapa da escolha de solventes a incorporação de certos aditivos ou solventes secundários podem diminuir o desempenho da solução cintiladora. Assim é importante que a proporção desses aditivos seja a mínima possível. O diagrama da Figura 8.3 mostra as proporções mínimas de tolueno e metanol para homogeneizar a quantidade de água indicada no eixo das abscissas. O volume final da amostra foi fixado em 17 ml; exemplificando, são necessários 10 ml de tolueno + 6,5 ml de metanol para conseguir solubilizar 0,5 ml de água.

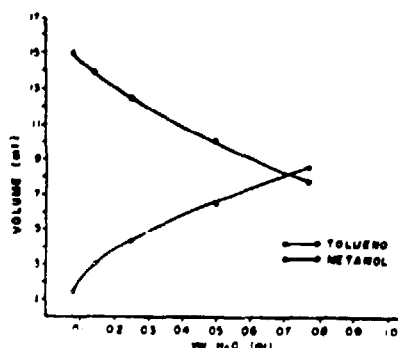


Figura 8.3.1 – Proporções mínimas de metanol em tolueno, necessárias para formar sistema de uma fase em função do volume de água. Arbitariamente o volume final foi fixado em 17 ml (Figura adaptada de BRANSOME⁽²⁾)

É necessário desenvolver critérios quantitativos para definir o volume mais adequado da amostra a ser medida. Um bom critério é associar para cada par de valores do diagrama de fase, semelhante ao da Figura 8.3, o índice ou fator de mérito:

$$\text{Índice de Mérito} = E \times V$$

onde V é o volume da amostra radioativa e E a eficiência de sua detecção.

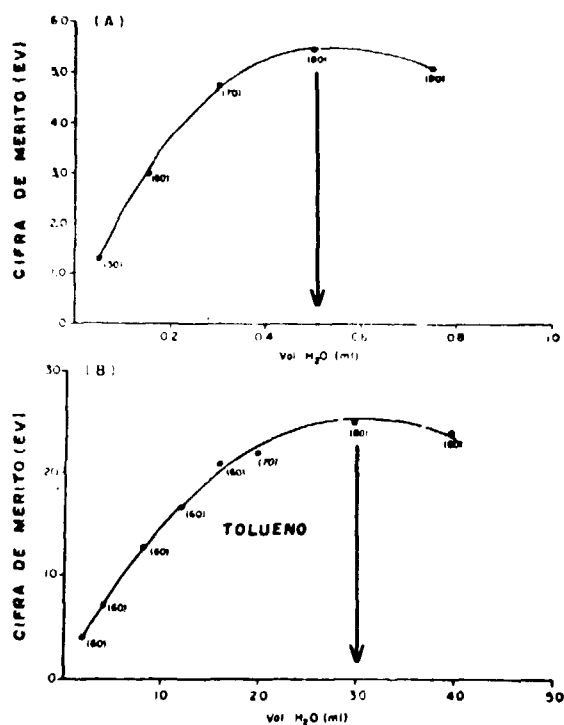


Figura 8.3.2 – (A) curva do índice de mérito EV (eficiência x volume) para a mistura tolueno + metanol + água. Previamente o tolueno continha 6 g/l de PPO. A calibração do equipamento (Packard Tricarb Liquid Scintillation Counter model 3002) foi fixada em janela 0.5 a 10. Os valores entre parênteses referem-se aos ganhos de cada amostra

(B) curva do índice de mérito EV para a solução de Bray, demais considerações análogas às da figura em (A)

(Figura adaptada de BRANSOME⁽²⁾)

As figuras em epígrafe mostram que quando o volume final da amostra não é limitante, entre a solução contendo tolueno + metanol e a solução de Bray, a preferência deverá recair na solução de Bray, tendo em vista o maior valor do índice de mérito no pico.

9 – EMULSÕES DE CONTAGEM

9.1 – Introdução

As amostras radioativas que não são solúveis nos solventes convencionais podem ter sua atividade determinada com razoável eficiência sob forma de emulsões cintiladoras. A série de produtos denominados Triton X tem sido usados para formar com amostras aquosas emulsões e geis em tolueno e p-xileno.

O triton x é basicamente um surfactante (alqui-fenoxipolieter xietanol) que é tolerado em altas concentrações sem comprometer a qualidade da solução cintiladora. O Triton X-100 é adicionado a óleos lubrificantes com fins detergentes e o Triton X-114 é usado na agricultura como dispersante de pesticidas, sendo portanto relativamente baratos e de fácil aquisição.

Patterson e Greene demonstraram que concentrações da ordem de 1:3 (triton:tolueno) ou maiores não acarretam diferenças práticas na eficiência de contagem. A Tabela IX.1 reúne alguns desses dados.

Tabela IX.1

Efeito do Surfactante Triton na Eficiência de Contagem de Amostras de ^3H

TRITON	EFICIÊNCIA DE CONTAGEM			
	VOLUME (ml)	TRITON X 45	TRITON X 114	TRITON X 100
0	47%	47%	47%	48%
1	43%	43%	44%	44%
2	41%	41%	42%	42%
3	40%	40%	40%	40%
4	36%	37%	37%	38%
5	34%	35%	35%	37%

Proporção de amplo emprego é a de 2 partes de tolueno para 1 de triton x-100, comportando até 40% de água.

A grande vantagem dessas soluções reside na sua capacidade de acomodar quantidades relativamente volumosas de água, mantendo elevado o nível da eficiência.

9.2 – A Eficiência de Contagem em Função do Volume Aquoso

O experimento registrado na Figura 9.2.1 utiliza a solução 'D' da Tabela VIII.1. O ^3H incorporado em cada amostra está sob a forma de $^3\text{H}_2\text{O}$ e o ^{14}C da ^{14}C -glucose. Em cada amostra manteve-se fixa a atividade de ^3H e ^{14}C , variando-se o volume de água de modo crescente até cerca de 3 ml nas duas séries de amostras.

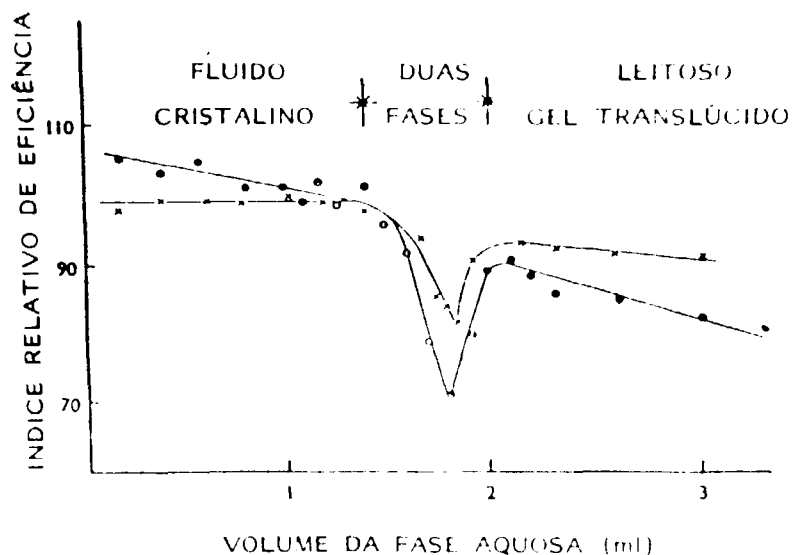


Figura 9.2.1 – Efeito do aumento da água na eficiência de contagem de amostras de ^3H (● — ●) e ^{14}C (x — x)
(Figura adaptada de KOBAYASHI e MAUDSLEY⁽⁵⁾)

Da Figura 9.2.1 podemos extrair importantes informações:

Até o volume de água de 1.5 ml nota-se que as amostras tem aspecto hialino. Adicionando mais água há formação de duas fases ocorrendo simultaneamente rápido declínio da eficiência de contagem para as duas séries. A partir de 2 ml forma-se a emulsão e o aspecto das amostras torna-se leitoso ou translúcido. Quanto a eficiência desta fase nota-se decréscimo discreto para as amostras de ^{14}C e mais acentuado para as de ^3H .

O comportamento das curvas da Figura 9.2.1 pode ser assim interpretado: no primeiro trecho o declínio da eficiência do ^3H é devido ao efeito de 'quençh' exercido pela própria água adicionada. Neste nível de 'quençh' a eficiência de contagem do ^{14}C praticamente não é alterada.

Na segunda parte da curva ocorre a separação entre as fases orgânicas e aquosa. Tanto a ^{14}C -glucose como a $^3\text{H}_2\text{O}$ permanecem predominantemente na fase aquosa. Neste caso somente as partículas beta situadas nas proximidades da superfície de separação das duas fases e que penetram na solução cintiladora serão contadas. As partículas beta do ^{14}C são mais energéticas e terão maior probabilidade de interagir com a solução cintiladora, enquanto menor número de partículas beta do ^3H terão essa oportunidade. Como consequência, nesta parte da curva a eficiência para o ^{14}C é ligeiramente superior a do ^3H .

A luz do exposto, ressalta a inconveniência de operar na fase 2, em virtude da grave e crítica falta de reprodutibilidade.

Com o incremento do volume de água, forma-se a emulsão ou gel. Nesta fase (3) as partículas de água tem dimensões microscópicas, cujo volume aumenta em função crescente da quantidade da água adicionada. Existe aí perfeita separação entre a amostra aquosa e a solução cintiladora, isto é, mantém-se a integridade funcional da solução cintiladora. As partículas beta dos dois radioelementos são contadas porque escapam das gotículas microscópicas e interagem com a solução cintiladora. Provavelmente as partículas beta chegam ou atingem a solução cintiladora com menor energia, devido a autoabsorção que ocorre na própria gotícula. Em compensação o sistema cintilador converte praticamente com máxima eficiência a energia remanescente da radiação. Deste modo explica-se a recuperação dos níveis de eficiência no início da terceira parte da curva da Figura 9.2.1. Nestes termos é óbvio que a eficiência

para o ^3H deverá ser menor visto que suas partículas são menos penetrantes e grande número delas não ultrapassam os limites da própria gotícula. O declínio da eficiência deverá variar em função do aumento do volume da gotícula que é, por sua vez, função da quantidade de água adicionada. A redução da eficiência neste trecho da curva é menos acentuada para os radioemissores beta mais energéticos, p.ex., ^{45}C , ^{36}Cl , ^{32}P etc., e para aqueles elementos emissores de radiação gama, mais penetrante.

Esta análise mostra uma das grandes vantagens da utilização destas soluções emulsificantes. Pode-se medir a radioatividade de amostras aquosas de radioelementos como ^{14}C com pequenas variações de eficiência de contagem. Este fato é de suma importância para as amostras contendo diferentes níveis de concentração do agente de 'quenck' como pode ocorrer, p.ex., nos radioimunoensaios e técnicas correlatas.

Benson adverte sobre a necessidade de padronização na condução do preparo dessas emulsões. Segundo esse investigador, convém aquecer previamente a amostra preparada sob forma de emulsão a temperatura de 40°C , seguindo-se de suave e breve agitação e acondicionamento a temperatura de 4°C por uma a duas horas antes das contagens. A negligência dessas etapas poderá acarretar a falta de reprodutibilidade das medidas. Com o auxílio da análise dos três trechos das curvas da Figura 9.2.1 pode-se explicar as razões dessas precauções:

A agitação violenta da amostra arrasta o oxigênio do ar para a solução cintiladora. A proporção desse oxigênio poderá ser aleatória alterando conseqüentemente a eficiência de contagem. O procedimento sugerido por Benson reduzirá a incorporação do oxigênio seja pela breve agitação como pelo provável escape desse gás na etapa de aquecimento. A manutenção da temperatura em 4°C visa aumentar a eficiência de contagem (a Figura 9.2.2 mostra esse efeito).

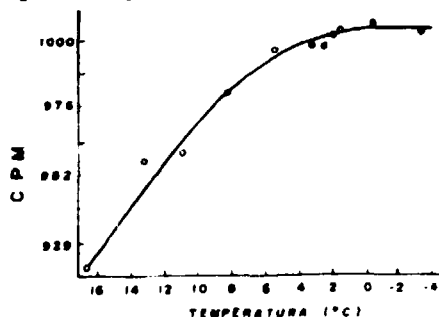


Figura 9.2.2 – Efeito da temperatura na eficiência de contagem de emulsões

9.3 – Determinação das Proporções Ideais dos Constituintes das Emulsões

As proporções mínimas entre o solvente e o agente emulsificante (em nosso caso o triton) para os diversos volumes de água podem ser determinados pela técnica do diagrama de fase. A Figura 9.3.1 mostra um exemplo típico para a solução contendo p-Xileno e Triton X-100. Segundo esse critério para a amostra final com 17 ml o índice de mérito máximo é alcançado em 3,2 ml o que faz corresponder a 19% de água, 46% de xileno e 35% de Triton X-100.

Outro processo mais genérico para a determinação das proporções ideais de solvente, agente emulsificante e fase aquosa é proposto por Fox. Seu método é semelhante ao indicado para as quantidades dos dois cintiladores discutidos em 7.2. Neste caso devem-se estabelecer três eixos coordenados. Segundo Fox, prepara-se um conjunto de 36 amostras com concentrações variáveis dos três componentes: solvente, emulsificante e o meio aquoso da amostra, de acordo com a disposição triangular da Figura 9.3.2. Essas amostras são medidas e para cada uma delas calcula-se o índice do mérito EV (eficiência x volume da fase aquosa). Transfere-se para cada ponto da matriz da Figura 9.3.2 esse resultado. Traça-se a seguir os contornos do índice de mérito EV por interpolação, variando-se as distâncias entre os contornos por valores desejados. A Figura 9.3.3 mostra resultado típico da solução ternária: tolueno, Triton X-100 e água.

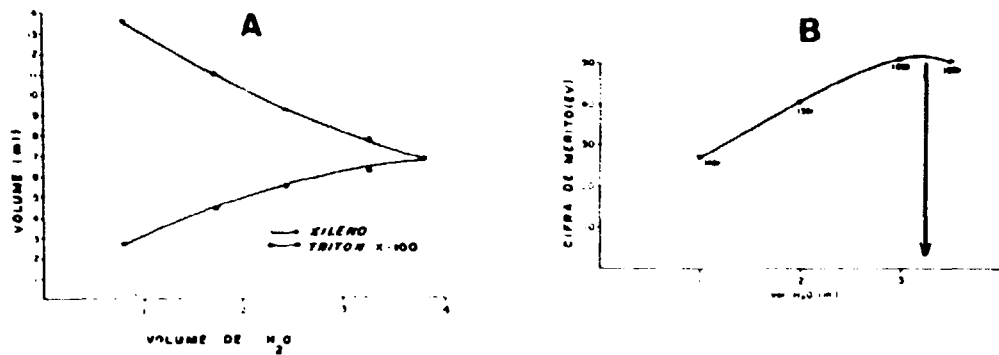


Figura 9.3.1 – A – proporções mínimas de p-xileno e triton-X 100 para produzir fase única em função do volume da água. O volume final foi arbitrariamente fixado em 17 ml
 B – curva para o índice de mérito para as combinações da Figura A adicionado no p-xileno 10 g/l de PPO
 (Figura adaptada de BRANSOME⁽²⁾)

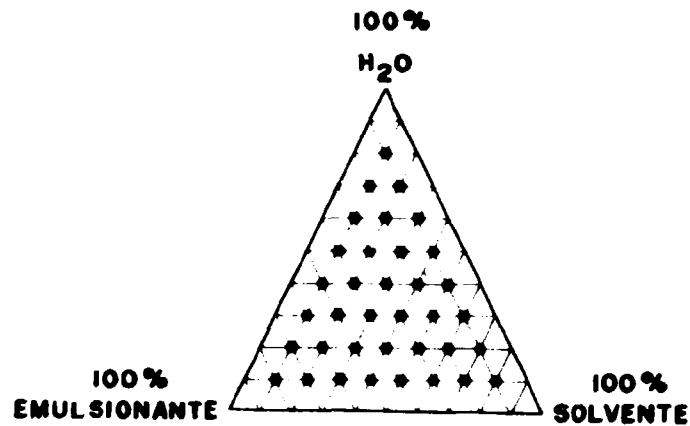


Figura 9.3.2 – Matriz de 36 pontos para estabelecer as proporções adequadas da emulsão, conforme esquema proposto por FOX
 (Figura adaptada de RAPKIN⁽⁹⁾)

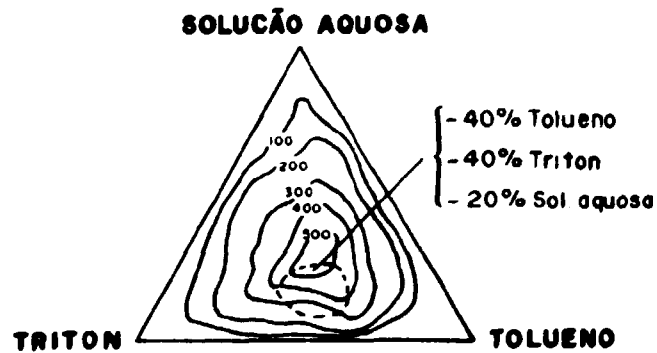


Figura 9.3.3 – Contornos de isoméritos estabelecidos por interpolação. A região delimitada pelo tracejado corresponde às proporções mais estáveis
 (Figura adaptada de RAPKIN⁽⁹⁾)

A qualidade da emulsão no tocante ao seu aspecto e a reprodutibilidade é acompanhada para as 36 amostras mediante contagens sucessivas permitindo-se definir a região de maior estabilidade, tracejada na Figura 9.3.3.

Vários produtos comerciais tem sido lançados no mercado para emulsionar diversos tipos de amostras dentre eles citam-se: Instagel, Aquosol, PCS, Ready-solv 1, Multisol, Handifluor e etc. Essas soluções pré-preparadas acomodam adequadamente até 50% de água.

9.4 – Determinação da Eficiência de Contagem das Emulsões

Para a determinação da eficiência de contagem de emulsões é aconselhado o método do padrão interno ou o da razão de canais.

Como nas emulsões as partículas de água mantém sua identidade com relação a solução cintiladora, torna-se importante que o padrão interno a ser utilizado tenha o mesmo coeficiente de partição do componente radioativo da amostra para as duas fases: aquosa e solução cintiladora.

Para as contagens de trício utiliza-se geralmente a água triciada como padrão interno. A utilização de tolueno-³H e outros solventes orgânicos incide em sério erro metodológico, visto que esses compostos se dispersarão na fase da solução cintiladora, não sofrendo a autoabsorção da fase aquosa (gotículas) e indicando, conseqüentemente, níveis de eficiências irreais, superestimados.

A conduta acertada para os diversos radioelementos é utilizar o padrão interno com composto radioativo de mesma natureza da amostra.

O método da razão de canais também mostra-se adequado a determinação da eficiência de acordo com Turner. A Figura 9.4.1 mostra estudo comparativo entre esses dois métodos. Como se observa, eles são praticamente concordantes nas três fases.

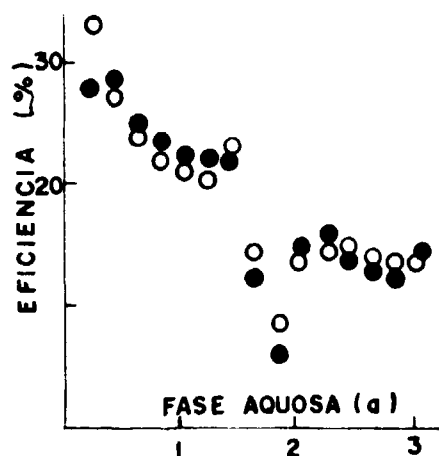


Figura 9.4.1 – Comparação entre os métodos de determinação da eficiência

- método da razão de canais
- método do padrão interno, utilizando ³H₂O

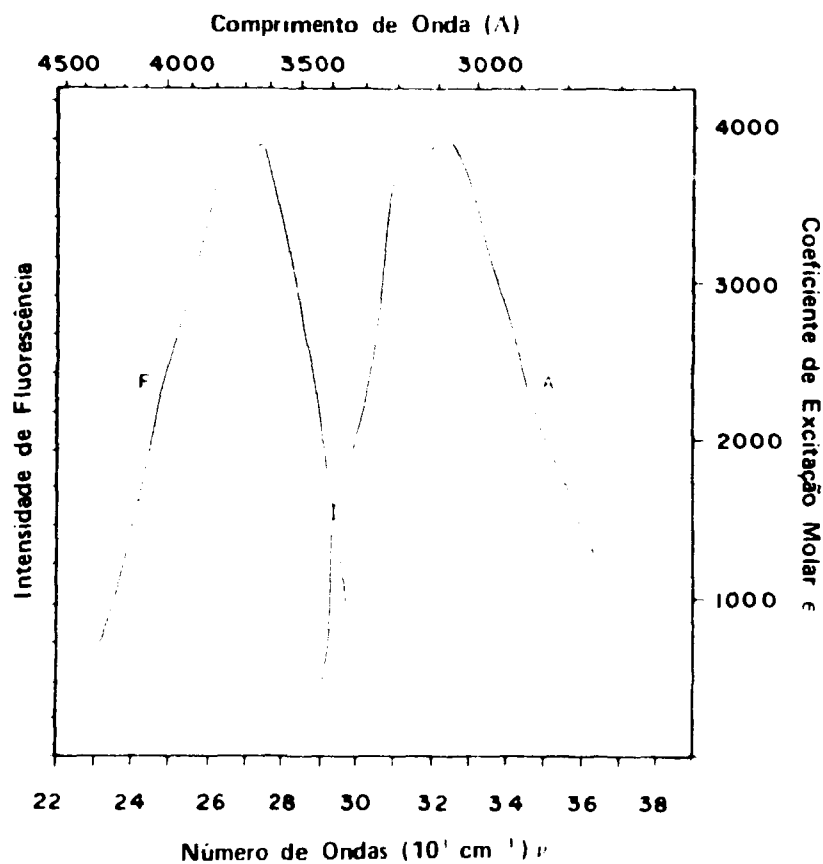
O método da fonte externa não se mostra indicado em vista que seu princípio se estriba na sensibilização da solução cintiladora pelo efeito da interação da radiação gama externa à solução. Essa radiação é relativamente penetrante e não sofre autoabsorção nas gotículas de água na mesma proporção da radiação beta autoctone. Essa restrição é tanto mais efetiva quanto mais baixa a energia do radionuclídeo da amostra (ex. ³H). Provavelmente, a limitação poderá ser desprezível para as radiações gama. Sheppard e Marlow utilizaram o sistema cintilador líquido para dosar ⁵¹Cr-EDTA aplicando a correção de eficiência pelo método da fonte externa em solução de tolueno e Triton X 100.

Em resumo, para o adequado uso das emulsões de contagem deve-se considerar:

- 1) A pureza do surfactante pode variar. Diferentes partidas do surfactante comercial nem sempre são uniformes, podendo conter componentes vários de 'quench' e de luminescência química.
- 2) Todas as amostras deverão conter o mesmo volume final e a mesma composição, isto é, o volume final da amostra deverá ser mantido constante.
- 3) Todas as amostras deverão ser preparadas da mesma maneira, p.ex, aquecimento a 40°C seguido de suave agitação e resfriamento a 4°C.
- 4) Todas as amostras deverão ser mantidas a 4°C pelo menos durante uma a duas horas antes do início das contagens, tendo em vista que algumas propriedades das emulsões são sensíveis a temperatura. O resguardo da luz também contribui para eliminar efeitos indesejáveis da fosforescência e luminescência química.
- 5) A determinação da eficiência de contagem pode ser efetuada tanto pelo método do padrão interno como pela razão de canais.
- 6) O método do padrão externo não é indicado para a determinação da eficiência de contagem principalmente dos radioelementos de baixa energia (emissores beta), sendo aceitável para radiações gama como é no caso do ^{51}Cr , ^{125}I , ^{55}Fe e outros.

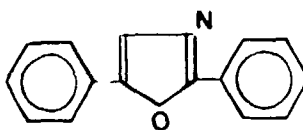
APÊNDICE A

INFORMAÇÕES E CARACTERÍSTICAS DE ALGUNS CINTILADORES
(ADAPTADAS DE BIRKS⁽¹⁾, PÁGINAS 368 a 393)



PPO
2,5-Difeniloxazol

$C_{15}H_{11}NO$
Peso molecular: 221

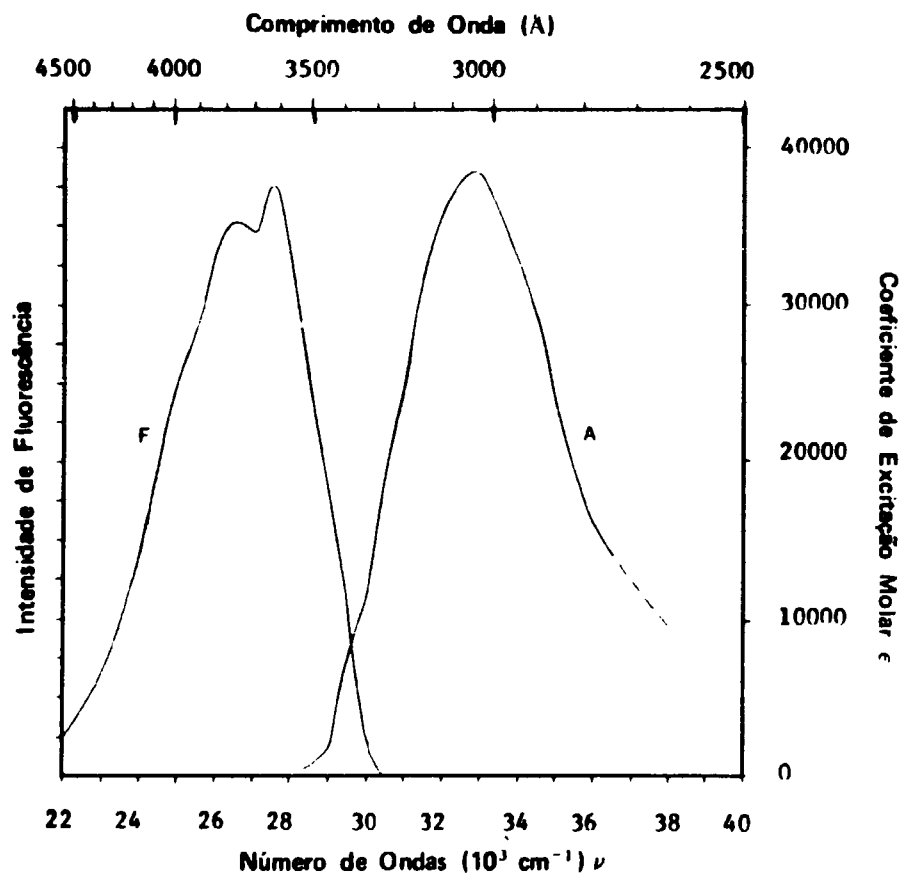


Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,8$

Pico de fluorescência 3650 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,6 nseg

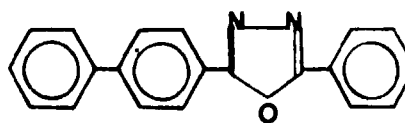
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 °C
	BA : m = 0,97	Xileno	185	335
	S 11/13 : m = 0,96	Tolueno	238	414
	S 20 : m = 0,94			

**PBD**

2 - Fenil - 5 - (4 - bifenilil) - 1,3,4 - oxadiazol

 $C_{20}H_{22}N_2O$

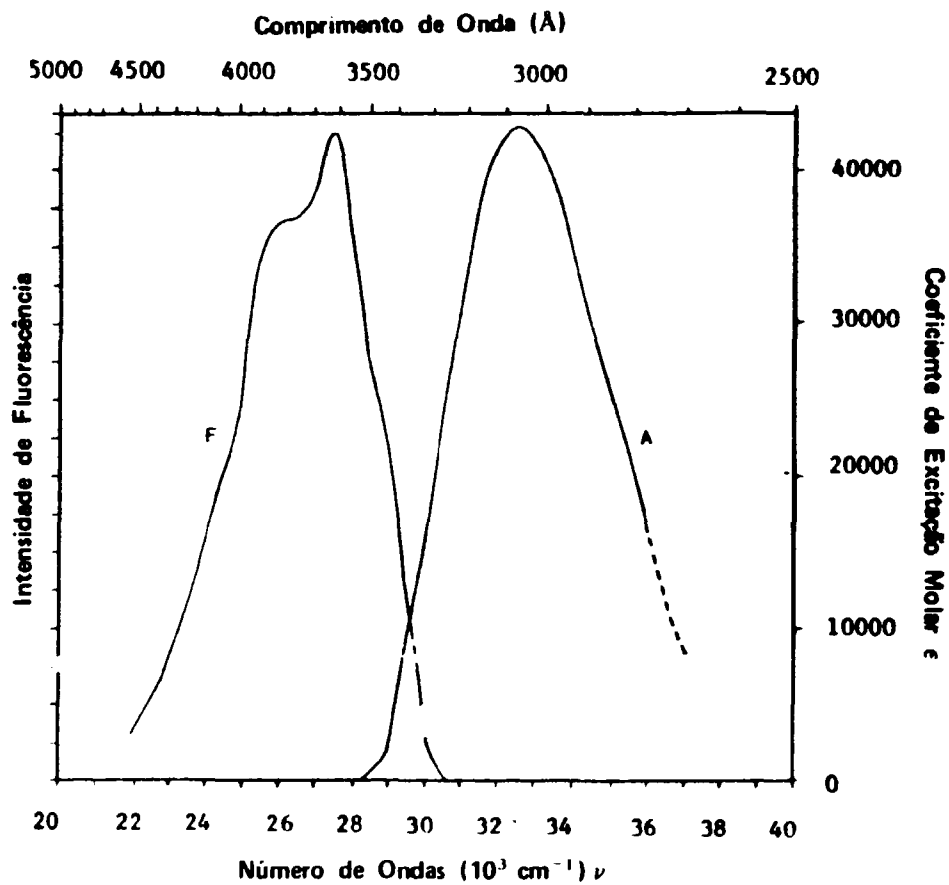
Peso molecular: 298

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,8$

Pico de fluorescência 3650 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,2 nseg

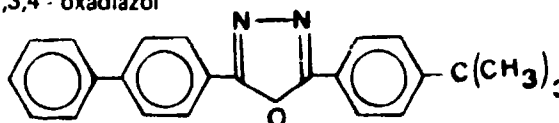
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20°C
	BA : m = 0,96	Xileno	8,6	18
	S-11/13 : m = 0,96	Tolueno	10	21
	S-20 : m = 0,93			

**Butil PBD**

2 - (4' - t - butilfenil) - 5 - (4'' - bifenilil) - 1,3,4 - oxadiazol

 $C_{24}H_{22}N_2O$

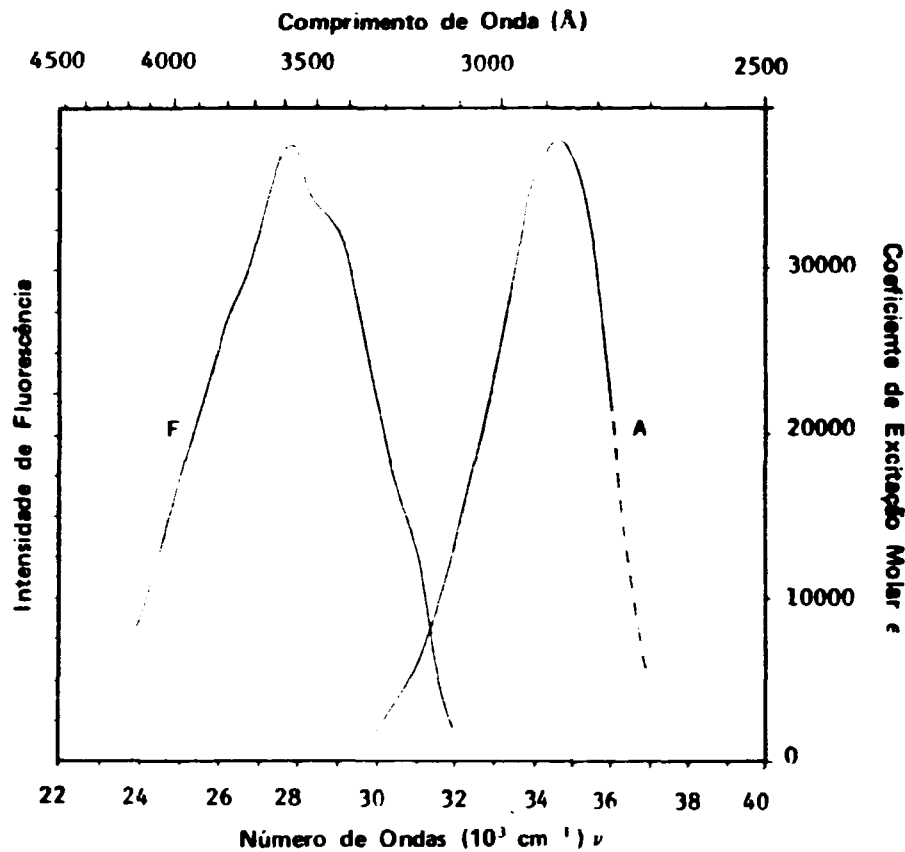
Peso molecular: 354

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,85$

Pico de fluorescência 3650 Å

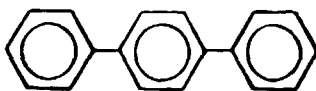
Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,2 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20°C
	BA : $m = 0,95$	Xileno	40	77
	S-11/13 : $m = 0,95$	Tolueno	57	119
	S-20 : $m = 0,93$			



TP

p-Terfenil

 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}$

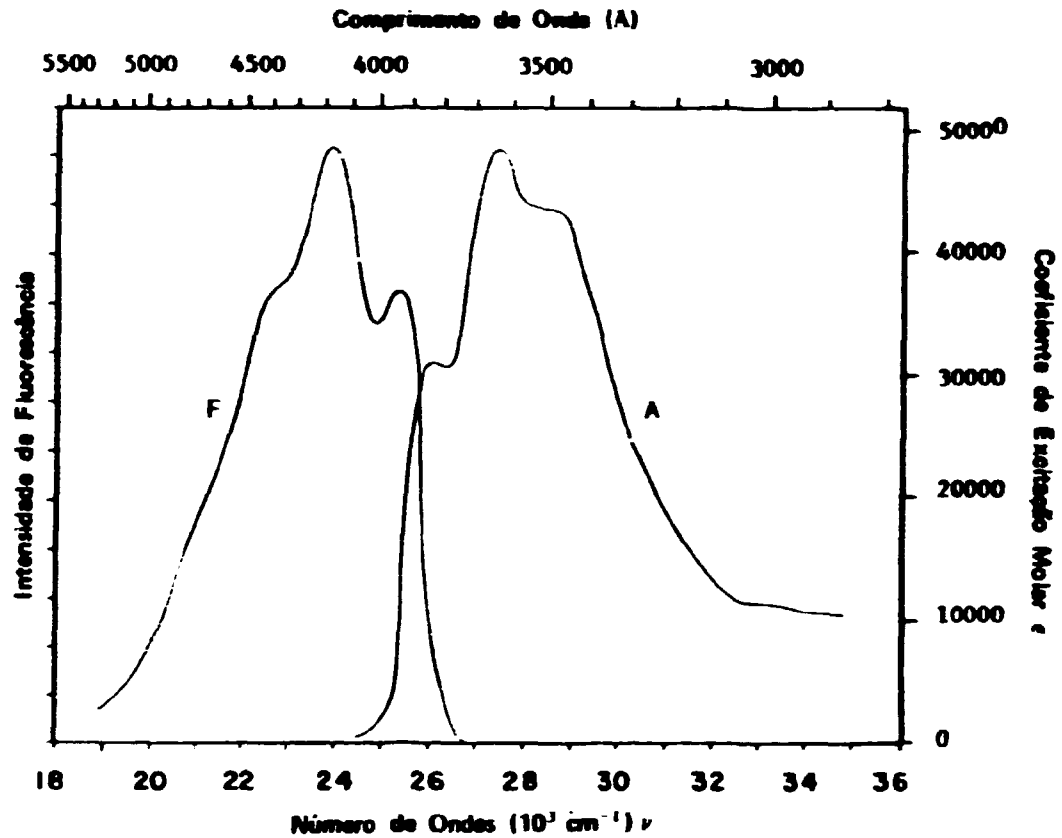
Peso molecular: 230

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,85$

Pico de fluorescência 3600 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,2 nseg

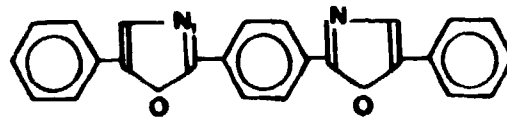
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0°C	à 20°C
	BA : $m = 0,97$	Xileno	3	6
	S-11/13 : $m = 0,90$	Tolueno	4,0	8,6
	S-20 : $m = 0,90$			

**POPOP**

1,4-Di-[2-(5-feniloxazolil)]-benzeno

 $C_{24}H_{16}N_2O_2$

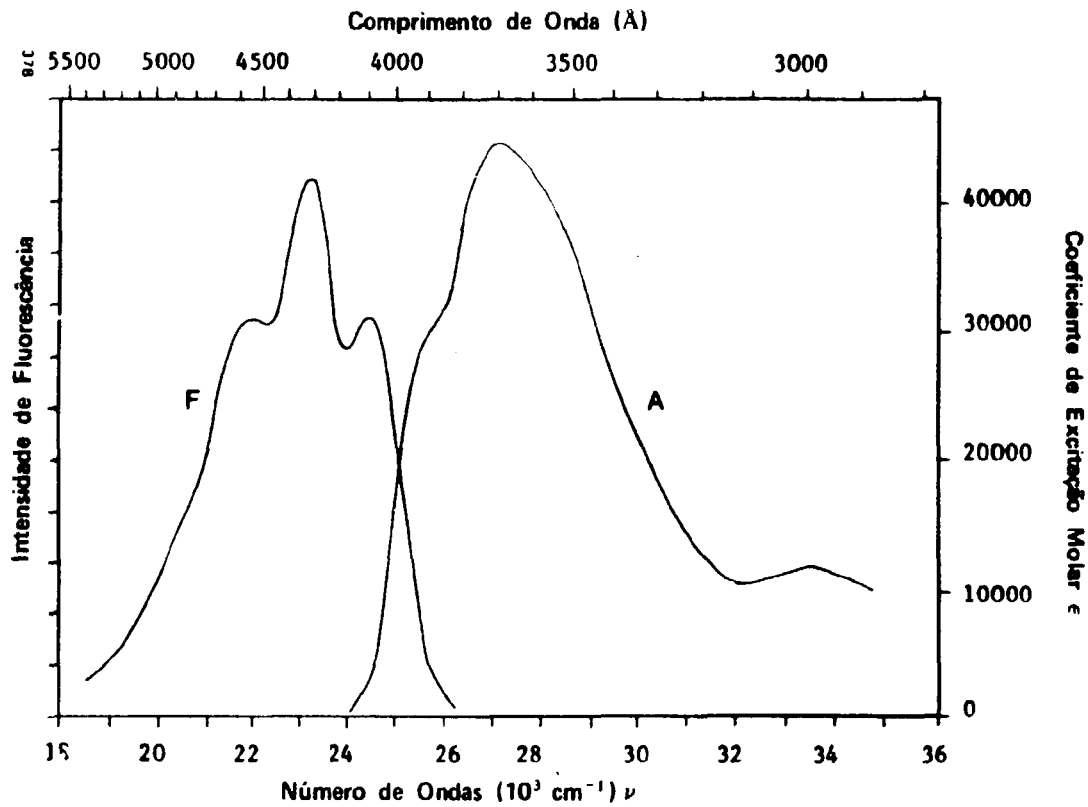
Peso molecular: 364

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,85$

Pico de fluorescência 4150 Å

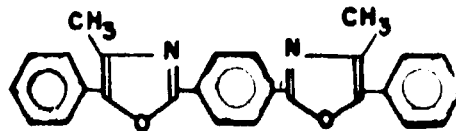
Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,5 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20°C
	BA : m = 0,83	Xileno	1,0	1,4
	S-11/13 : m = 0,91	Tolueno	1,5	2,2
	S-20 : m = 0,98			



Dimetil-POPOP
1,4 Di - [2 - (4 - metil - 5 - feniloxazolil)] - benzeno

$C_{26}H_{20}N_2O_2$
Peso molecular: 392

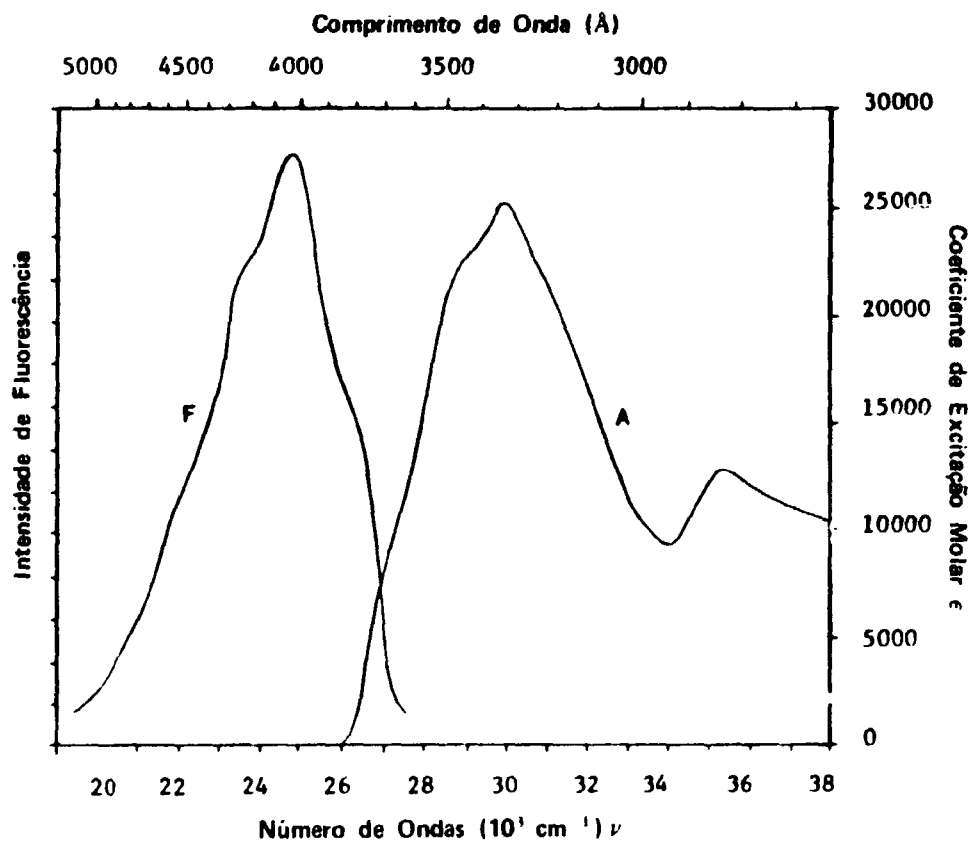


Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,85$

Pico de fluorescência 4300 Å

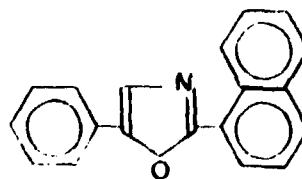
Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,5 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20°C
	BA : m = 0,78	Xileno	1,0	2,6
	S-11/13 : m = 0,86	Tolueno	2,0	3,9
	S-20 : m = 0,93			



α -NPO
2 - (1 - Naftil) - 5 - feniloxazol

$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{NO}$
Peso molecular: 271

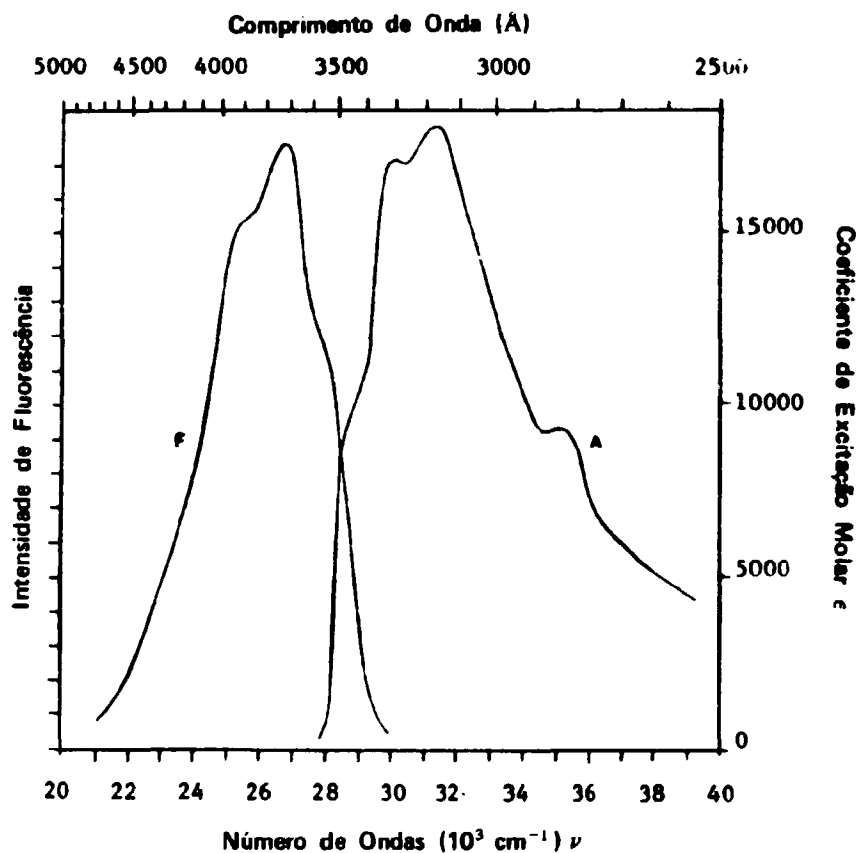


Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,8$

Pico de fluorescência 4000 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 2,0 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0°C	à 20°C
	BA : $m = 0,88$	Xileno	37	83
	S-11/13 : $m = 0,94$	Tolueno	50	108
	S-20 : $m = 0,95$			

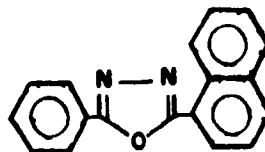


α -NPD

2 - (1 - Naftil) - 5 - fenil - 1,3,4 - oxadiazol

$C_{18}H_{12}N_2O$

Peso molecular: 272

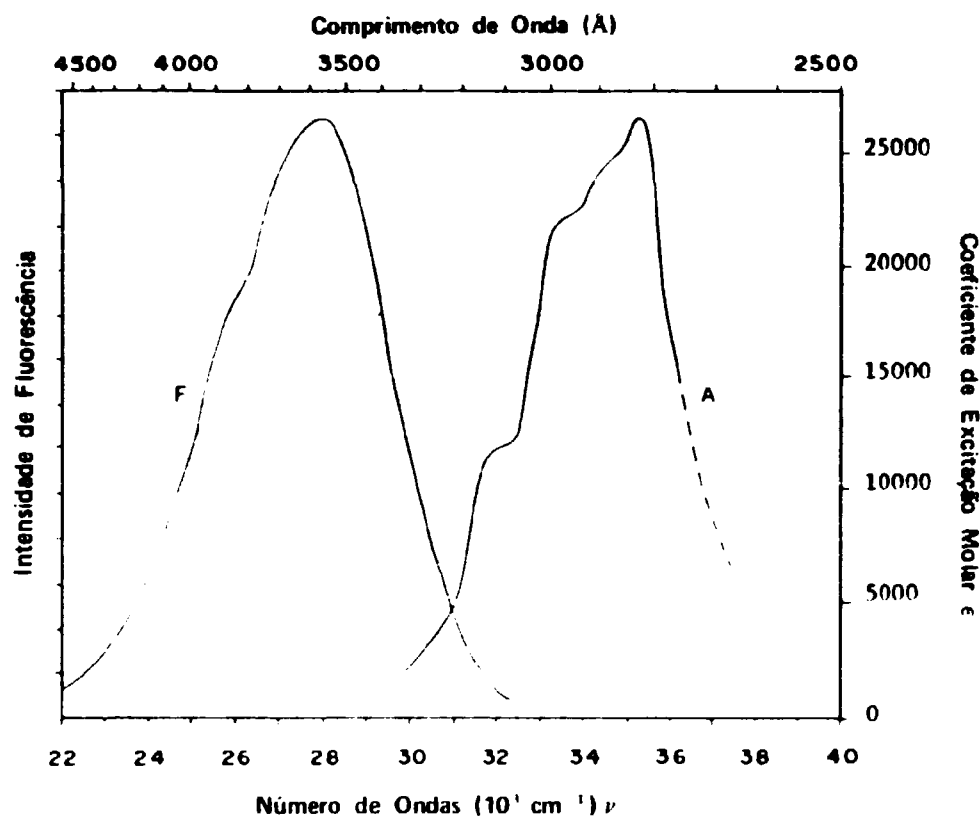


Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,7$

Pico de fluorescência 3700 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 2,0 nseg

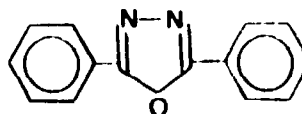
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 °C
	BA : m = 0,96	Xileno	—	—
	S-11/13 : m = 0,99	Tolueno	40,5	49
	S-20 : m = 0,95			

**PPD**

2,5 - difenil - 1,3,4 - oxadiazol

C₁₄H₁₀N₂O

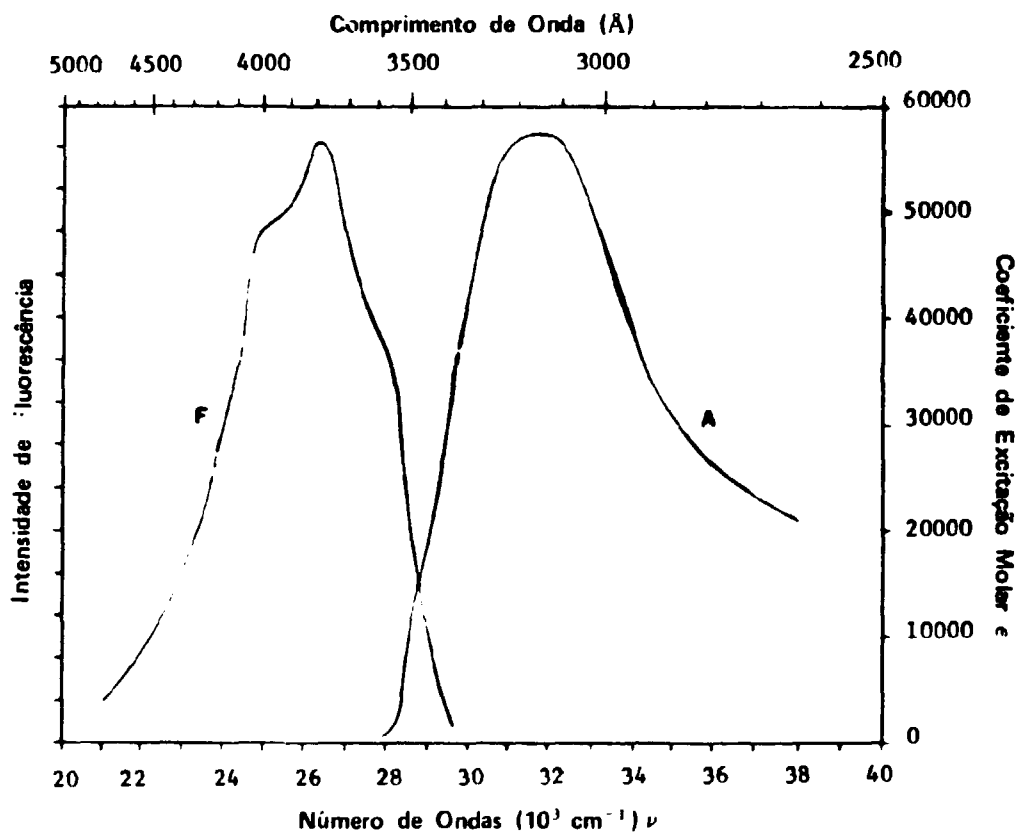
Peso molecular: 222

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,9$

Pico de fluorescência 3650 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,5 nseg

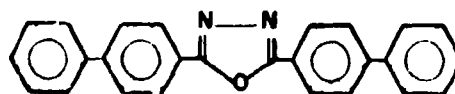
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 °C
	BA : m = 0,97	Xileno	24	48
	S 11/13 : m = 0,90	Tolueno	35	70
	S 20 : m = 0,93			

**BBD**

2,5 - Di - (4 - bifenilil) - 1,3,4 - oxadiazol

 $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$

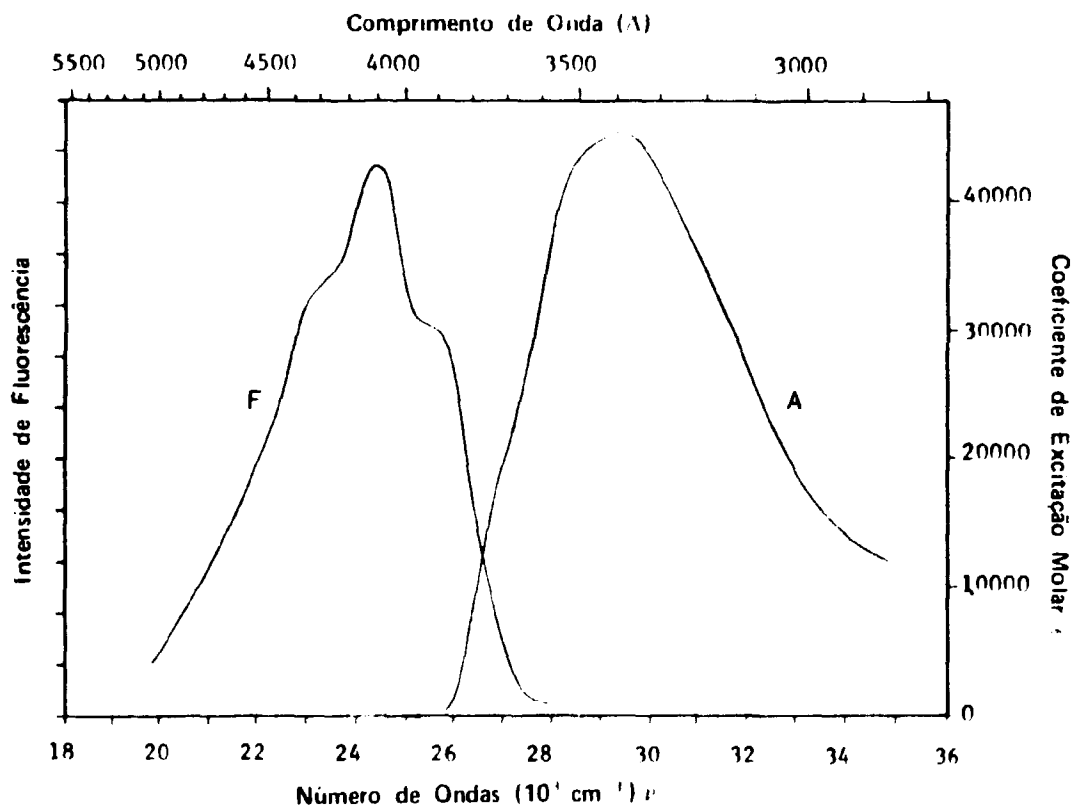
Peso molecular: 374

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,85$

Pico de fluorescência 3806 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,4 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20°C
	BA : m = 0,95	Xileno	0,7	1,0
	S-11/13 : m = 0,96	Tolueno	1,6	2,5
	S-20 : m = 0,94			

**BBO**

2,5 - Di - (4 - bifenilil) - oxazol

C₂₇H₁₉NO

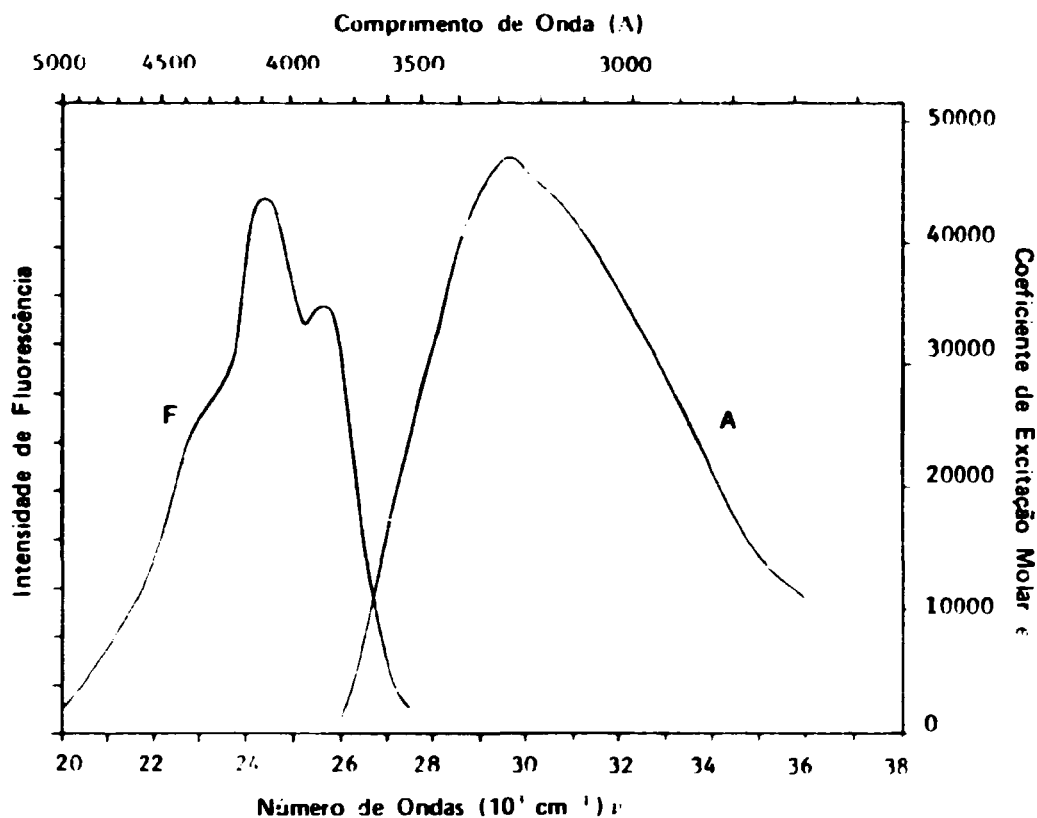
Peso molecular: 373

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $\eta = 0,75$

Pico de fluorescência 4100 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,4 nseg

Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 C
	BA : m = 0,86	Xileno	0,9	1,3
	S 11/13 : m = 0,91	Tolueno	1,2	3,1
	S 20 : m = 0,96			

**DPS**

4,4'-Difenilstilbene

 $C_{26}H_{20}$

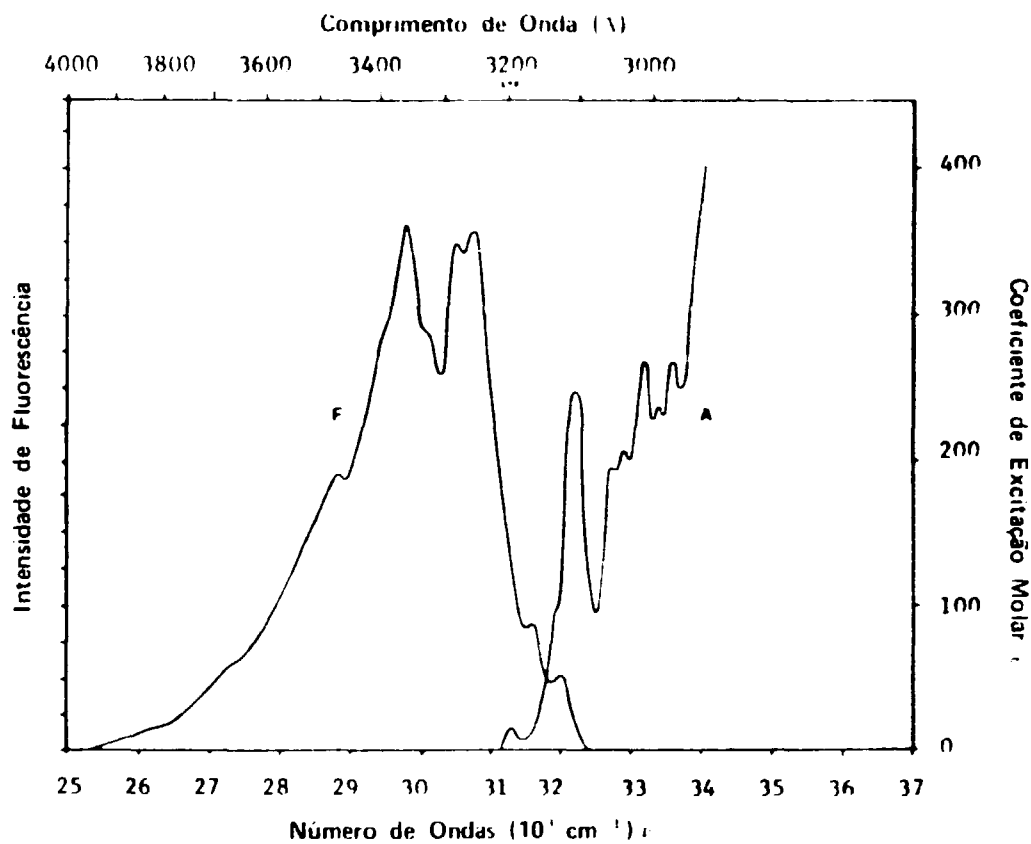
Peso molecular: 332

Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $\eta = 0,8$

Pico de fluorescência 4100 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C = 1,2 nseg

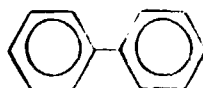
Fator de 'matching'	Fotocátodo tipo	Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 °C	
	BA 1 m	0,91	Xileno	0,7	0,9
	S 11/13 1 m	0,95	Tolueno	1,3	1,5
	S 20 1 m	0,97			



Naftaleno

$C_{10}H_8$

Peso molecular: 128



Eficiência quântica de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $q = 0,2$

Pico de fluorescência 3350 Å
3250 Å

Vida média de fluorescência em solução de tolueno à 20°C $\tau = 110 \text{ nseg}$

Solubilidade em g/l	à 0 °C	à 20 °C
Xileno	~ 170	~ 210
Tolueno	150	~ 265

APÊNDICE B

FÓRMULAS E RELAÇÕES ÚTEIS

Decaimento Radioativo

$$A = A_0 e^{-\lambda t} = A_0 e^{0.693t/T_{1/2}}$$

$$\lambda = 0.693/T_{1/2}$$

onde

A_0 → Atividade, em unidade conveniente, no instante $t = 0$

A → Atividade remanescente após decorrido o tempo ' t '

t → tempo decorrido expresso em uma adequada unidade

λ → Constante de desintegração (probabilidade do núcleo se desintegrar, na unidade do tempo adotado)

$T_{1/2}$ → tempo em que a atividade da amostra se reduz à metade; deve ser expresso na mesma unidade adotada para ' t '.

e → base dos logaritmos naturais ($\sim 2,7183$)

Exemplo – Determinar a atividade de uma amostra de ^3H após 3 anos sabendo-se que inicialmente sua atividade era $5 \mu\text{Ci}$ e sua meia vida física = 12,26 anos.

Neste caso:

$$A_0 = 5 \mu\text{Ci}$$

$$\lambda = 0,693/12,26 = 5,65 \times 10^{-2} \text{ (anos}^{-1}\text{)}$$

$$A = 5 \times e^{-5,65 \times 10^{-2} \times 3} = 4,22 \text{ (}\mu\text{Ci)}$$

Massa da Espécie Radioativa

$$m(\text{g}) = \frac{A(\text{DPM}) \cdot \text{PM}(\text{g})}{6,02 \cdot 10^{23} \cdot n \cdot \lambda \text{ (min}^{-1}\text{)}}$$

onde

m é a massa da substância radioativa

A é a atividade da amostra em unidade DPM (Desintegração por minuto)

PM é o peso molecular da substância radioativa (em gramas)

n é o número de átomos radioativos incorporados na molécula

λ é a constante de desintegração

Alternativamente podemos determinar 'm' pela seguinte expressão:

$$m(\text{g}) = 2,40 \cdot 10^{-24} \cdot \frac{T_{1/2}(\text{min}) \cdot A(\text{DPM}) \cdot \text{PM}(\text{g})}{n}$$

$T_{1/2}$ é a meia vida do nuclídeo radioativo.

Exemplo – Determinar a massa de Testosterona sabendo-se que a atividade presente é de 1 mCi, seu peso molecular é 228,4 g e está marcada com ^3H nas posições 1β , 2β . Neste exemplo:

$$A = 1 \text{ mCi} = 2,22 \cdot 10^9 \text{ DPM}$$

$$\text{PM} = 228,4 \text{ g}$$

$$n = 2$$

$$T_{1/2} = 12,26 \text{ anos} = 6,44 \cdot 10^6 \text{ min}$$

logo;

$$m = 4,94 \cdot 10^{-6} \text{ g} = 4,94 \text{ } \mu\text{g}$$

Atividade Específica

$$A_{\text{esp.}} = \text{atividade/massa do nuclídeo}$$

$$\lambda N = 0,693N/T_{1/2} \text{ (desintegração/seg/grama)}$$

onde

N → número de átomos por grama

$T_{1/2}$ → meia vida física do elemento radioativo expresso em segundos.

outra expressão semelhante;

$$\frac{\lambda N}{3,7 \times 10^{10}} = \frac{N \times 1,873 \times 10^{-11}}{T_{1/2}} \text{ (Curies/grama.)}$$

Alcance das Partículas Beta

A seguinte expressão empírica é válida para a faixa de energia: 0,01 a 2,5 MeV.

$$R = 412E^{(1,265 - 0,0954 \ln E)}$$

onde

R → Alcance da partícula (mg/cm^2)

E → Energia máxima (ver texto 1.1) em unidade: MeV

Exemplo – Estimar o alcance das partículas β do ^3H em solução de Tolueno, sabendo que a densidade deste solvente é $0,866 \text{ g/cm}^3 = 866 \text{ mg/cm}^3$ e a energia máxima do ^3H , $E = 0,018 \text{ MeV}$

$$R = 412 \cdot E^{(1,265 - 0,0954 \ln(0,018))}$$

$$\begin{aligned} R &= 412 \cdot (0,018)^{(1,265 - 0,0954 \ln 0,018)} \\ &= 412 \cdot 1,33 \cdot 10^{-3} = 0,5484 \text{ (mg/cm}^2\text{)} \end{aligned}$$

ou

$$0,5484 \text{ (mg/cm}^2\text{)} = 0,5484/866 \text{ (cm)} = 0,0063 \text{ mm}$$

Meia Vida Biológica

$$T_b = \frac{0,693}{\lambda_b}$$

onde

λ_b → constante de eliminação devida aos processos biológicos.

T_b → meia vida biológica.

Meia Vida Efetiva

$$T_{ef} = \frac{(T_{1/2}) (T_b)}{T_{1/2} + T_b}$$

onde

T_{ef} → meia vida efetiva

$T_{1/2}$ → meia vida física (devida ao decaimento radioativo)

T_b → meia vida biológica

Dose Absorvida pelo Organismo Devido a um Radioemissor β Distribuído Internamente no Corpo

$$D_\beta = 3,08 \cdot \frac{A_0 \bar{E}_\beta T_{ef} (1 - e^{-0,693 t/T_{ef}})}{M}$$

onde

D_β → dose em rads, devida a energia liberada por radiação β . Rad é unidade de dose absorvida e deriva da abreviatura de 'Radiation Absorbed Dose'. O rad corresponde a razão:

$$1 \text{ rad} = 100 \text{ ergs/g de tecido.}$$

M → Massa do corpo inteiro ou do órgão alvo (em gramas)

A_0 → Atividade inicial total do radioisótopo (em μCi) para corpo inteiro ou fração da atividade acumulada no órgão alvo.

T_{ef} → meia vida efetiva (em horas)

t → tempo decorrido da introdução do radioisótopo no organismo (em horas)

\bar{E}_β → Energia média da radiação ($\sim 1/3 E_{MAX}$)

Exemplo 1 – Estimar a dose que um laboratorista de 70 kg estará sujeito se foi alvo de acidente de ingestão de 2 mCi de $^3\text{H}_2\text{O}$, pressupondo-se que a T_{ef} da água é de 11 dias e a energia máxima do ^3H é de 18 keV.

$$M = 70 \text{ kg} = 70.000 \text{ g}$$

$$A_0 = 2 \text{ mCi} = 2000 \mu\text{Ci}$$

$$E \cong 1/3 E_{max} \cong 6 \text{ keV} \cong 0,006 \text{ MeV}$$

$$T_{ef} = 11 \text{ dias} = 264 \text{ horas}$$

$$t = \infty$$

Substituindo esses valores na fórmula acima:

$$D = \frac{3,08 \cdot 2000 \cdot 0,006 \cdot 264 (1 - 0)}{70000} = 0,139 \text{ rads}$$

Exemplo 2 – Estimar a dose no segundo dia após o acidente ($t = 48$ horas)

$$D = \frac{3,08 \cdot 2000 \cdot 0,006 \cdot 264 (1 - 0,88)}{70000} = 0,0165 \text{ rads}$$

Unidade Comuns de Radioatividade

$$1 \text{ Curie (Ci)} = 2,22 \times 10^{12} \text{ desintegrações por minuto} = \text{DPM}$$

$$= 3,7 \times 10^{10} \text{ desintegrações por segundo} = \text{DPS}$$

$$= 10^3 \text{ milicuries} = 10^3 \text{ mCi}$$

$$= 10^6 \text{ microcuries} = 10^6 \mu\text{Ci}$$

$$= 10^9 \text{ nanocuries} = 10^9 \text{ nCi}$$

$$= 10^{12} \text{ picocuries} = 10^{12} \text{ pCi}$$

$$= 10^{15} \text{ femtocuries} = 10^{15} \text{ fCi}$$

Conversão de Unidades de Energia

Ergs	Eletrons Volts	Gramas*	uma**
1.0	6.24×10^{11}	1.1126×10^{-21}	6.701×10^2
1.602×10^{-12}	1.0	1.7826×10^{-33}	1.0736×10^{-9}
8.9875×10^{20}	5.610×10^{32}	1.0	6.0225×10^{23}
1.4923×10^{-3}	9.3148×10^8	1.6604×10^{-24}	1.0
10^7 ergs = 1 joule		4.185 joules = 1 caloria	

* A energia pode ser expressa em unidades de massa de acordo com a expressão relativística $E = mc^2$, onde c é a velocidade de propagação da luz no vácuo ($c = 2,9979 \cdot 10^8 \text{ ms}^{-1}$)

** uma = unidade de massa atômica

APÊNDICE C

Contribuições na Formação de Contagem de Fundo ('Background') em amostras

Saturada: de Ar Contendo 8g de Butil-PBD/Litro de Tolueno

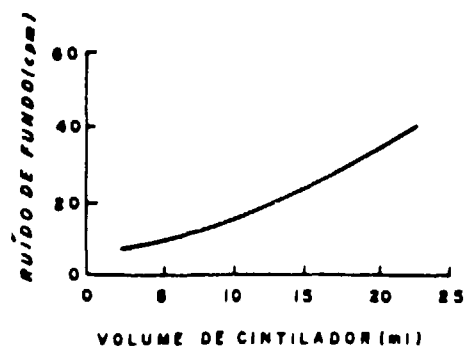
(Tabela Adaptada de Kobayashi e Maudsley⁽⁵⁾)

Condições de Contagem *	Equipamento Calibrado para	
	³ H	¹⁴ C
Eficiência de Contagem do ³ H	60%	0,05%
Eficiência de Contagem do ¹⁴ C	20%	63%
'Background' Total (cpm ± D.P. de Solução)		
Frasco de Polietileno de 20ml de Volume	11,76 ± 0,91	18,40 ± 1,53
Frasco de Vidro de Baixo Teor de K ue 22ml	27,19 ± 1,91	18,57 ± 1,72
Frasco de Vidro com Baixo Teor de K de 12ml de Volume Contendo 5ml de Solução e com Adaptador de Polietileno	17,70 ± 1,25	16,33 ± 1,82
Frasco de Polietileno de 7 ml de Volume Contendo 5ml de Solução com o Adaptador de Plástico	8,94 ± 0,94	15,34 ± 0,77
Distribuição do 'Background'		
Compartimento de Contagem Vazio **	4,42 ± 0,46	15,41 ± 0,90
Frasco de Polietileno de 20ml sem Solução	2,93	1,57
Frasco de Vidro de 22ml com Baixo Teor de K, Vazio	18,00	0,39
Frasco de Vidro de 12ml com Baixo Teor de K, Vazio com Adaptador de Plástico	9,80	1,89
Frasco Vazio de Polietileno de 7 ml de Volume Colocado com Adaptador de Plástico	3,12	0,42
10ml de Solução Cintiladora	4,49	2,09

- * -- Todas as amostras foram contadas em 10 replicatas. Os frascos vazios foram contados durante 10 minutos, por duas vezes. Os frascos contendo a solução foram contados por 10 minutos uma única vez cada. A distribuição do 'Background' foi determinada por diferença. As contagens atribuídas ao volume de 10ml da solução cintiladora corresponde a média dos valores da diferença para frascos de polietileno e de vidro de baixo teor de potássio.
- ** Contado por 220 minutos (11 x 20 minutos)

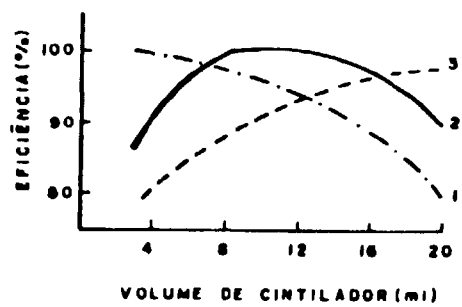
APÊNDICE C

A figura a seguir apresenta a variação do ruído de fundo em função do volume da solução cintiladora empregada. Equipamento calibrado para mensurar ^3H com eficiência de contagem de 50% (Adaptado de Rapkin⁽¹⁰⁾, página 16).



APÊNDICE D

Efeito do volume total da amostra (solução cintiladora + fonte) na eficiência relativa de contagem segundo três posicionamentos diferentes da amostra em relação às fotomultiplicadoras. (Figura adaptada de Rapkin⁽¹⁰⁾, página 15).



ABSTRACT

The measurement of low energy β emitting radioisotopes, in particular ^3H and ^{14}C , became the final step of almost all the analytical procedures involving organic compounds or biological specimens which cannot be easily labeled using other radionuclides.

The very low efficiency or even the absolute impossibility of measuring their radioactivity by the conventional methods (solid scintillators, gas counters, etc.) led to the development of liquid scintillation techniques. The possibility of obtaining counting geometries up to 4π for a certain radioactive source, has increased enormously the performance of this type of counters that use scintillating solutions, providing total efficiencies of about 50% for ^3H and ^{14}C .

The theoretic basis for the use of this solutions and of the whole electronic systems, the physical and chemical characteristics of the scintillators and solvent which are normally utilized, the criteria for choosing them and finally the cautions recommended in the preparing of the samples for counting are all presented in this "notes".

They have been called "notes", just because they represent a summary of informations (sometimes hard to be obtained by the beginners or by persons working without well organized bibliographic support) which, even following logic sequence, do not want to be a final, complete, homogeneous text.

The bibliographic references were selected in a sense of providing a useful instrument to the worker that wants to become more profound and specialized in the utilization of such scintillating techniques in the biological field.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. BIRKS, J. B. Scintillation counting data and specifications. In: *Koch Light Laboratories*,: 363-393, 1970. (Catálogo comercial)
2. BRANSOME, JR., E. D. *The current status of liquid scintillation counting*. New York, Grune & Stratton, 1970.
3. HORROCKS, D. L. *Applications of liquid scintillation counting*. New York, Academic Press, 1974.
4. KALLMANN, H. Scintillation counting with solutions. *Phys. Rev.*, 78(5):621-22, 1950.
5. KOBAYASHI, Y. & MAUDSLEY, D. V. *Biological applications of liquid scintillation counting*. New York, Academic Press, 1974.
6. NICHOLSON, P. W. *Nuclear electronics*. London, John Wiley, 1974. p.166.
7. PATTERSON M. S. & GREENE, R. C. Measurement of low energy betaemitters in aqueous solution by liquid scintillation counting of emulsions. *Anal. Chem.*, 37(7):854-857, 1965.
8. PONTES, B. *Cintilador Líquido*. Rio de Janeiro, Universidade do Estado da Guanabara, 1966.
9. RAPKIN, E. *Gel and emulsion counting of aqueous solutions*. Sem local, Intertechnique France, sem data. (Digitechniques technical review, 5)
10. RAPKIN, E. *Preparation des échantillons pour le comptage par scintillation liquide: partie-solvants et scintillateurs*. Sem local, Intertechnique, Sem data. (Digitechniques technical review)
11. RAPKIN, E. *Sample preparation for liquid scintillation counting: solubilization techniques*. Sem local, Intertechnique France, 1969. (Digitechniques technical review)

(*) As referências bibliográficas relativas a documentos localizados pelo IPEN foram revistas e enquadradas na NB-66 da ABNT.

12. RAPKIN, E. *Temperature control in liquid scintillation counting*. Sem local, Intertechnique France, 1968. (Digitechniques technical review)
13. SCHRAM, E. & LOMBAERT, R. *Organic scintillation detectors*. New York, Elsevier, 1963.
14. SHEPPARD, G. & MARLOW, C. G. The simultaneous measurement of ^{51}Cr & ^{14}C by liquid scintillation counting. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 22:125-130, 1971.
15. WANG, C. H. & WILLIS, D. L. *Radiotracer methodology in biological science*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1965.
16. WIEGMAN, T.; WOLDRING, M. G.; PRATT, J. J. A new cocktail for liquid scintillations counting of aqueous radioimmunoassay-samples. *Clin. Chim. Acta*, 59:347-56, 1975.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Caixa Postal, 11 049 – Pinheiros

CEP 05508

01000 – São Paulo – SP

Telefone: 211-6011

Endereço Telegráfico – IPENUCLEAR

Telex – (011) 23592 - IPEN - BR