



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE DL-ALANINA
PARA DOSIMETRIA DA RADIAÇÃO GAMA E
DE ELÉTRONS**

ZÉLIA MARIA DA COSTA

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear.

Orientador:
Dra. Leticia Lucente Campos Rodrigues

**São Paulo
1994**

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

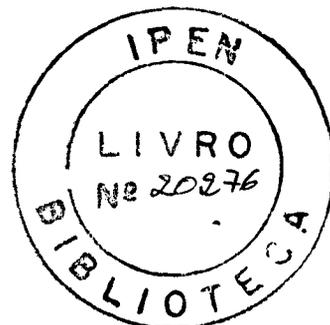
**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE DL-ALANINA
PARA DOSIMETRIA DA RADIAÇÃO GAMA E DE ELÉTRONS**

ZÉLIA MARIA DA COSTA

Orientadora: Dra. LETÍCIA LUCENTE CAMPOS RODRIGUES

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências na área de Tecnologia Nuclear.

1994



Y. J. S.

Aos meus pais, Maria José
e Marcus Justino , e à
minha irmã Célia Regina

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

à Dra. Letícia Lucente Campos Rodrigues, pela orientação, confiança e amizade demonstrados durante todas as fases desse trabalho.

à MSc. Maria Cristina Rosa Yamasaki pelas discussões e sugestões apresentadas durante o trabalho.

ao Prof. Dr. Masao Matsuoka pela constante ajuda oferecida durante as medidas de ressonância paramagnética eletrônica.

à MSc. Celina Lopes Duarte, pelo apoio durante o período de utilização do laboratório RPE.

à Dra. Linda V.E. Caldas e ao Sr. Wanderley de Lima responsáveis respectivamente, pelo Serviço de Proteção Radilógica e Coordenadoria de Aplicações na Engenharia e Indústria, locais onde esse trabalho foi realizado.

aos engenheiros Carlos Gaia e Elisabeth Somessari responsáveis pelas atividades de irradiação no acelerador Dynamitron II e fonte de Co-60.

às secretárias Elza Manzatto (GE) e Maria Cristina Santos Ferreira (SPD) pela ajuda constante.

a todo o pessoal da Comissão de Pós Graduação (CPG) pela atenção e colaboração.

a todo o pessoal da Biblioteca do IPEN, pela colaboração durante todo o trabalho.

a todo o pessoal do laboratório de produção de materiais dosimétricos pela ajuda oferecida.

ao amigo Ademar José Potiens Jr. pela constante ajuda nos trabalhos com o microcomputador.

à amiga Maria do Socorro Nogueira pelo empréstimo do computador pessoal.

aos colegas do GE e SPD e aos demais amigos aqui não citados nominalmente mas, que de alguma maneira, apoiaram a realização desse trabalho.

ao INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES, na pessoa do Superintendente Dr. Spero de Penha Morato pela oportunidade de pesquisa oferecida para a realização desse trabalho.

ao CNPq pelo apoio financeiro durante este trabalho.

a todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução desse trabalho.

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE DL-ALANINA PARA DOSIMETRIA DA RADIAÇÃO GAMA E DE ELÉTRONS

ZÉLIA MARIA DA COSTA

RESUMO

Dois sistemas dosimétricos diferentes utilizando amostras de DL-Alanina foram empregados para determinação da dose absorvida, proveniente de uma fonte gama de ^{60}Co e elétrons produzidos por um acelerador.

O primeiro sistema dosimétrico baseia-se na relação entre os radicais livres formados e a dose absorvida utilizando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica. São descritos os detalhes de preparação das amostras, os parâmetros de ajuste do espectrômetro, a avaliação do sinal obtido com diferentes doses, a influência das condições ambientais no decaimento do sinal, a influência da taxa de dose e a dependência com o tipo de radiação.

O segundo sistema dosimétrico baseia-se na determinação por espectrofotometria da absorvância do complexo formado quando a alanina irradiada é dissolvida em uma solução contendo sulfato ferroso amoniacal e alaranjado de xilenol em H_2SO_4 (0,05N). Foram analisadas diferentes concentrações de cada reagente utilizado na preparação dessa solução, bem como a influência do tipo de radiação e da taxa de dose na absorvância.

DEVELOPMENT OF DL-ALANINE SYSTEMS FOR GAMMA RADIATION AND ELECTRON DOSIMETRY

ZÉLIA MARIA DA COSTA

ABSTRACT

Two different dosimetric systems using DL-Alanine samples were employed to determine the absorbed dose from ^{60}Co gamma-rays source and electrons emitted from an accelerator.

The first dosimetric system is based on the relationship between free radicals produced and the absorbed dose using the electron spin resonance (ESR) technique. Details on the sample preparation, the spectrometer parameter setting, the analysis of the ESR signal to dose, the influence of dose rate and the radiation type dependence are described.

The second dosimetric system is based on the determination by absorbance spectrophotometry of the complex produced, which are formed when the irradiated alanine is dissolved in a solution containing ferrous ammonium sulphate xyleneol in 0,05 N H_2SO_4 . Different concentrations for each reagents has been analyzed in the preparation of this solution as well as the influence caused by radiation type and dose rate in the absorbance.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Objetivos.....	03
2. CONCEITOS DE DOSIMETRIA.....	04
2.1 Dose Absorvida.....	05
2.2 Influência de Fatores Externos em Dosimetria de Doses Altas.....	06
2.3 Propriedades Dosimétricas.....	08
3.PRINCÍPIOS DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETTRÔNICA (R.P.E.)	11
3.1 Condição de Ressonância.....	11
3.2 Tratamento Clássico da R.P.E.....	16
3.3 Interação Hiperfina.....	18
3.4 Princípio de Funcionamento do Espectrômetro R.P.E.....	21
3.5 Fator de Desdobramento Espectroscópico ou Fator "g".....	22
4. ESPECTROFOTOMETRIA	25
4.1 Absorvância.....	25
4.2 Método Químico de Dosimetria Utilizando Espectrofotometria.....	28

5. A ALANINA COMO DOSÍMETRO.....29

5.1 Produção de Radicais Livres na Alanina.....29
5.2 Método Espectrofotométrico Utilizando a Alanina.....33
5.2 A Alanina Comercial34

6. MATERIAIS E MÉTODOS.....35

6.1 Materiais Utilizados.....35
6.2 Cuidados com a Vidraria.....36
6.3 Equipamentos Utilizados.....37
6.4 Sistemas de Irradiação.....38
 6.4.1 Sistema de Irradiação Gama.....38
 6.4.2 Sistema de Irradiação com Elétrons.....43
6.5 Interpretação dos Resultados46
 6.5.1 Avaliação dos Dados.....46
 6.5.2 Tratamento dos Dados.....47
6.6. Método de Ressonância Paramagnética Eletrônica.....47
 6.6.1 Leitura dos Dosímetros.....47
 6.6.2 Amostra Padrão.....49
6.7 Método Espectrofotométrico.....49
 6.7.1 Leitura dos Dosímetros.....49

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 Ressonância Paramagnética Eletrônica.....51
 7.1.1 Espectro de Absorção51
 7.1.2 Dependência do Sinal com a Massa de Alanina.....54
 7.1.3 Dependência do Sinal com a Potência de Microondas.....56
 7.1.4 Decaimento do Sinal58
 7.1.5 Dependência do Sinal com o Tipo da Radiação.....61
 7.1.6 Dependência do Sinal com a Taxa de Dose.....63
 7.1.7 Curva de Dose Resposta.....65
 7.1.8. Cálculo do Fator "g".....67

7.2 Método Espectrofotométrico.....	68
7.2.1 Espectro de Absorção.....	68
7.2.2 Efeito da Dissolução de Alanina na Estabilidade da Solução de Referência.....	71
7.2.3 Efeito da Pureza da Água.....	76
7.2.4 Efeito da Concentração de Alanina	77
7.2.5 Medida do pH.....	79
7.2.6 Efeito da Concentração de Alaranjado de Xilenol.....	81
7.2.7 Efeito da Concentração de Ácido Sulfúrico.....	83
7.2.8 Efeito da Concentração de Sulfato Ferroso.....	84
7.2.9 Dependência da Resposta com a Taxa de Dose.....	86
7.2.10 Dependência da Resposta com o Tipo de Radiação.....	87
7.2.11 Estabilidade da Resposta em Função do Tempo.....	88
7.2.12 Curva de Dose Resposta para 50 mg de Alanina.....	89
7.2.13 Curva de Dose Resposta para 20 mg de Alanina.....	92
8. CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

1. INTRODUÇÃO

A radiação ionizante é um meio efetivo de acelerar reações químicas e melhorar a qualidade de produtos naturais e sintéticos, oferecendo vantagens tecnológicas.

A escolha dos processos industriais e das pesquisas avançadas que utilizam essas radiações depende de uma análise das qualidades do material, sendo necessária, em ambos os casos, a presença de um sistema dosimétrico seguro que possa garantir que o tratamento requerido foi corretamente aplicado.

Particularmente, três processos importantes, como a esterilização de produtos de uso médico, a preservação de alimentos por irradiação e a radioterapia, estão diretamente associados à saúde pública. Outras principais aplicações industriais da radiação, como a modificação de polímeros, a cura de revestimento de superfícies e a irradiação de fios e cabos, que oferecem vantagens em relação aos sistemas convencionais, principalmente no aspecto ambiental, também necessitam de um controle da dose absorvida para que seja obtido o efeito desejado.

A dosimetria da radiação tem por finalidade a determinação da dose absorvida resultante da interação da radiação ionizante com o meio, além de assegurar que os resultados obtidos em laboratório possam ser reproduzidos em outros locais. Para isso utilizam-se os dosímetros, que são dispositivos com capacidade de fornecer informações que estejam relacionadas com a dose absorvida³⁶.

O uso da alanina como dosímetro ocorreu após a descoberta da técnica de ressonância paramagnética eletrônica (R.P.E.). O fenômeno de R.P.E. aparece em sistemas de partículas que possuem um momento angular líquido devido ao spin eletrônico. A absorção ressonante, que é proporcional ao número de spins, é observada quando a amostra é colocada em um campo magnético.

Utilizando esta técnica, GORDY et al (1955) estudaram os espectros de ressonância de inúmeros aminoácidos e proteínas. Entre os aminoácidos estudados, a alanina apresentou um espectro bem resolvido e um grande número de radicais livres formados por unidade de dose absorvida¹⁸.

Um dos primeiros trabalhos que utiliza a alanina como dosímetro foi proposto por BRADSHAW et al (1962), no qual ele utilizou tubos de polietileno preenchidos com alanina em pó. A escolha da alanina foi baseada em sua alta sensibilidade e semelhança ao tecido humano. Nesse trabalho, ele verificou que a alanina é menos sensível para raios-X do que para radiação gama, elétrons ou prótons⁹.

BERMANN et al melhoraram a resposta do sistema para detecção de nêutrons utilizando pastilhas de alanina + parafina e para a detecção da radiação gama de energia baixa, com a adição de material de número atômico maior (Ba ou Ca)⁸.

Em 1980 um método semelhante ao das pastilhas de BERMANN foi finalmente desenvolvido no "Gesellschaft für Stahlen-und Umweltforschung (G.S.F. - República Federal da Alemanha)", com o objetivo de padronizar o uso do sistema RPE/alanina^{48,49,50,51}.

Novos dosímetros de alanina tem sido usados em vários campos do processamento por irradiação em combinação com espectrômetros R.P.E. compactos e baratos, desenvolvidos especialmente para trabalhos de rotina^{30,31,32}.

Além da técnica R.P.E., o dosímetro de alanina pode ser analisado pelo método espectrofotométrico, estudado inicialmente por GUPTA et al¹⁹. Quando a alanina irradiada é dissolvida em uma solução contendo sulfato ferroso amoniacal e alaranjado de xilenol em meio ácido (ácido sulfúrico) ocorre a formação de um complexo. A concentração do complexo é função da dose absorvida e pode ser determinada por meio da leitura da absorvância da solução na região do visível^{14,19,20,21,59}.

1.1 OBJETIVOS

Os principais objetivos desse trabalho são a preparação e a calibração de amostras de DL-alanina para aplicação na dosimetria da radiação gama e de elétrons utilizando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica e o método espectrofotométrico, os quais baseiam -se na determinação dos radicais livres presentes na alanina.

2. CONCEITOS DE DOSIMETRIA

A determinação correta da dose absorvida é de grande importância na utilização das radiações ionizantes. Assim, organizações internacionais elaboram e recomendam a utilização de protocolos de dosimetria para que certos cuidados sejam tomados e para que se possa determinar a dose absorvida nos diversos materiais^{40,41}.

Entre os vários tipos de dosímetros que podem ser utilizados na determinação da dose absorvida, alguns são considerados como absolutos ou padrões primários. Nesse caso, ele é definido como um dosímetro de alta qualidade metrológica, com o qual pode-se determinar a dose no próprio volume sensível do detector, sem requerer calibração em um feixe de radiação conhecido. Como exemplo tem-se o calorímetro, o sulfato ferroso (Fricke)⁵.

Os dosímetros de referência, ou padrões secundários, são suficientemente precisos e estáveis, podendo ser calibrados por um padrão primário. Como exemplo citamos o etanol clorobenzeno e a alanina entre outros².

A maioria dos dosímetros de referência também pode ser utilizada como padrão de transferência. Nesse caso, o dosímetro deve ser estável, reprodutível e possuir propriedades de absorção semelhantes às daquelas dos materiais irradiados. Como o dosímetro de transferência muitas vezes não é avaliado após a irradiação, as condições de temperatura e umidade durante a irradiação, o transporte e o armazenamento devem ser observadas^{2,3,4}.

Existem também os dosímetros de rotina, que são usados diariamente nas instalações ou laboratórios que utilizam a radiação. Esses sistemas devem ser calibrados frequentemente, já que são instáveis. Como exemplo citamos os filmes plásticos, os vidros e as soluções químicas^{2,3,36}.

2.1 DOSE ABSORVIDA

A dose absorvida, D, é definida como

$$D = \frac{dE}{dm} \quad (2.1)$$

onde, dE é a energia média cedida pela radiação ionizante para a matéria em um elemento de volume com massa dm. A unidade é o $J.kg^{-1}$, cujo nome restrito é o "gray (Gy)" e a unidade especial é o rad²².

$$1 \text{ Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1} = 100 \text{ rad}$$

Por razões práticas costuma-se estabelecer três intervalos de valores de dose absorvida¹⁵:

Doses baixas	10^{-2}	—	5	kGy
Doses médias	5	—	50	kGy
Doses altas	50	—	10^2	kGy

A dose absorvida por um material irradiado depende de alguns fatores importantes como segue:

- a atividade e a geometria da fonte;
- a distância entre a fonte e o material a ser irradiado;
- o tempo de irradiação;
- a composição e a densidade do material;
- a geometria do material.

Essa dose absorvida no material pode ser medida por um dosímetro. Quando o dosímetro é colocado juntamente com o material durante a irradiação, ele constitui uma descontinuidade ou uma "cavidade" no meio; geralmente, ele difere do material em número atômico e densidade e, conseqüentemente, nas propriedades de absorção. Assim, é necessário correlacionar essas doses obtidas em diferentes meios^{2,36}.

2.2 Influência de fatores externos em dosimetria de doses altas

Devido às vantagens tecnológicas oferecidas no uso de doses altas e pelo fato da medida da dose absorvida nesse caso não ser direta e tecnicamente simples mas, envolver incertezas em cada passo da padronização, tornou-se necessário a implantação de um controle de qualidade aceito internacionalmente^{15,36,39,48}.

Assim, desde 1977 a IAEA (International Atomic Energy Agency) implantou um programa de padronização para doses altas em escala internacional, a fim de promover a dosimetria como medida do controle de qualidade durante o processo por irradiação e também desenvolver novas técnicas dosimétricas^{40,41}.

Alguns sistemas dosimétricos são usados indiretamente na medida da dose absorvida, por satisfazerem os requisitos para um controle diário, porém, são dependentes de uma série de fatores que não são controlados facilmente. Entre eles destacamos: a dependência energética, os efeitos da taxa de dose, as condições ambientais e a estabilidade em função do tempo.

A dependência energética pode causar incertezas na medida da dose absorvida, principalmente quando um dosímetro é calibrado sob condições específicas de energia e geometria de irradiação e é usado sob condições que são significativamente diferentes³⁶.

Porém, existem situações em que a dependência energética é inerente ao sistema dosimétrico, tendo uma resposta que varia em função da energia da radiação incidente.

Correções da resposta dosimétrica baseadas na dependência com a taxa de dose, geralmente, são difíceis, porque estão acopladas a outros fatores como a temperatura, difusão do oxigênio, reação radical x radical ou recombinação de íons.

A maioria dos dosímetros utilizados depende da medida de uma espécie estável ou relativamente estável, a qual é formada como resultado de uma série de reações envolvendo íons, radicais livres, reações intermediárias e de competição que ocorrem após a irradiação e antes que o produto mensurável seja formado.

Como as interações dessas espécies reativas são influenciadas por condições ambientais, tais como, concentração de oxigênio, luz, temperatura e umidade relativa, é necessário uma atenção especial a esses fatores os quais podem afetar a resposta. Contudo, esses problemas podem ser contornados através de cuidados especiais como controle da temperatura, selagem da amostra e proteção contra a luz.

Incertezas adicionais na determinação da dose são introduzidas por erros instrumentais tais como instabilidade do sistema de medida, operação incorreta dos componentes, falta de manutenção e uso de diferentes instrumentos de medida. Nesse caso, o uso de métodos padrões irá reduzir esses erros aumentando a precisão das medidas.

Fatores como a direção de incidência da radiação, atenuação, composição atômica, tamanho e tipo do dosímetro também contribuem para aumentar as incertezas. Porém, os mesmos são facilmente minimizados pela escolha do dosímetro adequado em tamanho e com características semelhantes às do meio irradiado³⁶.

2.3 PROPRIEDADES DOSIMÉTRICAS

As principais propriedades dosimétricas que um material deve apresentar para ser empregado com sucesso na dosimetria das radiações são^{2,3,36}:

Linearidade. Para ser útil, um dosímetro deve ter uma sensibilidade adequada em um intervalo de dose absorvida, de modo a fornecer uma resposta linear dentro dos limites estabelecidos e facilitar os cálculos e a interpretação dos resultados.

O limite inferior muitas vezes é imposto por limitações do equipamento utilizado nas leituras, o qual é responsável, muitas vezes, por respostas espúrias causadas pela interferência do ruído.

O limite superior da região útil do dosímetro pode ser imposto por condições externas ao instrumento, tais como leituras fora da região de sensibilidade do equipamento ou por danos de irradiação causados aos dosímetros. Para doses acima desse limite a resposta do dosímetro não se altera mais, caracterizando uma região de saturação.

Estabilidade. A estabilidade de um dosímetro caracteriza-se pela mudança, ou não, da resposta dosimétrica em função do tempo decorrido entre a irradiação e a leitura.

A diminuição da estabilidade pode ser causada por condições adversas de armazenamento. Assim, um dos requisitos mais importantes nas análises dosimétricas é que o dosímetro seja o mais insensível possível à mudanças extremas das condições ambientais, ou então, que permita a correção dos erros causados por esses fatores.

Reprodutibilidade. O ideal é que o material dosimétrico apresente uma resposta reprodutível. A reprodutibilidade está associada aos conceitos de precisão.

A precisão pode ser estimada a partir de dados obtidos em medidas repetidas, e é usualmente estabelecida em termos do desvio padrão da média. Uma alta precisão é associada a um pequeno desvio padrão.

No caso de uma única medida, a precisão indica quão próxima ela está do valor esperado da grandeza que está sendo medida. Igualmente, a precisão do valor médio de um grupo de medidas repetidas expressa a probabilidade de sua concordância com o valor esperado.

Exatidão é uma palavra usada para descrever quanto o valor experimental está próximo do valor verdadeiro da grandeza. Quanto menor for o erro total, tanto maior é a exatidão do resultado. Em outras palavras um valor muito exato é um valor muito próximo do valor verdadeiro.

Características Gerais. De um modo geral, espera-se que o sistema escolhido como dosímetro seja fácil e simples de usar, tenha custo inicial e operacional satisfatórios e apresente propriedades de absorção semelhantes àsquelas dos produtos irradiados.

3. PRINCÍPIOS DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (R.P.E)

3.1 CONDIÇÃO DE RESSONÂNCIA

O fenômeno de ressonância paramagnética eletrônica (R.P.E.) aparece em sistemas de partículas que possuem elétrons desemparelhados, nesse caso, eles possuem um momento magnético total $\vec{\mu}$ e um momento angular líquido \vec{J} , onde \vec{J} é devido a ambos, momento angular orbital \vec{L} e de spin \vec{S} . Na grande maioria dos dipolos, \vec{J} é devido, principalmente, ao spin eletrônico ($\vec{J} \propto \hbar \cdot \vec{S}$).

O momento magnético total de um elétron tendo spin S pode ser escrito como^{1, 45, 46, 47, 53, 56}:

$$\vec{\mu} = -g \cdot \beta \cdot \vec{S} = \gamma \cdot \hbar \cdot \vec{S} \quad (3.1)$$

onde $\beta = e \cdot \hbar / 2 \cdot m \cdot c$ é o magneton de Bohr, $\gamma = -g \cdot e / 2mc$ é a razão giromagnética e g é denominado fator de desdobramento espectroscópico que é igual a 2,0023 para um elétron livre.

Quando um campo magnético H_0 é aplicado ao elétron, é estabelecida uma interação entre eles, cuja energia é dada pela Hamiltoniana:

$$\mathcal{H} = -\vec{\mu} \cdot \vec{H}_0 \quad (3.2)$$

Em um sistema de referência em que a direção do campo magnético externo coincide com a direção do eixo z, a equação 3.2 pode ser escrita como :

$$\mathcal{H} = - \gamma . \hbar . H_0 . S_z = g . \beta . H_0 . S_z \quad (3.3)$$

$$E = g . \beta . H_0 . S_z \quad (3.4)$$

onde S_z é a componente de S na direção de z e cujos autovalores são M_s (número quântico de spin).

Para sistemas com um elétron desemparelhado, $S = 1/2$, os possíveis autovalores de M_s serão $+1/2$ e $-1/2$. Desse modo, o elétron em um campo magnético pode ter duas energias:

$$E_+ = +1/2 . g . \beta . H_0 \quad (3.5)$$

$$E_- = -1/2 . g . \beta . H_0 \quad (3.6)$$

A fig. 3.1 mostra o desdobramento dos níveis de energia:

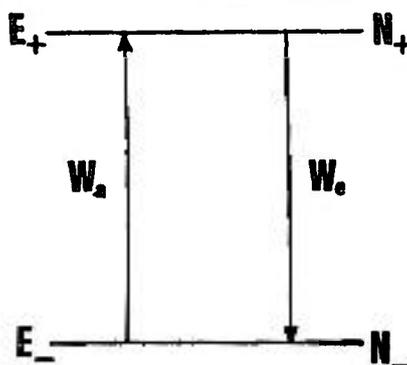


Fig. 3.1 Desdobramento dos níveis de energia em um campo magnético. Onde w_a e w_e representam as probabilidades de absorção e emissão de energia.

Assim, são criados dois níveis de energia e as transições de um nível para outro, podem ser induzidas fornecendo-se a diferença de energia entre os dois níveis, $\Delta E = g.\beta.H$. Isso ocorre aplicando-se ao sistema um campo de microondas de frequência fixa e componente magnética perpendicular ao campo magnético estático.

O campo magnético oscilante produz transições igualmente prováveis do estado superior para o inferior (emissão) e do estado inferior para o superior (absorção). A absorção ocorre porque no equilíbrio térmico existe um número maior de spins no estado inferior. Essa relação é dada pelo fator de Boltzmann $\exp(-g.\beta.H_0/kT)$.

Como o número de transições que absorvem energia predomina sobre o número daquelas que emitem energia, isso nos leva a pensar que ocorre um equilíbrio na população dos dois níveis, eliminando assim a absorção, porém, os spins estão em contato com reservatórios térmicos na sua vizinhança, a chamada rede cristalina, que tende a restabelecer a diferença na população.

Portanto, dois processos opostos tomam lugar na ressonância paramagnética : o campo oscilante que tende a igualar a população dos vários níveis e as interações internas que tendem a restabelecer a distribuição de Boltzman, através da conversão da energia absorvida do campo oscilante em calor.

De forma quantitativa podemos escrever :

$$n = N_- - N_+ \quad (3.7)$$

$$N = N_- + N_+$$

onde, n é a diferença de população, N o número total de spins, N_- e N_+ são as populações dos níveis inferior e superior, respectivamente.

A taxa de transição dn/dt é governada pelas interações com o campo de microondas e com a rede:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{dn}{dt}\Big|_{\text{microonda}} + \frac{dn}{dt}\Big|_{\text{rede}} \quad (3.8)$$

Se w_{+-} é a probabilidade com que as microondas induzem transições do estado superior para o inferior, da teoria da perturbação temos $w_{+-} = w_{-+} = w$, então:

$$\frac{dn}{dt}\Big|_{\text{microonda}} = -2.n.w \quad (3.9)$$

A velocidade com que a rede restaura a diferença na população para seu valor de equilíbrio é governada pela força de acoplamento do spin à rede. Este acoplamento é descrito pelo tempo de relaxação spin-rede T_1 . Assim,

$$\left. \frac{dn}{dt} \right|_{\text{rede}} = (n_0 - n) \cdot \frac{1}{T_1} \quad (3.10)$$

Combinando as duas taxas para dn/dt , encontramos a transição combinada devida a ambos os processos; os térmicos e as transições induzidas pelo campo oscilante aplicado.

$$\frac{dn}{dt} = -2 \cdot n \cdot w + \frac{(n_0 - n)}{T_1} \quad (3.11)$$

No estado de equilíbrio $dn/dt = 0$ então,

$$n = \frac{n_0}{1 + 2 \cdot w \cdot T_1} \quad (3.12)$$

A equação 3.12 mostra que para $2 \cdot w \cdot T_1 \lll 1$, a absorção da energia no campo oscilante não provoca mudança da população. Para valores de $2 \cdot w \cdot T_1 \ggg 1$ tem-se uma saturação em que a rede não pode mais acompanhar as transições induzidas pela microonda, assim a diferença na população tende a zero. Em medidas R.P.E. esta saturação pode ser evitada pela redução da potência de microondas.

3.2 Tratamento Clássico da R.P.E.

Os fundamentos de R.P.E. podem ser entendidos em termos de simples conceitos clássicos, supondo uma certa quantidade de elétrons independentes que tem momento magnético $\vec{\mu}$. Na ausência de um campo magnético esses spins estão orientados aleatoriamente, porém, quando é aplicado um campo magnético \vec{H}_0 na direção z, os elétrons tenderão a um alinhamento nessa direção, fazendo precessão em torno do eixo z, com uma frequência característica (frequência de Larmor) , como ilustrado pela figura 3.2.

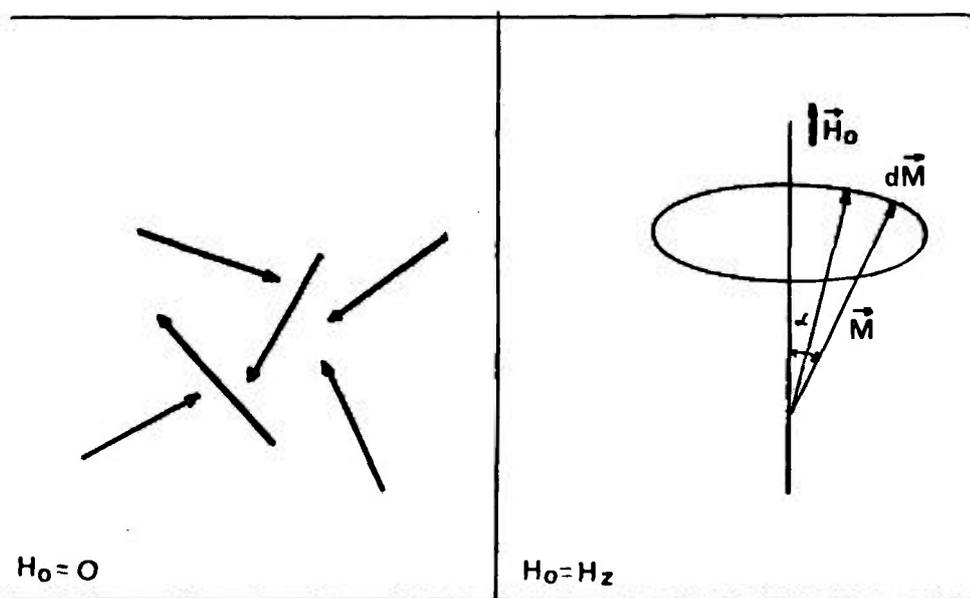


Fig. 3.2) a) Orientação aleatória dos spins na ausência de campo magnético. b) Precessão dos spins em torno do eixo z quando é aplicado um campo magnético.

A interação de $\vec{\mu}$ com \vec{H} resulta em um torque dado por $\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{H}$, que atua para produzir uma mudança no momento angular de spin. A equação do movimento para um elétron em um campo magnético é dada por:

$$\frac{d\vec{S}}{dt} = \vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{H} \quad (3.13)$$

onde $\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{S}$, ou em um sistema fixo de laboratório:

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \cdot \vec{\mu} \times \vec{H} \quad (3.14)$$

quando se tem um grande número de dipolos magnéticos e se N é o número de dipolos por unidade de volume, então a magnetização, que é o momento magnético do sistema por unidade de volume, é dada por:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \cdot \vec{M} \times \vec{H}_0 \quad (3.15)$$

A magnetização \vec{M} tem movimento de precessão com velocidade angular constante (frequência de Larmor $\omega_0 = \gamma \cdot H_0$).

Para que ocorra a absorção é necessário inclinar a magnetização, ou seja, mudar o ângulo α . Isto ocorre aplicando-se ao sistema um campo magnético oscilante \vec{H}_1 , de frequência de Larmor é aplicado perpendicularmente ao campo magnético externo \vec{H} . Este campo magnético em sincronismo com a precessão da magnetização produzirá um torque $\vec{M} \times \vec{H}_1$ que tenderá a mudar α .

Depois que \vec{M} é girado de 180° , α começa diminuir. Para que o processo de absorção continue é necessário que a magnetização interaja com reservatórios de calor, no caso a rede.

Quando se inclina a magnetização, o valor de sua componente M_z sai do valor de equilíbrio M_0 (equivalente a uma mudança nas populações N_+ e N_-). O valor de equilíbrio da componente de z da magnetização tenderá a ser restaurado pela rede com uma taxa proporcional a $1/T_1$, onde T_1 é chamado tempo de relaxação spin-rede.

As componentes x e y da magnetização são zero no equilíbrio térmico e decaem sem um acoplamento com a rede com um tempo T_2 (tempo de relaxação spin-spin), que é um pouco menor que T_1 .

3.3. Interação Hiperfina

A interação de um elétron desemparelhado com um núcleo magnético é chamada de interação hiperfina. Existem dois tipos de interação hiperfina, uma é a interação clássica de dois dipolos $\vec{\mu}_s$ e $\vec{\mu}_I$ (núcleo) separados pela distância \vec{r} . Esta interação depende do ângulo entre a linha que une os dipolos e o campo magnético externo e é chamada de interação *anisotrópica*.

O segundo tipo de interação se origina da probabilidade finita de se encontrar elétron no núcleo. Esta interação é isotrópica, ou interação de Fermi, e é representada pelo termo $a.\vec{I}.\vec{S}$, onde \vec{I} é o spin nuclear e a uma constante de acoplamento hiperfino.

A fig. 3.3 mostra o diagrama de níveis de energia de um sistema com $S = 1/2$, $I = 1/2$ em um campo magnético.

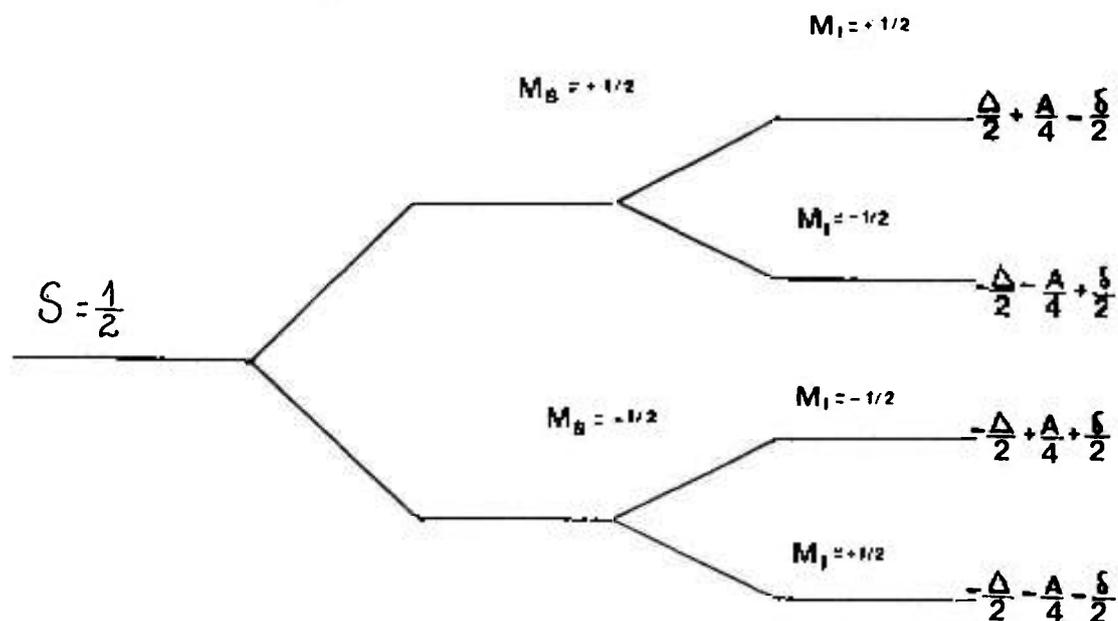


Fig.3.3. Níveis de energia para um sistema com $S = 1/2$ e $I = 1/2$ sob influência de um campo magnético.

A interação causa um desdobramento das linhas produzindo um espectro de ressonância rico em informações. O número e a intensidade dessas linhas caracterizam uma molécula específica, auxiliando na identificação de espécies paramagnéticas.

A forma do espectro em um monocristal depende fortemente de sua orientação em relação ao campo externo H . Em amostras em pó com cristais orientados aleatoriamente, o espectro R.P.E. é uma média em todas as direções.

Os tipos de linha são determinados pelo tipo de interação entre o sistema de spin e sua vizinhança, enquanto a largura depende da força de interação e do tempo de relaxação.

As formas das linhas, geralmente, são descritas pela comparação com as formas Lorentzianas e Gaussianas. A figura 3.4 mostra essas curvas.

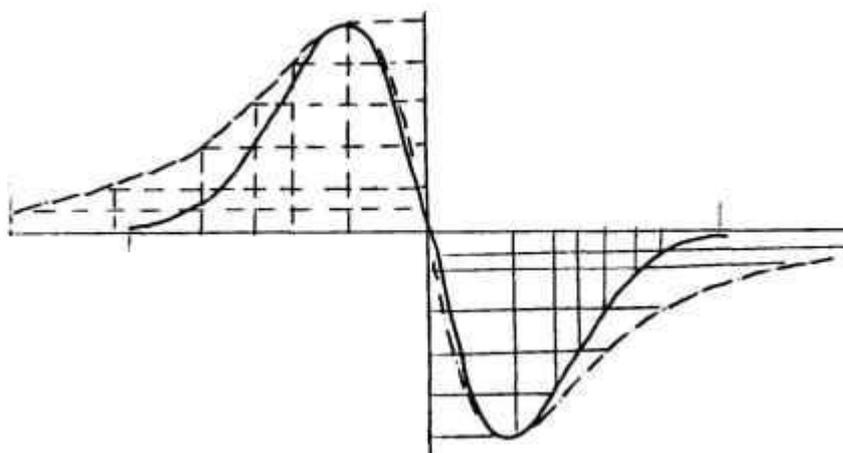


Fig. 3.4 Curva Gaussiana (—) e Curva Lorentziana (-.-.-).

Para se determinar a intensidade de uma linha do espectro é necessário integrar completamente a curva de absorção. Para obter a intensidade a partir da primeira derivada realiza-se uma dupla integração. Este é um processo longo e complicado, entretanto, se a largura de linha de duas componentes são iguais, então as amplitudes pico a pico destas linhas derivadas serão proporcionais às suas intensidades.

3.4 Princípio de Funcionamento do espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica (R.P.E.)

A figura 3.5 mostra o diagrama esquemático de um espectrômetro R.P.E.

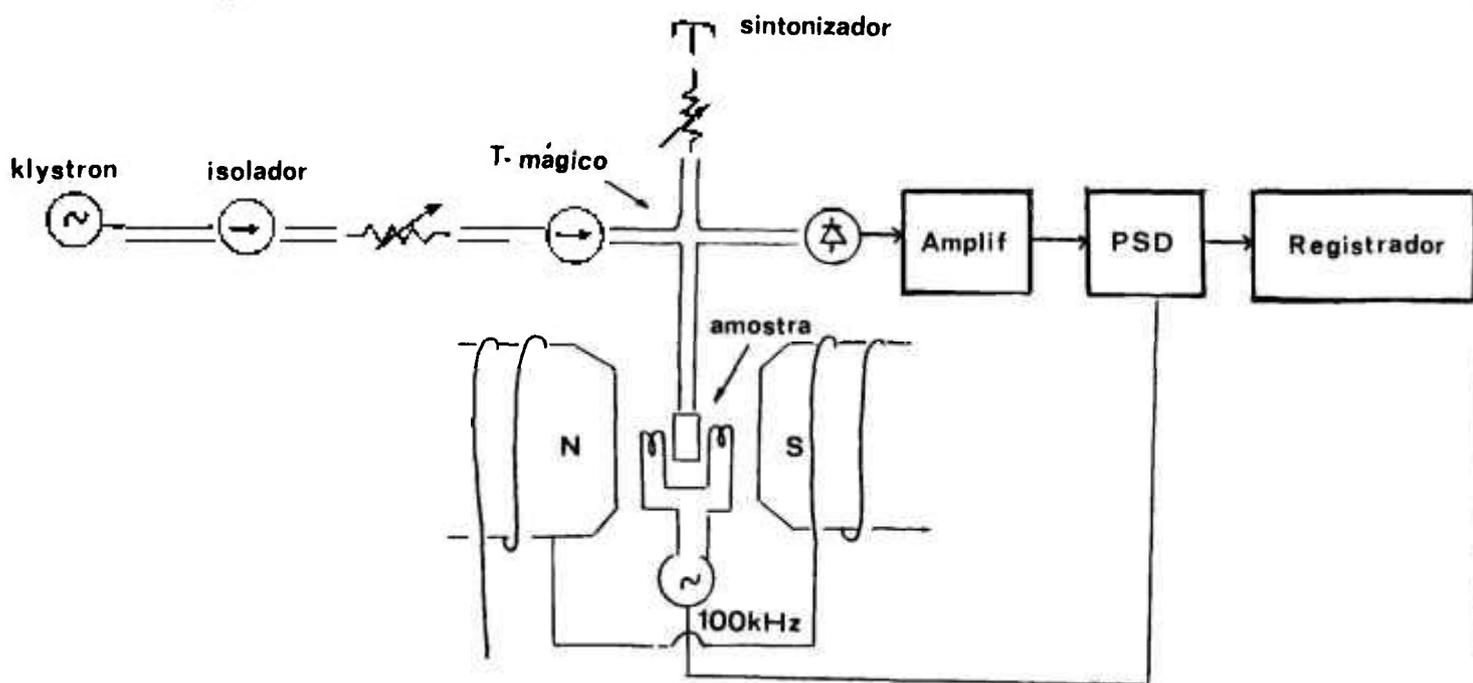


Fig. 3.5 Componentes básicos de um espectrômetro de R.P.E.

A maioria dos espectrômetros utiliza uma válvula Klystron como fonte geradora de microondas, a qual produz oscilações de microonda em um pequeno intervalo de frequência de ressonância da cavidade através de guias de onda.

A amostra é colocada na posição de intensidade máximo H_1 dentro da cavidade que, por sua vez, está situada no campo magnético externo. Para atingir a condição de ressonância $h\nu = g\beta H$, varia-se H_0 em lugar da frequência.

Quando a condição de ressonância é satisfeita, parte da energia de microonda é absorvida pela amostra, resultando em uma mudança do valor Q da cavidade ressonante, definido como $2\pi \times$ (energia máxima armazenada na cavidade/energia dissipada por ciclo). Esta variação do valor Q é detectado amplificado e registrado.

Como existe muito ruído junto com o sinal, há um sistema de modulação acoplado ao detector que sobrepõe ao campo magnético do eletroímã um campo magnético senoidal. Assim o sinal chega ao registrador com pouco ruído.

3.5 Fator de desdobramento Espectroscópico ou fator "g"

O fator de desdobramento espectroscópico, ou fator g , é definido pela condição de ressonância $h\nu = g\beta H$, onde g expressa a proporcionalidade entre o campo magnético e a diferença de energia entre os níveis¹.

A posição e o número de linhas de absorção paramagnética dependem de interações internas da substância paramagnética. A posição dessas linhas para uma dada intensidade do campo magnético é determinada pelo fator g . O valor do fator g nesse caso se desvia de seu valor para partículas livres por causa dessas interações internas.

Existem dois procedimentos para determinação do fator g :

1-Método Direto- onde ν e H são medidos independentemente no pico de absorção ou por equipamentos adequados, e g é calculado de $g = h\nu/\beta H$.

2-Método da comparação com uma amostra padrão- onde uma amostra de fator g desconhecido é medida junto com um sistema de valor g conhecido. Será descrito a seguir o cálculo do fator g segundo o manual que acompanha a cavidade ressonante JEX - UCX - 2 (JAPAN ELECTRON OPTICS LABORATORY CO, LTD.)²⁷.

Nesse caso, utiliza-se uma amostra padrão de Mn^{++} que possui seis picos, onde a distância entre o 3.^o e o 4.^o picos é $86,9 \pm 1$ gauss e o valor de g do 4.^o sinal é 1,981. Na cavidade ressonante esse valor permanece constante no intervalo de frequências entre 9200 e 9400 MHz.

Assumindo que uma determinada amostra seja registrada simultaneamente com o padrão de manganês, os dados são mostrados na Figura 3.6.

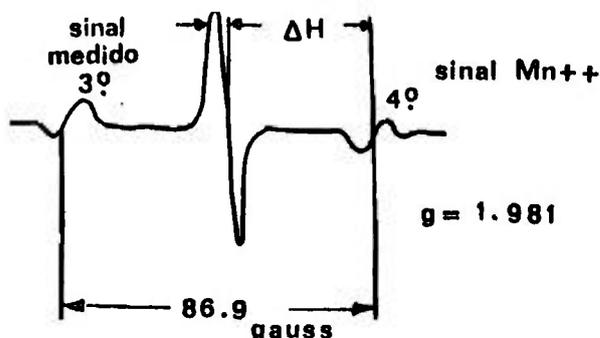


Figura 3.6 Registro simultâneo do sinal R.P.E. de uma amostra de fator g desconhecido e o padrão de manganês.

Na Figura 3.6, ΔH representa a distância entre o sinal da amostra e o 4.^o pico do Mn^{++} , onde ΔH pode ser facilmente calculado por regras de proporcionalidade:

$$\text{Dado} \quad h\nu = g_M \beta H_M \quad (3.16)$$

$$h\nu = g_D \beta (H_M - \Delta H) \quad (3.17)$$

$$\text{Portanto} \quad g_D = \frac{g_M \cdot H_M}{H_M - \Delta H} \quad (3.18)$$

Porém, quando for necessário determinar o campo magnético é necessário o uso de um outro padrão de fator g conhecido (por exemplo um pequeno grão do composto orgânico DPPH (α, α - diphenyl, β - picryl hydrazil) cujo $g = 2,0036$).

4. Espectrofotometria

4.1 Absorvância

Quando um feixe de luz branca atravessa uma cubeta contendo um determinado líquido, a radiação emergente será menos intensa devido a perdas por reflexão, dispersão e, acima de tudo, pela absorção¹⁶.

Os instrumentos para medida da absorção da radiação por soluções, filmes ou vidros são conhecidos por espectrofotômetros. Esses aparelhos são formados por fontes de radiação contínua, que emitem radiações em um intervalo de comprimento de onda que se estende desde o visível (340 - 625 nm) ao ultravioleta (165 - 205 nm).

Para que os espectrofotômetros possam utilizar bandas de comprimentos de onda estreito, é necessário o uso de um monocromatizador ou filtros que permitam selecionar o comprimento de onda. A Figura 4.1 mostra o diagrama esquemático de um espectrofotômetro.

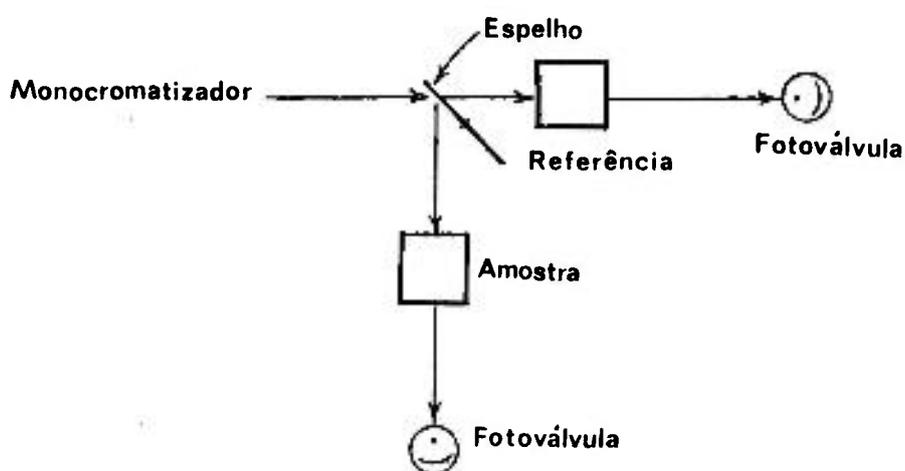


Figura 4.1 Diagrama esquemático de um espectrofotômetro¹⁶.

A absorção da energia radiante nas regiões dos espectros visível e ultra-violeta depende do número e arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Compostos que contêm uma dupla ligação absorvem fortemente no ultra-violeta, enquanto os que possuem duplas ligações conjugadas isto é, ligações duplas e simples alternadas, absorvem em comprimentos de onda maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda onde se observa a absorção.

Uma definição quantitativa da absorção de energia é dada pela *lei de Beer*¹⁶:

Considere um recipiente transparente com faces paralelas sendo seja atravessado por um feixe monocromático. Desprezando as perdas por reflexão e absorção na superfície do recipiente e supondo que o mesmo seja preenchido com um líquido absorvente, podemos dizer que a potência da radiação diminui com a distância e a concentração do material absorvedor, assim:

$$\frac{dP}{dn} = - k.P \quad (4.1)$$

onde dP é a potência absorvida por incremento de dn no número de moléculas absorventes e k é uma constante de proporcionalidade. Através de um integração obtemos:

$$\frac{\ln P}{P_0} = - k.S.N \quad (4.2)$$

onde P e P_0 são as potências, N o número de moléculas absorventes e S a secção transversal.

Para uma medida mais efetiva, utiliza-se o produto da concentração (c) pelo percurso (b), de modo que 4.2 pode ser reescrita como:

$$\frac{\ln P}{P_0} = -k.b.c \quad (4.3)$$

Por conveniência, substituímos k por outra constante a , que inclui o fator de conversão dos logaritmos naturais em decimais:

$$\frac{\log P_0}{P} = a.b.c = A \quad (4.4)$$

onde a razão $\log (P_0/P) = A$ é chamada de absorvância³⁴. Desse modo, a absorvância é uma propriedade das substâncias que varia com a espessura e concentração do material, podendo ser considerada como uma medida do grau de absorção da radiação.

A absorvância é proporcional ao número de partículas que são efetivas na absorção da radiação em um determinado comprimento de onda. Isso permite incluir a presença de mais de uma espécie absorvente na mesma solução. É possível escrever :

$$A = \sum_i A_i = b \sum_i a_i.c_i \quad (4.5)$$

o que significa que a absorvância é uma propriedade aditiva. Essa aditividade é útil de várias maneiras e permite subtrair a contribuição devida a um determinado reagente com o uso de uma substância de referência, conhecida por *branco*.

Para determinar a energia absorvida pela amostra é necessário comparar a potência emergente da cubeta contendo a amostra com a de uma idêntica, contendo o branco, a qual deve assemelhar-se o quanto possível à amostra, no que se refere a impurezas absorventes, índice de refração e dispersão. Assim, na prática, determina-se a razão entre a potência que passa pela solução da amostra e a potência que passa pela referência, ou uma resposta que seja função logarítmica dessa razão.

4.2 Método químico de dosimetria utilizando espectrofotometria

A maioria dos sistemas químicos usados em dosimetria de doses altas são soluções aquosas de reagentes inorgânicos mantidos em soluções quase neutras³⁶.

Para propósitos de dosimetria usando sistemas líquidos, a leitura é proporcional à concentração de certos produtos estáveis. Esta concentração cresce ou decresce em função da dose.

Um esquema simplificado da reação é $R' + S \longrightarrow F$, onde R' representa um radical induzido pela radiação, o qual reage em uma dada taxa constante, k_1 , com moléculas do soluto, S , resultando em um produto final estável, F ³⁶.

Em tais dosímetros uma dada dose absorvida da radiação produz uma concentração de íons, os quais podem ser determinados por espectrofotometria em um dado comprimento de onda.

5. A ALANINA COMO DOSÍMETRO

5.1. Produção de radicais livres na alanina

A maioria das moléculas orgânicas contém um número par de elétrons e, portanto, são diamagnéticas, visto que o momento magnético líquido resultante dos spins é zero. O momento magnético de cada par de elétrons de valência envolvido na formação de ligações também é zero, visto que ligações covalentes são formadas por elétrons de spins opostos. O efeito das radiações ionizantes é quebrar essas ligações em duas partes paramagnéticas com um elétron desemparelhado em cada uma⁵⁰.

As técnicas dosimétricas baseiam-se na concentração de radicais livres. Qualquer decaimento ou transformação dos radicais entre o momento da irradiação e a leitura afetam o resultado final. Para uma avaliação quantitativa, a estabilidade desses radicais é uma característica importante.

A estabilidade dos radicais depende da vizinhança molecular, especialmente da estrutura do cristal (rigidez do material), e da temperatura^{14,37,55}.

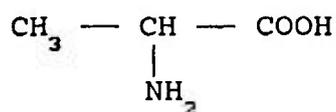
Em soluções ou materiais orgânicos aquosos, o tempo de "vida" dos elétrons desemparelhados normalmente é muito pequeno. Em certos materiais cristalinos, eles podem existir por muitos anos. No estado sólido e em temperaturas baixas os radicais formados são relativamente estáveis⁵⁰.

Em uma primeira interação um radical pode recombinar com outro, mas existem imperfeições na rede cristalina que impedem seu trajeto. Porém, em temperaturas mais elevadas, a difusão nos sólidos é mais rápida e o tempo de vida do radical é menor.

Como as irradiações ocorrem entre 273 e 333 K deexcitações de moléculas, processos de conversão e transformações de radicais primários ocorrem dentro de uma escala de tempo da ordem de microsegundos.

Em moléculas grandes, por exemplo, os radicais que são observados após a irradiação são frequentemente produtos de uma grande cadeia de eventos, e não são necessariamente os produtos imediatos da interação entre a partícula ionizante e o meio.

A alanina é um aminoácido do tipo



Estudos sobre a degradação da glicina e da alanina, induzidas pela radiação, mostram que a amônia, dióxido de carbono, aminas e ácidos são os principais produtos formados, sugerindo que a degradação é devida, principalmente, a reações de deaminação¹⁷.

Entre os radicais gerados pela radiação, a espécie $\text{CH}_3\text{-CH}\cdot\text{-COOH}$ é predominante à temperatura ambiente. Esses radicais podem ser analisados e quantificados por ressonância paramagnética eletrônica.

A análise RPE de monocristais de L-alanina irradiada com Raios-X à 77 K, mostra que o elétron desemparelhado do fragmento formado está principalmente no grupo carboxílico³⁸. O fragmento inicial é convertido para $\text{CH}_3 - \text{CH} - \text{COOH}$ depois do aquecimento até 140-150 K. Sua orientação no cristal ainda é diferente daquela à temperatura ambiente. Em temperaturas altas, o radical é reorientado formando um espectro RPE semelhante ao encontrado à temperatura ambiente, como mostrado na figura 5.1⁵⁰.

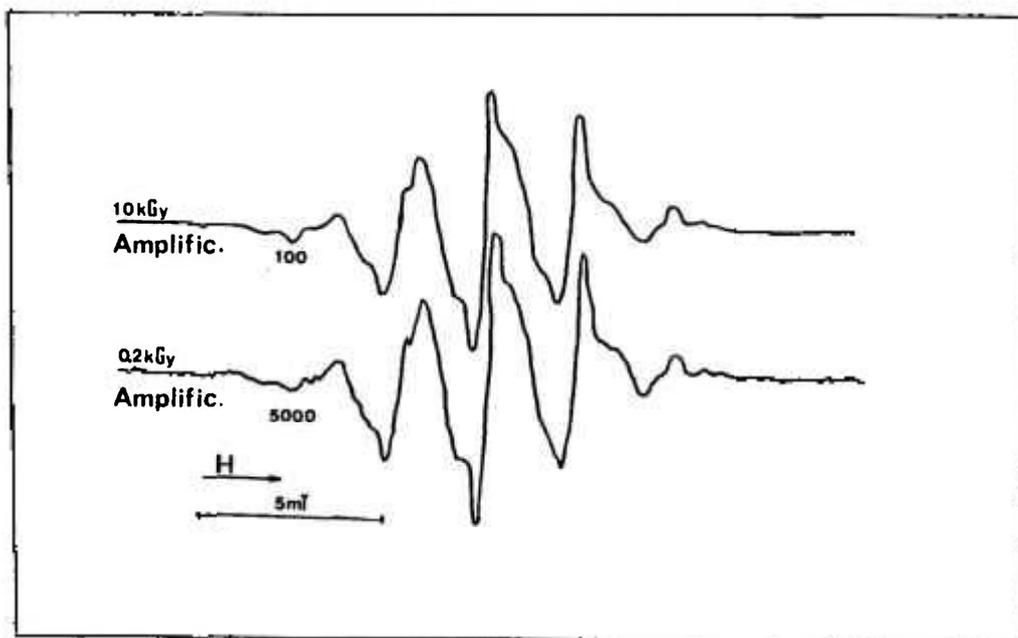


Fig. 5.1 Espectro característico de uma amostra de alanina.

Cada sinal consiste de alguns picos devido à interação hiperfina do elétron desemparelhado com átomos de nitrogênio e hidrogênio. O radical livre predominante é causado pela ruptura de uma ligação $\text{C} - \text{H}$ ⁴⁹.

Os dosímetros de alanina são usados em dosimetria por apresentarem alta sensibilidade, número atômico efetivo, Z_{ef} próximo ao tecido humano, facilidade de manuseio e boa reprodutibilidade^{6,7,11,12,24,25,26,29,30,31,32,33,34,42,43,44,60}.

REGULLA e DEFFNER verificaram que condições de temperatura, umidade e luz normal de laboratório afetam a estabilidade dos dosímetros. A sensibilidade desses dosímetros também depende da temperatura de irradiação a uma taxa de $(\Delta S/S)/\Delta T = 0,0018/^{\circ}C$ para doses menores que 5 kGy^{13,49,48,51}.

Um estudo sistemático revelou que uma exposição à luz diária por um período pequeno não afeta o sinal. Uma exposição de 4 semanas resulta em uma perda de 20 % do sinal, enquanto uma exposição de 4 semanas à luz de mercúrio causa uma perda de 75 % do sinal. O decaimento é mais pronunciado em doses mais baixas, quando ocorre uma deformação significativa do sinal^{13,50}.

A resposta dos dosímetros de alanina mostra-se linear entre 1 Gy e 10^5 Gy⁵⁰. Para doses acima desse valor aparece uma região de saturação, e a seguir a curva de dose resposta decresce. No limite de doses mais baixas há a interferência do ruído. Chu et al¹⁰ obtiveram resultados com doses menores que 1 kGy, utilizando um espectrômetro de baixo ruído.

Para energias menores que 100 keV há uma dependência da resposta com a energia do fóton. Para raios-X de energia alta (4 a 16 MV) e elétrons (6-20 MeV) a resposta é praticamente a mesma que para o Cobalto-60²³.

A determinação dos radicais livres produzidos na alanina por irradiação é um sistema dosimétrico promissor, por cobrir desde o nível de terapia (~ 40 Gy) até o limite de doses altas⁵⁴.

A alanina também pode ser utilizada em monitoração cumulativa em cada estágio durante o tratamento por irradiação^{10,52}.

5.2 Método Espectrofotométrico utilizando a alanina

Outro método usando os radicais presentes na alanina com propósitos dosimétricos é o método espectrofotométrico^{19,20,21}. Esses radicais quando dissolvidos em uma solução contendo sulfato ferroso amoniacal e alaranjado de xilenol em ácido sulfúrico 0,05 N oxidam os íons ferrosos e o alaranjado de xilenol forma um complexo com os íons férricos produzidos na solução^{19,20,21,57,58,59}.

A absorvância do complexo é medida por espectrofotometria. A mudança na absorvância é devida a um aumento da concentração dos íons férricos e é uma função da dose absorvida. Embora a parte química e física da reação não seja completamente entendida, um esquema da reação foi proposto por Van Laere⁵⁷, através do qual é possível explicar qualitativamente as interações observadas.

A reação de oxidação efetiva na qual o sistema é baseado depende fortemente do oxigênio presente na solução.

5.3 A alanina comercial

A alanina não irradiada apresenta um sinal devido a uma pré-dose. Essa pequena concentração de radicais livres é do mesmo tipo que aqueles produzidos por irradiação. Esses radicais são produzidos pela exposição à radiação solar e a choques mecânicos durante a prensagem. Desse modo, as pastilhas apresentam maior número de radicais que a amostra em pó⁸.

A alanina de fabricantes diferentes (Fluka, Merck, Serva) não mostraram diferenças significativas nas propriedades dosimétricas⁵¹.

Estudos recentes mostram que diferentes respostas para diferentes amostras podem resultar da variação do tamanho do grão da amostra. A resposta aumenta com o tamanho do grão e o espectro varia suavemente⁵¹.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi totalmente realizado no IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares), com a participação de dois departamentos: uma Coordenadoria voltada para Aplicações de Técnicas Nucleares na Engenharia e Indústria (GE) onde foram realizadas as irradiações (Supervisão de Aplicações - GEA) e as medidas de espectrofotometria e o Serviço de Calibração e Dosimetria (SPD), que possui laboratórios de irradiação com radiação gama, X, beta e alfa e sistemas dosimétricos que permitem a avaliação das dose.

6.1 Materiais utilizados

a) Alanina

Como não há variação significativa de sensibilidade entre os vários tipos de alanina, utilizou-se nesse trabalho a DL-alanina, obtida do laboratório Merck, que possui um alto grau de pureza, a qual é fornecida na forma de pó com grãos muito pequenos. Como não foram utilizados outros tipos de alanina não foi feito nenhum tratamento de granulometria. Não é possível a reutilização da alanina irradiada, pois os radicais livres ficam presos na matriz do cristal durante anos e se recombinao ao acaso. Para obtenção das curvas de dose-resposta foram utilizadas amostras com 20 e 50 mg.

b) Sulfato Ferroso amoniacal e alaranjado de xilenol

O sulfato ferroso amoniacal (Sal de Mohr) - $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ cujo peso molecular é 392,16 é apresentado na forma de grãos de cor verde azulada. Quando dissolvido em uma solução contendo alanina irradiada e alaranjado de xilenol (pó laranja), ocorre a oxidação dos íons ferrosos pelos radicais livres presentes na alanina. A formação desse complexo colorido permite obter uma relação com a dose absorvida.

Tanto o sulfato ferroso amoniacal quanto o alaranjado de xilenol foram obtidos do laboratório MERCK, sendo utilizado a concentração de 0,2 mM de cada um desses reagentes.

c) Ácido sulfúrico (P.A.) e ácido nítrico (P.A.)

O ácido sulfúrico e o ácido nítrico foram obtidos do laboratório MERCK. Sendo o primeiro utilizado na preparação das soluções e o segundo na limpeza da vidraria.

6.2 Cuidados com a Vidraria

Toda a vidraria utilizada na irradiação, na preparação da solução e na leitura, exceto os capilares de quartzo do sistema R.P.E., foram lavados da seguinte maneira:

- 1) Imersão em uma solução de ácido sulfúrico e ácido nítrico concentrados (1:1) à temperatura ambiente durante 24 horas, para retirar resíduos de materiais orgânicos que possam existir;

2) Lavagem com água destilada de maneira abundante, a fim de eliminar qualquer resíduo da solução ácida;

3) Secagem ao ar livre em escurredores adequados que fazem com que os objetos fiquem de boca para baixo evitando contaminações. Obs.: Evitamos a secagem em estufa para que não ocorra descalibração do volume;

4) Após a secagem toda a vidraria foi embalada em papel alumínio e guardada em armários fechados.

Os capilares de quartzo utilizados nas leituras R.P.E., foram lavados com uma solução de detergente + água destilada (0,5 %) no equipamento de ultrassom. Posteriormente, foram enxaguados com água destilada várias vezes no equipamento de ultrassom e, a seguir, em acetona P.A. Foram secos em estufa cirúrgica a 100 °C por aproximadamente 1 hora. Depois de secos foram embalados em papel alumínio e mantidos em um dessecador.

6.3. Equipamentos utilizados

a) Fonte de Co-60 tipo panorâmica

Fabricante: YOSHIKAWA KIKO Co, Ltda (Japão);

Energia : 1,25 MeV

Meia Vida: $T_{1/2} = 5,27$ anos

Atividade : 156 TBq

b) Acelerador de elétrons

Modelo: Dynamitron II

Fabricante: Radiation Dynamics Inc.(EUA).

c) Espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica

Modelo: JES - ME 3X

Fabricante: Japan Eletron Optics Laboratory Co Ltd.(Japão).

d) Espectrofotômetro

Modelo: 100-40

Fabricante: HITACHI.(Japão).

e) Balança analítica

Modelo: H35

Fabricante: METTLER -(USA).

Precisão: 0,0001

6.4 Sistemas de Irradiação

6.4.1 Sistema de irradiação gama

O Co-60 é um radionuclídeo artificial produzido a partir da irradiação do Co-59 (natural) em um feixe de nêutrons. Como núcleo instável, ele se desintegra pela emissão de partículas β^- se transformando no elemento níquel-60, que por sua vez emitirá a radiação gama, para alcançar a estabilidade^{36,28}. O esquema para o decaimento do Co-60 é mostrado na figura 6.1.

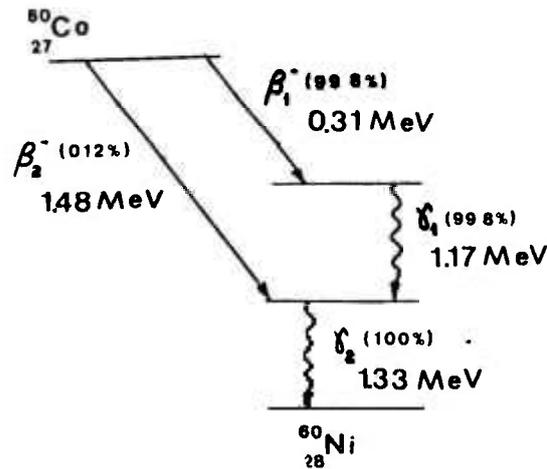


Fig. 6.1. Esquema do decaimento do Co-60 .

Os dois fótons emitidos, com energias 1,17 MeV e 1,33 MeV são os componentes do feixe utilizado na irradiação.

As exposições à radiação gama foram efetuadas utilizando-se uma fonte de Co-60 tipo panorâmica pertencente à Coordenadoria de Aplicações na Engenharia e na Indústria (GE). (Atividade = 156 TBq em novembro de 1992) , montada em um arranjo que permite a irradiação dos dosímetros com diferentes taxas de dose, conforme a posição escolhida (5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 cm na parte da frente ou na parte de trás da fonte).

O nuclídeo radioativo Co-60 está na forma de um bastão (chamado de lápis), com $\varnothing = 6,4$ mm e comprimento = 20 cm, o qual esta duplamente encapsulado por um tubo de chumbo de 4 mm de espessura. Desse modo, o Co-60 é selado com o máximo de segurança, de maneira a evitar um contato direto com o material a ser irradiado. O esquema da fonte radioativa é mostrado na Figura 6.2.

O dispositivo de irradiação consiste de um sistema de roldanas que faz com que a fonte seja retirada da blindagem, localizada abaixo do solo e seja suspensa à altura da mesa onde são realizadas as irradiações. Esse equipamento de irradiação está montado no centro de uma sala blindada por paredes de concreto de aproximadamente 1 m de espessura.

Para obter uma geometria reprodutível, as irradiações foram feitas sempre a uma mesma distância da fonte (10 cm) na parte de trás conforme ilustra a figura 6.3. Esta fonte foi calibrada por uma solução de sulfato ferroso (Fricke) em 1990.

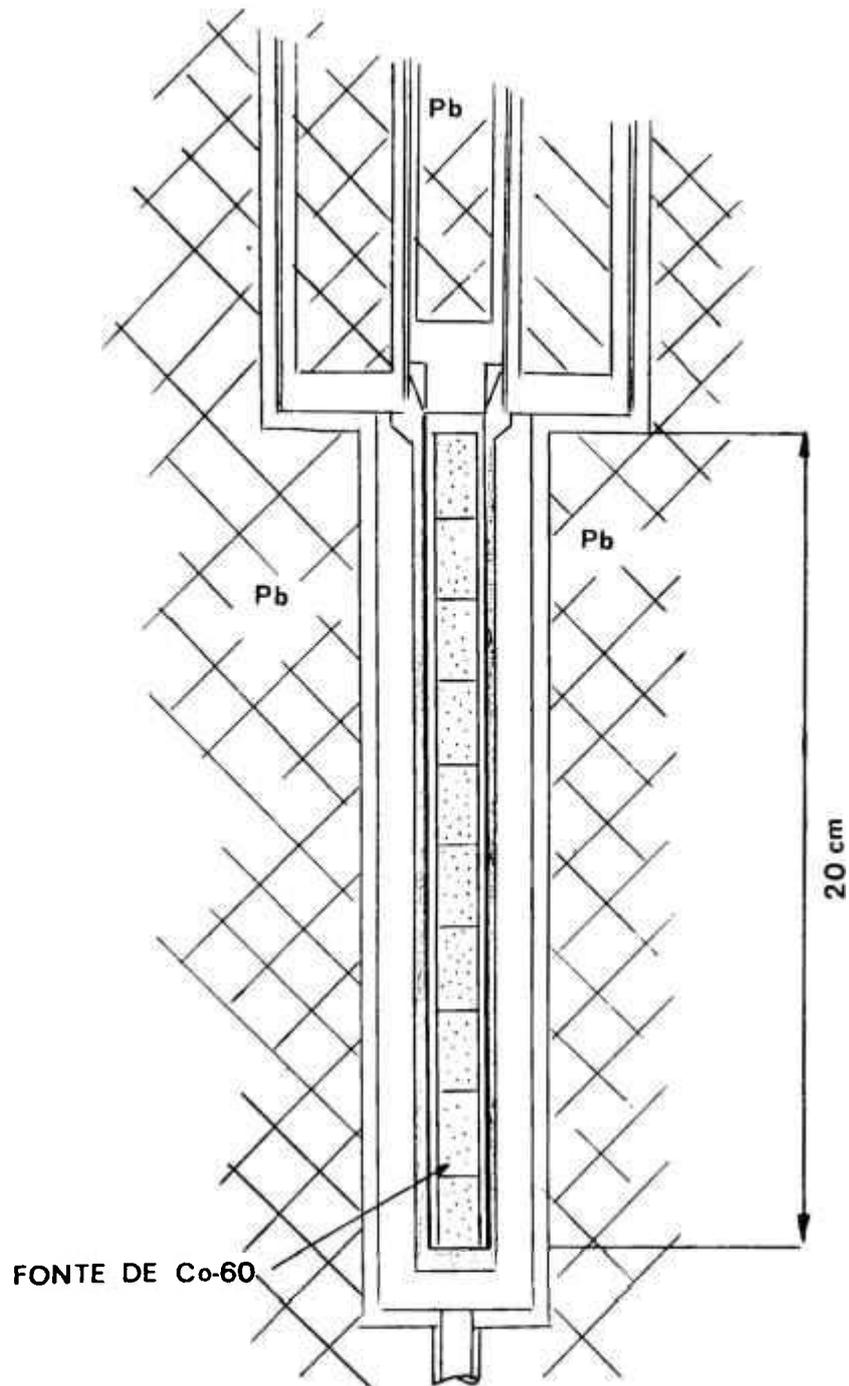


Figura 6.2. Um lápis/bastão de Co-60 usado no aparelho irradiador. O Co-60 radioativo  encapsulado em duas camadas de chumbo de 4mm de espessura.

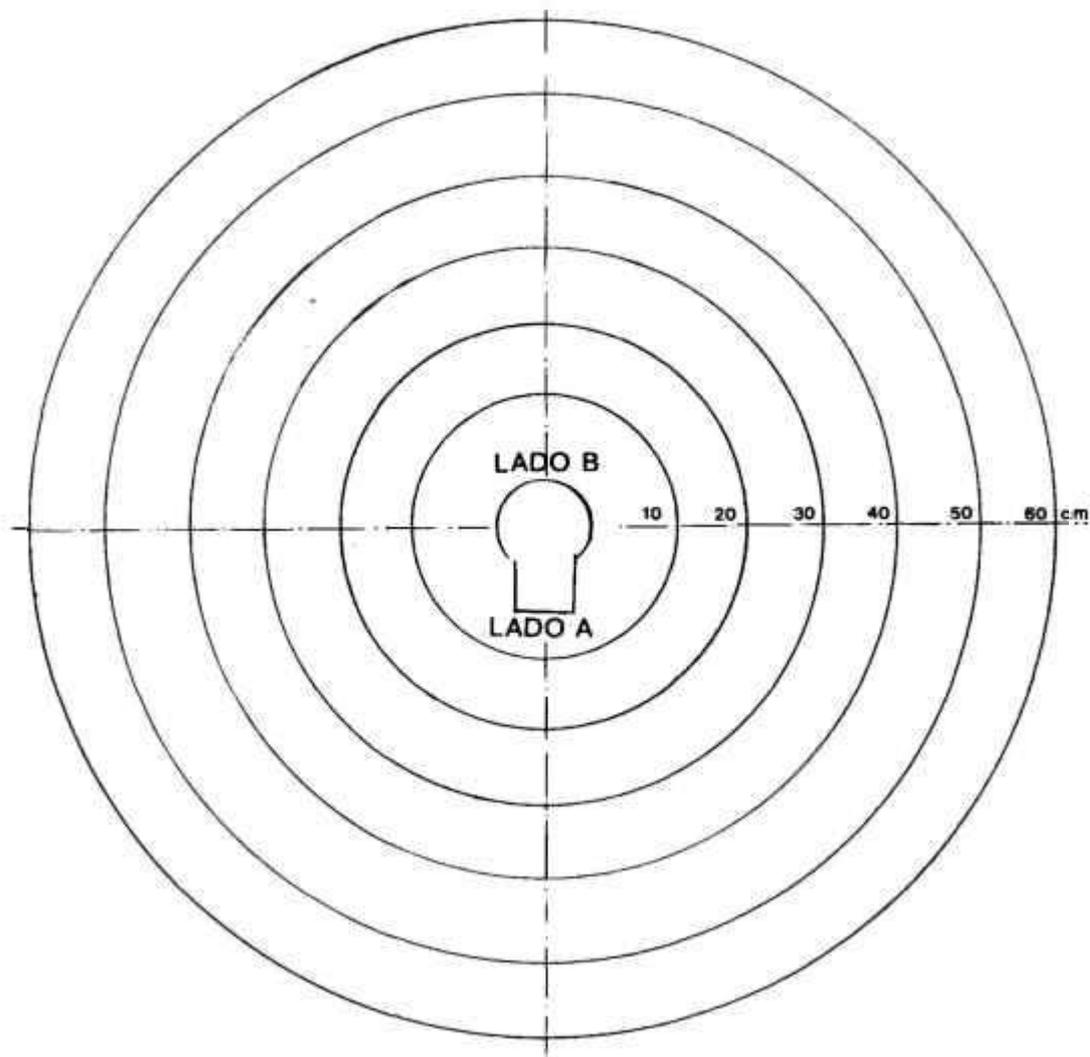


Fig. 6.3 Esquema do arranjo de irradiação na fonte de Co-60 tipo panorâmica pertencente ao IPEN.

A alanina em pó foi irradiada em tubos de vidro de 0.5mm de espessura e 6mm de diâmetro, de maneira a assegurar o equilíbrio eletrônico. Após as irradiações, as amostras foram mantidas em ambiente hermeticamente fechado e à temperatura ambiente. A taxa de dose na fonte de Co-60 foi obtida a partir da equação:

$$D = D_0 \cdot e^{-T/T_{1/2}} \quad 6.1$$

6.4.2. Sistema de irradiação com elétrons

A energia do feixe de elétrons (1,139 MeV) envolvida na irradiação não é suficiente para provocar uma reação nuclear na amostra e, portanto, não induz radioatividade.

Os elétrons cedem sua energia ao meio ionizando e excitando as moléculas. Assim, os elétrons incidentes juntamente com os elétrons secundários, gerados pela colisão com as moléculas, dão origem aos radicais livres.

O poder de penetração do feixe de elétrons é determinado pela sua energia. Quanto maior a energia dos elétrons incidentes maior será a espessura da camada irradiada. A Figura 6.4 mostra as partes principais do acelerador de elétrons Dynamitron II pertencente ao IPEN.

O material foi colocado em placas de *Petri* de maneira uniforme, com 2mm de espessura, de modo a garantir que as amostras recebessem a dose desejada. A Tabela 6.2 mostra os parâmetros selecionados na irradiação com feixe de elétrons no acelerador.

TABELA 6.2 PARÂMETROS SELECIONADOS NO ACELERADOR DYNAMITRON II

PARÂMETRO	VALOR ESCOLHIDO
ENERGIA	1,39 MeV
VELOCIDADE DA BANDEJA	3,36 m/min
LARGURA DE VARREDURA	100 cm
CORRENTE	2,4 — 2,9 mA
TAXA DE DOSE POR PASSADA	variável

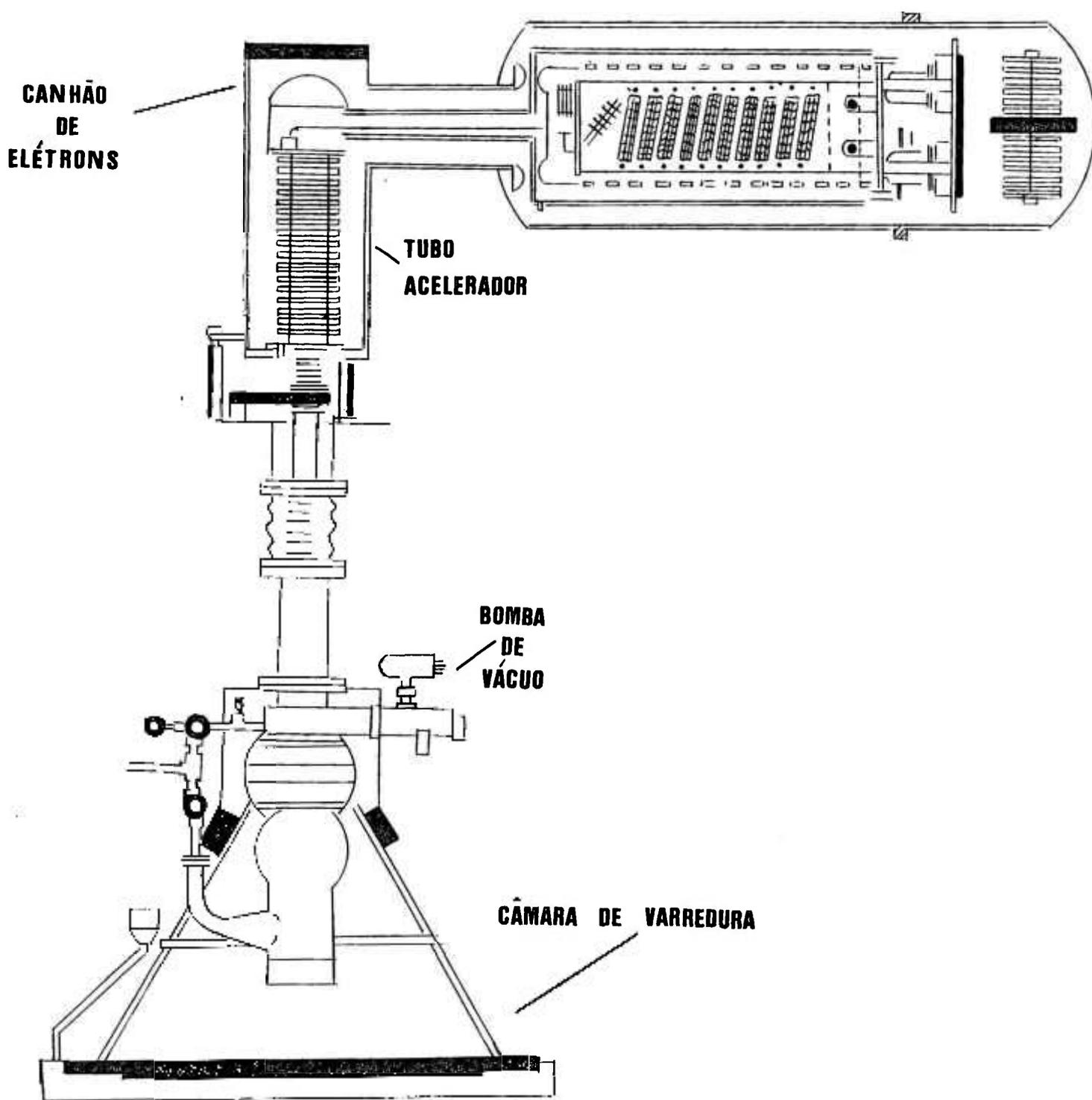


Figura 6.4 Principais componentes do acelerador de elétrons Dynamitron II.

6.5 Interpretação dos Resultados

6.5.1 Avaliação dos Dados

A fim de se padronizar o método e evitar erros significativos, todas as amostras foram lidas imediatamente após as irradiações, visto que o tempo dispensado para pesagem e acondicionamento da amostra nos capilares e balões não ultrapassou uma hora.

Nos casos em que pretendeu-se avaliar o decaimento da resposta em função do tempo de armazenamento, realizou-se leituras a cada cinco dias.

O tempo de leitura para cada amostra tanto pelo método espectrofotométrico quanto pela técnica de ressonância paramagnética eletrônica foi de aproximadamente 5 minutos.

Todas as leituras foram realizadas à temperatura ambiente, porém não foi possível controlar a temperatura de irradiação por não se dispor de dispositivos adequados e pelo fato das amostras estarem na forma de pó.

6.5.2 Tratamento dos dados

Cada ponto apresentado nas curvas representa o valor médio obtido para cinco amostras diferentes, com três leituras cada uma. Onde, o desvio padrão da média é indicado pela barra de erro (1σ).

6.6 Método de ressonância paramagnética eletrônica

6.6.1 Leitura dos dosímetros

Para a leitura das amostras foi utilizado um espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica equipado com uma cavidade ressonante modo TE₀₁₁.

Cada amostra contém 200 mg de alanina em pó irradiada, com 2.0 cm de comprimento por 0,37 cm de diâmetro ($\text{vol} \cong 0.2 \text{ cm}^3$) e densidade próxima de 1 g/cm^3 . As amostras são posicionadas na cavidade através de tubos de quartzo, fabricados e padronizados pela JEOL, adequados para medidas à temperatura ambiente.

A reprodutibilidade do posicionamento da amostra é assegurada através de um suporte de polietileno que se ajusta perfeitamente à cavidade ressonante onde a componente do campo magnético da microonda é máxima.

As primeiras leituras visaram determinar as melhores condições de operação do aparelho. A escolha desses parâmetros deve ser de tal forma a se obter uma boa resolução do sinal , evitando distorções devido ao ruído. Os parâmetros selecionados foram mantidos durante todas as leituras e seus valores são mostrados na tabela 6.3.

TABELA 6.3 PARÂMETROS SELECIONADOS NO ESPECTRÔMETRO PARA A REALIZAÇÃO DAS LEITURAS COM AMOSTRAS DE ALANINA.

PARÂMETRO	
Amplitude de modulação	0,5 x 1 G
Campo Magnético	3345 G
Largura de Varredura do Campo Magnético	250 G
Constante de Tempo	0.3 s
Frequência de Modulação	100 kHz
Ganho	variável
Potência de Microondas	0,1 mW
Tempo de Varredura	5 min
Temperatura de Leitura	(20 - 25 ^o C)
Frequência de microondas	9400 MHz (banda X)

6.6.2 Amostra Padrão

Para correlacionar leituras realizadas em diferentes dias e controlar erros causados por oscilações do próprio espectrômetro, utilizou-se uma amostra padrão de manganês que está acoplada no próprio espectrômetro. A amostra padrão de manganês foi lida sempre nas mesmas condições que as amostras de alanina, e o sinal padrão foi utilizado para acompanhar e corrigir as leituras dos dosímetros.

Como já foi dito em 3.5 o espectro R.P.E. do Mn^{++} possui seis sinais e o intervalo entre o 3.^o e o 4.^o sinal, contados em ordem crescente do campo magnético é $86,9 \pm 0,1$ gauss, o valor g do 4.^o sinal é $g = 1,981$. Como o intervalo entre os outros sinais varia em função da frequência, eles não podem ser usados para calibração.

6.7 Método Espectrofotométrico

6.7.1. Leitura dos dosímetros

Utilizou-se sempre água destilada na preparação da solução de referência que contém: sulfato ferroso amoniacal 0.2 mM e alaranjado de xilenol 0.2 mM em ácido sulfúrico 0.05 N.

As amostras de alanina irradiada são pesadas e cuidadosamente transferidas para balões de 25 ml (secos). O mesmo procedimento é realizado para as amostras de alanina não irradiada. Em seguida, as amostras são dissolvidas em 10 ml da solução de referência.

A absorvância das soluções contendo alanina irradiada foi sempre lida contra uma solução padrão denominada branco. Foram utilizados dois tipos de branco: um contendo somente a solução de referência + alanina não irradiada (Branco 1) e o outro contendo a solução de referência pura (Branco 2).

Todas as amostras foram lidas na região do visível, utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de comprimento.

7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.1 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

7.1.1 Espectro de absorção

O espectro da amostra padrão de manganês utilizada com seus seis picos, é mostrado na Figura 7.1 O pico central observado na figura corresponde a um outro padrão, o DPPH (Diphenyl Picrylhydrazil) junto com a DL-alanina.

O sinal R.P.E. característico da amostra de DL-alanina submetida à radiação gama do Co-60 é mostrado na Figura 7.2. O espectro característico da alanina apresenta 5 picos bem resolvidos e está localizado entre o 3.^o e 4.^o picos do padrão de manganês, onde a amplitude do 3.^o pico, h (cm), foi considerada como base para todas as medidas. Leituras de amostras não irradiadas não apresentam nenhum sinal dentro dos parâmetros fixados.

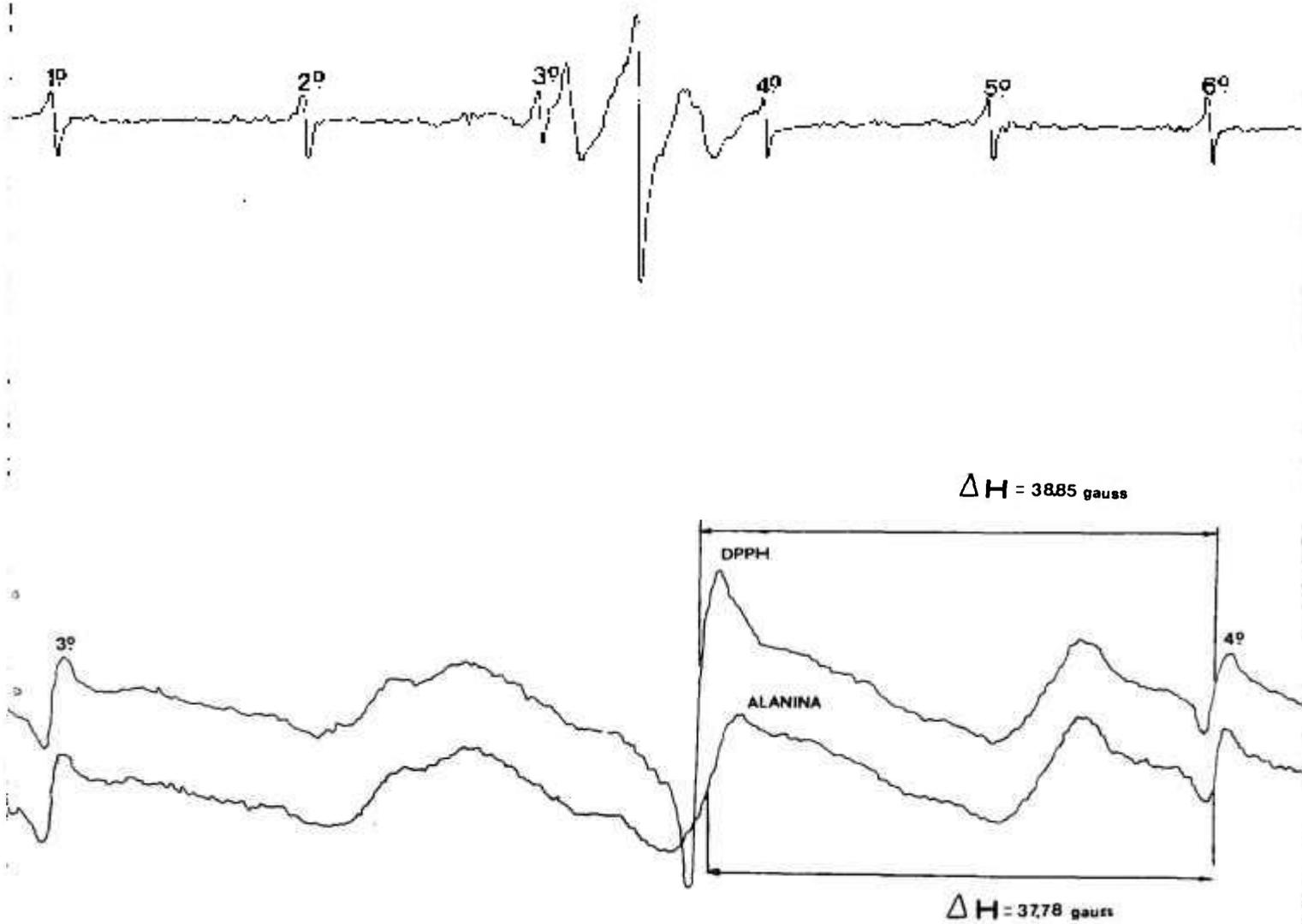


Figura 7.1 Espectro de absorção da amostra padrão de Manganês lida juntamente com o padrão DPPH e a alanina.

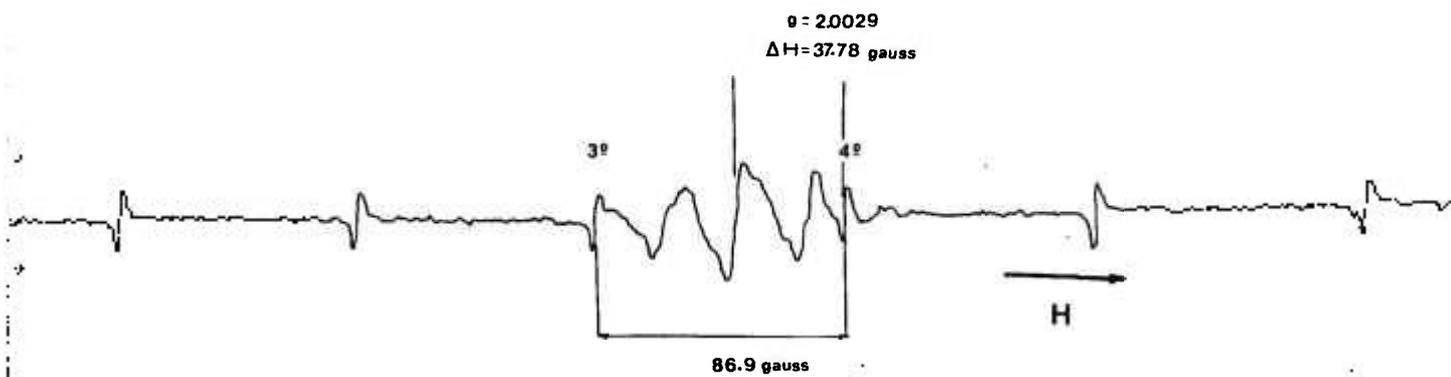


Figura 7.2 Espectro de absorção da amostra de DL-alanina submetida à radiação gama do Co- 60 (Dose 0,5 kGy).

7.1.2 Dependência do sinal com a massa de alanina

Para a determinação da dependência da intensidade do sinal R.P.E. com a massa de alanina, amostras com massas entre 50 e 250 mg foram avaliadas.

A Figura 7.3 mostra a dependência do sinal RPE com a massa das amostras. Todas as amostras foram irradiadas com a mesma dose (4kGy) e todos os demais parâmetros foram mantidos constantes.

Como pode ser observado, o sinal cresce com o aumento da massa, tendendo à saturação para valores acima de 150 mg. A resposta não linear obtida é explicada devido a existência de um campo magnético não homogêneo (campo magnético de microondas) no interior da cavidade, dirigido ao longo da amostra.

A massa escolhida para as demais medidas foi de 200 mg, pois apresenta um sinal elevado mesmo para doses inferiores a 1 kGy.

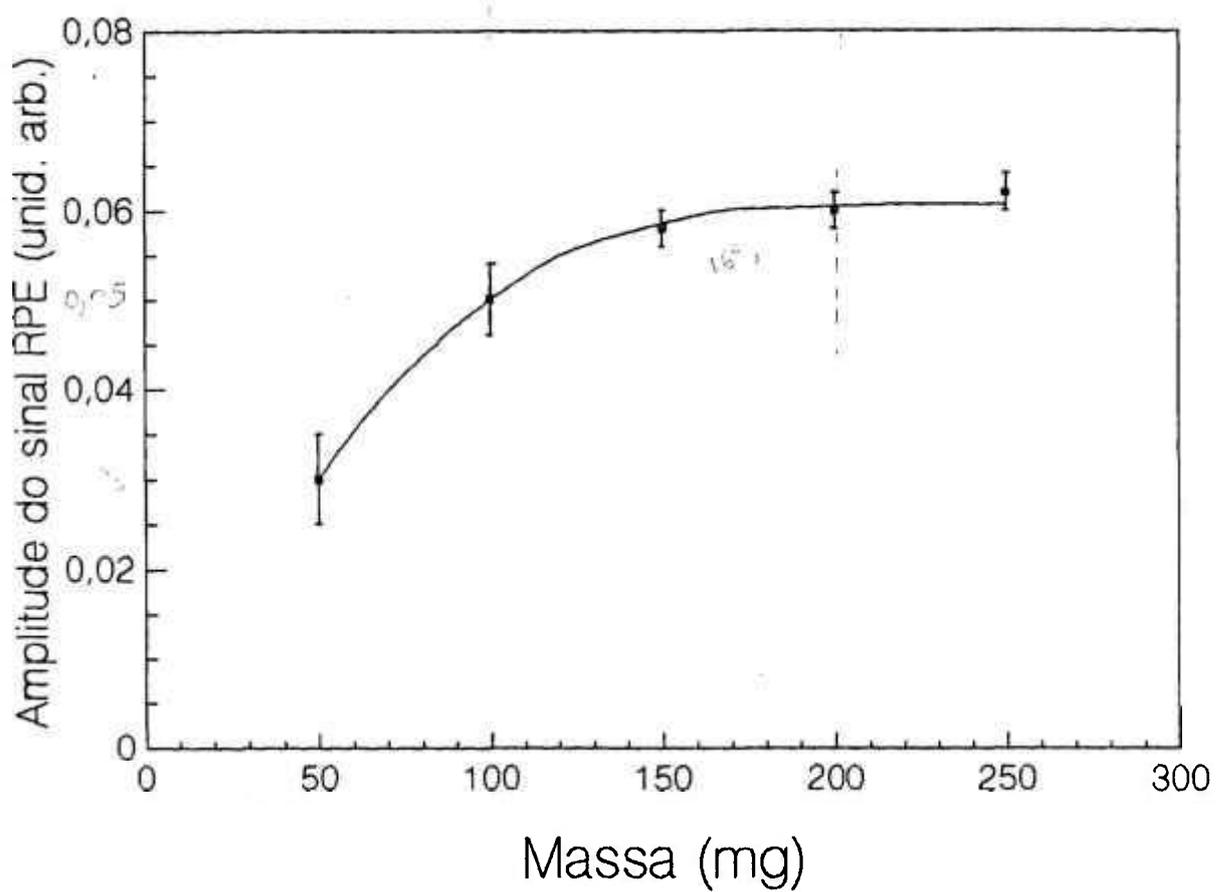


Fig. 7.3 Variação da Amplitude do sinal R.P.E. em função da massa de alanina . Dose Absorvida: 4 kGy.

7.1.3 Dependência do sinal com a Potência de Microondas

Amostras de 200 mg de alanina foram irradiadas nas mesmas condições e foram efetuadas medidas R.P.E. variando-se a potência de microonda entre 0,1 e 9 mW, sendo mantidos constantes todos os demais parâmetros.

A variação da amplitude do sinal RPE com a raiz quadrada da potência de microonda é mostrada na Figura 7.4. Verifica-se um crescimento da amplitude com o aumento na potência de microonda, sendo que a mesma começa a atingir um valor de saturação para potências acima de 1mW.

A potência de trabalho escolhida foi 0,1 mW, de modo a garantir a proporcionalidade do sinal com o número de spins que, em termos absolutos, está diretamente relacionado à dose absorvida pela amostra. O ajuste de potência deve ser cuidadoso, de modo a evitar uma variação na amplitude do sinal obtido.

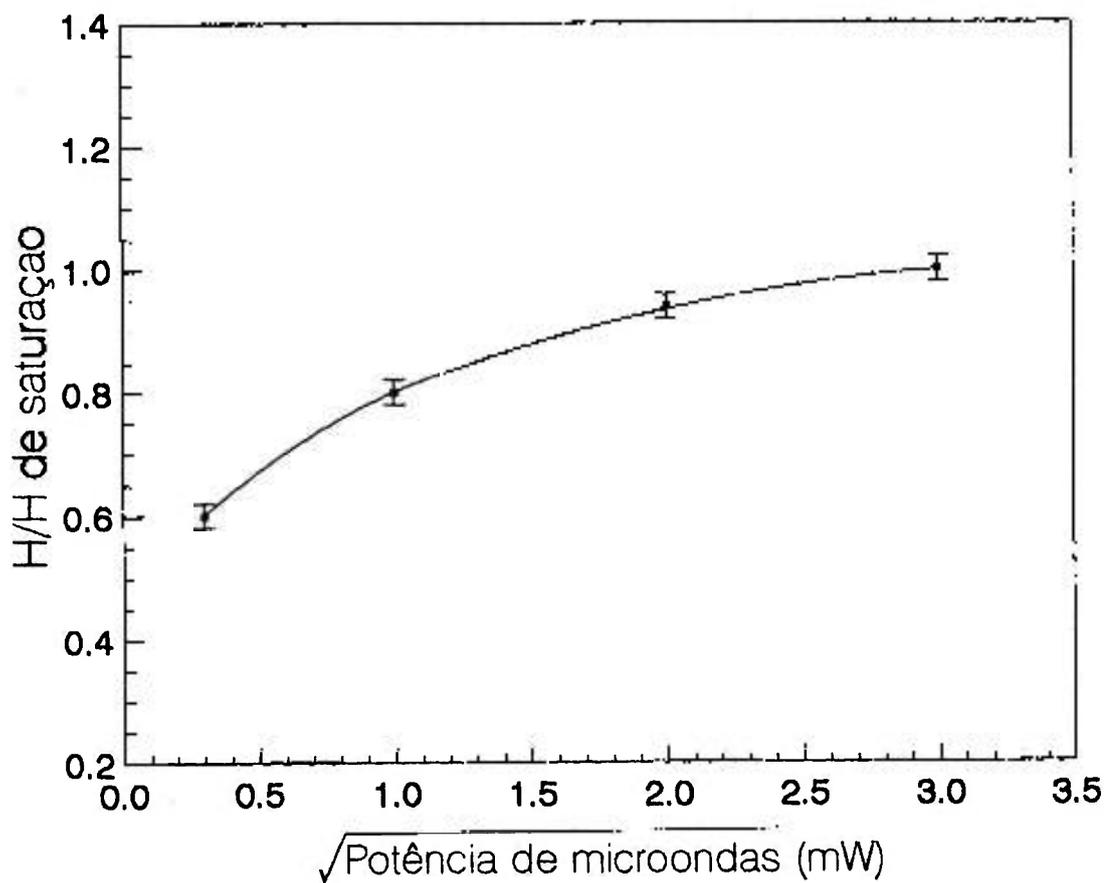


Figura 7.4 Variação da amplitude do sinal RPE em função da raiz quadrada da potência de microondas aplicada.

7.1.4 Decaimento do sinal

Para verificar o decaimento do sinal RPE em função do tempo após a irradiação, sua relação com a dose absorvida e com os cuidados de armazenamento foram preparados dois grupos de dosímetros, ambos submetidos à radiação gama do Co-60 com doses que variaram de 1 a 60 kGy.

O primeiro grupo foi armazenado sem qualquer controle (umidade, temperatura e luz). O decaimento do sinal R.P.E. para esse grupo de amostras é mostrado na Figura 7.5 (Curva A). Os resultados obtidos mostram um decaimento do sinal de 10 %.

Um segundo grupo foi mantido fechado em um dissecador, protegido da luz e mantido a uma temperatura entre 15-20 °C. Os resultados para esse segundo grupo são mostrados na figura 7.5 (Curva B), apresentando um decaimento do sinal R.P.E. de 4%.

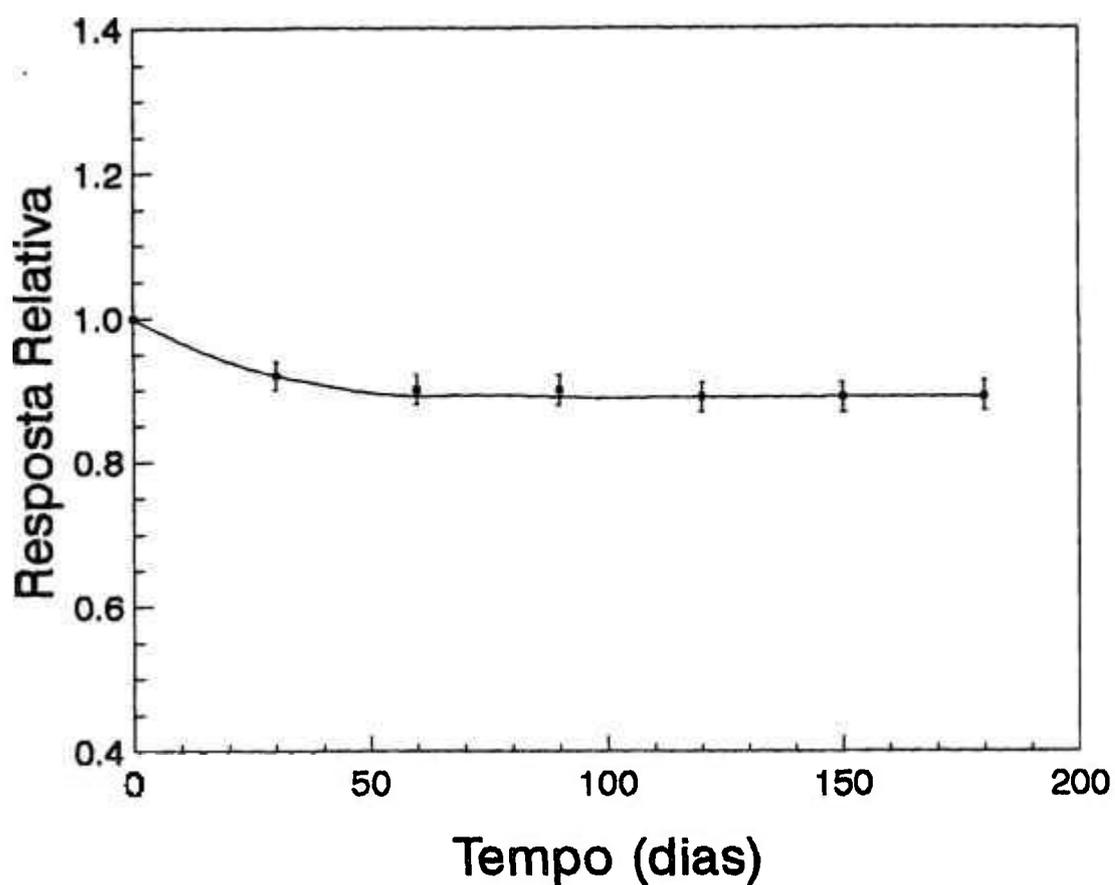


Figura 7.5 A) Decaimento do sinal R.P.E. de amostras de alanina submetidas à radiação gama do Co-60 (Grupo 1: nenhum cuidado foi tomado quanto ao armazenamento).

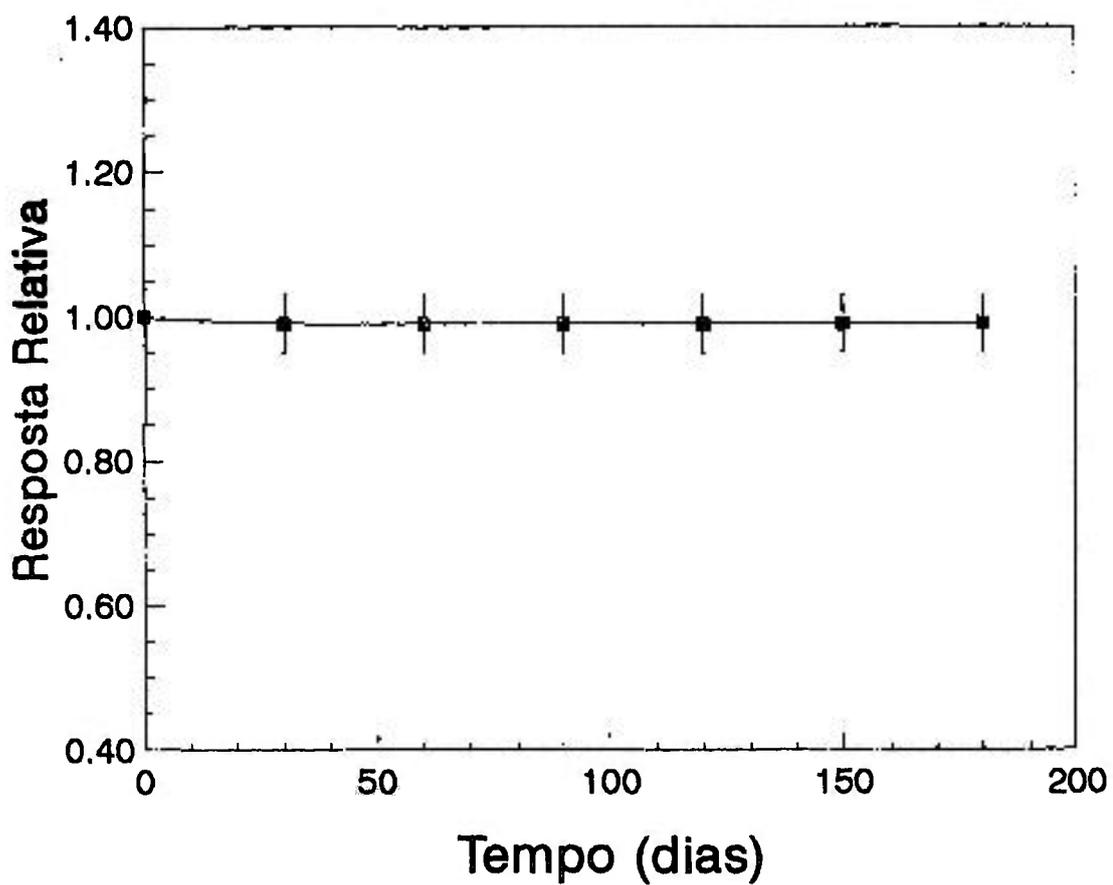


Figura 7.5 B) Decaimento do sinal R.P.E de amostras de alanina submetidas à radiação gama do Co-60. (Grupo 2: amostras mantidas em dissecador, protegidas da luz e à temperatura ambiente).

7.1.5 Dependência do sinal com o tipo de Radiação

Para verificar a dependência do sinal R.P.E. com o tipo de radiação foram efetuadas medidas irradiando-se amostras com 200 mg de alanina, em duas fontes de radiação diferentes: radiação gama do Co-60 e de elétrons do acelerador. No caso da radiação gama do Cobalto-60 a energia média é 1,25 MeV e no caso dos elétrons a energia utilizada foi 1,14 MeV. As amostras foram irradiadas com diferentes doses entre 3 e 30 kGy em ambas as fontes. Todos os demais parâmetros de medida foram sempre mantidos constantes. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.6. Para as radiações utilizadas o comportamento da resposta é praticamente o mesmo, apesar das energias serem um pouco menor que o limite estabelecido por outros autores²³. A pequena diferença observada é devida à erros na determinação da taxa de dose no dois sistemas.

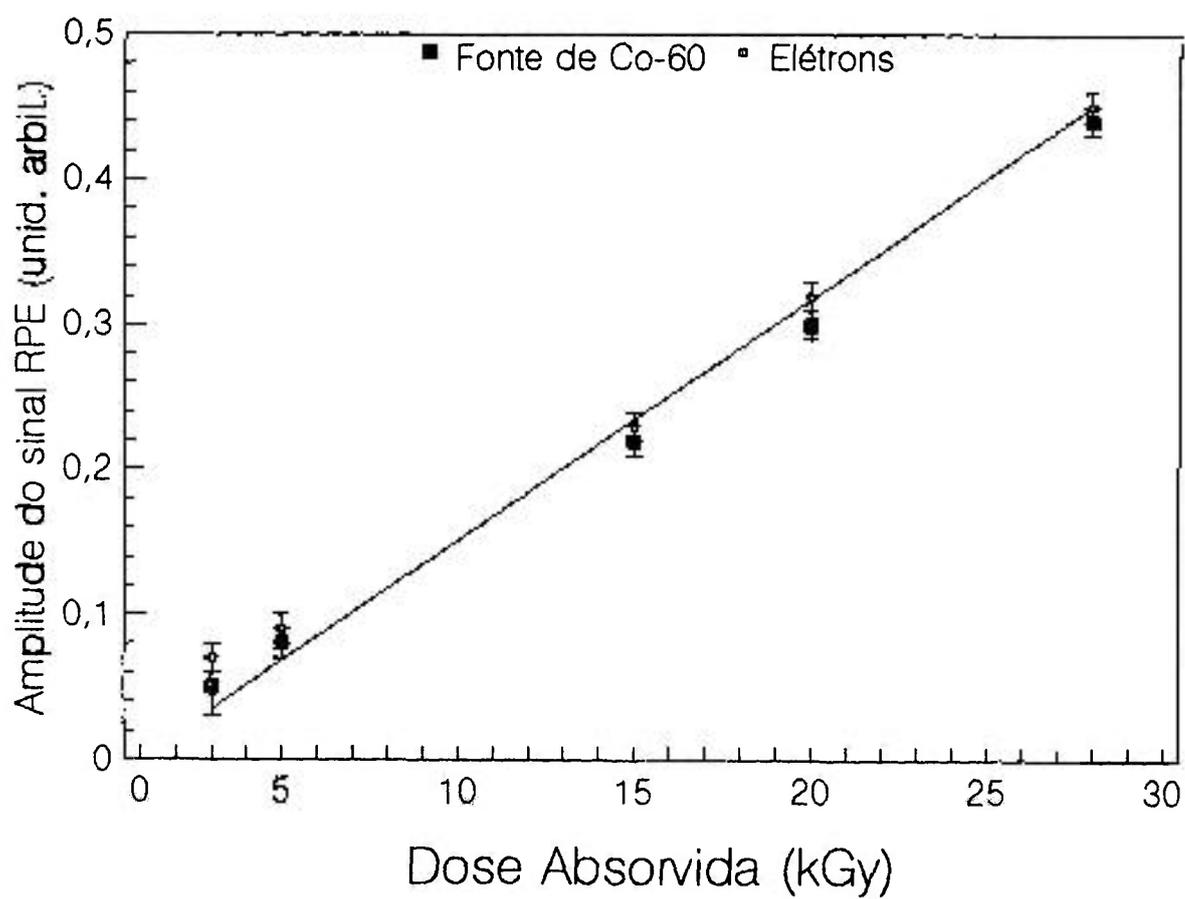


Figura 7.6 Dependência do Sinal R.P.E. com o tipo da radiação incidente.

7.1.6 Dependência do sinal com a taxa de dose

A influência da taxa de dose na produção de radicais livres foi estudada para a radiação gama do Co-60 (Figura 7.7). As amostras com 200 mg foram colocadas no irradiador nas posições 5, 10, 20, 30 e 40 cm na parte de trás e irradiadas sempre com uma mesma dose (3 e 5 kGy). Nenhuma variação na resposta foi encontrada entre 0,21 e $1,16 \times 10^3$ Gy/h que é um limite típico de irradiadores industriais, acima desse valor, observa-se uma dependência crescente do sinal R.P.E. com a taxa de dose. Isto se explica porque ocorrem recombinações e interações competitivas entre espécies intermediárias quando se utiliza taxas de dose altas.

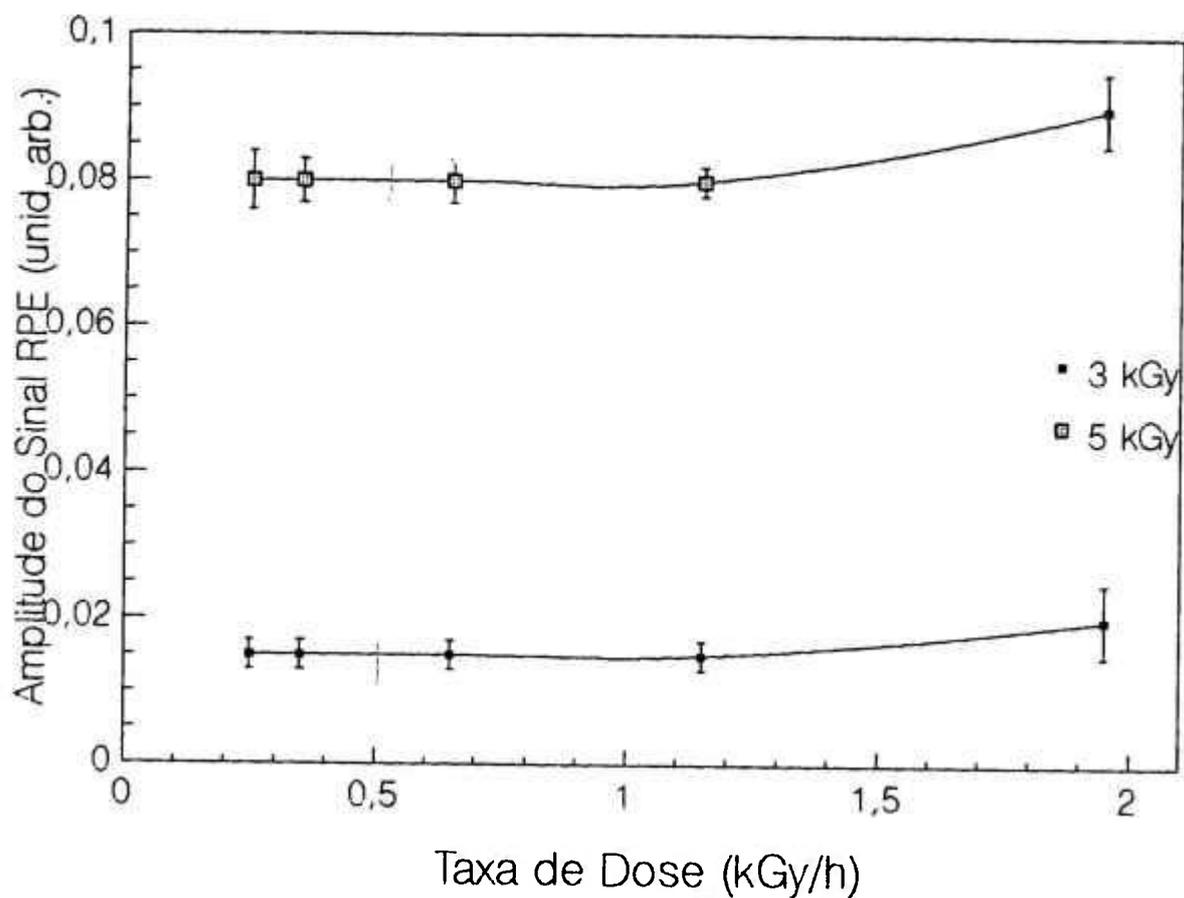


Figura 7.7 Variação do sinal R.P.E. em função da taxa de dose para as posições 5, 10, 20 e 40 cm (parte de trás). Curva A: 3kGy ; e Curva B: 5 kGy.

7.1.7. Curva de dose - resposta

Tendo um controle de todos os parâmetros do aparelho e das variáveis envolvidas na técnica de dosimetria RPE, foi possível estabelecer uma relação entre a dose absorvida e a amplitude do sinal para as amostras de alanina. Essa relação é mostrada na Figura 7.8 onde cada ponto é a média de 5 leituras. O desvio padrão da média (1σ) encontrado varia entre 2 e 3%, mostrando uma boa reprodutibilidade das leituras. O limite para doses baixas apresenta a interferência do ruído. A curva apresenta uma região de linearidade extensa, de 10^2 até aproximadamente 10^5 Gy. Os dados ajustados pelo método dos mínimos quadrados mostram uma reta com os seguintes coeficientes: inclinação= 0,012, intersecção = 0,019, coeficiente de correlação= 0,99. Estes valores dependem das características do dosímetro, das condições ambientais para as quais as leituras foram corrigidas e das características do espectrômetro.

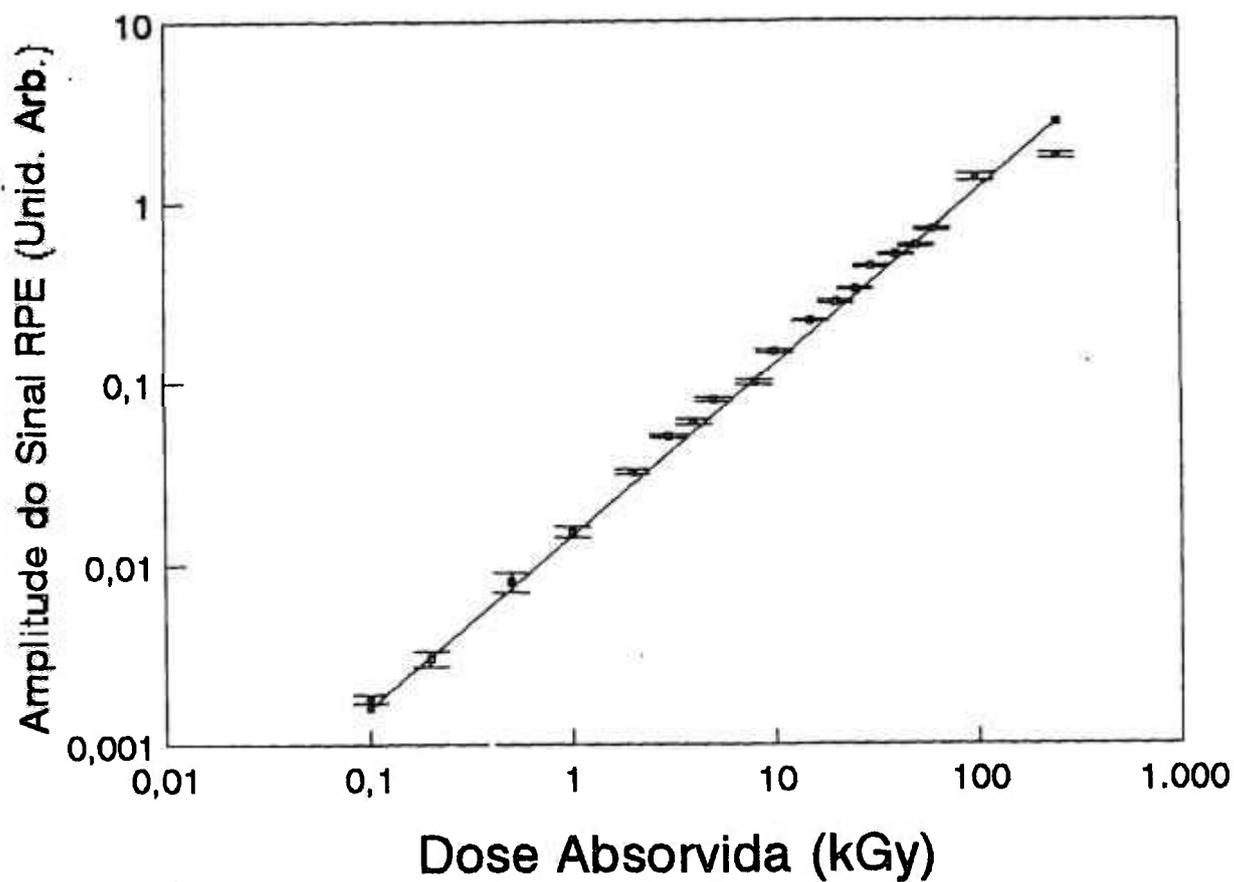


Figura 7.8 Curva de dose-resposta para amostras de alanina submetidas à radiação gama do Co-60.

7.1.8 Cálculo do Fator g

O valor de g para a alanina foi obtido a partir do procedimento descrito em 3.5, onde foram utilizados dois padrões: o DPPH cujo g é 2,0036 e o padrão de manganês cujo valor de g do 4.^o sinal é 1,981. Foi feita uma leitura simultânea do padrão de manganês com o DPPH e a alanina.

A distância entre o sinal do DPPH e o 4.^o sinal do manganês $\Delta H = 38,85$ gauss. Utilizando esses valores na condição de ressonância obtem-se:

$$H = 3444,24 \text{ gauss}$$

A distância entre o sinal de maior intensidade da alanina e o 4.^o sinal do manganês $\Delta H = 37,78$ gauss. Utilizando esse valor e juntamente com H obtido anteriormente na equação de ressonância foi possível obter o valor g para a alanina:

$$g = 2,0029$$

7.2 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

7.2.1 Espectro de absorção

A Figura 7.9 mostra o espectro de absorção para a solução de referência contendo alanina em pó irradiada com 1 kGy e lida contra um branco contendo a solução de referência + alanina não irradiada. Pode-se verificar que o comprimento de onda de máxima absorção muda de 520 para 505 nm quando a massa de alanina varia de 20 para 100 mg.

O mesmo comportamento foi verificado quando os espectros foram obtidos utilizando a solução de referência pura como branco. Porém, nesse caso, o deslocamento do comprimento de onda foi de 530 para 515 nm quando a massa de alanina varia de 20 para 100 mg. Esses resultados são mostrados na Figuras 7.10.

Esse comportamento é semelhante para todo o intervalo de doses estudado (1-15kGy).

Para concentrações menores que 20 mg e superiores a 100 mg existe o problema da falta de reprodutibilidade e de estabilidade

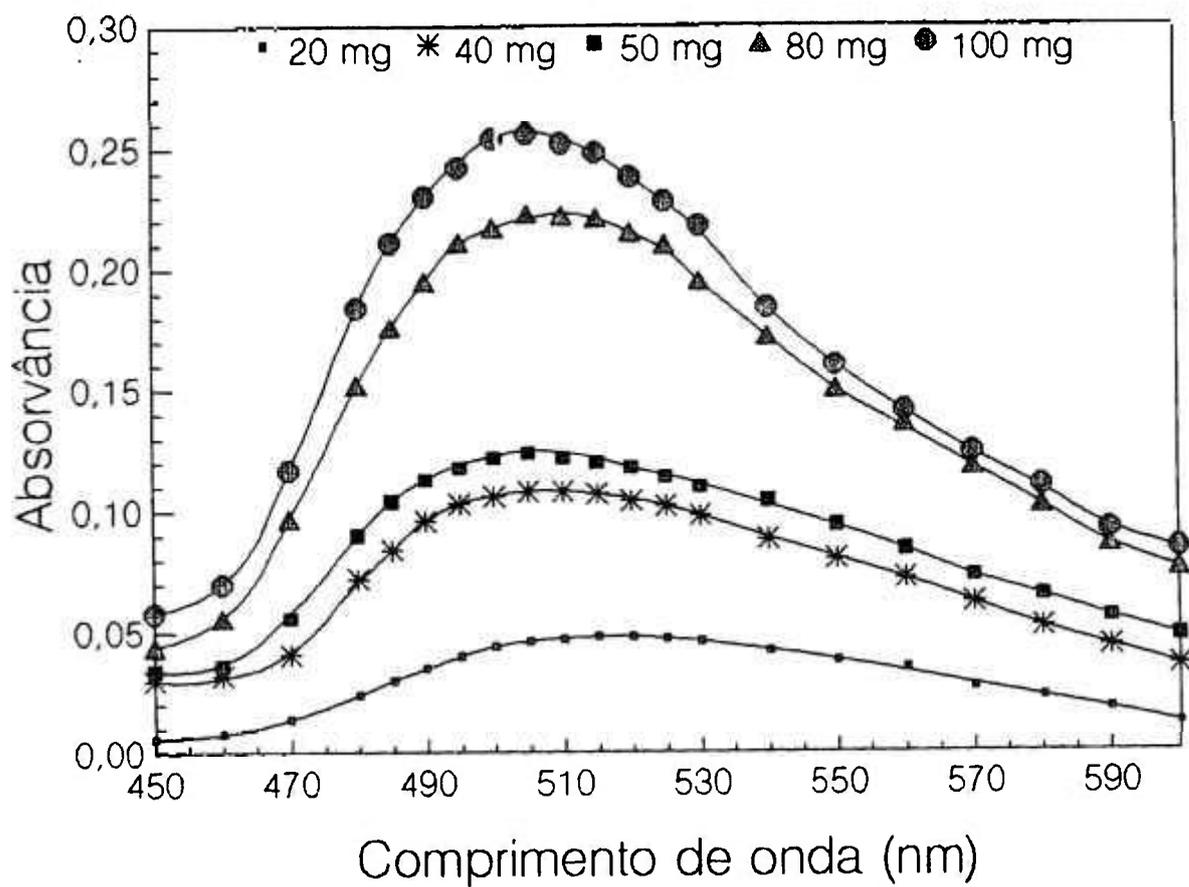


Figura 7.9 Espectro de absorção de amostras de alanina irradiada. Dose: 1 kGy. Branco: Solução de referência + alanina não irradiada.

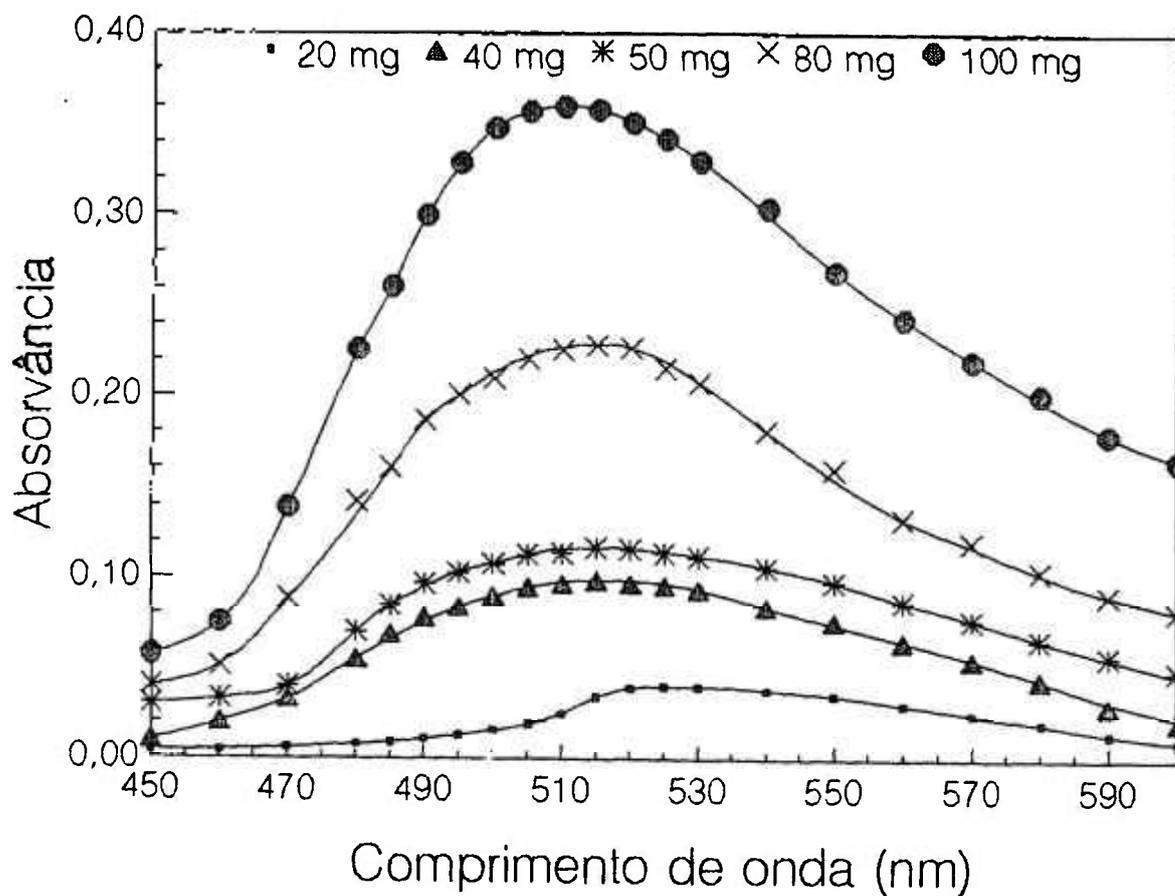


Figura 7.10 Espectro de absorção de amostras de alanina irradiada. Dose: 1 kGy. Branco: Solução de referência pura.

7.2.2 Efeito da dissolução de alanina na estabilidade da solução de referência

Quando 50, 100 e 200 mg de alanina não irradiada são dissolvidas em 10 ml da solução de referência e lidas contra um *branco*, que nesse caso é a própria solução de referência, o valor da absorvância em 505 nm flutua continuamente conforme ilustrado pela Figura 7.11, o que não permite uma avaliação da estabilidade, porque neste caso a amostra que se pretende medir a absorvância apresenta características muito próxima da solução usada como referência. Utilizando a água destilada como referência a diferença entre amostra e referência é muito maior o que permite verificar que o valor da absorvância lida em 505 nm muda continuamente conforme ilustra a Figura 7.12.

O mesmo procedimento foi realizado para amostras de alanina irradiada. Elas também foram lidas durante um intervalo de tempo de 70 minutos. Os resultados são mostrados na Figura 7.13 quando se utilizou a solução de referência pura como *branco* e na Figura 7.14 onde se utilizou a solução de referência + alanina não irradiada como *branco*.

Nos primeiros 10 minutos há um aumento rápido da absorvância em 505 nm. Passado esse período, os valores de absorvância permanecem constantes por aproximadamente 60 minutos. A única exceção é para amostras com 200 mg que aumentam constantemente a absorvância, mesmo passados os 10 minutos iniciais.

Para padronizar o método esperou-se sempre 10 minutos entre a dissolução e a leitura dos dosímetros.

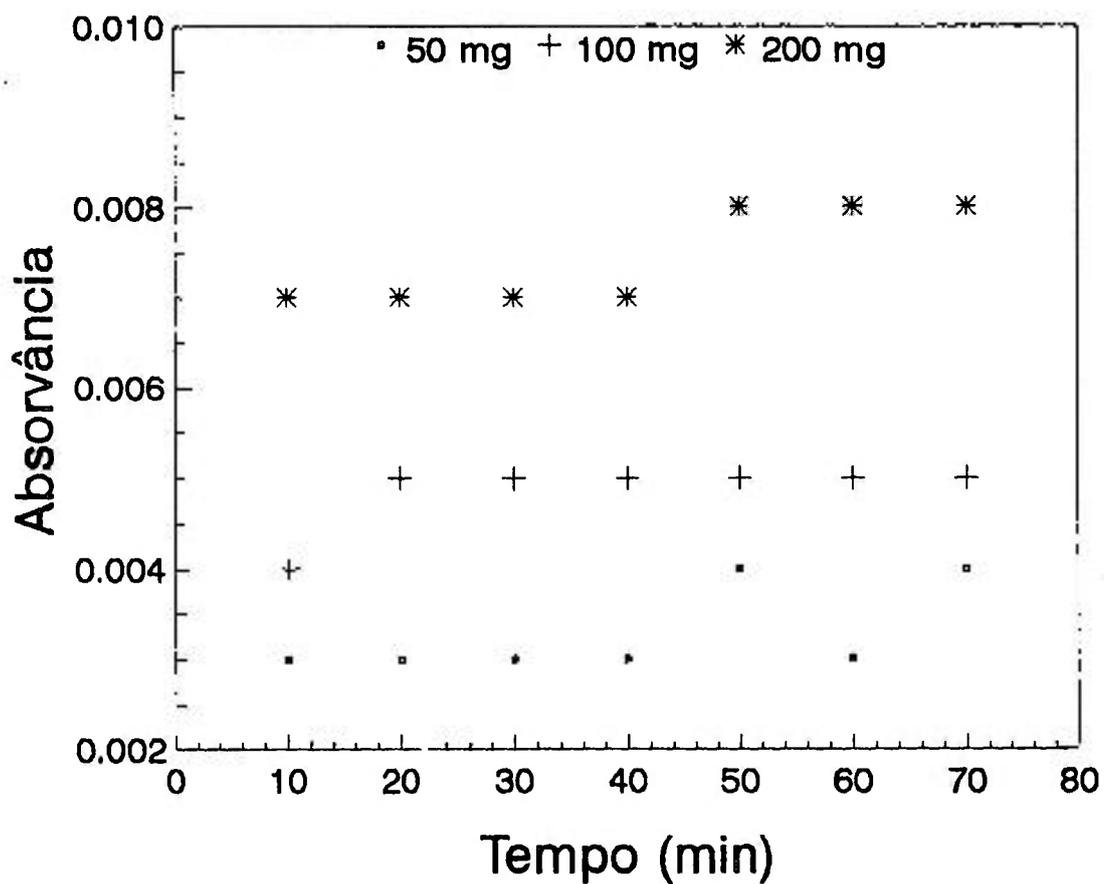


Figura 7.11 Variação da estabilidade de amostras de alanina não irradiada após a dissolução. Branco: solução de referência pura.

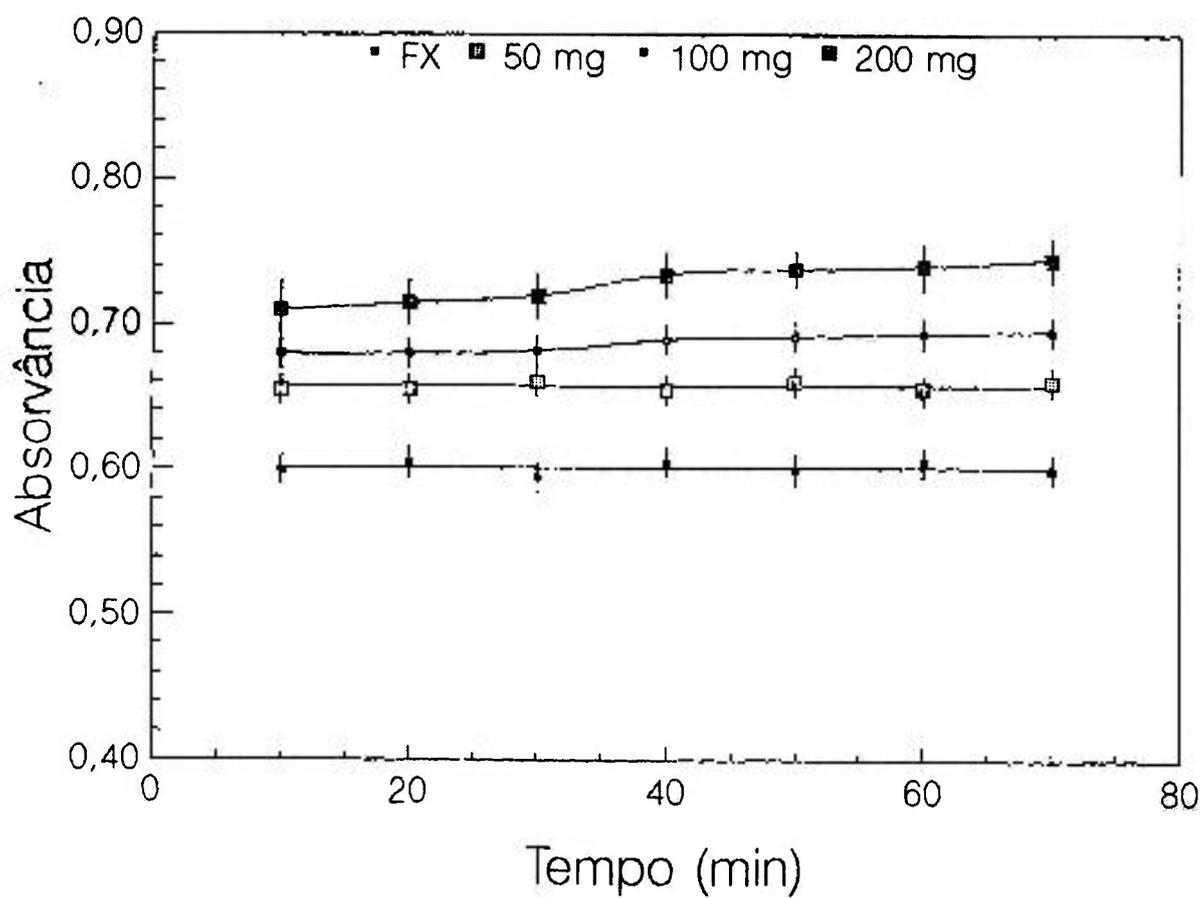


Figura 7.12. Variação da estabilidade de amostras de alanina não irradiada após a dissolução. Branco: água destilada.

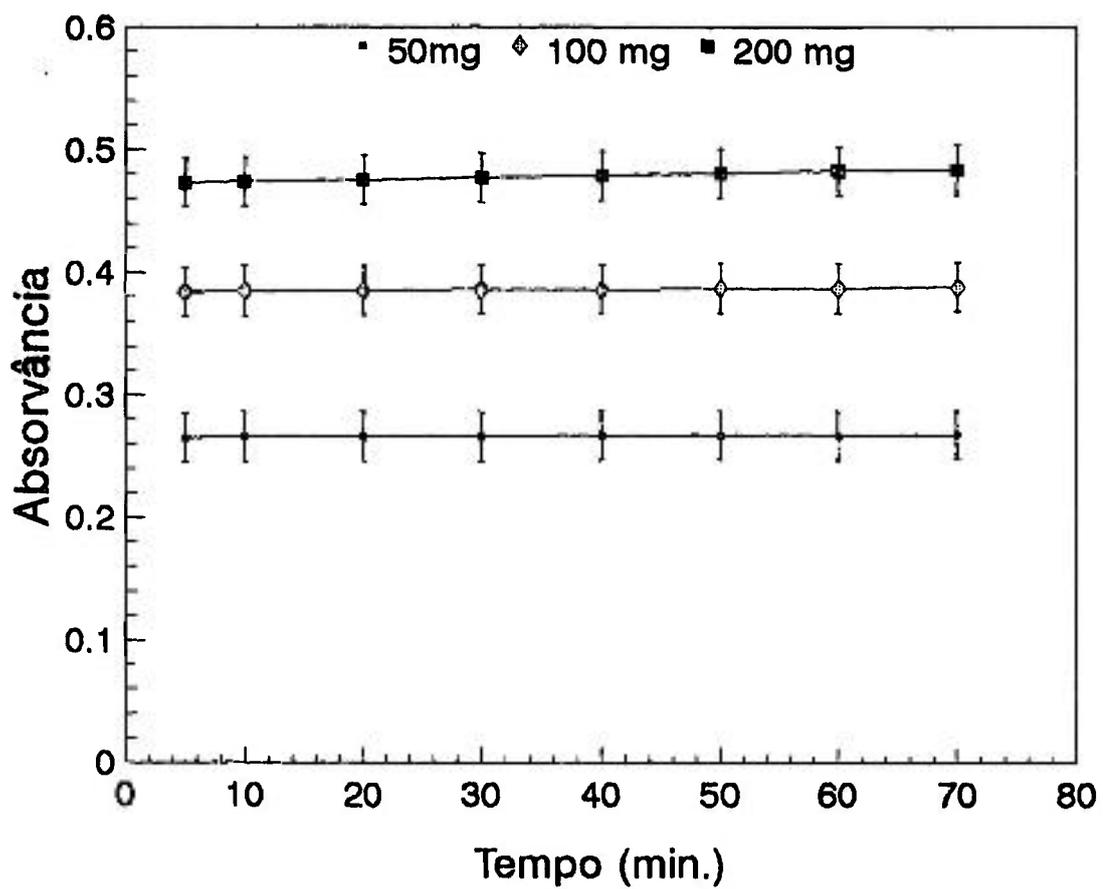


Figura 7.13 Variação da estabilidade de amostras de alanina irradiada. Dose: 3 kGy. Branco: solução de referência pura.

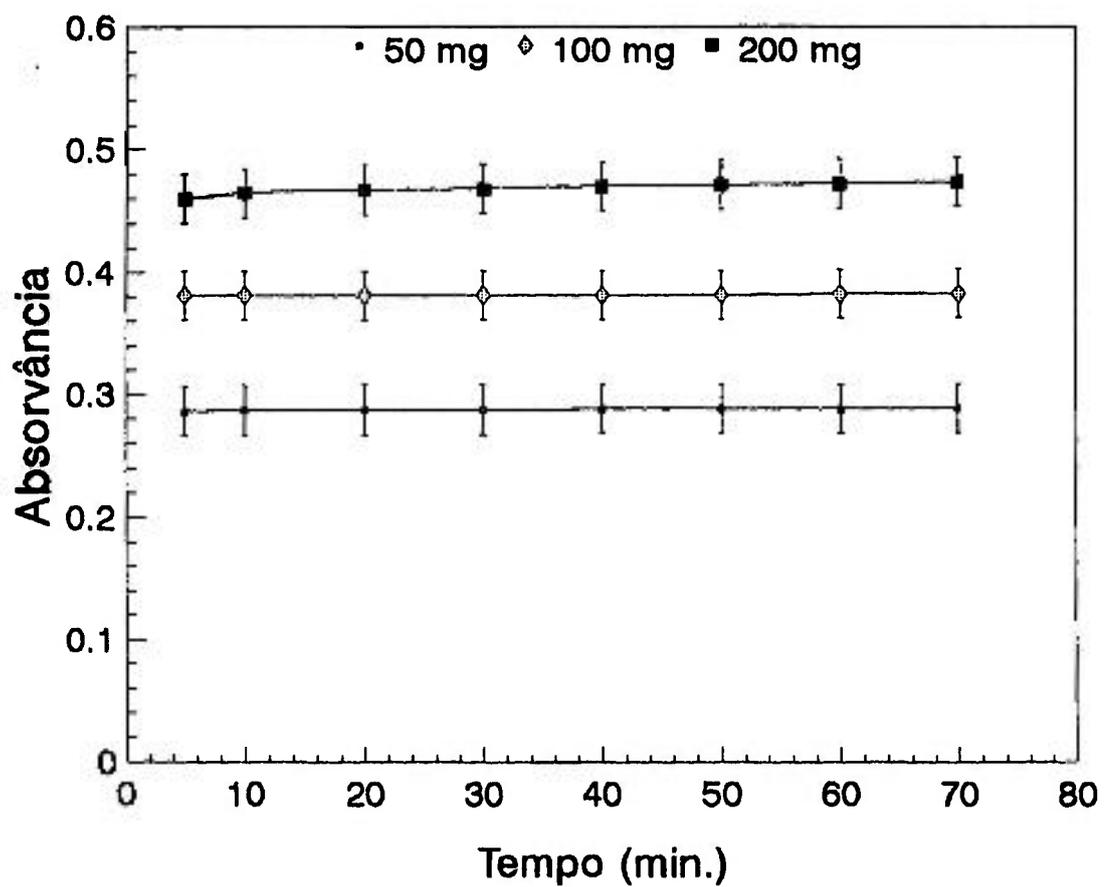


Figura 7.14 Variação da estabilidade de amostras de alanina irradiada. Dose: 3kGy. Branco: solução de referência + alanina não irradiada.

7.2.3 Efeito da Pureza da Água

A Figura 7.15 mostra o espectro de absorção para 50 mg de alanina irradiada com 2,5 kGy e dissolvida em soluções de referência preparadas com água destilada (+) e bidestilada (■).

Os resultados obtidos usando água bidestilada e água destilada na preparação da solução de referência não mostraram diferenças significativas, desse modo, optou-se pela utilização da água destilada em todas as soluções, devido à facilidade de obtenção.

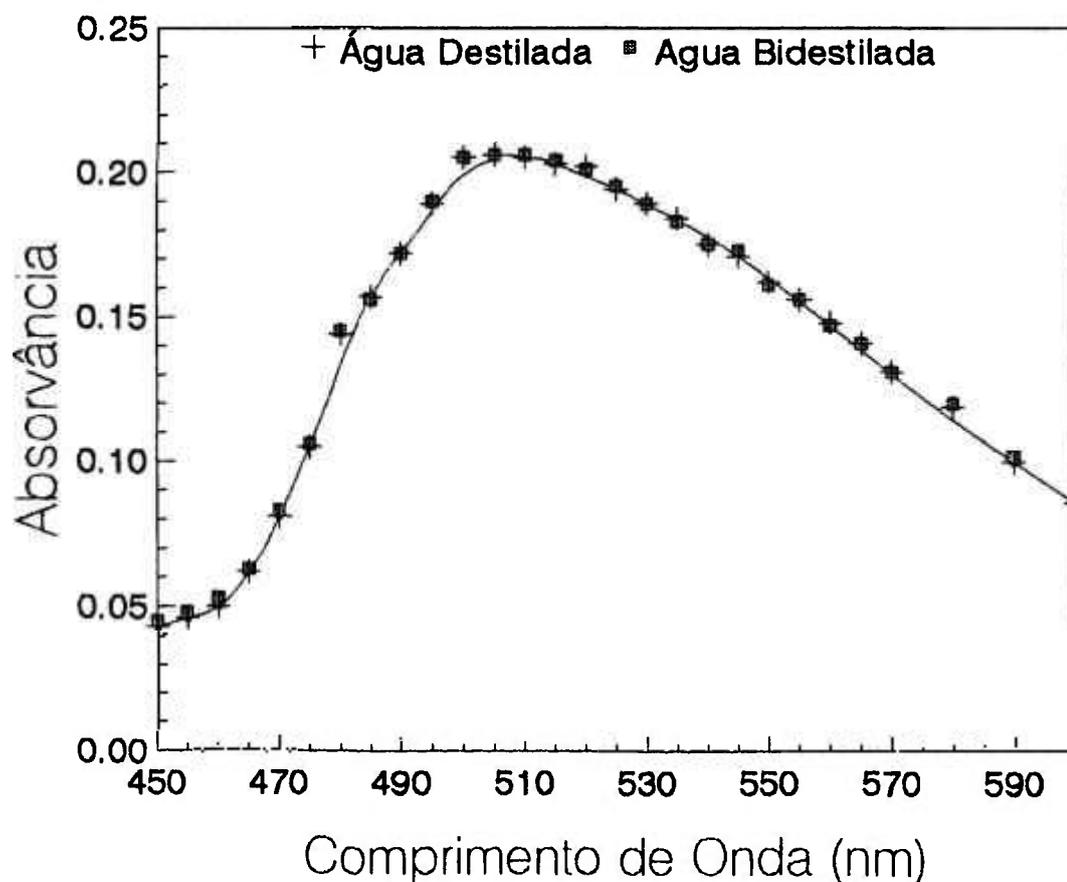


Figura 7.15 Efeito da pureza da água utilizada na preparação das soluções.

7.2.4 Efeito da concentração de Alanina

Diferentes concentrações de alanina irradiada (20 — 200 mg) foram dissolvidas em 10 ml da solução dosimétrica. A absorvância dessas soluções foi lida contra um branco contendo alanina não irradiada. A Figura 7.16 mostra que a absorvância da solução contendo alanina irradiada com 3 kGy cresce linearmente com o aumento na concentração de alanina dissolvida, até a concentração de 100 mg. Para valores maiores de massa ocorre uma saturação. Para doses menores que 3 kGy há um pequeno desvio da linearidade com o aumento da concentração do aminoácido alanina. Esse desvio da linearidade pode ser explicado em termos da mudança do pH do meio: assim, quanto mais alanina é adicionada mais o pH da solução aumenta, conduzindo a um decaimento na sensibilidade. A avaliação dessa mudança no pH é discutida em 7.2.5.

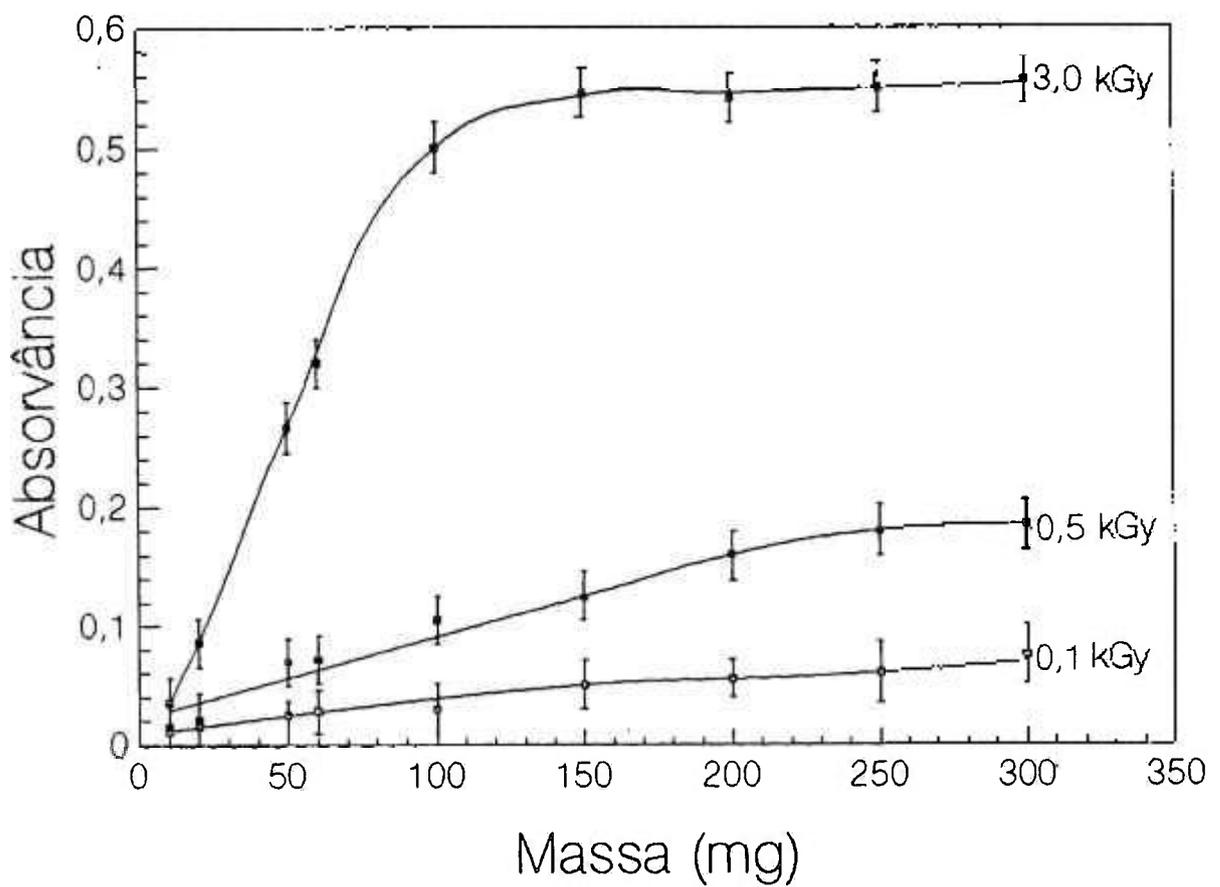


Figura 7.16 Variação da absorvância em função da concentração de alanina.

7.2.5 Medida do pH

Pelo fato de ter-se verificado que à medida que se aumenta a concentração de alanina ocorre um deslocamento do comprimento de onda, como foi mostrado nas Figuras 7.9 e 7.10, verificou-se que a alanina está modificando o pH do meio em questão. Outro fato observado foi o desvio da linearidade na resposta quando a concentração de alanina é variada. Desse modo, resolveu-se verificar a influência da concentração de alanina na mudança do pH. Quando a concentração de alanina foi variada de 20 para 200 mg o pH aumentou de 1,81 para 2,82 no caso da solução 0,005 N e de 1,57 para 2,41 no caso da solução 0,10 N. Outro fato importante é que mesmo utilizando alanina não irradiada o comportamento foi o mesmo. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.17.

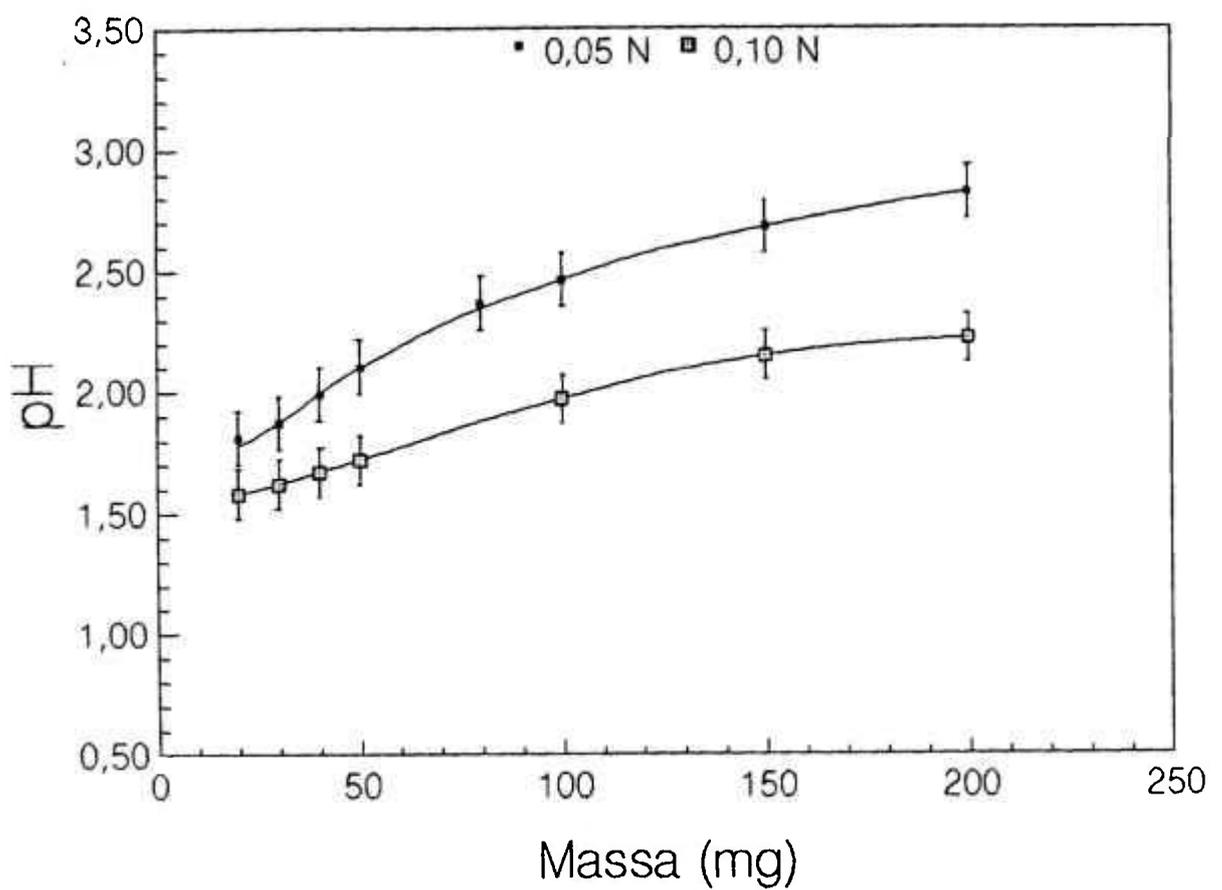


Figura 7.17 Mudança do pH da solução em função da variação da concentração de alanina, utilizando dois tipos de solução de referência: 0,05 N e 0,10 N.

7.2.6 Efeito da Concentração de Alaranjado de Xilenol

O efeito da concentração de alaranjado de xilenol na sensibilidade das medidas de absorvância foi estudado usando concentrações que variam entre 0,1 e 0,5 mM.

Para cada análise foram utilizadas amostras com 50 mg de alanina irradiadas com diferentes doses (0,5 — 3 kGy) e dissolvidas em 10 ml da solução de referência.

Os resultados são mostrados na Figura 7.18, onde verifica-se que para uma mesma dose, a sensibilidade do método espectrofotométrico aumentou com o decréscimo na concentração de alaranjado de xilenol. O alaranjado de xilenol controla o comprimento da cadeia de reações dos radicais livres nesse sistema²⁰.

Uma primeira análise dos resultados nos faz pensar que o uso de 50 mg de alanina e 0,1 mM de alaranjado de xilenol seria mais sensível para avaliação da dose, contudo, estudos posteriores, mostraram que os valores obtidos usando 0,1 mM não foram reprodutíveis e portanto decidiu-se usar 0,2 mM de alaranjado de xilenol em todas as medidas.

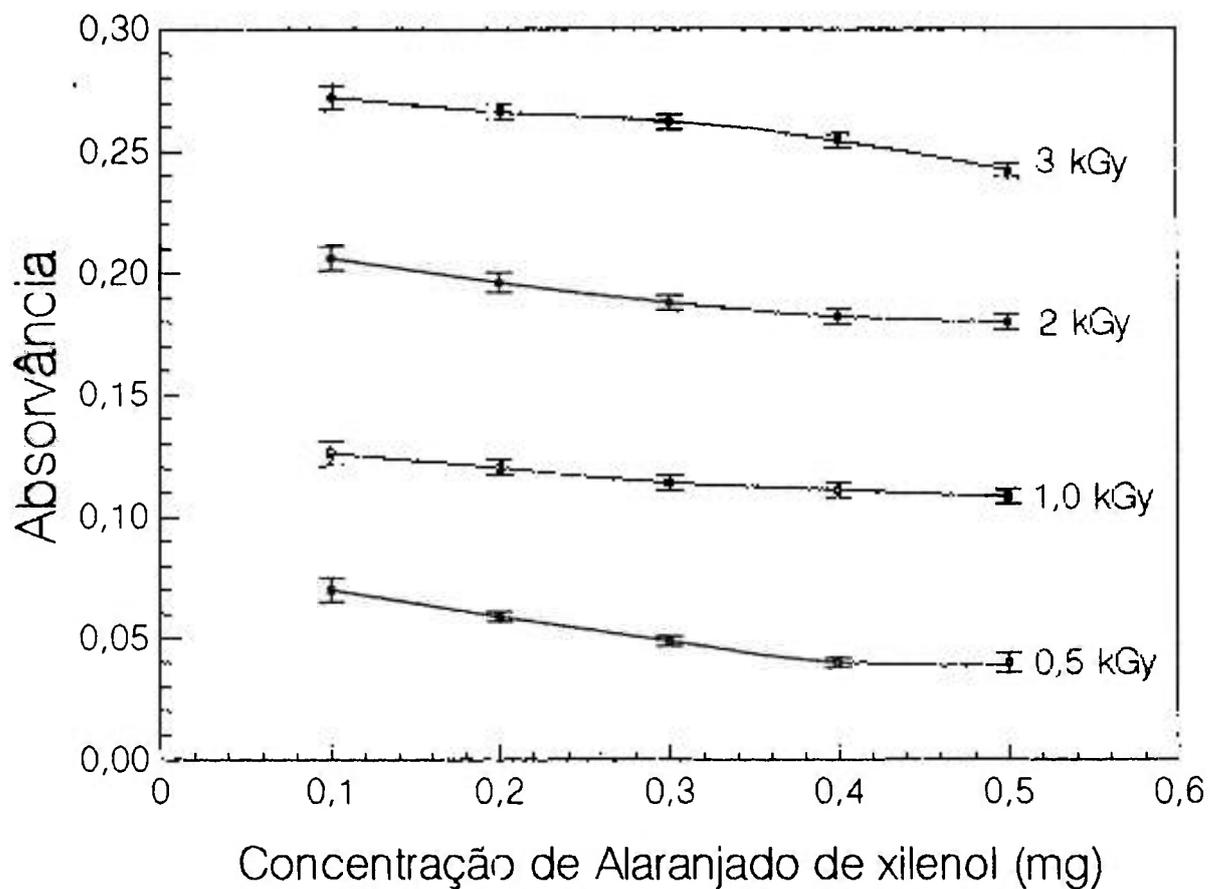


Figura 7.18 Efeito da Concentração de Alaranjado de Xilenol no preparo da solução dosimétrica.

7.2.7 Efeito da Concentração de Ácido Sulfúrico

Diferentes concentrações de ácido sulfúrico variando de 0,05 a 0,5 N foram utilizadas na leitura de amostras irradiadas com 2 kGy, conforme ilustra a Figura 7.19. Um máximo ocorre para a concentração de 0,10 N, fato esse que permite uma extensão do limite de dose útil para esse método, porém uma especial atenção deve ser voltada à precisão, que nesse caso é um pouco menor.

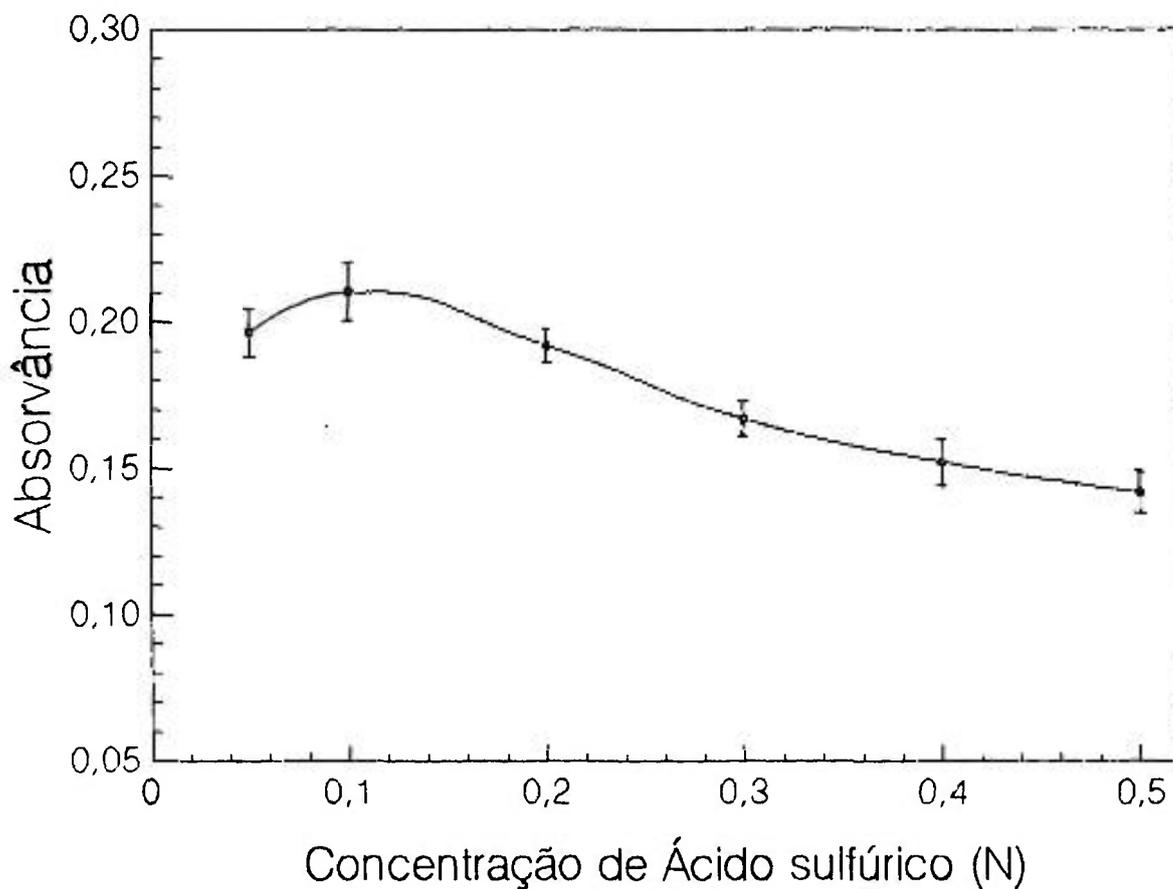


Figura 7.19 Efeito da Concentração de Ácido Sulfúrico na sensibilidade das leituras.

7.2.8 Efeito da Concentração de Sulfato Ferroso

O efeito da variação da concentração de sulfato ferroso na sensibilidade da solução de referência foi estudado para concentrações entre 0,10 e 0,50 mM.

Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.20, onde podemos observar que há um aumento no valor da absorvância até 0,2 mM e que apartir daí a resposta permanece praticamente a mesma, o que sugere a idéia de que existam íons ferrosos suficientes para reagirem com os radicais livres da alanina, por essa razão e por medidas de praticidade e economia escolheu-se a concentração de 0,2 mM como base para todas as medidas.

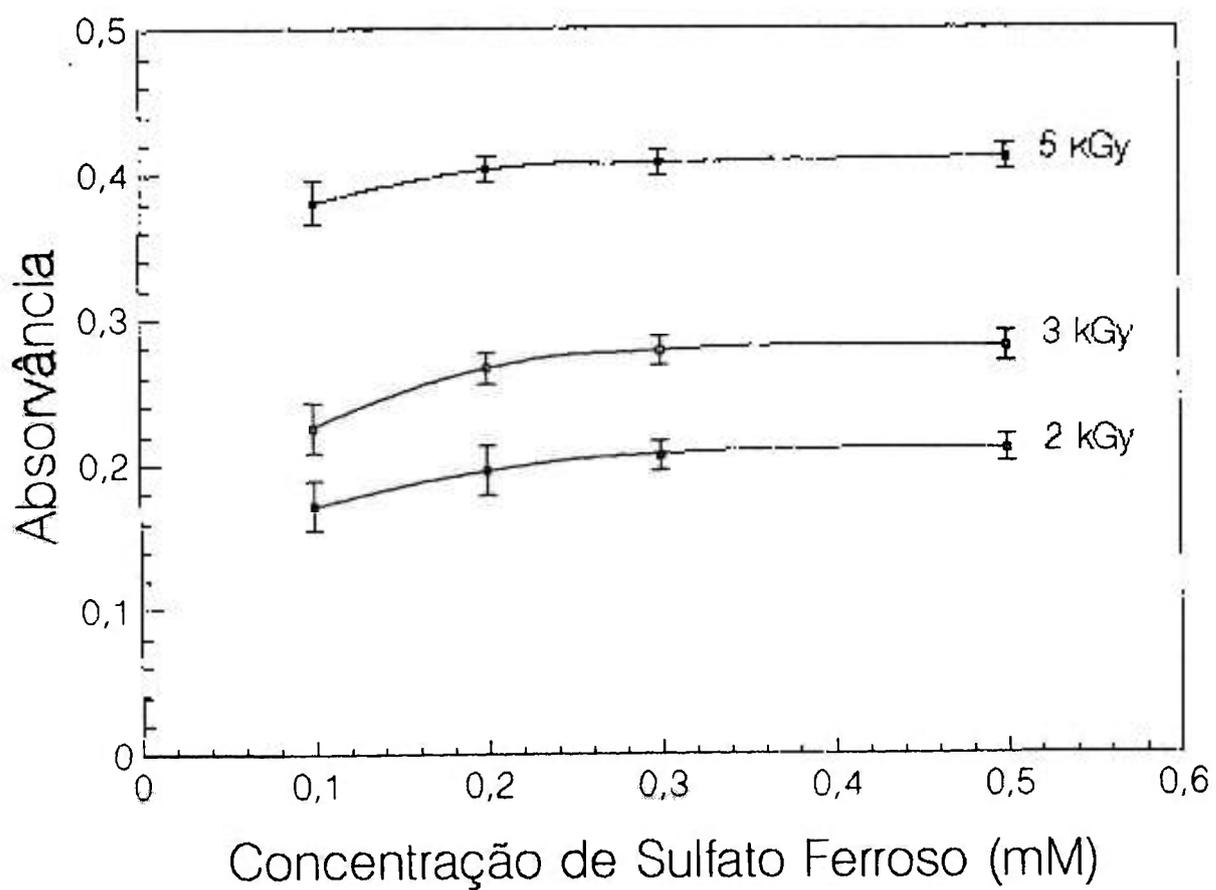


Figura 7.20 Efeito da Concentração de Sulfato Ferroso Amoniacal na sensibilidade das leituras.

7.2.9. Dependência da Resposta com a Taxa de Dose

Aqui, como no método de ressonância paramagnética eletrônica, foi estudada a dependência da resposta com a taxa de dose. Nesse caso as amostras também foram colocadas no irradiador nas posições 5, 10, 20, 30, e 40 cm na parte de trás e submetidas às mesmas doses (1 e 5 kGy), os resultados são mostrados na Figura 7.21. Entre $0,21$ e $1,16 \times 10^3$ Gy/h a resposta não mostrou nenhum tipo de dependência, o mesmo não pode ser dito para taxas de doses maiores, que correspondem a uma distância de aproximadamente 5 cm. Essa dependência é devida principalmente aos fatores explicados em 7.1.6, pelo fato dessa distância não ser precisamente calibrada e por fatores de geometria.

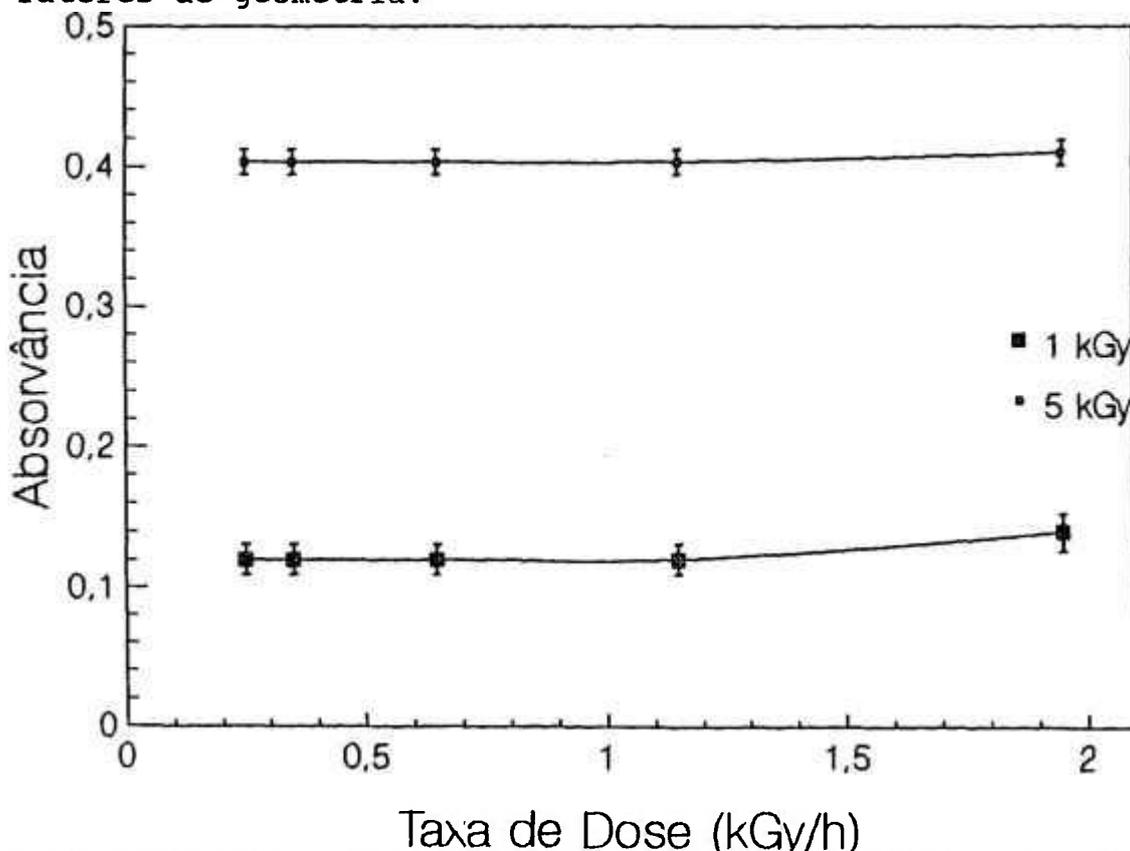


Fig.7.21 Variação da Absorvância em função da taxa de dose para as posições 5, 10, 20 e 40 cm (parte de trás). Dose Absorvida: 1 e 5 kGy.

7.2.10 Dependência da Resposta com o Tipo da Radiação Incidente

Para verificar a dependência da resposta com diferentes tipos de radiação foram feitas medidas irradiando-se amostras com 50 mg de alanina na fonte de Co-60 e no acelerador de elétrons (1,25 e 1,14 MeV respectivamente), sempre com as mesmas doses 3 e 5 kGy. Com os resultados obtidos construiu-se o espectro de absorção para a fonte de Co-60 e para os elétrons do acelerador. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.22 onde se observa uma pequena variação mesmo utilizando-se uma energia menor que a citada em outros trabalhos²³, a qual está relacionada com erros associados ao método.

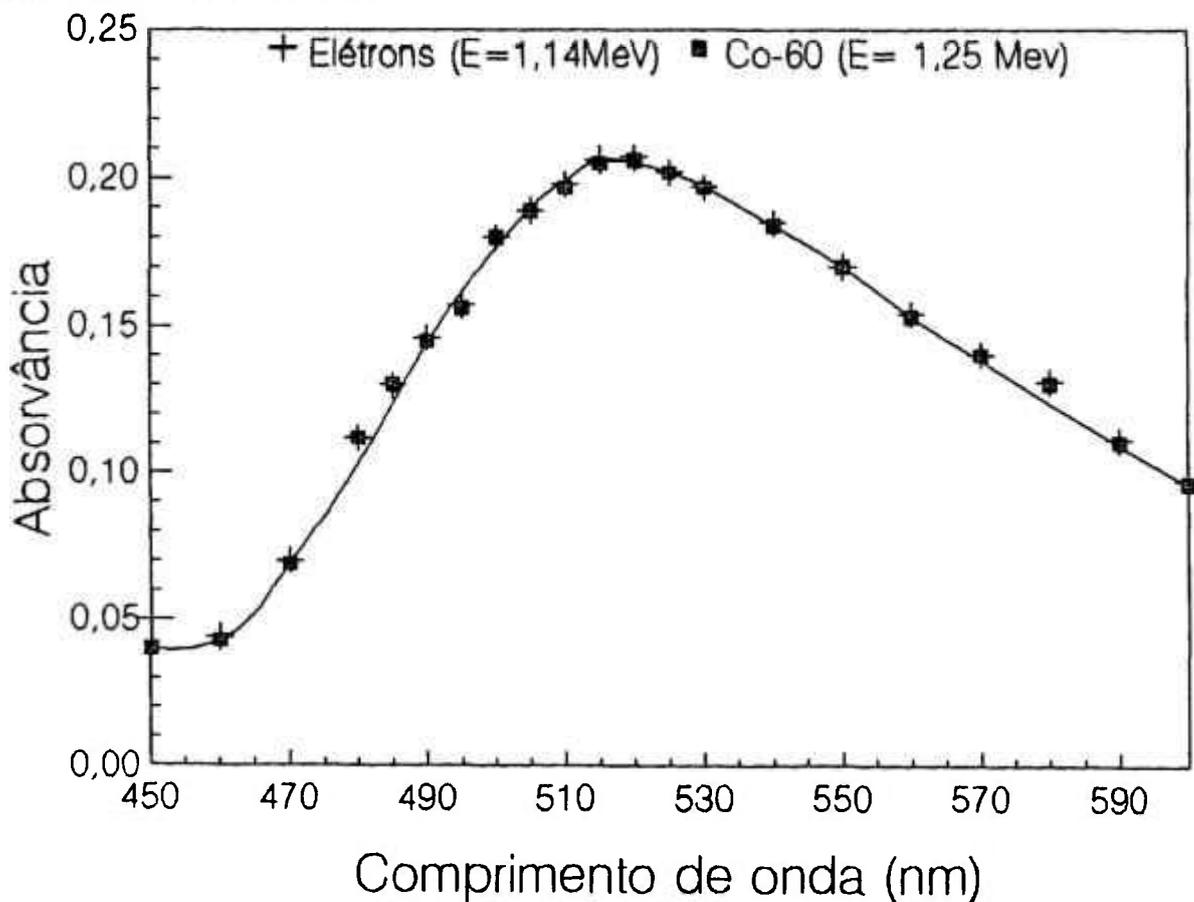


Figura 7.22 Dependência da absorvância em função do tipo da radiação incidente.

7.2.11 Estabilidade da Resposta

A alanina foi irradiada com diferentes doses e a absorvância do complexo foi medida. Nessa análise somente foi estudado o decaimento em condições de armazenamento controlado (temperatura ambiente, ausência de luz e umidade), visto que se conhece os efeitos de um armazenamento inadequado.

Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.23, onde pode-se verificar que a alanina apresenta um pequeno decaimento nos primeiros dias após a irradiação mas após esse período, ela se mostra praticamente estável por um período de 180 dias.

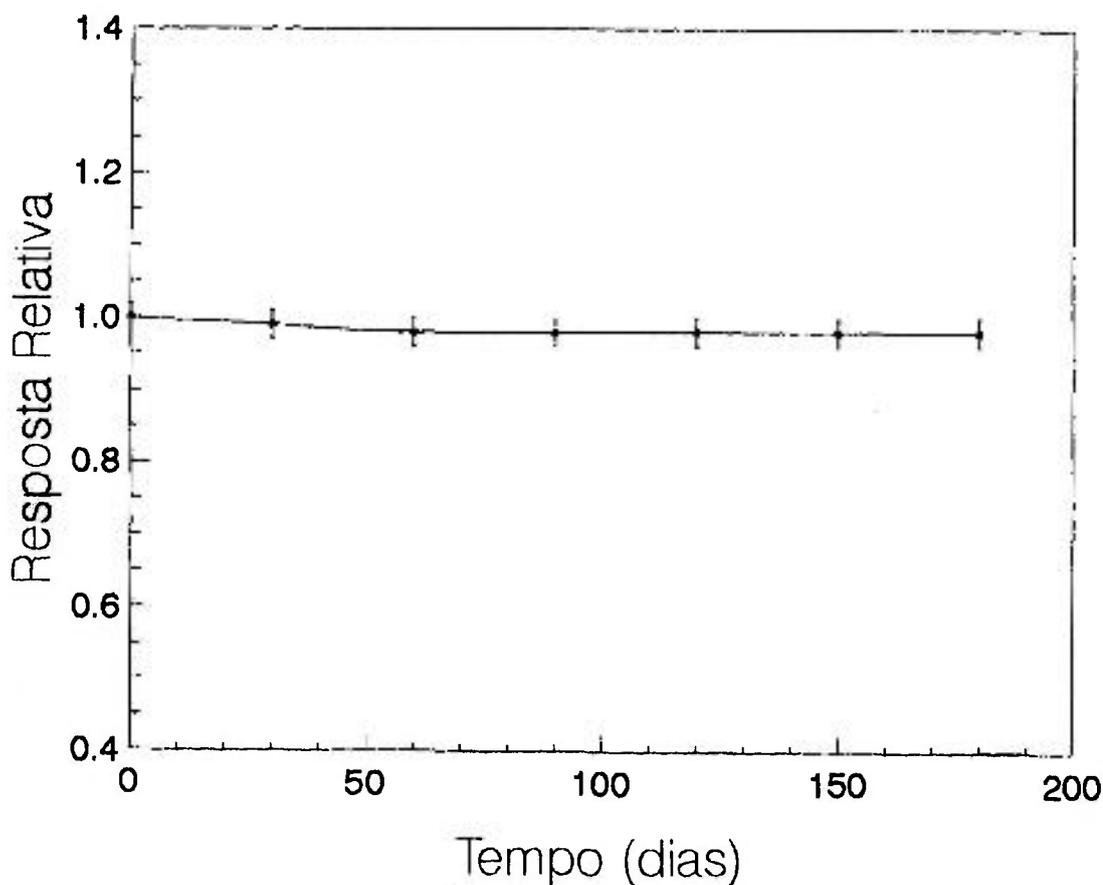


Figura 7.23 Decaimento do sinal de amostras de alanina submetidas à radiação gama do Co-60 e armazenadas em condições controladas.

7.2.12 Curva de dose Resposta para 50 mg de Alanina

As curvas de Calibração para 50 mg de alanina utilizando dois tipos de branco (Branco 1: solução de referência + alanina não irradiada; Branco 2: solução de referência pura) são mostradas na Figura 7.24a e 7.24b, onde cada ponto é a média de 5 leituras. O desvio padrão da média (1σ) encontrado em ambos os casos está entre 2 e 3 %, mostrando, nesse caso também, uma boa reprodutibilidade das leituras. Nestas curvas de calibração foi utilizado 0,20 mM de alaranjado de xilenol e 0,20 mM de sulfato ferroso amoniacal em 0,05 N de ácido sulfúrico. No caso de se utilizar o Branco 1 obteve-se uma região de linearidade que se estende de 0,5 a 5 kGy, e no caso em que se utilizou o Branco 2 essa região foi de 0,5 a 4 kGy, sendo portanto um pouco menor que no caso anterior. Para doses maiores que 6 kGy ocorre uma região de saturação, a qual pode introduzir erros.

Os dados ajustados pelo método dos mínimos quadrados mostram no caso do Gráfico 7.24a uma reta com os seguintes coeficientes: inclinação = 0,073 , intersecção = 0,043 , coeficiente de correlação = 0,99 e para o Gráfico 7.24b os coeficientes são: inclinação = 0,092 , intersecção = - 0,06 , coeficiente de correlação = 0,99 . Como citado anteriormente, esses fatores dependem das características do aparelho utilizado

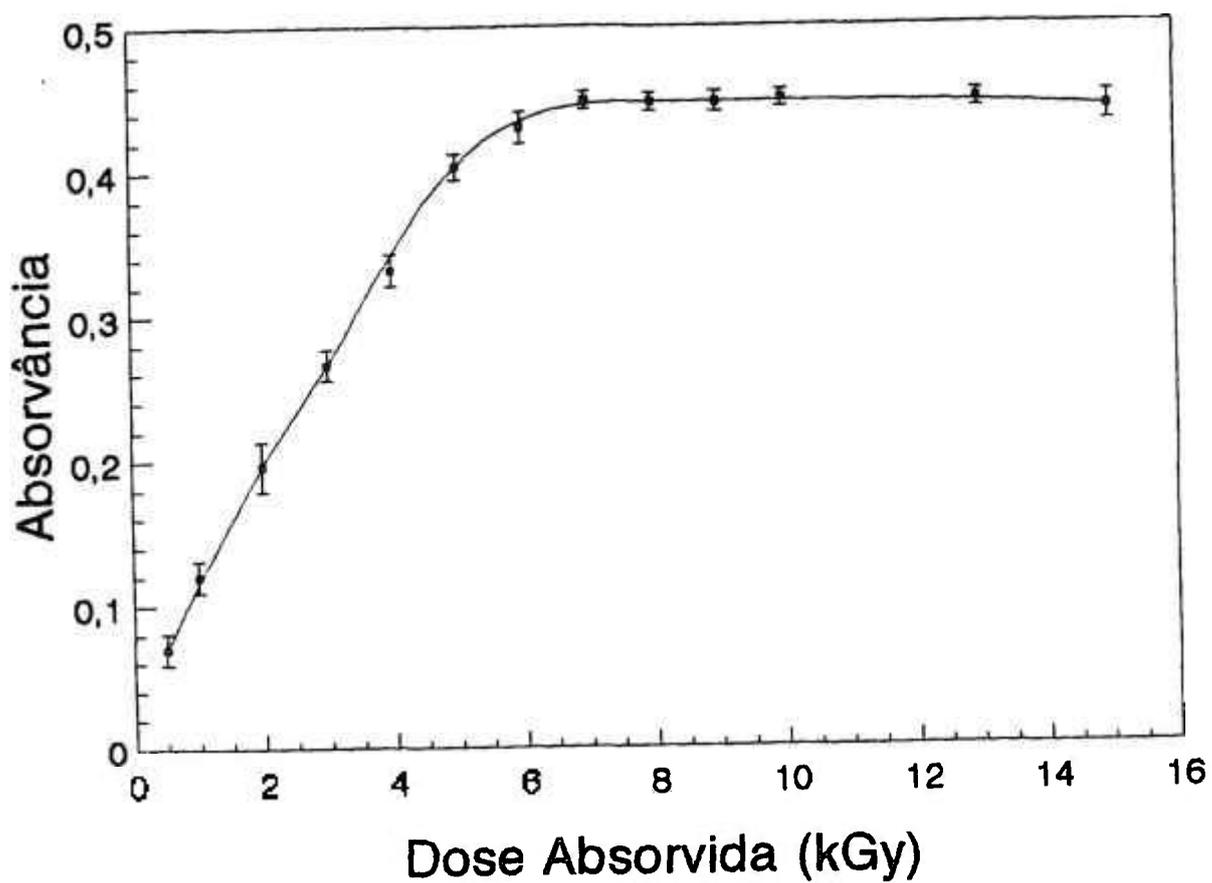


Figura 7.24a Curva de Dose Resposta para amostras contendo 50 mg de alanina irradiada. Branco 1: Solução de Referência + Alanina não irradiada.

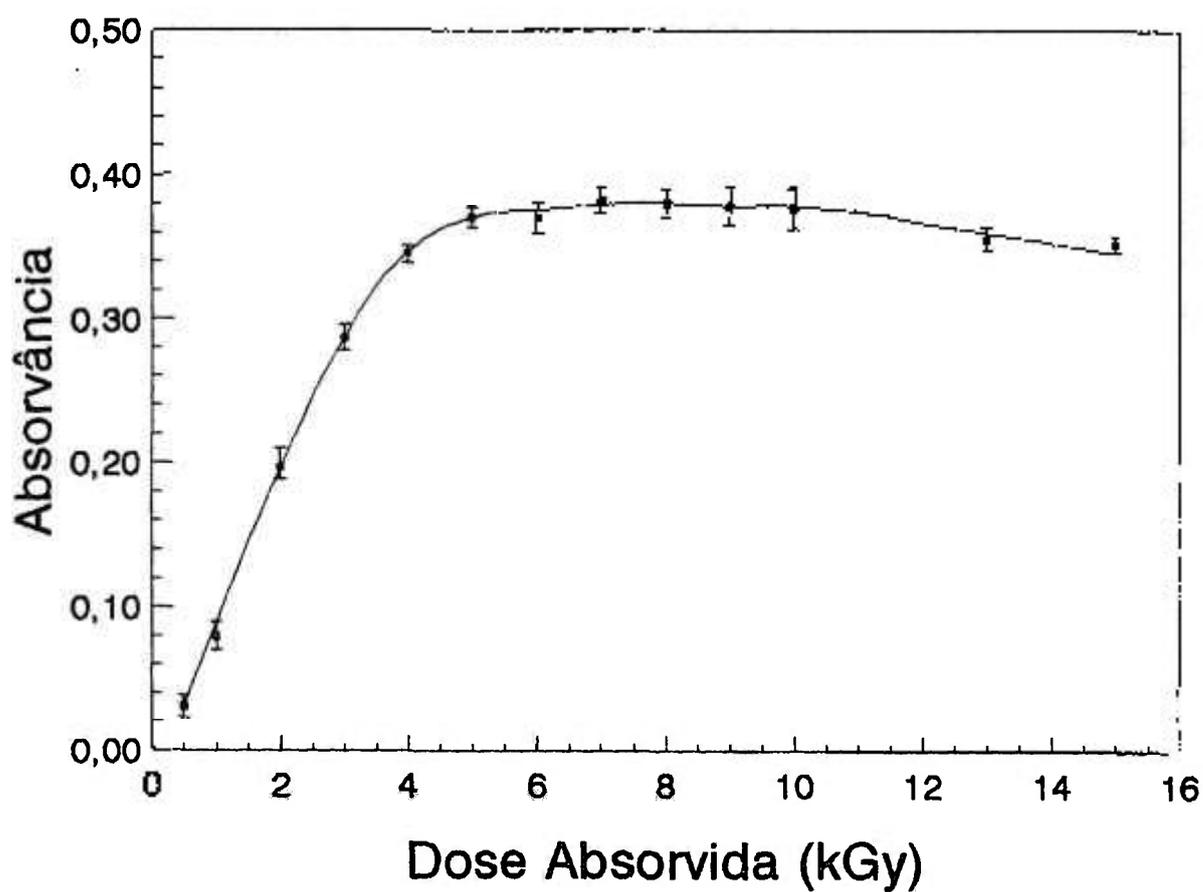


Figura 7.24b Curva de Dose Resposta para amostras contendo 50 mg de alanina irradiada. Branco 2: Solução de Referência pura.

7.2.12 Curva de calibração para 20 mg de Alanina

A curva de Calibração para 20 mg de alanina utilizando dois tipos de branco (Branco 1: a solução de referência + alanina não irradiada; Branco 2: solução de referência pura) são mostradas na Figura 7.25a e 7.25b, onde cada ponto é a média de 5 leituras. Nesta curva de calibração foi utilizado 0,20 mM de alaranjado de xilenol e 0,20 mM de Sulfato Ferroso Amoniacal em 0,10 N de ácido sulfúrico O desvio padrão da média (1σ) encontrado está entre 3 e 4 %, mostrando que a reprodutibilidade das leituras é um pouco menor do que no caso em que se utilizou uma solução 0,05 N.

Os dados ajustados pelo método dos mínimos quadrados mostram no caso do Gráfico 7.25a uma reta com os seguintes coeficientes: inclinação = 0,278 , intersecção = -0,007 , coeficiente de correlação = 0,99 e para o Gráfico 7.24 b os coeficientes são: inclinação: 0,0245 , intersecção: 0,0025 , coeficiente de correlação: 0,97.

O uso de 20 mg não apresenta uma reprodutibilidade tão boa quanto no caso de 50 mg, além de exigir uma solução com concentração maior de ácido sulfúrico.

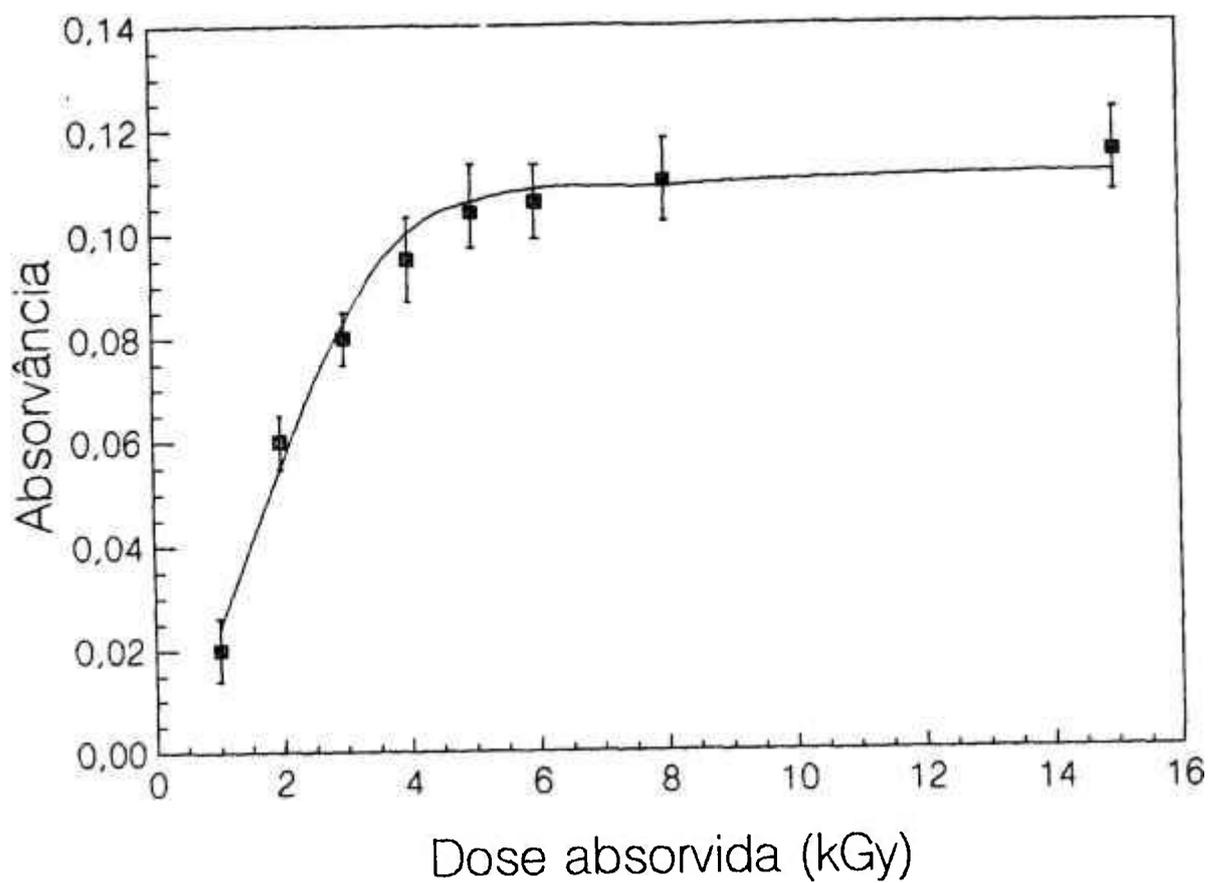


Figura 7.25a Curva de Dose Resposta para amostras contendo 20 mg de alanina irradiada. Branco 1: Solução de Referência + Alanina não irradiada.

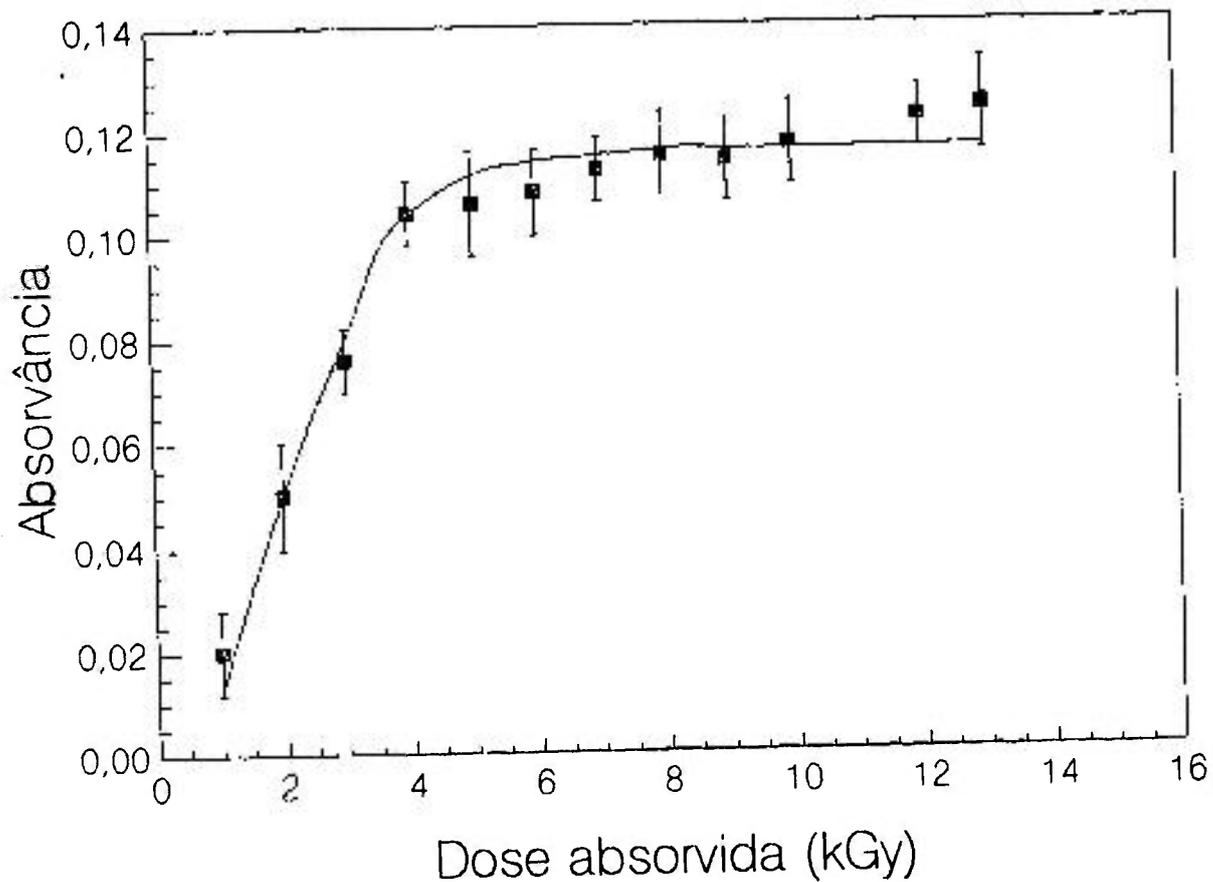


Figura 7.25b Curva de Dose Resposta para amostras contendo 20 mg de alanina irradiada. Branco 2:solução de referência pura.

8. CONCLUSÃO

A alanina foi submetida a todos os testes de avaliação de seu desempenho para aplicação na dosimetria da radiação gama e de elétrons pelos métodos de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e espectrofotométrico.

Os resultados obtidos nos levam às seguintes conclusões:

1) Quanto ao método de ressonância paramagnética eletrônica:

- A utilização de 200 mg de massa de alanina fornece um sinal RPE elevado que permite trabalhar em uma potência de microonda onde há uma proporcionalidade entre o sinal medido e a dose absorvida;
- A amplitude do sinal RPE se mantém estável, apresentando, em condições de armazenamento adequado, um decaimento de 4% em um período de seis meses;
- O sinal RPE não apresenta dependência com o tipo da radiação, quando submetido à radiação gama do Co-60 e à radiação de elétrons com 1,14 MeV;
- O sinal RPE não apresenta dependência com a taxa de dose entre 0,21 e $1,16 \times 10^3$ Gy/h, que é um intervalo de taxa de dose típico dos irradiadores industriais;
- A amplitude do sinal RPE em função da dose apresenta um largo intervalo de linearidade, entre 10^2 e 10^5 Gy.

2) Quanto ao método espectrofotométrico:

- A escolha da massa de alanina utilizada é de grande importância de modo a se obter uma boa reprodutibilidade da resposta, pois um aumento da mesma aumenta o pH da solução e conduz a um decaimento na resposta. Desse modo a massa ideal é de 50 mg;

- A sensibilidade do método espectrofotométrico aumenta com o decréscimo na concentração de alaranjado de xilenol até uma concentração de 0,2 mM. Para valores menores a reprodutibilidade fica comprometida;

- Um aumento na concentração de ácido sulfúrico aumenta a sensibilidade, porém uma atenção especial deve ser dada a reprodutibilidade que diminui. A concentração ideal é 0,05N.

- Quanto ao sulfato ferroso amoniacal a resposta praticamente não sofre alterações quando sua concentração é variada;

- Para este método também não é observada dependência da resposta com a taxa de dose e o tipo da radiação.

- A curva de dose-resposta apresenta um intervalo de linearidade entre 10^3 e 5×10^3 Gy, quando se utiliza 50 mg de alanina e uma solução 0,05N e entre 10^3 e 4×10^3 Gy, quando se utilizou 20 mg de alanina em uma solução 0,10 N. Fazendo uma análise da reprodutibilidade conclui-se que a massa ideal é de 50 mg.

Com base nos resultados obtidos podemos dizer que tanto o material estudado quanto as técnicas empregadas são adequadas para aplicação na dosimetria de feixes para irradiação industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALGER, R.S. Electron paramagnetic resonance: techniques and applications. London, Interscience, 1964.
02. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Practice for Application of Dosimetry in the Characterization and Operation of a Gamma Irradiation Facility for Food Processing. Oct. 6-11, 1991. (ASTM E 1204), p.1-4.
03. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Guide for Selection and Applications of Dosimetry Systems for Radiation Processing of Food. Oct. 6-11, 1991. (ASTM E 1261), p.5-11.
04. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Practice for Characterization and Performance of a High Dose Gamma Radiation Dosimetry Calibration Laboratory. Oct. 6-11, 1991. (ASTM E 1400), p. 31-5.
05. ATTIX, F. H. Introduction to radiological physics and radiation dosimetry. London. John Wiley & Sons, 1986.
06. ARBER, J. M.; SHARPE, P. H. G.; JOLY, H. A.; MORTON, J. R.; PRESTON, K. F. The ESR/Alanine Dosimeter Power Dependence of x-band Spectrum. Appl. Radiat. Isot., 42(7):665-8, 1981
07. BARTOLOTTA, A.; INDOVINA, P. L.; ONORI; ROSATI, A. Dosimetry for Cobalt-60 Gamma rays with Alanine. Radiat. Prot. Dosim., 9(4): 277-81, 1984.

08. BERMANN, F.; DE CHOUDENS, H.; DESCOURS, S. Application a la Dosimetrie de la Mesure par Resonance Paramagnetique Eletronique des Radicaux Libres Crèes Dans les Acides Amines. In:INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. New development in physical and biological radiation detectors: proceedings of the Symposium on ...held in Vienna, 23-27 November,1970. Vienna, 1971. p. 311-25. (STI/PUB/269)
09. BRADSHAW, W. W; CADENA, D. G.; CRAWFORD, G. W. ; SPETZLER, H. A. W. The Use of Alanine as a Solid Dosimeter. Radiat. Res., 17:11-21, 1962.
10. CHU, S.; WIESER, A.; FEIST, H.; REGULLA, D. F. ESR/Alanine Dosimetry of High- energy Electrons in Radiotherapy. Appl. Radiat. isot., 40(10-12):993-996, 1989.
11. CONINCKS, F.; SCHÖNBACHER, H.; BARTOLOTTA, A.; ONORI, S.; ROSATI, A . Alanine Dosimetry as the Reference Dosimetric System in Accelerator Radiation Environments. Appl. Radiat. Isot., 40(10-12):977 -83, 1989.
12. CONINCKS, H.; SCHÖNBACHER, H.; ONORI, S.; BARTOLOTTA, A. Intercomparison of CERN and ISS Alanine Dosimetric Systems. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. High dose dosimetry for radiation processing: proceedings of a symposium on ... held in Vienna, 5-9 November, 1990. Vienna, 1991. p.411-18.
13. DEFFNER, U. and REGULLA. Influences of Physical Parameters on High -level Amino Acid Dosimetry. Nucl. Instrum. Methods, 175:134-5, 1980.

14. ETTINGER, K. V. Free Radical Dosimetry Techniques and Their Suitability for Precise and Accurate Measurements of Radiation. Appl. Radiat. Isot., (40):10-12, pp 865-87, 1989.
15. ETTINGER, K. V.; NAM, J. W.; McLAUGHLIN, W. L.; CHADWICK, K. H. Progress in High-dose Radiation Dosimetry. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Biomedical dosimetry physical aspects, instrumentation calibration: proceedings of an international symposium on ... held in Paris, 27-31 October, 1980. Vienna, 1981. p.405-32.
16. EWING, G.W. Métodos Instrumentais de Análise Química. São Paulo, Edgard Blucher, 1971.
17. GEJVALL, T. & LÖFROTH, G. Radiation Degradation of Some Crystalline Amino Acids . Radiat. Effec., 25:187-90, 1975.
18. GORDY, W.; ARD, W. B. ; SHIELDS, H. Microwave Spectroscopy of Biological Substances. I- Paramagnetic Resonance in X-irradiated Amino Acids and Proteins. Proc. Nat. Acad. Sci., 41:983-96, 1955.
19. GUPTA, B. L.; BHAT, R. M.; NARAYAN AND S. R. NILEKANI. Free Radical Dosimetry by Chemical Readout. In: J.DOBO; P. HEDVIG; R.SCHLLER. Radiation chemistry: proceedings of a symposium on ... held in Bombay, India ,1982.
20. GUPTA, B. L.; BHAT, R. M.; NARAYAN, G. R. ; NILEKANI, S. R. A Spectrophotometric Readout Method for Free Radical Dosimetry. Radiat. Phys. Chem., 26(6):647-56, 1985.

21. GUPTA, B. L.; BHAT, R. M.; NARAYAN, G. R.; NILEKANI, S. R.; GOPAL, N.G.S.; KOVACS, A. Dose Intercomparison Using Spectrophotometric Readout Method for Free Radical Dosimetry. Appl. Radiat. Isot., 37(2):127-30, 1986.
22. INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL UNITS AND MEASUREMENTS. Radiation Quantities and Units .. Washington, D.C, 1980. (ICRU 33).
23. HANSEN, J. W. & OLSEN, K. J. Theoretical and Experimental Radiation Effectiveness of Free Radical Dosimeter Alanine to Irradiation with Heavy Charged Particles. Radiat. Res., 104: 15-27, 1985.
24. HANSEN, J.W. & OLSEN, K.J. Predicting Decay in Free-radical Concentration in L- α Alanine Following High-LET Radiation Exposures. Appl. Radiat. Isot., 40(10-12):935-9, 1989.
25. JANOVSKY, I.; HANSEN, J.W. ; CERNOCH, P. A Polymer-Alanine Film for Measurements of Radiation Dose Distribution. Appl. Radiat. Isot., 39(7): 651-7, 1988.
26. JANOVSKY, I. Progress in Alanine Film/ESR Dosimetry. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. High dose dosimetry for radiation processing: proceedings of a symposium on ... held in Vienna, 5-9 November, 1990. Vienna, 1991 p.173-87.
27. JAPAN ELECTRON OPTICS LABORATORY CO, LTD. Manual do equipamento de ressonância paramagnética eletrônica: cavidade ressonante JES- UCX- 2. 1960.

28. JOHNS, H. E. & CUNNINGHAM, J. R. The Physics of Radiology. Illinois, Charles C. Thomas Publishers, 1983.
29. KEIZER, P. N.; NORTON, J. R. & PRESTON, K. F. Electron Paramagnetic Resonance Radiation Dosimetry : Possible Inorganic Alternatives to the EPR/Alanine Dosimeter. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 87 (19):3147-9, 1991.
30. KOJIMA, T.; TANAKA, R.; MORITA, Y.; SEGUCHI, T. Alanine Dosimeters Using Polymers as Binders. Appl. Radiat. Isot., 37(6):517-20, 1986.
31. KOJIMA, T. & TANAKA, R. Polymer-Alanine Dosimeter and Compact Reader. Appl. Radiat. Isot., 40(10-12):851-7, 1989.
32. KOJIMA, T.; HARUYAMA, Y., TACHIBANA, H.; TANAKA, R.; OKAMOTO, I.; YAGI, K. and TAMURA, N. Alanine/ESR Dosimetry System as Routine Dosimeter for Radiation Processing. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation processing: proceedings of 8th International meeting on ... held in Beijing, 13-18 September, 1992. Vienna, 1993. p.263.
33. KOJIMA, T.; TACHIBANA, H.; HARUYAMA, Y.; TANAKA, R. and OKAMOTO. Recent Progress in Alanine/ESR Dosimeter System. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation processing: proceedings of 8th International meeting on ... held in Beijing, 13-18 September, 1992. Vienna, 1993. p.267.
34. LIQING, X.; YINFENG, Z.; JINXIAN, D.; TING, L.; RUYI, C.; HUA, Y and JUNCHENG, G. Uses of Polymer-Alanine Film/ ESR Dosimeters in Dosimetry of Ionizing Radiation. Radiat. Phys. 42(4-6):837-84, 1993.

35. MACEDO H., Dicionário de Física. Rio de Janeiro,. Nova Fronteira, 1976.
36. McLAUGHLIM, W. L.; BOYD, A. W.; CHADWICK, K.; McDONALD, J. C; MILLER, R. A. Dosimetry for Radiation Processing. London, Taylor & Francis, 1989.
37. MIYAGAWA, I. & GORDY, W. Electron Spin Resonance of an Irradiated Single Crystals of Alanine: Second-Order Effects in Free Radical Resonances. J. Chem. Phys., 32(1):255-63, 1960.
38. MIYAGAWA, I. & ITOH, H. Electron Spin Resonance of Irradiated Single Crystals of Alanines: Hindered Rotation of the Methyl Group in a Free Radical. J. Chem. Phys., 36(8) 1962.
39. MOSSE, D. C. ESR/Alanine Dosimetry Applied to Radiation Processing. Radiat. Phys. Chem., 31(4-6): 413-17, 1988.
40. NAM, J. W. High-Dose Standardization and Dose Assurance. Radiat. Phys. Chem, 34(3):399-401, 1989.
41. NAN, J. M. Standardization of High-Doses in Radiation Processing. Int. At. Energy Agency Bull., 4:41-3, 1988.
42. OLSEN, K. J.; HANSEN, J. W. ; WILLE, M. Response of the Alanine Radiation Dosimeter to High-energy Photon and Electron Beams. Phys. Med. Biol. , 35:43-52, 1990.

43. PANTA, P.; STRZELCZAK-BURLINSKA, G. ; TOMASINSKI, Z.
L-Alanine as Routine Dosimeter for Electron Dose
Particularly in Food Preservation . In: INTERNATIONAL
ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation interactions: proceedings
of the 4 th working on ... held in Leipzig, 21-25 September
1987. Vienna, 1989. p. 365-9.
44. PANTA, P.; STRZELCZAK-BURLINSKA,G.; TOMASINSKI, Z.
ESR/L - Alanine System as a Proposed Standard Dosimeter
for Electron Beam Irradiations. Appl. Radiat. Isot., 40:
(10-12):971-5, 1989.
45. PAKE, G. E. Paramagnetic Resonance. An Introductory Monograph,
New York, W.A., Benjamin , 1962.
46. PAKE, G. E. & ESTLE, T. L. The Physical Principles of Electron
Paramagnetic Resonance. 2 ed. London. W.A., Benjamin,
1973.
47. POOLE Jr, C. P. Electron Paramagnetique Resonance, London,
Academic Press, 1964.
48. REGULLA, D.F. & DEFFNER, U. Standardization in High-level
Photon Dosimetry Based on ESR Transfer Metrology. In:
INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Biomedical dosimetry
physical aspects, instrumentation calibration: proceedings
of an international symposium on ... held in Paris, 27-31
October, 1980. Vienna, 1981. p. 139-51.

49. REGULLA, D. F.; DEFFNER, U.; TUSCHY, H. A Practical High-level Dose Meter Based on Tissue-Equivalent Alanine. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Standardization and high-dose intercomparison for industrial processing: advisory group meeting on ...held in Vienna, 25-29 September, 1978. Vienna, 1979. p. 139-51.
50. REGULLA, D. F. & DEFFNER, U. Dosimetry by ESR Spectroscopy of Alanine. Int. J. Appl. Radiat. Isot., 33: 1101-42, 1992.
51. REGULLA, D. F. & DEFFNER, U. Progress in Alanine/ESR Transfer Dosimetry. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. High dose dosimetry: proceedings of a symposium on... held in Vienna, 8-12 October, 1984. p. 221-35.
52. REGULLA, D. F.; WIESER, A.; DEFFNER, U. Alanine/ESR Dosimetry in Radiotherapy. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Dosimetry in radiotherapy : proceedings of a symposium on ... held in Vienna, 31 August to 4 September, 1987. Vienna, 1988. p. 339-46.
53. SCHUMACHER, R. T. Introduction to Magnetic Resonance. New York, Benjamin , 1970.
54. SCHNEIDER, M. K. H.; KRISTEK, M . ; SCHNEIDER, C. C. J. Dosimetry of Electron and Gamma Radiation with Alanine/ESR Spectroscopy. In. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. High Dose Dosimetry: proceedings of a symposium on ... held in Vienna, 8-12 October, 1984. Vienna, 1985. p. 237-53.

55. SIMMONS, J. A. Thermal Effects in Irradiated Amino Acids. Appl. Radiat. Isot., 40(10-12):901-4, 1989.
56. SLICHTER, C. P. Principles of Magnetic Resonance, London, Harper & Row, 1963.
57. VAN LAERE, K.; BUYSSE, J.; BERKEVENS. Alanine Dosimetry Using a Spectrophotometric Ferric-Xilenol Orange Complex Readout. Radiat. Phys. Chem., 34(5):863-8, 1989.
58. VAN LAERE, K.; BUYSSE, I. ; BERKVEN, P. Alanine in High-Dose Dosimetry: Spectrophotometric and Electrochemical Readout Procedures Compared with ESR. Appl. Radiat. Isot., 40(10-12):885-95, 1989.
59. VAN LAERE, K. Automation of an Alanine_ISE System for High Dose Dosimetry. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. High dose dosimetry for radiation processing: proceedings of a symposium on ... held in Vienna, 5-9 November, 1990. Vienna, 1991. p.137-46.
60. YIHUA, B; XIN, Y. and LIMIN, Z. Powder State Alanine/ESR Dosimeter Used for Measurement of the Absorbed Dose of Electron Beam: In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation processing: proceedings of 8th International meeting on ... held in Beijing, 13-18 September, 1992. Vienna, 1993. p.275.