

## ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA E MODELO DE EQUAÇÕES DE TAXA APLICADOS À DOSIMETRIA DE RADIAÇÃO IONIZANTE

C. A. Benevides\*, F. D. Menezes\* e R. E. de Araujo\*\*

\*Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste/CNEN, Recife – PE, Brasil

\*\* Laboratório de Óptica Biomédica e Imagens, UFPE, Recife – PE, Brasil

e-mail: caugusto@cnen.gov.br

**Resumo:** Este trabalho avalia a degradação de corantes quando submetidos a um campo de irradiação de fótons de alta energia (50 keV). A degradação de corantes (Rodamina 6G e Fluoresceína) foi avaliada pela análise da emissão fluorescente desses fluoróforos, quando excitados com luz em 462 nm. Um sistema opto-eletrônico de excitação foi construído explorando LEDs e uma fonte de corrente constante. Aqui foi desenvolvido um modelo teórico, utilizando equações de taxa, capaz de descrever, com grande acurácia, o comportamento de degradação da fluorescência observado experimentalmente. Os resultados sugerem a possibilidade de aplicação de corantes fluorescente em dosimetria.

**Palavras-chave:** espectroscopia de fluorescência, radiação ionizante, equação de taxa.

**Abstract:** *This work evaluates fluorescent dyes degradation when submitted to an irradiation field of high energy photons (50 keV). The degradation of dyes (Rhodamine 6G and Fluorescein) was observed by fluorescence spectroscopy, exciting the samples with 462 nm light. An excitation optical-electronic system was build based on LED and a constant current source. We developed a theoretical model, using rate equations, capable to describe with a well accuracy the degradation of fluorescent dyes. The results suggest the use fluorescent dyes in dosimetry.*

**Keywords:** *fluorescence spectroscopy, ionizing radiation, rate equation.*

### Introdução

A degradação induzida por radiação em materiais é, atualmente, explorada em diversos processos industriais, como na produção de insumos para a saúde, produtos de higiene pessoal, cosméticos etc. Radiação ionizante é, também, explorada no tratamento efluentes industriais contaminados por corantes tóxicos [1 - 4]. As propriedades fluorescentes dos corantes orgânicos (fluoróforos) pode devanecer na presença de algumas espécies radiolíticas produzidas quando a água é decomposta pela radiação ionizante (radiólise). A radiólise da água gera um sistema bastante complexo contendo diversos produtos radiolíticos com diferentes tempos de vida e reatividades. Quando em baixas

concentrações, a degradação do fluoróforo é indireta. Os fótons de alta energia interagem com as moléculas de água e os produtos radiolíticos degradam os fluoróforos ou seu comportamento fluorescente. Apesar da complexa dinâmica de todos os radicais gerados e de suas reações em cascata, propomos que a degradação dos fluoróforos causada pela radiação ionizante pode ser descrita por equações de taxa. Equações de taxa são utilizadas para descrever o comportamento de populações no tempo, baseada em equações diferenciais ordinárias acopladas ou não. Além do mais, equações de taxa tem sido extensivamente utilizadas em espectroscopia óptica para descrever a dinâmica de níveis populacionais de sistemas fluorescentes. Absorção óptica[5], emissão espontânea e estimulada, perdas não radiativas, transferência de energia, conversão ascendente[6-8], processos multifotônicos podem ser incluídos em modelos teóricos baseados em equações de taxa. Equações de taxa também são utilizadas para modelar a diminuição da massa residual dos compostos químicos de uma amostra [9].

Neste trabalho nós propomos um modelo teórico baseado em equações de taxa para descrever a degradação no comportamento fluorescente de corantes orgânicos, causada pela radiação ionizante. Na avaliação do modelo, soluções de Rodamina 6G e Fluoresceína foram submetidas a campos de radiação ionizante com energia média de 50 keV. O modelo também sugere a possibilidade de estimar as taxas de dose de radiação ionizante explorando espectroscopia de fluorescência. Em particular, a dosimetria de radiação ionizante tem uma grande importância na vida moderna uma vez que um número crescente de aplicações faz uso de fontes radiativas, quer sejam emissores gama, partículas ou raios-X. Ainda são raros ou inexistentes sistemas, para doses entre 100 e 200 Gy, com propriedade intelectual nacional.

### Materiais e métodos

No desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados os seguintes materiais:

**Eletrônica de controle** – Uma fonte de corrente constante, ajustável entre 0 e 100 mA, com resolução de controle melhor do que 0,5 %, foi construída para polarizar um diodo emissor de luz (LED) no azul (462 nm). Este sistema foi utilizado como a fonte de excitação para o corante fluorescente e a corrente no LED foi mantida em 15 mA [10,11].

**Sistema espectrométrico** – Foi utilizado o espectrômetro USB2000 da OceanOptics, em conjunto do software de aquisição de dados, também da OceanOptics, Spectrasuite. Este sistema de medição permitiu obter os espectros necessários para a avaliação da fluorescência do corante e a determinação de sua concentração relativa.

**Rotinas computacionais dedicadas** – Um código em ANSI C foi desenvolvido para efetuar os cálculos de área, média e desvio-padrão nos espectros fornecidos pelo programa Spectrasuite.

**Equipamento de irradiação ionizante** – Como equipamento de irradiação, foi utilizado um emissor raios-X industrial HF-160, da marca Pantak, configurado para operar em 100 kV e correntes variando entre 5 e 18 mA. Um filtro de alumínio foi aplicado ao feixe de irradiação, com espessura de 4,5 mm, constituindo uma “qualidade de radiação”. O termo “qualidade de radiação” é oriundo da metrologia de radiação ionizante e que neste caso particular refere-se a qualidade T100 para terapia. A taxa de dose deste feixe de irradiação foi medida com uma câmara de ionização calibrada, PTW23342 da PTW e um eletrômetro NE2670, da Nuclear Enterprises.

**Amostras fluorescentes** – Foram utilizados dois corantes fluorescentes, Rodamina 6G e Fluoresceína. Estes corantes foram dissolvidos em géis de agarose, em meio aquoso. Para tanto, alíquotas de soluções dos corantes, na concentração de  $10^{-4}$  M, foram adicionadas à solução de agarose, em uma temperatura de 80 °C, para a obtenção de hidrogéis de corante/agarose, com concentrações finais de  $10^{-6}$  M e 0,25 % (m/v), respectivamente. Um outro grupo de amostras recebeu NaCl em duas concentrações finais diferentes: 0,10 e 0,50 M. Todos os reagentes possuem grau analítico e foram adquiridos da Sigma Aldrich. A condutividade da água que foi utilizada na preparação das amostras apresentou um valor de  $5,9 \cdot 10^{-8}$  Sm<sup>-1</sup>. O NaCl em altas concentrações, proporcionou a geração de radicais Cl<sup>-</sup> que possuem um tempo de vida mais longo do que os radicais da água e, com isso, aumenta a taxa de degradação dos corantes [12]. As amostras foram preparadas em triplicata e colocadas em tubos em volumes de 1 ml.

**Método** – As amostras foram posicionadas a 100 mm do ponto focal do raios-X e irradiadas uma por vez. Na montagem, o LED de excitação e a fibra óptica de coleção da fluorescência estavam posicionadas no mesmo porta-amostra conectado ao equipamento de raios-X. Não foi feito um controle da temperatura durante o experimento, entretanto, a variação de temperatura da sala foi mantida entre 20 e 25 °C.

Durante a irradiação, a excitação óptica dos corantes foi mantida desligada. Ao término da irradiação, a excitação era acionada durante o tempo necessário para a aquisição dos espectros. As irradiações foram efetuadas cumulativamente em passos de 20 Gy, ou seja, irradiava-se a amostra até atingir-se 20 Gy, adquiriam-se os espectros e voltava-se a irradiar a mesma amostra até serem atingidos os 200 Gy de dose.

A fase de aquisição de espectros era feita em 4 minutos e 20 espectros eram adquiridos a cada 10 s.

**Modelo de equações de taxa** – Para se construir equação de taxa, referente à concentração de radicais ( $R$ ), foi considerado que a variação desta concentração depende linearmente da taxa de dose,  $\dot{K}$ , em que o sistema está submetido. Uma fração destes radicais gerados desaparece do sistema via recombinação ou outro mecanismo (atacando o corante, interagindo com a Agarose etc). Pode-se escrever a primeira equação de taxa que, descreve o comportamento da concentração de radicais no tempo, como:

$$\frac{dR}{dt} = k_1 \dot{K} - k_2 R \quad (1)$$

$k_1$  é o coeficiente de criação de radicais e  $k_2$  é coeficientes de consumo destes radicais. Este consumo é representado pela recombinação entre radicais ou outras interações que diminuem o valor de  $R$ , entretanto, a interação radical-corante não está sendo considerada significativa neste consumo. É importante frisar, também, que este modelo não faz distinção entre as espécies radicalares, ou seja, a concentração de radicais  $R$  é um valor médio das concentrações dos diversos radicais gerados. A taxa de dose,  $\dot{K}$ , foi a mantida constante durante toda a irradiação.

Para a concentração das moléculas de corante ( $F$ ) que não foram atacadas pelos radicais, tem-se:

$$\frac{dF}{dt} = -k_3 FR \quad (2)$$

Esta equação propõe que a variação na concentração de corante depende da interação entre os radicais e as moléculas de corante. A constante de proporcionalidade  $k_3$  é negativa para denotar a diminuição na concentração de corante no tempo. Por simplicidade, os argumentos pressupõem interações de primeira ordem.

A solução analítica deste sistema de equações de taxa é:

$$F(t) = F_0 e^{\frac{k_1 k_3 \dot{K} (1 - e^{-k_2 t})}{k_2}} e^{-\frac{k_1 k_3 \dot{K} t}{k_2}} \quad (3)$$

Observa-se que a intensidade da fluorescência depende da dose ( $D = \dot{K}t$ ) e da taxa de dose ( $\dot{K}$ ).

## Resultados e discussão

Os gráficos das figuras 1 e 2 demonstram que o modelo desenvolvido apresenta uma excelente concordância com os resultados experimentais. As barras de erro são da ordem de 3 % do valor nominal de cada ponto e não foram mostradas para não carregar as figuras.

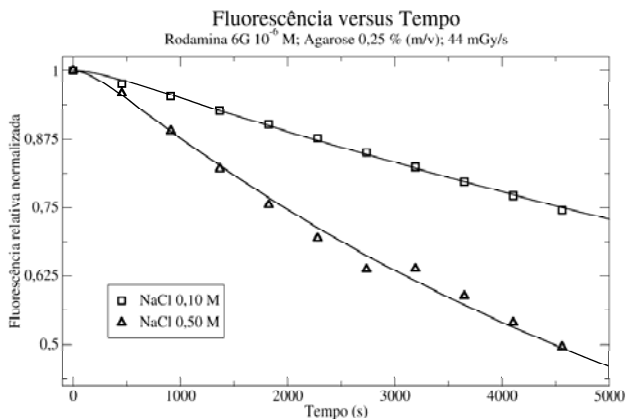


Figura 1: Fluorescência relativa das amostras de Rodamina 6G em função do tempo de irradiação. As linhas sólidas representam o resultado do modelo teórico.

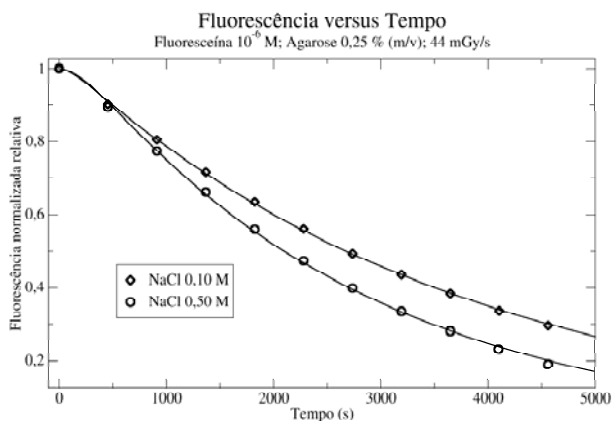


Figura 2: Fluorescência relativa das amostras de Fluoresceína em função do tempo de irradiação. As linhas sólidas representam o resultado do modelo teórico.

A introdução de NaCl no sistema, a fim de se produzir uma outra espécie radicalar e, portanto, modular a degradação do fluoróforo, faz com que ocorra não só a radiólise da água mas também a geração da espécie radicalar Cl $\cdot$ . Esse efeito é verificado observando-se a modificação da inclinação das curvas na Figura 1 e 2, com a alteração da concentração de NaCl.

No entendimento do sistema proposto de dosimetria baseado em espectroscopia de fluorescência, uma discussão importante está relacionada com o que chamamos de consumo de radicais, representado pelo coeficiente  $k_2$  da equação 1. Foi utilizado o argumento de que os radicais produzidos recombina-se ou são consumidos por outros mecanismos que não a interação com os fluoróforos. Este argumento leva em conta a baixa concentração de fluoróforos e, dado o resultado do ajuste, o modelo proposto é coerente. Entretanto, o mecanismo que está representado por  $k_2$  não parece ter a recombinação de radicais como o seu fator principal, já

que os tempos de vida máximos das espécies radiolíticas são da ordem de  $10^{-9}$  s [13,14], o que é muito menor que a escala de tempo dos experimentos apresentados. Se  $k_2$  estivesse relacionado apenas com a recombinação, poder-se-ia considerar a equação 1 como estacionária, ou seja:  $dR/dt = 0$ , fazendo com que a concentração de radicais  $R$  fosse determinada por um valor constante e igual a  $k_1/k_2\dot{K}$ . Utilizando este resultado na equação 2, o comportamento temporal para a concentração de fluoróforos seria:

$$F(t) = F_0 e^{-\frac{k_1 k_3}{k_2} \dot{K} t} = F_0 e^{-\frac{k_1 k_3 D}{k_2}} \quad (4)$$

Este resultado mostra que a degradação na fluorescência de corantes depende apenas da dose aplicada, comportamento conhecido para sistemas químicos dosimétricos como o Fricke [15]. A diferença entre os comportamentos apresentados na equação 3 e 4, está na região da curva abaixo dos 500 segundos, como pode-se observar no gráfico da figura 3, para taxas de dose da ordem de 44 mGy/s do sistema com Fluoresceína. Tanto o comportamento descrito pela equação 3 quanto o da equação 4, produzem ajustes muito coerentes com os dados experimentais apresentados, mostrando o potencial dosimétrico deste tipo de sistema.

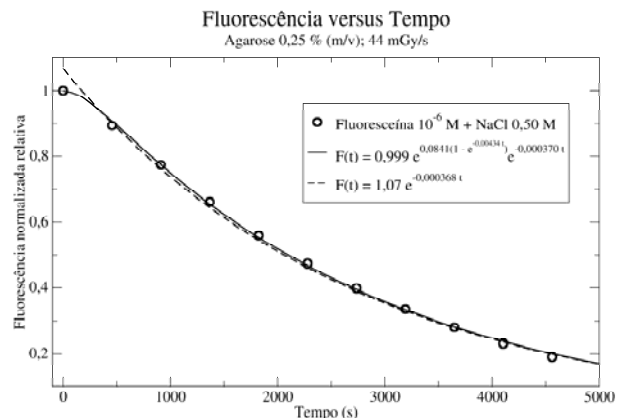


Figura 3: Fluorescência relativa das amostras de Fluoresceína em função do tempo de irradiação.

A figura 4 mostra o comportamento de fluorescência das amostras submetidas a diferentes doses obtidas com taxas de dose de 13, 44 e 57 mGy/s. Também na figura 4 é apresentado (linha sólida) o resultado obtido com o modelo teórico (equação 4), para a taxa de dose de 44 mGy/s. O resultado da figura 4 indica a possibilidade de determinação de dose (por espectroscopia de fluorescência) sem o conhecimento prévio da taxa de dose irradiada. Um erro máximo de  $\pm 15\%$  é encontrado para o modelo independente da taxa de dose.

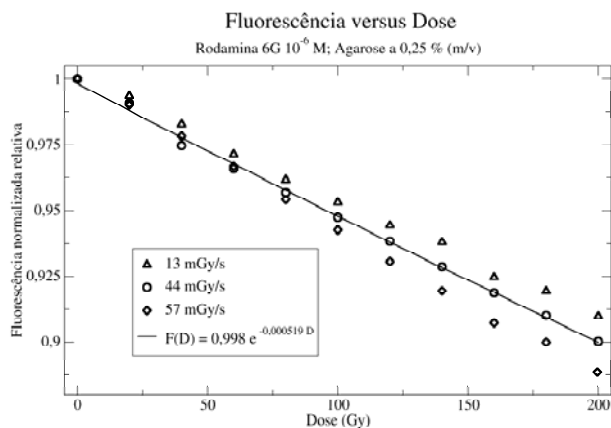


Figura 4: Fluorescência relativa das amostras de Rodamina 6G em função da dose irradiada. A linha sólida representam o resultado do modelo teórico.

### Conclusão

Um sistema químico formado por um corante fluorescente em agarose foi degradado utilizando um campo de radiação ionizante com fótons de energia média de 50 keV. A radiólise induzida por este campo de radiação ataca o corante degradando a capacidade do mesmo fluorescer. Uma abordagem utilizando equações de taxa das populações de fluoróforos e radicais foi apresentada, obtendo-se uma solução que depende da dose e da taxa de dose. Esta solução demonstrou uma grande concordância com os dados experimentais, para sistemas com diversos radicais interagindo com o fluoróforo. Os resultados sugerem a possibilidade de aplicação de corantes fluorescente em dosimetria.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao suporte do INCT Fotônica/MCT/CNPq.

### Referências

- [1] IAEA. IAEA-TEC-DOC-1598 Radiation treatment of polluted water and wastewater. Technical Report September, Viena – AU, 2008.
- [2] Zhang SJ, Yu HQ, Zhao Y. Kinetic modeling of the radiolytic degradation of Acid Orange 7 in aqueous solution. *Water research*, 39(5):839-846. March 2005.
- [3] Pikaev AK, Shubin VN. Radiation treatment of liquid wastes. *Radiation Physics and Chemistry*, 24(1):77-79, 1984.
- [4] Pikaev AK. Current status of the application of ionizing radiation environment protection: I. Ionizing radiation sources, natural and drinking water purification (a review). *High Energy Chemistry*, 34(1):1-12(2000).
- [5] Bjurshagen S, Hellström JE, Pasiskevicius V, Pujol MC, Aguiló M, Díaz F. Fluorescence dynamics and rate equation analysis in Er<sup>3+</sup> and Yb<sup>3+</sup> doped double tungstates. *Applied Optics*, 45(19):4715-4725. July 2006.
- [6] Marques MS, Menezes LS, Lozano BW, Kassab LRP, de Araújo CB. Giant enhancement of phonon-assisted one-photon excited frequency upconversion in Nd<sup>3+</sup>-doped tellurite glass. *Journal of Applied Physics* 113, 053102 (2013).
- [7] Gómez LA, Maciel GS, de Araújo CB, Patra A. Upconversion in Er<sup>3+</sup>-doped ZrO<sub>2</sub> nanocrystals pumped at 1.426  $\mu$ m. *Journal of Applied Physics* 103, 053507 (2008).
- [8] Gómez LA, Menezes LS, de Araújo CB, Gonçalves RR, Ribeiro SJL, Messaddeq Y. Upconversion luminescence in Er<sup>3+</sup> doped and Er<sup>3+</sup>/Yb<sup>3+</sup> codoped zirconia and hafnia nanocrystals excited at 980 nm. *Journal of Applied Physics* 107, 113508 (2010).
- [9] Bollag JM, Liu SY. Biological transformation processes of pesticides [livro]. 169-211. Cheng HH (ed.) *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts, and modeling*. ISBN 0-89118-791-X. 1990.
- [10] Obeidat S, Bai B, Rayson GD, Anderson DM, Puscheck AD, Landau SY, Glasser T. A multi-source portable light emitting diode spectrofluorimeter. *Applied Spectroscopy*, 62(3):327-332, 2008.
- [11] Pope IA, Barber PR, Horn S, Ainsbury E, Rothkamm K, Vojnovic B. A portable microfluidic fluorescence spectrometer device for  $\gamma$ -H2AX-based biological dosimetry. *Radiation Measurements*, 46(9):907-911, September 2011.
- [12] Anbar M, Thomas JK. Pulse radiolysis studies of Aqueous sodium chloride solutions. *The Journal of Physical Chemistry*, 68(12):3829-3835, 1964.
- [13] La Caër S. Water radiolysis: influence of Oxide surfaces on H<sub>2</sub> production under ionizing radiation. *Water*, 3:235-253. February 2011.
- [14] La Verne JA. OH radicals an oxidizing products in the gamma radiolysis of water. *Radiation Research*, 153:196-200 (2000).
- [15] Jayson GG, Parsons BJ, Swallow AJ. The mechanism of the Fricke Dosimeter. *International Journal for Radiation Physics and Chemistry*. 7:363-370 (1975).