

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI
"FEDERICO II"**

**TESI DI DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE CHIMICHE - XXII CICLO**

**STUDIO E CARATTERIZZAZIONE
DI ELEMENTI CHIMICI DI INTERESSE
RADIOPROTEZIONISTICO IN MATRICE DI NATURA
BIOLOGICA E AMBIENTALE**

Tutore:
Ch.mo Prof. Diego Ferri

Coordinatore :
Ch.mo Prof. Aldo Vitagliano

Co-tutore:
Ch.ma Prof.ssa Carla Manfredi

Relatore:
Ch.mo Prof. Augusto De Renzi

Candidata:
Dott. Giuseppina Vanga

ANNO ACCADEMICO 2006-2009

Al Prof. Diego Ferri

La scienza è un'avventura di tutto il genere umano che insegna a vivere e forse anche ad amare l'universo in cui viviamo.

Per partecipare a quest'avventura è necessario capire, anche se stessi, fino a cominciare a sentire che nell'uomo ci sono potenzialità molto più ampie di quanto egli abbia mai pensato.

Dalla scienza, a qualsiasi livello, dal più basso al più avanzato, dipendono gli insuccessi e i successi, ovvero, le sofferenze e il benessere dell'umanità.

Isaac Isidor Rabi (*)

(*) Scienziato americano di origine polacca - Premio Nobel per la fisica 1944

Questo dottorato di ricerca è stato svolto in collaborazione tra:
il gruppo di ricerca del Prof. Diego Ferri dell'Università di Napoli

“Federicoll”



e

l'Istituto di Radioprotezione (*) dell'ENEA del Centro Ricerca

Casaccia



(*) vedi appendice 5

INDICE

SUMMARY	8
INTRODUZIONE	17
Capitolo 1 LA RADIOATTIVITA' E LE RADIAZIONI IONIZZANTI	20
Capitolo 2 LE APPLICAZIONI DELLA RADIOATTIVITA' E DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI	47
Capitolo 3 METODI RADIOCHIMICI	52
Capitolo 4 OBIETTIVI E METODOLOGIE	69
Capitolo 5 SEZIONE SPERIMENTALE	78
5.1 Il Radio	78
5.2 L'Uranio	97
Capitolo 6 STUDIO DI ECO-TOSSICITÀ DI URANIO E URANIO DEPLETO	114
Appendice 1	126

Appendice 2	131
Appendice 3	134
Appendice 4	141
Appendice 5	142
Appendice 6	144
Ringraziamenti	148

SUMMARY

This work was done in collaboration between the Prof. Diego Ferri's research group at the University of Naples "Federico II" and Institute of Radiation Protection at the Research Center ENEA - Casaccia.

The determination of environmental contamination with natural and artificial actinide isotopes requires precise isotopic determination of actinides. This can be achieved by Inductively-Coupled Plasma Mass Spectroscopy (ICP-MS) after chemical separation procedures.

The aim of this PhD was to compile, to optimize and to standardize a rapid and ultrasensitive isotope analytical procedure based on inductively-Coupled Plasma Mass Spectroscopy (ICP-MS) for the determination of ^{226}Ra , ^{238}U , ^{234}U , ^{235}U concentrations and the isotopic composition in environmental and biological samples. The bioaccumulation of radioactive elements and the genetic damage has been studied by using the earthworm *Eisenia fetida* as reference organism.

Radium-226 is a member of the Uranium-238 natural decay series and is the most hazardous radionuclide released to the environment from uranium mining and milting.

Isotopo	Tipo di emissione	Emissione (%)	Energia (MeV)	$t_{1/2}$	Attività specifica (Bq/g)
^{224}Ra	α_1	$94,9 \pm 0,2$	5,686	$(3,66 \pm 0,04)$ giorni	5,9 E+15
	α	$5,07 \pm 0,05$	5,445		
	γ_1	$4,05 \pm 0,04$	0,241		
^{226}Ra	α_1	$94,45 \pm 0,05$	4,784	(1600 ± 7) anni	3,7 E+10
	α	$5,55 \pm 0,05$	4,602		
	γ_1	$3,51 \pm 0,25^6$	0,186		
^{228}Ra	β	100	0,0099 ⁷	$(5,75 \pm 0,03)$ anni	1,0 E+13
	β_1	$1,6 \pm 0,0$	0,014		

Due to its long half life (1600 years) and radiological effects it's one of the most important isotopes to be determined among the naturally occurring nuclides in environmental samples. It's also among the most toxic long-lived alpha-emitters present in environmental samples, as well as of the most widespread. The requirement for the

determination of radium has become a matter of interest in public health due to its hazardous nature with respect to internal exposure. It is concentrated in bones, thus increasing the internal radiation dose of individuals.

The experimental procedure of a chemical analysis of ^{226}Ra proposed in this work consists in a preliminary purification of the sample, on a cationic resin (DOWEX- AG-50W-X8), and a direct determination of the element by using the ICP-MS (figure 1). An standard solution of radium, reference soil (IAEA-375) and phosphogypsum ALMERA have been used for optimization of ^{226}Ra measurements.

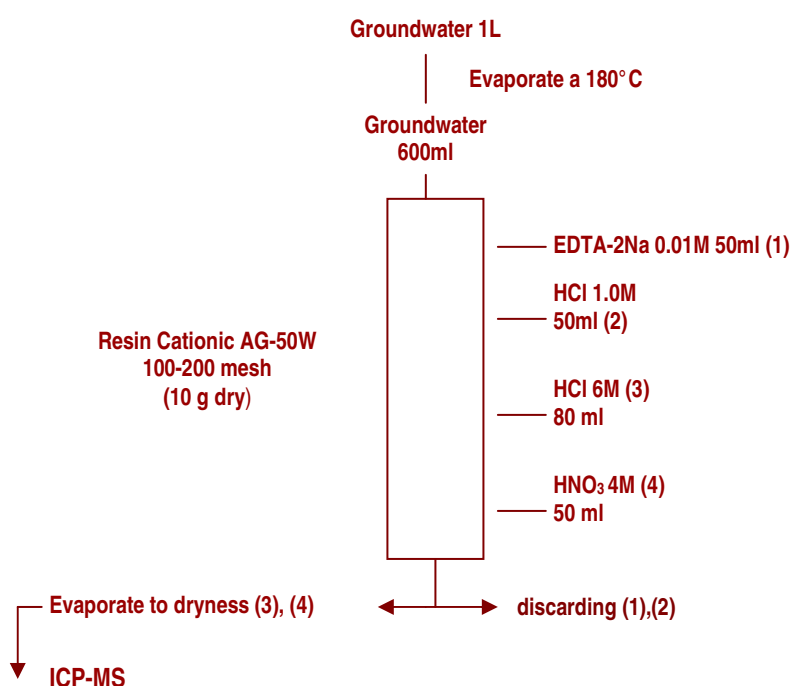


Fig 1 A chemical separation procedure ^{226}Ra in groundwater

The chemical yield of radium extraction was $77.6\% \pm 5.3\%$, (water samples) and $76\% \pm 7.6\%$ (urine samples).

This method has been used to determine the radium concentrations in water samples collected in site Casaccia,[1]. The results have been reported in Table 4.

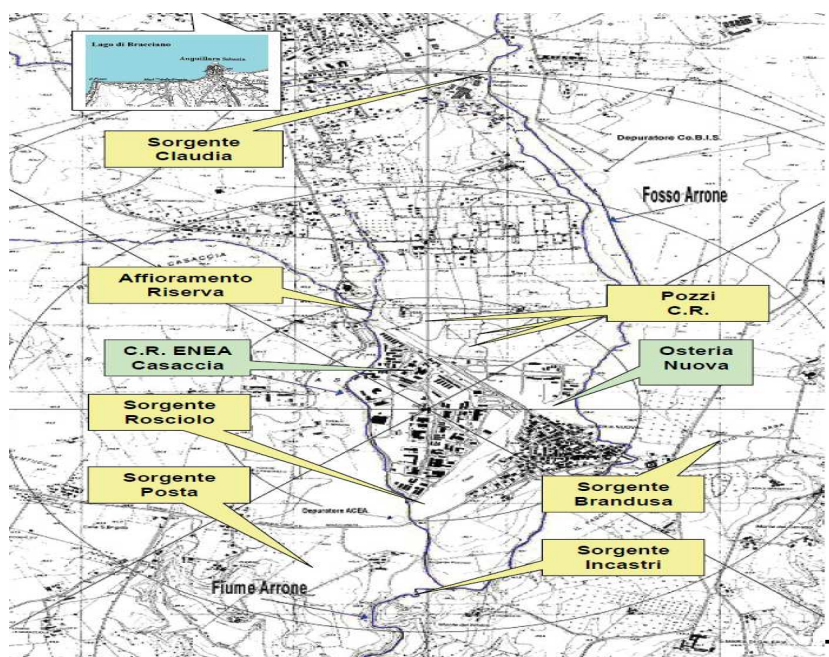


Table 4: Concentration of ^{226}Ra in groundwater in site of Casaccia

Sample (Site)	Concentration ^{226}Ra (g l ⁻¹)	RDS %	Activity (mBq l ⁻¹)
Groundwater Rosciolo	7.53 E-13	12.70	27.6
Groundwater Brandusa	3.60 E-13	29.14	13.2
Groundwater Posta Forano	5.58 E-14	22.32	2.04
Groundwater Claudia	3.21E-13	47.20	11.8
Water supply Casaccia	4.63 E-14	28.07	1.7
Groundwater Incastri	2.41 E-13	7.38	8.8
Water Olmo	6.60 E-13	12.15	24.2
lake Anguillara	9.25 E -14	13.05	3.40
D.L.^{226}Ra	ICP-MS		0,5mBq/l
D.L.^{226}Ra	spectrometry γ		0,1Bq/l
D.L.^{226}Ra	Counting via α total		10-20mBq/l
D.L.^{226}Ra	spectrometry α		20 mBq/l

The detection limit (D.L. 0.5 mBq / l) of ^{226}Ra reported in table is lower than that obtained by γ -spectrometry, α -spectrometry and counting via α total after separation of ^{226}Ra . The proposed procedure for the determination of radium concentration required about 3 days (for water and urine samples) and 5 days (for soil compared to 20-30 days for the other techniques).

L' ICP-MS is used for the sensitive and precise determination of ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U concentrations in solid matrices. An analytical method for the rapid determination of uranium in phosphogypsum, sediments and sands samples is proposed.

Uranium is an environmentally universal element present in two radioactive decay series, i.e. ^{235}U and ^{238}U . Most crystal rocks contain a few parts per million of uranium, with an average of 2.8 ppm. Phosphate, igneous rock and granite rocks generally contain a higher amount of uranium, while lower concentrations are found in sedimentary rocks such as limestone. Due to weathering and subsequent transport, these rocks were carried away by rivers, which are the major source of dissolved uranium to the oceans

Isotopo	Tipo di emissione	Emissione (%)	Energia (MeV)	$t_{1/2}$	Attività specifica (Bq/g)
^{234}U	α_1	$71,37 \pm 0,02$	4,775	$2,457\text{E}+05$ anni \pm $6,0\text{E}+02$	$2,3\text{E}+08$
	α	$28,42 \pm 0,02$	4,723		
	γ_1	$0,123 \pm 0,002$	0,053		
^{235}U	α_1	$55,0 \pm 3,0$	4,400	$7,040\text{E}+08$ anni \pm $1,0\text{E}+06$	$8,0\text{E}+04$
	α	$17,0 \pm 2,0$	4,365		
	α	$5,7 \pm 0,6$	4,218		
	α	$5,0 \pm 0,5$	4,599		
	α	$4,4 \pm 0,5$	4,325		
	α	$4,2 \pm 0,3$	4,556		
	α	$2,1 \pm 0,2$	4,414		
	γ_1	$57,2 \pm 0,5$	0,186		
	γ	$10,96 \pm 0,08$	0,144		
	γ	$5,08 \pm 0,04$	0,163		
^{238}U	α_1	$79,0 \pm 3,0$	4,202	$4,470\text{E}+09$ anni \pm $2,0\text{E}+07$	$1,2\text{E}+04$
	α	$21,0 \pm 3,0$	4,153		
	γ_1	$8,0 \pm 2,0$	0,015		

Various soil washing treatment, followed by ion exchange and extraction chromatography, have been tailored to reduce the preparation and improve spectroscopic measurements.

Chemical methods consisting of treating with organic and inorganic acids, salts, bases and chelating agents have been developed. The results (reported in Table) have been compared with those of alkaline fusion. A rapid, single-column extraction chromatographic method using commercially available UTEVA resin (figure 2,3) has been developed for the separation of different radionuclides.

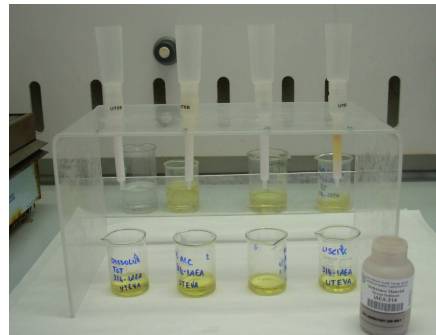
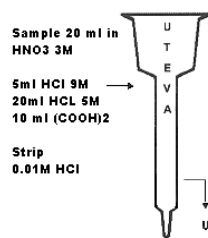


Figure 2 e 3 Purification and concentration of the sample with resin UTEVA

In order to test the procedure, reference materials supplied by the IAEA, including the sediment IAEA-314 and phosphogypsum (used for the intercalibration circuit Almera) have been used. Table 5,6 shows the results relative to Gela's marine sediment and sands.

Table 5 Concentrations of ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U in Gela's marine sediment

	^{234}U [Bq/g] (RSD %)	^{235}U [Bq/g] (RSD %)	^{238}U [Bq/g] (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
acid mineralization (1)	7.97E-03 (7,5)	3,16E-04 (5,5)	6,82E-03 (5,2)	7,21E-03
acid mineralization HNO_3 8M	6,39E-03 (8)	2,85E-04 (5)	6,07E-03 (4,3)	7,29E-03
alkaline fusion	7,45E-03 (6)	2,6E-04 (4,5)	6,00E-03 (5,7)	7,2E-02

Table 6 Concentrations of ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U in Gela's sand

	^{234}U [Bq/g] \pm (RSD %)	^{235}U [Bq/g] \pm (RSD %)	^{238}U [Bq/g] \pm (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
acid mineralization (1)	4,61E-03 (8,9)	2,21E-04 (6,3)	4.66E-03 (4,5)	7,39E-03
acid mineralization HNO_3 8M	5,4 E-03 (7)	2.03 E-04 (5,6)	4.50E-03 (6,7)	7,02E-03

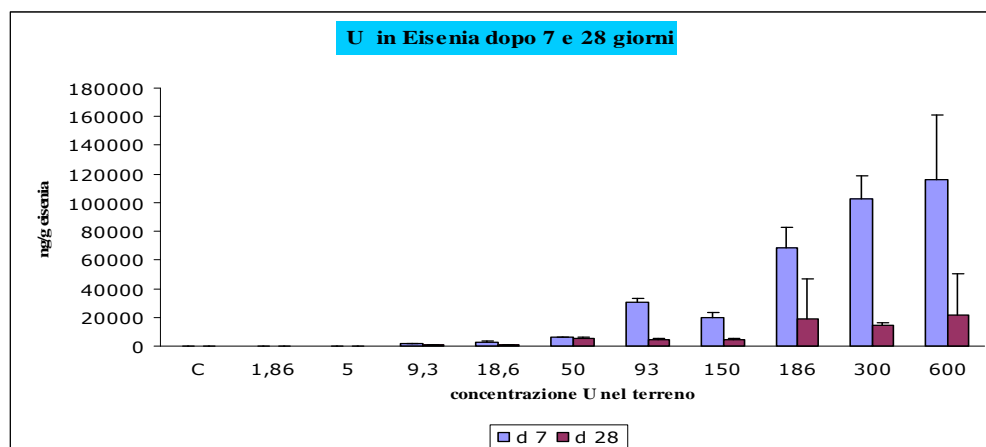
(1) Attacco con HF, HNO_3 70% e H_2O_2 , e cicli con miscela HCl- HNO_3 3:1

Comparison of detection limits in complex solid matrices between different techniques:

	D.L. ²³⁴ U	D.L. ²³⁵ U	D.L. ²³⁸ U
ICP-MS	0,1 mBq/l	0.03 mBq/l	0,03 mBq/l
spectrometry γ	5 Bq/l	0,1 Bq/l	15 Bq/l
spectrometry α	0,05 mBq/l	0,05 mBq/l	0,05 mBq/l

The second objective is part of the new approach ICRP (International Commission on Radiological Protection) for the radiation environment that promotes and identification of species, animals and plants, the reference to determine whether an environment is adequately protected from the radiological point of view. In the present study was used as a reference body, the earthworm *Eisenia fetida*. Reference organisms, such as earthworms are capable of accumulating persistent pollutants and are used to measure the biologically available amount of a given pollutant in an ecosystem. The objective was to evaluate the effects induced by exposure to radioactivity is emitted from natural uranium (U) and depleted uranium (DU).

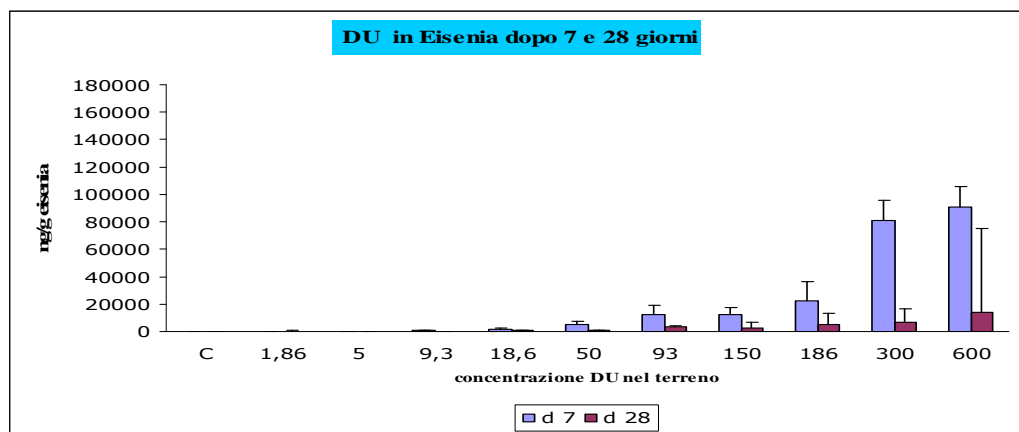
Fig.5 Bioaccumulation of Uranium in *Eisenia Fetida* after 7 days of treatment than after 28 days



In Fig 5 The bioaccumulation of uranium (as assessed by analysis ICP-MS) with varying concentrations of the latter in soils in which the reference body was put in contact (for 7 and 28 days). The data show that concentrations of U concentrations in the tissues

reflected in soils. In worms maintained in contaminated soil for 28 days, the concentration of U in worms increases linearly until the concentration in the soil of 50 mg kg⁻¹ (5.1 mg kg⁻¹); in the range 50-150 mg kg⁻¹ concentration in soil is independent of the worms in the soil. From 186 mg kg⁻¹, the U in worms increases and remains constant up to 600 mg kg⁻¹ (21.15 mg kg⁻¹). By data we can to conclude that the relationship between concentration of U in soil and tissues of *Eisenia fetida* depends on the time for which the worm was exposed to uranium. The body burden appears more related to physiological mechanisms. A rapid uptake is in fact a few days followed by equilibrium [5]. Our results suggest the presence of an efficient mechanism for removing uranium, which saturates at given body amounts in certain range of U concentrations in soil. [6]

Figure 6 Bioaccumulation of Depleted Uranium in *Eisenia Fetida* after 7 days of treatment than after 28 days



As shows the Fig. 6 the concentration of DU in worms exposed after 7 days in contaminated soil is always higher than that measured in worms exposed to 28 days. Practically from the graphs of our data there seems no significant differences between the data for bioaccumulation of uranium and depleted uranium. The complexity of the research program has required different methodological approaches, one of these was the assessment of genetic damage. The results of genetic damage have been the subject of another thesis and are listed below in order to provide a complete picture of how you have set the problem.

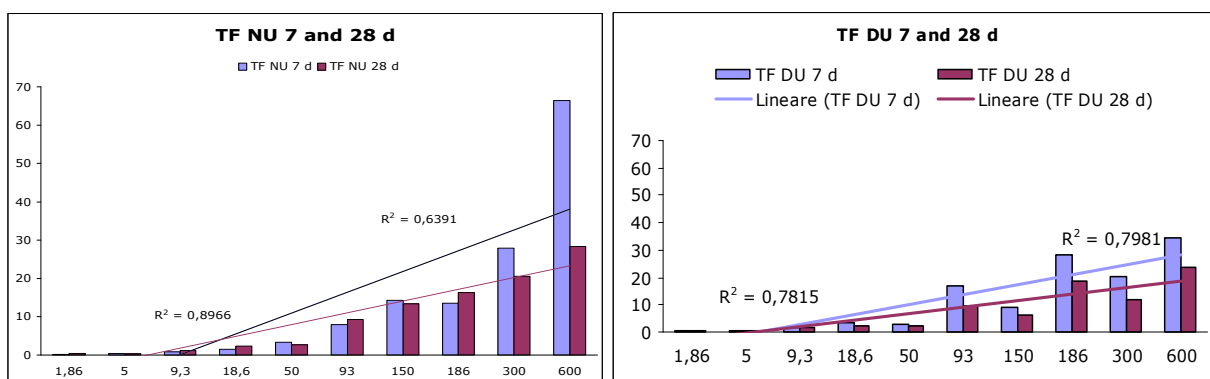


Figure 6 GENETIC DAMAGE IS HIGHER AFTER 7 D OF EXPOSURE THAN AFTER 28 DAYS

For the determination of genetic damage has been applied Comet assay to coelomocytes [7] collected the worms by subjecting the end of treatment, a slight electric shock in Ringer's solution. The Comet assay can quantify the level of DNA fragmentation by subjecting the nuclei to electrophoretic migration, the smaller are the fragments migrate more quickly to the cathode, forming a comet, whose length is directly proportional to genetic damage. It was noted that the dose-effect has no clear trend. The results obtained can be observed that the genetic damage is higher for the worms exposed to uranium and depleted uranium in both cases have higher values for short times of exposure. The concentration effect relationship is not linear but the toxicity factor is greater for uranium than depleted uranium. Especially radio toxicity of the U is 40% greater than the DU.

BIBLIOGRAPHY

- [1] Giuseppina Vanga, Maria Letizia Cozzella, Paolo Battisti "CARATTERIZZAZIONE DEL ^{226}Ra IN MATRICI DI NATURA BIOLOGICA E AMBIENTALE MEDIANTE SPETTROMETRIA DI MASSA A PLASMA INDUTTIVAMENTE ACCOPPIATO (ICP-MS)". RTI (2008) 2/BAS-ION-IRP Gennaio 2008
- [2] E.M.el Afifi et al., *J. Radioanal. Nucl.Chem.*, 260/1, 221-224, 2004.
- [3] "Rapid sequel separation of actinides using Eichrom's extraction chromatographic material". A. H. Thakkar *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Vol 248, No. 2 (2001) 453-456

- [4] *Confronto tra diversi metodi di mineralizzazione acida e fusione alcalina di fosfogessi, terreni e sedimenti per la determinazione di ^{238}U , ^{235}U , ^{234}U via spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS).* Giuseppina Vanga, Elvio Soldano, Roberto Stefanoni, Paolo Battisti. XXXIV CONGRESSO NAZIONALE DI RADIOPROTEZIONE. Frascati (2009)
- [5] SPURGEON D.J., HOPKIN S.P., Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Appl Soil Ecol* 11 (1999) 227-243.
- [6] Anna Giovanetti, Maria Letizia Cozzella, Giuseppina Vanga, Sergey Fesenko: "Uranium bioaccumulation by the earthworm *Eisenia fetida*" International Conference on Environmental Radioactivity: From Measurements and Assessments to Regulation 23-27 April 2007, Vienna, Austria.
- [7] Weeks JM, Svendsen C, Neutral-red retention by lysosomes from earthworm (*Lumbricus rubellus*) coelomocytes. A simple biomarker of exposure to soil copper. *Environ Toxicol Chem*, 15:2643-2660 (1996)

INTRODUZIONE

Il presente lavoro è stato svolto in collaborazione tra il gruppo di ricerca del Prof. Diego Ferri dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e l'Istituto di Radioprotezione del centro di ricerca ENEA - Casaccia.

Lo studio si è concentrato sulla caratterizzazione, principalmente attraverso tecniche spettroscopiche e cromatografiche, di elementi chimici di interesse radio-protezionistico in campioni ambientali e biologici.

Come è ben noto, è recente il ritorno al nucleare in Italia con la progettazione e futura messa in funzione di nuove centrali nucleari. Sarà quindi necessario un maggior controllo radio-protezionistico in termini sia di monitoraggio ambientale che di sorveglianza dei lavoratori esposti ad una possibile contaminazione esterna ed interna. D'altra parte, sebbene il referendum abrogativo del 1987, avesse bandito l'utilizzo del nucleare per la sperimentazione e la produzione di energia elettrica, il problema dello smaltimento delle scorie radioattive (complessivamente circa 80.000 m³) provenienti dalle ex centrali nucleari non è stato a tutt'oggi affrontato e risolto. Resta ancora aperto il problema del decommissioning ovvero lo smantellamento, la rimozione e la decontaminazione di strutture e componenti degli ex impianti nucleari di potenza di Trino Vercellese (Vercelli), di Caorso (Piacenza), di Latina, del Garigliano (Caserta), e degli impianti del ciclo del combustibile di Saluggia (Vercelli), di Bosco Marengo (Alessandria), in Casaccia (Roma) e in Trisaia Rotondella (Matera). È ovvio che la presenza di materiale radioattivo nei siti di stoccaggio determina un grave problema di sicurezza ambientale, soprattutto se si tiene conto che questi siti si trovano spesso nelle vicinanze di paesi e di città densamente popolate.

I rifiuti radioattivi hanno provenienza sia da attività industriali, in cui sono utilizzati materiali radioattivi (ciclo del combustibile; la produzione e l'uso di radioisotopi, medicina, industria ecc.; le decontaminazioni; la disattivazione degli impianti nucleari), nonché da attività che non prevedono la manipolazione di materiale radioattivo. A tal riguardo la normativa italiana ha introdotto i termini NORM (*Naturally Occurring Radioactive Materials*) e TENORM (*Technological Enhanced Natural Occurring Radioactive Materials*).[1-10].

I materiali NORM contengono radionuclidi naturali quali il ^{40}K ed i membri delle tre famiglie radioattive naturali dell' ^{238}U , dell' ^{235}U e del ^{232}Th in concentrazioni superiori alla media della crosta terrestre; essi sono responsabili dell'86% dell'esposizione a cui è soggetto l'uomo.

L'acronimo TENORM (*Technologically Enhanced NORM*) si riferisce, invece, ad un materiale che, a differenza del NORM, vede una concentrazione di radionuclidi naturali aumentata a causa della tecnologia del processo di lavorazione subita dalla materia prima [11]. La normativa italiana relativa alla protezione dalle radiazioni ionizzanti prevede, per le attività lavorative che implicano l'impiego o la produzione di NORM, una serie di controlli dell'esposizione. Secondo il d.lgs. n. 241/2000 (Allegato Ibis) [12], le attività lavorative che richiedono controllo sono:

- le attività industriali che utilizzano minerali fosfatici e i depositi per il commercio all'ingrosso dei fertilizzanti (in questo tipo di attività l'ingestione rappresenta il contributo principale alla dose totale[13-15]);
- la lavorazione di minerali nella estrazione di stagno, di ferro niobio da pirocloro e di alluminio da bauxite;
- la lavorazione di sabbie zirconifere e la produzione di materiali refrattari;
- la lavorazione di terre rare;
- la lavorazione e l'impiego di composti del torio (elettrodi per saldatura, produzione di lenti, reticelle per lampade a gas);
- l'estrazione e la raffinazione di petrolio e l'estrazione di gas.

Monitorare implica quindi avere a disposizione strumenti necessari per la valutazione di tutti i livelli di radioattività. Le principali difficoltà nell'analisi di attinidi in matrici ambientali ed antropiche per scopi radioprotezionistici derivano dalla necessità di misurare concentrazioni di norma estremamente basse in presenza di un elevato contenuto di ioni interferenti. Anche basse attività di molti radionuclidi, presentano un'elevata radiotossicità quindi è importante e necessario la valutazione.

Nasce l'esigenza di utilizzare tecniche sensibili, ad elevata affidabilità che permettano la determinazione del radionuclide oggetto di indagine in tempi rapidi e senza dover eseguire complesse preparazioni preliminari.

In questo ambito si inseriscono gli obiettivi perseguiti nel presente lavoro:

1) stilare, ottimizzare e standardizzare metodiche analitiche applicabili sia nel monitoraggio ambientale che nella sorveglianza di lavoratori esposti a radionuclidi. Gli isotopi oggetto di studio del presente lavoro sono stati: ^{226}Ra , ^{238}U , ^{234}U , ^{235}U .

2) definire e identificare specie animali di riferimento per stabilire se un ambiente sia adeguatamente protetto dal punto di vista radiologico. Dopo un attento esame della letteratura pertinente è stato utilizzato, come specie di riferimento, il lombrico *Eisenia fetida*.

Bibliografia

- [1] J. A.S. Adams “ The natural radiation environment”, Chicago, IL: University of Chicago Press, 1964
- [2] R. L. Kathren, *Applied Radiat. Isot.*, 49/3, 149-168, 1998.
- [3] M. Sohrabi, *Applied Radiat. Isot.*, 49/3, 169-188, 1998.
- [4] J. Hipkin et al., *Appl. Radiat. Isot.*, 49/3, 205-209, 1998
- [5] E.M.el Afifi et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 260/1, 221-224, 2004.
- [6] G.J.White and A.S. Rood, *J. Environmental Radioactivity*, 54, 401-413, 2001
- [7] E.M.Hussein, *Health Physics*, 67, 280-282, 1994.
- [8] H.T.Fukuma et al., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 257/1, 2003
- [9] G.F. Boothe et al., *Health Physics*, 38, 393-398, 1980.
- [10] M.A.Pires do Rio et al., *Health Physics*, 84/2, 147-154, 2003.
- [11] The State-of-the-art on Worldwide Studies in some Environments with Elevated Naturally Occurring Radioactive Materials (NORM), *Applied Radiation and Isotopes*, vol. 49, n. 3, pagg. 169-188, 1998.
- [12]. D. Lgs n°241 del 26/05/2000 “Attuazione della Direttiva 96/29/EURATOM in materia di protezione sanitaria della popolazione e dei lavoratori contro i rischi derivanti dalle radiazioni ionizzanti”. G.U. n. 203 del 31 agosto 2000-Supplemento Ordinario n.140.
- [13] G. Rajaretnam and H.B. Spitz, *Health Physics*, 78/2, 191-198, 2000.
- [14] A.C. Paul and K.C. Pillai, The Environmental Behaviour of radium, IAEA Technical report Series No.310, IAEA, Vienna, pp 83-95, 1990.
- [15] UNSCEAR, 1982, Sources and Effects of Ionising Radiation, United Nations, New York.

CAPITOLO 1

LA RADIOATTIVITA' E LE RADIAZIONI IONIZZANTI

La radioattività nella storia

- Nel novembre 1895, mentre studia le scariche di corrente nei tubi a vuoto, il tedesco Wilhelm Conrad Röntgen osserva che ogni volta che la corrente fluisce nel tubo sono emesse radiazioni invisibili che chiama raggi X. Egli nota che queste radiazioni possono attraversare moderati spessori di materia e sono fermate da alcune sostanze più facilmente che da altre. Entro breve tempo, nel febbraio 1896, ad opera di E. Frost, i raggi X sono utilizzati in medicina per la diagnosi radiografica.
- Il 1° marzo 1896 il ricercatore francese Antoine-Henri Becquerel verifica che la pechblenda - un minerale di uranio - può causare l'annerimento delle lastre fotografiche anche in assenza di luce, e scopre in tal modo la radioattività naturale. Nel 1899 lo scienziato inglese Ernest Rutherford identifica due tipi di radiazione emessi dalla pechblenda, e li chiama raggi α e raggi β . Nel 1900 il francese Paul Villard trova fra le emissioni della pechblenda un terzo tipo di radiazione, che battezza raggi γ .
- Nel 1896 l'americano Thomas Edison riferisce di danni agli occhi causati dai raggi X. N. Tesla mette in guardia gli sperimentatori sulla necessità di evitare la permanenza in prossimità dei tubi a raggi X durante il loro funzionamento. Il dottor D.W. Gage pubblica un articolo nel quale descrive alcuni danni provocati dai raggi X: caduta dei capelli e lesioni cutanee.
- Nel dicembre 1898 Pierre Curie e Maria Sklodowska, trattando diverse tonnellate di pechblenda, riescono ad isolare e ad estrarre meno di un grammo di un nuovo elemento - il radio - cui attribuiscono la radioattività emessa dalla pechblenda. Henry Becquerel ne riceve in dono una piccola quantità, che ripone in una tasca. Giunto nel proprio laboratorio si accorge di avere la pelle ustionata in corrispondenza della tasca.
- Nel 1910 il padre gesuita Theodor Wulf effettua misure di radioattività a livello del suolo e sulla cima della torre Eiffel, scoprendo che la radiazione cresce con l'elevazione. Egli formula l'ipotesi che la radiazione ambientale abbia una componente di origine cosmica, e propone di effettuare misure ad alta quota utilizzando i palloni aerostatici. Attuando il suo suggerimento Victor Hess scopre nel 1912 i raggi cosmici.

- Nei primi anni Dieci i ciarlatani entrano nel “business” radioattivo. L’U.S. Patent Office rilascia un gran numero di brevetti per apparecchiature, sostanze e tecniche di cura “miracolose”. Nel 1912 è brevettato il “Revigorator”, una pozione a base di minerali di radio. Nello stesso anno si registra il decesso di un paziente che per curare l’artrite si sottoponeva a iniezioni di radio-226. Nel 1925 W.Bailey commercializza il “Radithor”, una pozione a base di radio contro le disfunzioni sessuali. Nel 1932 l’industriale e *playboy* miliardario E. Byers muore in seguito all’assunzione di Radithor.
- Nel 1915 la *British Röntgen Society* propone i primi standard per la protezione dei lavoratori e della popolazione dagli effetti indesiderati delle radiazioni. Si tratta di un sistema di controlli volontari che agiscono sulla schermatura delle sorgenti, sulla limitazione delle ore lavorative e su regolari controlli sanitari. L’assenza di unità di misura standard e di dosimetri impedisce l’adozione di precisi limiti di dose.
- Durante la prima guerra mondiale è esposto alla radioattività un elevato numero di lavoratrici impiegate nella costruzione di strumenti a quadrante luminoso. Nel 1920 l’uso di vernici fluorescenti a base di sostanze radioattive si estende senza particolari controlli all’industria civile dell’orologeria. Nel 1925 il fisiologo Martland rileva nei lavoratori coinvolti stati di anemia e patologie ossee.
- Nel 1925 inizia l’utilizzazione su larga scala della radioterapia per la cura del cancro. Negli anni successivi vengono perfezionate e descritte nelle pubblicazioni mediche e scientifiche apparecchiature e metodiche. Nel 1927, ad opera di H.Muller, appaiono i primi studi sugli effetti genetici delle radiazioni.
- Nel 1927 un medico di Boston, Herman Blumgart, fa uso per la prima volta di traccianti radioattivi per la diagnosi di stati patologici del cuore e dell’apparato cardiocircolatorio.
- Nel 1928 si tiene il primo congresso dell’*International Committee on X-ray and Radium Protection*, organismo dal quale trarrà successivamente origine l’International Commission for Radiological Protection (ICRP). Sono pubblicati i primi standard internazionali per la protezione dalle radiazioni.
- Nel 1932 Chadwick, interpretando precedenti risultati sperimentali ottenuti da Irène Curie e Frédéric Joliot, stabilisce l’esistenza di una nuova particella elementare, il neutrone, che si viene ad aggiungere alle uniche due precedentemente identificate,

l'elettrone e il protone.

- Nel 1934 Irène Curie e Frédéric Joliot, bombardando con particelle α un foglio di alluminio, producono il primo isotopo radioattivo artificiale: il fosforo-30. Lo stesso anno Enrico Fermi dimostra che è possibile produrre isotopi radioattivi in grande quantità utilizzando come proiettili i neutroni in luogo delle particelle α . Pur essendosi imbattuto, durante questi studi, nella fissione nucleare, Fermi non se ne rende conto, e avvia con la sua équipe un'intensa attività sperimentale finalizzata alla produzione di isotopi radioattivi.
- Nel 1938 Otto Hanh, F. Strassmann e Lize Meitner scoprono che bombardando l'uranio con neutroni lenti si può produrre la scissione del nucleo in due o più frammenti radioattivi, con liberazione di neutroni e di energia: a questo particolare tipo di reazione viene dato il nome di fissione nucleare.
- Il 2 dicembre 1942 a Chicago un'équipe guidata da Enrico Fermi realizza la "pila" di uranio e grafite CP-1, con la quale dimostra la possibilità di indurre e sostenere in modo controllato la reazione di fissione a catena. Nasce in tal modo il primo prototipo di reattore nucleare.



Henry Becquerel



Pierre Curie e Maria Skłodowska

I radioisotopi e la radioattività

Gli isotopi (atomi di uno stesso elemento chimico con medesimo Z ma differente A) costituenti la materia sono talvolta instabili, e tendono a trasformarsi spontaneamente emettendo particelle elementari (particelle α , β , neutroni vedi figura 1), generalmente

accompagnate da radiazioni elettromagnetiche (raggi X, raggi γ)¹. Il processo di emissione radioattiva da parte di un atomo è chiamato *disintegrazione* o *decadimento radioattivo*, e gli isotopi instabili sono detti *radioisotopi*. A seguito di reazioni nucleari possono essere prodotti isotopi non presenti in natura (almeno in quantità apprezzabili). Questi isotopi, tutti radioattivi, sono indicati come *radionuclidi artificiali*.

La radioattività è descritta e quantificata per mezzo di alcune grandezze fisiche fondamentali.

- Si definisce attività di un campione di una sostanza radioattiva il numero di disintegrazioni che in essa si producono nell'unità di tempo. L'attività si misura in *Bequerel* (Bq): 1 Bq = 1 disintegrazione/secondo. L'attività di una sostanza fornisce un'indicazione sulla frequenza media con la quale essa emette radiazioni. Attraverso il decadimento le sostanze radioattive perdono gradualmente la loro attività. A seconda della sostanza questo processo può essere molto breve (alcuni secondi), ma anche molto lungo (milioni di anni).

Gli atomi che subiscono il processo della disintegrazione radioattiva perdono generalmente le caratteristiche iniziali, trasformandosi in atomi di altri elementi, che possono essere ancora instabili e decadere a loro volta. Si generano in tal modo vere e proprie catene di elementi radioattivi generati l'uno dall'altro, che danno luogo alle cosiddette *famiglie radioattive*.

Il momento esatto in cui un atomo instabile decadrà in uno più stabile è assolutamente casuale ed imprevedibile. Si rileva, però, che il numero di decadimenti rispetta una precisa legge statistica, esso avviene in un intervallo dt proporzionale al numero N di atomi presenti. Questa legge può essere descritta tramite la equazione differenziale del primo ordine (in cui " λ " è la costante di decadimento):

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N$$

con questa soluzione (in cui e è il numero di Eulero):

$$N(t) = N_0 e^{-\lambda t}$$

¹ Raggi X e raggi γ sono radiazioni della stessa natura (radiazioni elettromagnetiche ionizzanti), ma originate rispettivamente da fenomeni coinvolgenti elettroni orbitali (o liberi) o da fenomeni nucleari. Raggi X e raggi γ di pari energia sono fisicamente indistinguibili. Nei casi più comuni i raggi X hanno tuttavia energia nettamente minore di quella dei raggi γ e sono perciò meno penetranti, anche se occorre tener presente che non si tratta certamente di una regola generale.

che rappresenta un decadimento esponenziale. Bisogna notare che questa rappresenta solamente una soluzione approssimata, in primo luogo perché rappresenta una funzione continua, mentre l'evento fisico reale assume valori discreti, poi perché descrive un processo casuale, solo statisticamente vero. In tutti i casi, poiché nella gran parte dei casi N è estremamente grande, la funzione fornisce un'ottima approssimazione. Oltre alla costante di decadimento " λ " il decadimento radioattivo è caratterizzato da un'altra costante chiamata vita media. Ogni atomo *vive* per un tempo preciso prima di decadere e la vita media rappresenta appunto la media aritmetica sui tempi di vita di tutti gli atomi della stessa specie. La vita media viene rappresentata dal simbolo τ , legato a λ dalla:

$$\tau = \frac{1}{\lambda}.$$

Un altro parametro molto usato per descrivere un decadimento radioattivo è dato dalla emivita o tempo di dimezzamento $t_{1/2}$. Dato un campione di un particolare radionuclide, il tempo di dimezzamento ci dice dopo quanto tempo saranno decaduti un numero di atomi pari alla metà del totale, ed è legato alla vita media dalla relazione:

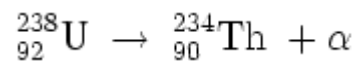
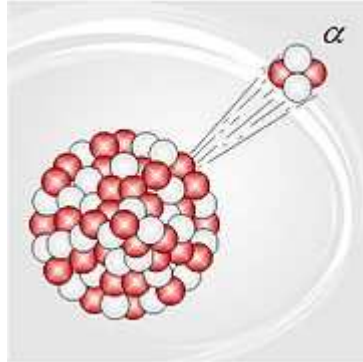
$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}.$$

Queste relazioni ci permettono di vedere che molte delle sostanze radioattive presenti in natura sono ormai decadute, e quindi non sono più presenti in natura, ma possono essere prodotte solo artificialmente. Per avere un'idea degli ordini di grandezza in gioco, si può dire che la vita media dei vari radionuclidi può variare da 10^9 anni fino a 10^{-6} secondi.

Il decadimento alfa avviene tramite l'emissione di una particella, detta appunto particella alfa, composta da due protoni e due neutroni (nucleo di elio) da parte dell'isotopo di un elemento con elevato numero atomico ($Z > 83$).

Le particelle alfa sono stabili ed hanno : massa = 4.03 uma ; carica elettrica +2.

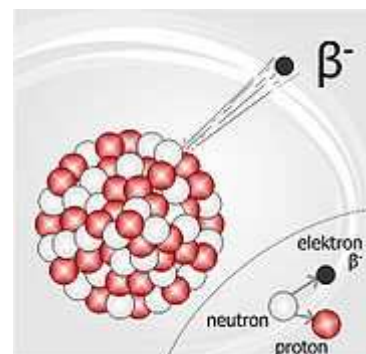
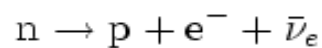
Le particelle alfa, a causa della loro carica elettrica (+2), interagiscono fortemente con la materia e quindi vengono facilmente assorbite dai materiali e possono viaggiare solo per pochi centimetri nell'aria.



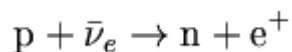
In generale l'energia delle particelle alfa emesse varia tra 4 e 9 MeV ed i tempi di dimezzamento dei nuclei che le emettono variano tra 10¹⁰ y e 10⁻⁷ s. Confrontando l'energia delle particelle alfa e tempo di dimezzamento $t_{1/2}$, si nota che ad energie più basse corrispondono tempi di dimezzamento più lunghi e viceversa: questa è una regola generale osservata e studiata fin dal 1911 da Geiger e Nuttall.

il decadimento β: è una trasformazione nucleare in cui si verifica l'emissione di un elettrone negativo o positivo.

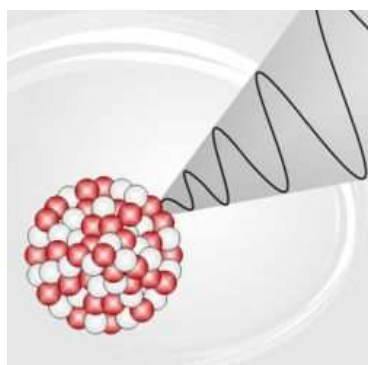
Nel decadimento β⁻, un neutrone viene convertito in un protone, un elettrone e un antineutrino elettronico (l'antiparticella del neutrino):



Nel decadimento β^+ (osservabile in nuclei ricchi di protoni), un protone interagisce con un antineutrino elettronico per dare un neutrone e un positrone (il decadimento diretto del protone in positrone non è stato ancora osservato):



Le particelle β sono stabili ed hanno: massa 0.511 MeV (1/1836 uma); carica elettrica ± 1 . L'interazione delle particelle β con la materia ha generalmente un raggio d'azione dieci volte superiore e un potere ionizzante pari a un decimo rispetto all'interazione delle particelle alfa. La capacità di penetrazione nella materia delle particelle β dipende dalla loro energia.



Emissione di raggi gamma

Figura 1 *Rappresentazione del decadimento α, β e γ*

Il decadimento gamma : la radiazione γ è l'emissione spontanea di quanti da parte del nucleo. Emettendo fotoni il nucleo passa da uno stato eccitato ed uno stato meno eccitato. Vi possono essere transizioni radiative singole, quando il nucleo emette un solo quanto γ e transisce allo stato fondamentale, oppure transizioni in cascata quando l'energia di eccitazione è rimossa tramite l'emissione in cascata di due o più fotoni. La radiazione elettromagnetica nucleare ha una lunghezza d'onda dell'ordine delle dimensioni del nucleo.

Una volta emesse, le radiazioni (particelle elementari e onde elettromagnetiche) si muovono attraverso la materia circostante ed hanno, in varia misura, la capacità di interagire con essa.

Le diverse componenti della radiazione vedi figura 2 (particelle α , β , neutroni, raggi X, raggi γ) hanno diverse modalità di interazione con la materia, con una diversa capacità di penetrazione. La componente meno penetrante è rappresentata dalle particelle α , che sono ad esempio fermate da un semplice foglio di carta, e non riescono ad attraversare lo strato superficiale (strato morto) della pelle umana. Le particelle β hanno un potere di penetrazione più marcato, riuscendo ad attraversare anche alcuni centimetri di tessuto umano. Neutroni, raggi X e raggi γ rappresentano le componenti più penetranti della radiazione. Per queste componenti non è possibile indicare una massima profondità di penetrazione, dal momento che esibiscono un assorbimento di tipo essenzialmente esponenziale.

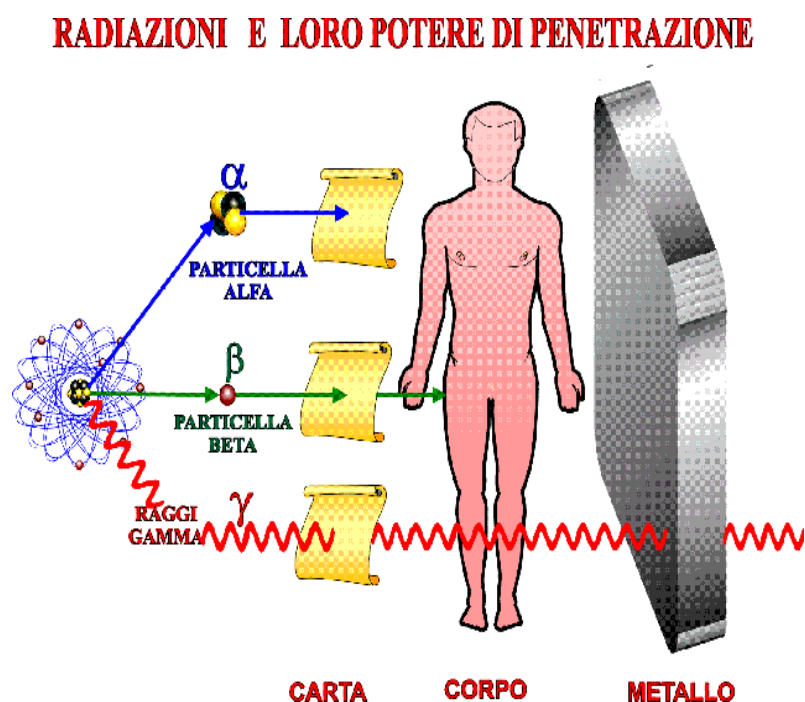


Figura 2 *Rappresentazione delle radiazioni e del loro potere di penetrazione*

Per attenuare fino a livelli sicuri i raggi X e γ di alta energia possono essere richiesti, anche per sorgenti di media attività, consistenti spessori di calcestruzzo (alcuni decimetri) o piombo (alcuni centimetri), destinati ad aumentare anche di un ordine di grandezza per le sorgenti più significative. Analoghi spessori di calcestruzzo o di altri materiali idrogenati possono essere richiesti attorno alle sorgenti neutroniche.

Attraversando la materia le radiazioni depositano in essa parte della loro energia (tutta se vengono interamente assorbite) provocando diversi effetti fisici. L'energia depositata dalle radiazioni ionizzanti nelle sostanze irradiate è considerata in dosimetria il parametro fondamentale per descrivere gli effetti dell'irradiazione in termini quantitativi. In particolare:

- la quantità di energia depositata dalle radiazioni nell'unità di massa del materiale irradiato si chiama dose assorbita e si misura in *gray* (simbolo Gy). La rapidità con cui in un determinato materiale si accumula la dose assorbita si chiama intensità (o rateo) di dose assorbita. Si misura in *gray/ora* (simbolo Gy/h).

Con il termine *radiazioni ionizzanti* ci si riferisce alle radiazioni in grado di rompere - direttamente o indirettamente - il legame che tiene gli elettroni uniti in un atomo, creando così degli ioni positivi e negativi. L'energia necessaria per il processo di ionizzazione dipende dall'atomo coinvolto, e viene convenzionalmente posta a 12 elettronvolt (12 eV); sono dunque radiazioni ionizzanti tutte le particelle elementari con energia superiore a 12 eV, compresi i fotoni del campo elettromagnetico di energia superiore a 12 eV (UV). A seconda che la ionizzazione del mezzo irradiato avvenga per via diretta o indiretta si usa distinguere tra *radiazioni direttamente ionizzanti* e *radiazioni indirettamente ionizzanti*. Sono direttamente ionizzanti le particelle cariche (elettroni, particelle beta, particelle alfa, etc.); sono invece indirettamente ionizzanti i fotoni (raggi X e raggi gamma), i neutroni, etc.

Sorgenti naturali di radiazioni ionizzanti

Il campo di radiazioni dovuto a sorgenti naturali, presente ovunque (e perciò indicato come radiazione di fondo), comprende tre componenti fondamentali:

- i *raggi cosmici* sono costituiti da radiazioni primarie di origine extraterrestre, emesse dai corpi stellari e, in minor misura, dal Sole, accompagnate dalle radiazioni secondarie da esse prodotte nella stessa atmosfera, a seguito di reazioni nucleari ad alta energia;
- i *radioisotopi cosmogenici* (Tab. 1) sono isotopi radioattivi che si producono per effetto dell'interazione dei raggi cosmici con l'atmosfera e con la superficie terrestre; (i più rilevanti sono il ^3H , il ^7Be , il ^{14}C e il ^{22}Na).

Tabella 1 - Caratteristiche dei radioisotopi cosmogenici (generati dall'interazione dei raggi cosmici con l'atmosfera).

Radioisotopo	Rateo di produzione atmosferica (atomi/cm ² s)	Tempo di dimezzamento T	Radiazioni emesse
^3H = idrogeno-3 (trizio)	0.25	12,35 anni	Beta
^7Be = berillio-7	8.1×10^{-2}	53,3 giorni	Gamma
^{10}Be = berillio-10	4.5×10^{-2}	$1,6 \times 10^6$ anni	Beta
^{14}C = carbonio-14	2.5	5730 anni	Beta
^{22}Na = sodio-22	8.6×10^{-5}	2,6 anni	beta+, gamma
^{26}Al = alluminio-26	1.4×10^{-4}	0,74 milioni di anni	beta+, gamma
^{32}Si = silicio-32	1.6×10^{-4}	280 anni	Beta
^{32}P = fosforo-32	8.1×10^{-4}	14.29 giorni	Beta
^{33}P = fosforo-33	6.8×10^{-4}	24.8 giorni	Beta
^{35}S = zolfo-35	1.4×10^{-3}	88.0 giorni	Beta
^{36}Cl = cloro-36	1.1×10^{-3}	0,301 milioni di anni	Beta
^{37}Ar = argon-37	8.3×10^{-4}	35.0 giorni	Gamma
^{39}Cl = cloro-39	1.6×10^{-3}	56.2 minuti	beta, gamma
^{39}Ar = argon-39	4.0×10^{-3}	269 anni	Beta

- i *radioisotopi primordiali* sono isotopi radioattivi presenti fin dall'epoca di formazione del Sistema Solare e non ancora decaduti in forme stabili.

Un diverso contributo alla radiazione naturale di fondo deriva dai radioisotopi naturali presenti a diversa concentrazione nelle acque, nelle rocce e nei terreni. Gran parte di questi radioisotopi si originano gli uni dagli altri nel corso del processo di decadimento e vengono perciò raggruppati in "famiglie", ciascuna originata da un radioisotopo "capostipite" e composta da tutti i radioisotopi che si generano nel decadimento del

capostipite o di uno dei nuclei risultanti. La maggior parte dei radioisotopi naturali può essere in tal modo raggruppata in tre famiglie² (fig.3)

- la famiglia dell'uranio, avente come capostipite l'uranio-238 (²³⁸U)
- la famiglia dell'attinio, avente come capostipite l'uranio-235 (²³⁵U)
- la famiglia del torio, avente come capostipite il torio-232 (²³²Th)

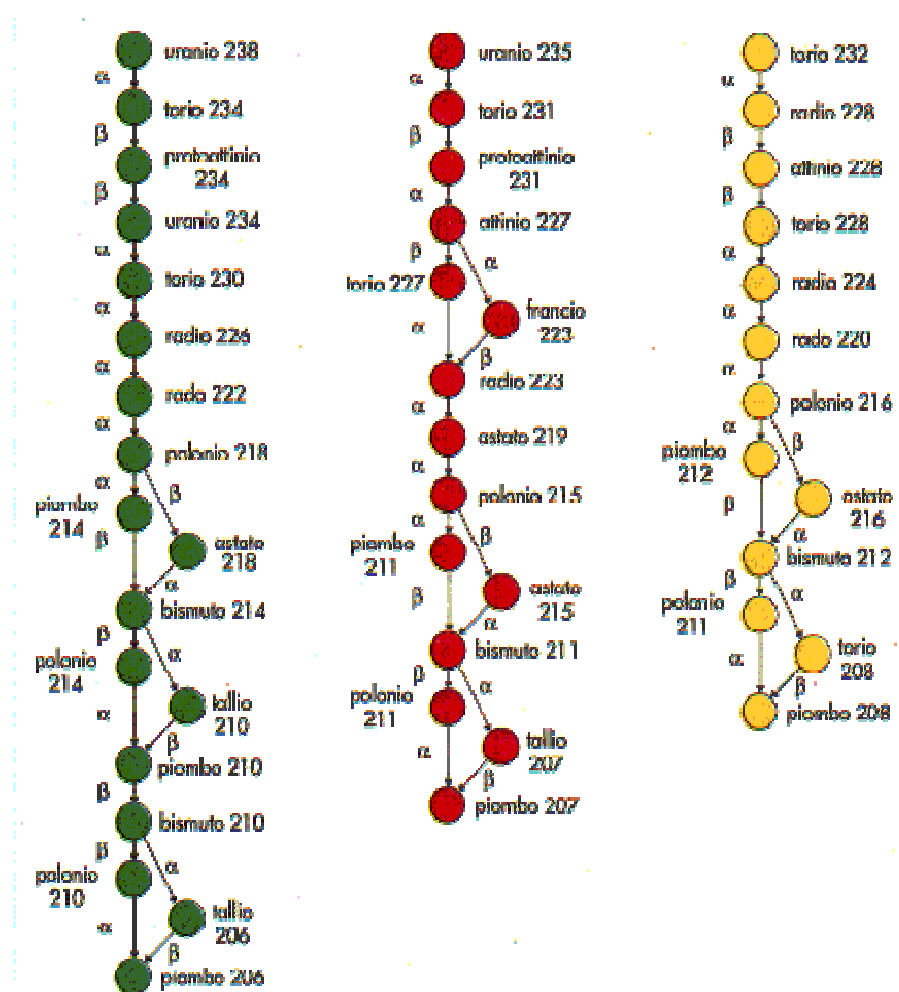


Figura 3 - Famiglie radioattive naturali dell'uranio e del torio.

² Con la radioattività artificiale indotta dall'uomo nei processi e nei reattori nucleari è stata scoperta anche la famiglia del nettunio, di cui possono essere considerati capostipiti o il curio-245 (²⁴⁵Cm) con $T=9,3 \times 10^3$ anni o il plutonio-241 (²⁴¹Pu) con $T=13,2$ anni. Questa famiglia è assente in natura a causa delle brevi vite medie dei suoi componenti, almeno se considerate su scala geologica: infatti, anche se fosse stata presente all'epoca di formazione della terra, tutti i suoi membri sarebbero ormai trasformati nel termine finale stabile, il ²⁰⁹Bi.

L'irradiazione, interna ed esterna, del corpo umano è causata in massima parte dai radioisotopi delle famiglie dell'uranio e del torio. Ai fini dell'esposizione umana i radioisotopi naturali più importanti sono il ^{40}K , ^{238}U , ^{232}Th e i discendenti di questi ultimi due (specie il ^{226}Ra , il ^{220}Rn , il ^{222}Rn , il ^{210}Po e il ^{210}Pb), tutti presenti in maniera ubiquitaria nelle principali matrici ambientali e nei materiali impiegati nella costruzione degli edifici³. La composizione e la concentrazione della radioattività naturale nel terreno variano tuttavia largamente con le caratteristiche geomorfologiche del sito considerato. I terreni agricoli, ad esempio, contengono mediamente circa 300 kBq/m³ di ^{40}K , un radionuclide che emette radiazioni β e γ e viene metabolizzato dalle piante utilizzate per l'alimentazione animale e umana, e che ritroviamo perciò nei cibi di origine vegetale e animale in concentrazioni variabili fra i 50 e i 150 Bq/kg. Nei materiali usati in edilizia si hanno normalmente 10 ÷ 100 Bq/kg di ^{226}Ra e ^{232}Th , con picchi fino a qualche migliaio di Bq/kg, come si verifica per lo scisto di allume (Svezia), per le scorie di silicato di calcio (USA) e per i residui delle miniere di uranio (USA). Il ^{40}K è presente in concentrazioni di attività per lo più comprese tra qualche centinaio ed oltre un migliaio di Bq/kg. Il tufo vulcanico è caratterizzato da concentrazioni di ^{226}Ra e ^{232}Th di 100 ÷ 300 Bq/kg e di circa 1.500 Bq/kg di ^{40}K .

Nel corpo umano sono presenti complessivamente circa 4.000 Bq di ^{40}K , oltre ai radionuclidi cosmogenici di cui si è già parlato: 4.000 Bq di carbonio-14 e 4.000 Bq di ^3H . Radioisotopi delle serie dell'uranio e del torio, distribuiti in modo molto più disuniforme del ^{40}K e dei radionuclidi cosmogenici, vengono anch'essi introdotti nell'organismo perché presenti nei cibi, nell'acqua e nell'aria. Nel caso dell'ingestione i radioisotopi dominanti sono il ^{210}Pb ed il ^{210}Po . Per l'inalazione (escludendo il radon ed i suoi figli a vita breve) il radioisotopo dominante è il ^{210}Pb . I radioisotopi della serie dell'uranio e del torio danno in media dosi efficaci annue pari a 0,062 mSv/anno, sempre non considerando il contributo del radon (esaminato a parte nel paragrafo che segue).

Complessivamente la dose efficace impegnata in media in un anno nel mondo per introduzione di radioisotopi primordiali in aria, cibo e acqua è stimata in 0,23 mSv, di cui 0,17 mSv derivano dal potassio 40 e 0,06 mSv da radioisotopi delle serie dell'uranio e del torio. Questi valori possono essere considerati rappresentativi anche della situazione

³ In ognuna delle famiglie radioattive compare un radioisotopo del radon (Rn), che assume notevole importanza nella determinazione della dose ambientale, tanto da richiedere un'analisi a parte (vedi il paragrafo "L'esposizione al radon").

italiana. Il contributo del radon, non compreso nel valore indicato, è trattato nel paragrafo seguente. La notevole variabilità delle concentrazioni di attività nei cibi può portare al superamento dei valori medi, anche di ordini di grandezza. Ad esempio si riscontrano ad esempio elevati livelli di ^{210}Po in *yerba maté*, una pianta largamente utilizzata nell'America Latina per produrre una bevanda. Per importanza radiologica, comunque, il maggior incremento rispetto ai livelli medi si riscontra nelle regioni artiche e sub-artiche, dove il ^{210}Pb e il ^{210}Po si accumulano nella carne di renna e caribù che costituiscono una parte importante nella dieta degli abitanti di quelle regioni.

Esposizione al radon

Nel decadimento dei radioisotopi delle tre famiglie naturali già ricordate (uranio, torio ed attinio) vengono liberati gas radioattivi, tutti isotopi del radon (^{219}Rn , ^{220}Rn , ^{222}Rn), che diffondono negli ambienti interni mescolandosi con l'aria e dando luogo a fenomeni di accumulo. Di preminente importanza è il ^{222}Rn ($T=3,823$ giorni). Meno rilevante è l'emanazione di ^{220}Rn che, in virtù del suo tempo di dimezzamento molto più breve ($T=55$ s), può decadere con maggiore probabilità nei prodotti solidi suoi discendenti prima di raggiungere l'atmosfera. Trascurabile è l'emanazione di ^{219}Rn , sia per il brevissimo tempo di dimezzamento ($T=4,0$ s) sia per la bassa frazione del capostipite della famiglia cui appartiene, il ^{235}U , nell'uranio naturale (0,725%). Questi gas radioattivi sono inalati, cioè introdotti nell'organismo attraverso la respirazione, e sono responsabili in Italia di una dose efficace media di circa 2 mSv/anno, con variazioni molto sensibili a seconda delle caratteristiche geologiche della località considerata, della tipologia dei fabbricati e dei materiali impiegati nella costruzione. Si sono ad esempio valutate dosi di 0,3 mSv/anno nelle abitazioni di Torino, 1 mSv/anno a Milano, 1,5 mSv/anno a Roma e 2,5 mSv/anno a Viterbo. I risultati ottenuti nella campagna nazionale di misura della concentrazione di radon *indoor* (*Indagine nazionale sulla radioattività naturale nelle abitazioni*) condotta da ISS e ANPA sono illustrati in figura 4, ed evidenziano una concentrazione media annuale di radon di 77 Bq/m³, che può essere assunta come rappresentativa della concentrazione di radon nelle abitazioni e negli altri luoghi chiusi. Per l'aperto si può assumere come indicativo il valore di 6 Bq/m³ fornito dalla ICRP. Le valutazioni UNSCEAR quantificano

rispettivamente in 1,2 mSv/anno e 0,07 mSv/anno i valori medi mondiali della dose efficace dovuta al ^{219}Rn e al ^{220}Rn ⁴.

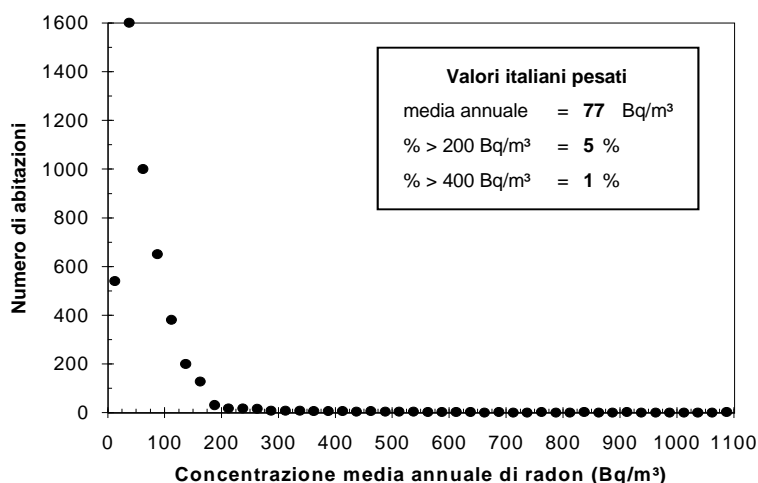


Figura 4 - Presenza di radon nelle abitazioni italiane e percentuali di case con concentrazioni maggiori rispettivamente di 200 e 400 Bq/m³. I valori medi nazionali riportati nel riquadro sono ottenuti dai valori medi di ogni regione pesati sulla base del relativo numero di famiglie residenti.

Sorgenti artificiali di radiazioni ionizzanti

Fall-out

A partire dagli anni Quaranta la radioattività ambientale ha incorporato, oltre ai contributi di origine naturale, un nuovo contributo di origine antropica dovuto alla dispersione nell'ambiente (*fall-out*) dei radioisotopi liberati dalle esplosioni nucleari nell'atmosfera.

La sperimentazione di armi nucleari nell'atmosfera ha avuto due picchi: il primo, tra il 1952 ed il 1958, il secondo, più marcato, nel 1961 e nel 1962. Si è avuto un totale di 520 esplosioni di ordigni a fissione o fusione termonucleare per una potenza complessiva di 545 megaton (figura 5). Gli effetti sulla dieta hanno avuto un andamento strettamente correlato a quello degli esperimenti (figure 6 e 7).

⁴ Vista la netta prevalenza del contributo del radon-222, in genere con il termine di radon ci si riferisce abitualmente a questo isotopo, trascurando quelli del radon-220 e del radon-219.

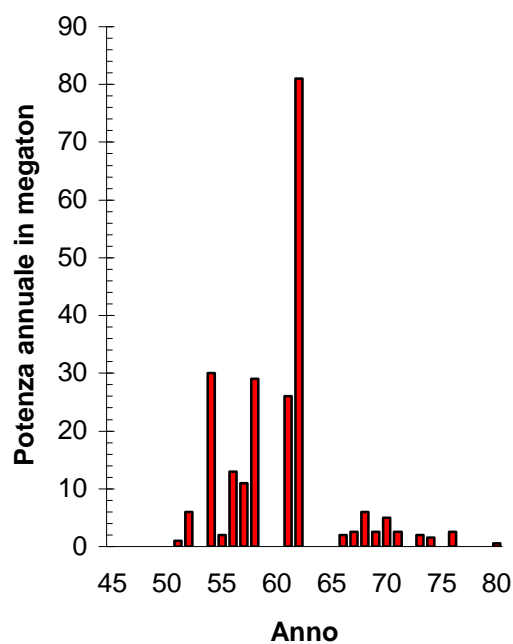
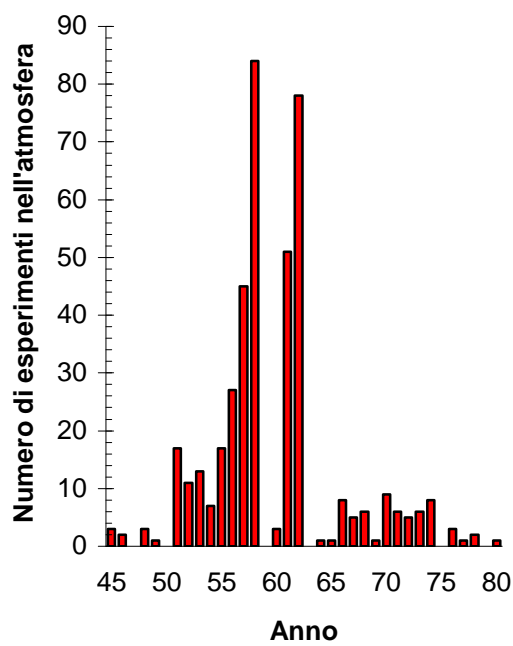


Figura 5 - Esplosioni nucleari nell'atmosfera (Fonte. UNSCEAR)

Le dosi imputabili ai radioisotopi emessi nelle esplosioni nucleari (oltre 200) vengono assorbite in tempi diversi, a seconda della loro vita media. Così, il ^{95}Zr ($T=64$ giorni) ha già fornito tutto il suo contributo di dose; ^{137}Cs , ^{90}Sr ($T\approx 30$ anni) e ^3H forniranno la maggior

parte del loro contributo entro la fine del secolo; solo il ^{14}C ($T=5730$ anni) rimarrà attivo per lungo tempo, ma con contributi di scarso rilievo.

Dal *fall-out* nucleare deriva attualmente una dose efficace media individuale di circa 0,01 mSv/anno, ma la dose equivalente collettiva associata è la più alta fra quelle provenienti dalle sorgenti prodotte dall'uomo: è infatti stimata intorno ai 30 milioni di Sv-uomo, tenendo conto del contributo di tutte le esposizioni dal momento delle esplosioni all'infinito. Le stime globali includono il contributo dovuto alle dosi assorbite dalle popolazioni dislocate in prossimità dei siti usati per i test atmosferici. A tale proposito si deve sottolineare che, sebbene i contributi su scala globale così valutati siano certamente modesti, alcune dosi locali hanno raggiunto livelli significativi.

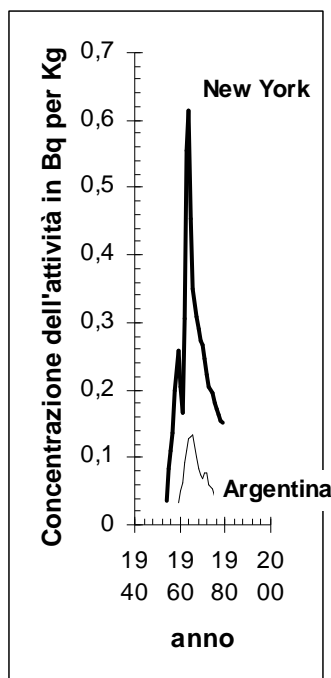


Figura 6 - ^{90}Sr nella dieta (Fonte. UNSCEAR)

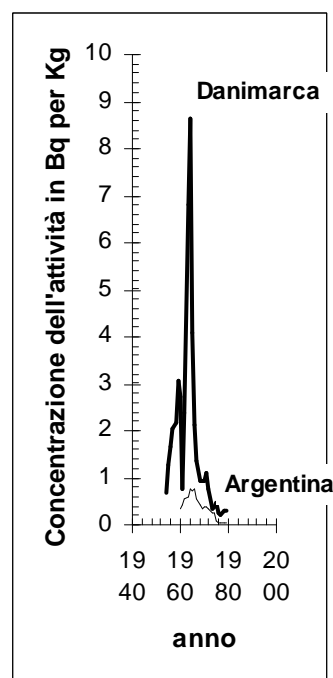


Figura 7 - ^{137}Cs nella dieta (Fonte. UNSCEAR)

Energia nucleare

La produzione di energia nucleare comporta la generazione di ingenti quantitativi di radioattività, ed è certamente una fonte di rischio potenziale, anche se in condizioni normali il suo contributo al fondo ambientale è pressoché trascurabile, avendo la

tecnologia nucleare previsto fin dall'inizio sofisticate pratiche di isolamento, condizionamento e smaltimento di tutti i materiali radioattivi generati.

Le miniere e gli impianti di lavorazione del minerale di uranio immettono nell'ambiente materiali radioattivi naturali che altrimenti resterebbero geologicamente isolati dalla biosfera. Anche i processi di produzione del combustibile a base di uranio danno origine a limitati scarichi aeriformi e liquidi, ma le dosi relative a questo particolare momento del processo globale sono molto piccole.

Durante l'utilizzazione in centrale, nel combustibile si vanno gradualmente accumulando sostanze altamente radioattive, che restano tuttavia confinate in grandissima parte all'interno degli elementi di combustibile. Inoltre, durante il normale funzionamento di un impianto nucleare si generano materiali radioattivi la cui varietà, quantità e tipologia variano notevolmente da impianto a impianto, e anche in funzione del tempo, soprattutto perché il lavoro di manutenzione (che dà luogo al maggior contributo per gli scarichi di *routine*) varia nel tempo.

Dopo essere stato utilizzato nelle centrali, il combustibile irraggiato viene immagazzinato temporaneamente nelle piscine di decadimento esistenti presso gli impianti, e successivamente avviato a un deposito di stoccaggio definitivo o in alternativa all'impianto di riprocessamento, dove si provvede ad estrarne i materiali riutilizzabili⁵. Il riprocessamento produce rifiuti ad alta attività che finora sono stati stoccati in depositi temporanei, anche se sono allo studio metodi di smaltimento definitivo tali da escludere ragionevolmente che la radioattività dei rifiuti possa raggiungere l'uomo e in generale la biosfera.

L'utilizzo dei combustibili fossili e del calore endogeno

È poco nota, ma significativa, la circostanza che l'estrazione e la combustione del carbone e dei combustibili fossili in generale hanno l'effetto di accrescere la concentrazione ambientale di radioisotopi naturali, prelevandoli dai giacimenti e immettendoli nella biosfera, talvolta in modo praticamente incontrollato.

⁵ Attualmente meno di un decimo del combustibile irraggiato su scala mondiale viene riprocessato.

La radioattività immessa nell'ambiente in seguito alla combustione del carbone⁶ dipende dalla concentrazione delle sostanze radioattive normalmente presenti in esso (concentrazione che può variare anche di un fattore cento da giacimento a giacimento) e di conseguenza nelle ceneri (la maggior parte delle sostanze radioattive si concentra nelle ceneri). Essa dipende inoltre dalla temperatura di combustione, dalla ripartizione fra le ceneri pesanti depositate sul fondo della fornace e le ceneri volatili trascinate dai fumi, dall'efficienza dei dispositivi di controllo delle emissioni e dalla destinazione finale delle ceneri e dei filtri. Le dosi efficaci collettive per GWa di energia elettrica generata bruciando carbone sono state valutate da 0,5 a 6 Sv-uomo a seconda del tipo di impianto; fanno eccezione gli impianti cinesi che, per la loro tipologia e per l'attività dei radioisotopi presenti nel carbone impiegato, arrivano a generare dosi efficaci collettive di 50 Sv-uomo/GWa. Questo contributo porta la dose collettiva da combustione del carbone a un valor medio mondiale di 20 Sv-uomo/Gwa.

Un'altra sorgente poco nota di radioattività artificiale è data dalla pratica, in uso soprattutto nei paesi nordici, di produrre energia attraverso la combustione della torba, sostanza caratterizzata da elevate concentrazioni di radioisotopi naturali. Questi si trovano normalmente disciolti nelle acque di superficie e sotterranee, che fluendo nel sottosuolo raggiungono i giacimenti di torba, dove subiscono un processo di assorbimento superficiale e quindi di progressiva concentrazione. La successiva estrazione e combustione della torba determina l'immissione nella biosfera dei radioisotopi, con una dose efficace collettiva stimata in 2 Sv-uomo/GWa.

Anche la produzione di energia geotermica rappresenta una sorgente di esposizione alle radiazioni. Sebbene l'incidenza sulla produzione energetica globale sia piccola, molti paesi - fra i quali l'Italia - utilizzano le riserve di vapore e di acqua calda sotterranee per generare elettricità o per riscaldare gli edifici. La dose efficace collettiva proveniente dallo sfruttamento dell'energia geotermica è attualmente stimata in 2 Sv-uomo/GWa, ma l'affinamento delle tecnologie di utilizzazione del calore endogeno potrebbe elevare sensibilmente in futuro l'importanza relativa di questo contributo.

⁶ Problemi analoghi si presentano nella combustione del petrolio e del gas naturale, sia pure in dimensioni notevolmente più contenute.

EFFETTI BIOLOGICI DELLE RADIAZIONI

Sommando i diversi contributi ambientali (di origine naturale e antropica), in condizioni normali ciascun membro della popolazione italiana è esposto mediamente a una dose efficace individuale di circa 4,2 mSv/anno, cui contribuiscono grosso modo per tre quarti il fondo naturale e per un quarto le attività antropiche.

La dispersione di radioisotopi nell'ambiente - in seguito a eventi naturali, a carenze di controllo o a situazioni incidentali - può esporre la popolazione a dosi da irraggiamento esterno (contatto) e da irraggiamento interno (ingestione e inalazione) aggiuntive a quelle medie naturali, con esposizioni che possono protrarsi anche per lunghi periodi. I radioisotopi dispersi nell'ambiente possono entrare a far parte delle catene biologiche, e quindi subire processi di concentrazione che possono portarli ad accumularsi in alcune sostanze destinate all'alimentazione animale e umana, dando luogo così a condizioni di rischio particolari. Ad esempio, si è constatato che le principali fonti di piombo-210 e il polonio-210 sono gli alimenti e il fumo di sigaretta [1]. Si concentrano nel pesce e nei molluschi, esponendo a dosi elevate chi consuma grandi quantitativi di questi alimenti. Analoghi sono gli effetti dei fenomeni di concentrazione degli stessi radioisotopi nei muschi e nei licheni, e conseguentemente nella carne degli erbivori che, come le renne, se ne nutrono, cui già si è accennato in precedenza. In tal modo decine di migliaia di persone che vivono nell'estremo nord dell'Europa e che si cibano abitualmente di carne di renna subiscono normalmente dosi che superano di oltre 30 volte i livelli medi ambientali. Altri processi di accumulo della radioattività nelle catene biologiche sono stati scoperti in Australia, dove alcune popolazioni che si nutrono di carni e frattaglie di pecora e di canguro subiscono esposizioni che superano di oltre 70 volte i livelli medi normali.

È noto che il tabacco e i suoi prodotti presentano attività di ^{210}Po e ^{210}Pb relativamente alte e che il fumo da sigaretta accresce sensibilmente l'intake di entrambi i radionuclidi con conseguente aumento della loro concentrazione nel tessuto polmonare. Questo può contribuire significativamente all'incremento della dose interna e del numero di casi di tumore polmonare riscontrato fra i fumatori in tutte quelle nazioni, come l'Italia, con un alto consumo di sigarette [2-4]. Le principali vie attraverso le quali il ^{210}Pb e ^{210}Po (radioisotopi della famiglia radioattiva dell' ^{238}U) arrivano al tabacco sono essenzialmente due: le deposizioni secche ed umide dall'atmosfera sulla parte aerea della pianta e l'assorbimento

dal terreno da parte dell'apparato radicale; quest'ultima via diventa tanto più importante tanto maggiore è il contenuto di humus e di fertilizzanti fosfatici nel terreno.

Generalmente il rapporto tra l'attività del ^{210}Pb e quella del ^{210}Po nell'aerosol atmosferico si aggira intorno a 6, tuttavia, considerando l'intervallo di tempo che intercorre tra la raccolta delle foglie di tabacco e la produzione della sigaretta (da pochi mesi a 2 anni), in queste ultime si considera raggiunto l'equilibrio secolare tra il ^{210}Pb e il ^{210}Po . La combustione del tabacco contenuto in una sigaretta, che avviene a circa 700°C , produce fumo contenente un particolato insolubile ad alta attività di ^{210}Po e ^{210}Pb che, in ragione del 50% circa, viene inalato dal fumatore. Le particelle α del ^{210}Po , raggiunto il tessuto polmonare del fumatore, riescono a percorrere tratti di circa $40\ \mu\text{m}$ e si concentrano in zone estremamente ridotte. Il ^{210}Pb agisce da sorgente a lungo termine di ^{210}Po .

La presenza dei fenomeni di concentrazione e di accumulo dei radioisotopi nelle catene biologiche complica in misura notevole la valutazione delle dosi cui la popolazione è esposta in seguito alla dispersione di radioattività nell'ambiente, e costringe gli esperti di radioprotezione a fare sistematico uso di sofisticati modelli di diffusione.

Effetti sulle cellule e sui tessuti biologici

Attraverso il processo di ionizzazione, le radiazioni interagiscono con i tessuti biologici e possono danneggiare il DNA.

Il danneggiamento del DNA può impedire la sopravvivenza o la riproduzione della cellula. A basse dosi, quando i danni provocati nelle cellule sono lievi e la velocità di danneggiamento non è elevata, i normali meccanismi biologici di riparazione cellulare - sempre attivi in ogni organismo - possono porvi riparo, e non si hanno quindi necessariamente conseguenze dannose sulla funzione cellulare e sui tessuti. Talvolta la riparazione può tuttavia non essere perfetta, dando luogo a una cellula vitale ma modificata; questa potrà continuare a riprodursi generando un clone di cellule modificate, che può evolvere alla fine in un tumore. Se la cellula modificata ha la funzione di trasmettere informazioni genetiche alla discendenza, allora è probabile che possa trasmettere informazioni imprecise, influenzando sul suo corretto sviluppo. Al crescere della

dose e della sua intensità i danni cellulari diventano sempre più numerosi e più gravi e tali da interferire con la funzione cellulare. I meccanismi di riparazione e rigenerazione possono rivelarsi inadeguati, e la cellula, danneggiata irreparabilmente, può morire, immediatamente o dopo un certo numero di divisioni. Alle alte dosi il danno cellulare può estendersi fino a interessare vaste regioni del tessuto colpito, pregiudicandone la funzione organica.

Effetti deterministici e stocastici

Gli effetti biologici delle radiazioni vengono anche classificati sulla base della loro riconducibilità alle cause iniziali in *effetti deterministici* ed *effetti stocastici*.

- I danni che si producono con sintomi organici evidenti e in stretto rapporto con l'esposizione prendono il nome di effetti deterministici delle radiazioni: si tratta generalmente di manifestazioni di tipo acuto, la cui gravità dipende dalla dose di radiazione assorbita, nel senso detto in precedenza. Gli effetti deterministici si manifestano generalmente entro breve tempo dall'esposizione per effetto di dosi e intensità di dose elevate, e comprendono tutti gli effetti immediati e quegli effetti somatici tardivi che presentano caratteristiche ad essi confrontabili quanto ad esistenza di un valore soglia e gradualità di manifestazione.
- I restanti effetti somatici tardivi (essenzialmente cancro e leucemia) e gli effetti genetici, che non mostrano invece uno stretto ed evidente legame con l'esposizione, e che possono o meno manifestarsi anche a distanza di anni, sono chiamati effetti stocastici delle radiazioni: dalla dose di radiazione assorbita dipende solo la loro probabilità, ma non la gravità.

In termini sanitari gli effetti deterministici si traducono in manifestazioni immediate e certe, sempre di tipo somatico, direttamente correlabili con l'esposizione subita, e la cui gravità dipende dall'entità di questa. Gli effetti stocastici si traducono invece in manifestazioni tardive e probabili di tipo somatico (cancro, leucemia, ecc.) o genetico, la cui probabilità, come appena detto dipende dalla dose assorbita.

Gli effetti stocastici delle radiazioni non sono dunque distinguibili da quelli determinati da altre cause, i cosiddetti casi spontanei; e la loro incidenza in larghi gruppi di individui esposti si mantiene sempre modesta, almeno se confrontata con quella dei casi spontanei. Queste circostanze comportano difficoltà oggettive nel quantificare, anche su base epidemiologica, gli effetti stocastici delle radiazioni, specie nel campo delle basse dosi, che in definitiva è quello che maggiormente interessa in radioprotezione. Da tutti gli studi eseguiti su larghi gruppi di individui esposti, e in particolare sui sopravvissuti dei bombardamenti atomici di Hiroshima e Nagasaki, è risultato evidente un aumento statisticamente significativo della frequenza di tumori in gruppi esposti a dosi efficaci dell'ordine di alcune centinaia di mSv, con probabilità crescente al crescere della dose. Per dosi inferiori, dell'ordine ad esempio delle decine di mSv, non è stato invece finora possibile, neanche con le tecniche epidemiologiche più raffinate, dimostrare, né ovviamente escludere, che vi sia un incremento delle patologie investigate, essendo ogni eventuale effetto dell'irradiazione nascosto dalle fluttuazioni statistiche dei casi spontanei. In particolare non è stato possibile stabilire se vi sia una soglia di dose al di sotto della quale si possa ragionevolmente escludere il verificarsi di danni stocastici. Come conseguenza, per consentire di valutare a fini di prevenzione i rischi delle esposizioni a basse dosi, è stata cautelativamente adottata, in radioprotezione, l'ipotesi della linearità senza soglia; si ipotizza, in altre parole, che a qualsiasi dose, per quanto piccola, sia associata una probabilità diversa da zero che si manifesti un danno di tipo stocastico e che questa probabilità sia proporzionale alla dose efficace. Effetti somatici di un tipo particolare sono quelli legati all'irradiazione del feto nell'utero. In questa categoria sono compresi sia effetti deterministici (principalmente aborto spontaneo, malformazioni e difetti dello sviluppo, a seconda delle dosi assorbite e del periodo dell'irradiazione) sia effetti tardivi stocastici, del tutto assimilabili a quelli di un individuo già nato. La probabilità di induzione di questi ultimi effetti è ritenuta sostanzialmente più alta di quella relativa all'esposizione dell'adulto, in virtù della particolare radiosensibilità dei tessuti fetali. Giova sottolineare che, anche nel caso di malformazioni, in questo caso si tratta di effetti somatici e non di effetti genetici, essendo prodotti a partire da un danneggiamento di tessuti fetali o embrionali e non da una modificazione del corredo genetico di una cellula riproduttiva.

Gli effetti delle basse dosi

Alle basse dosi di radiazione - quelle confrontabili con le dosi derivanti dal fondo naturale - possono determinarsi esclusivamente effetti di tipo stocastico, con probabilità che si riduce al ridursi della dose assorbita. Al diminuire della dose la probabilità che si manifestino conseguenze diventa praticamente nulla, e gli effetti dell'irraggiamento non possono essere materialmente rilevati su base scientifica.

Per avere comunque una base di valutazione - destinata più a progettare le misure di radioprotezione che a valutare i reali effetti sanitari dell'esposizione - gli organismi nazionali e sovranazionali di radioprotezione adottano l'ipotesi di proporzionalità lineare senza soglia già ricordata. Questa ipotesi ha permesso di determinare, per estrapolazione a partire dai dati ricavati per gli effetti verificati ad alte dosi⁷, coefficienti di rischio specificamente destinati alle valutazioni "a priori" ai fini dell'applicazione dei principi della radioprotezione di cui si tratterà nel seguito (giustificazione, ottimizzazione e determinazione dei limiti di esposizione).

Questa ipotesi di linearità porta sicuramente a sovrastimare gli effetti delle piccole dosi, e quindi agisce nel senso della sicurezza. Giova però osservare che, se questo approccio è sicuramente ragionevole in fase di prevenzione, tuttavia l'utilizzazione degli stessi coefficienti per calcolare "a posteriori" l'effetto di una determinata esposizione a basse dosi, deve essere considerata con cautela, poiché le ragioni alla base dell'ipotesi di risposta lineare senza soglia, sulla cui base essi sono stati ricavati, sono ancora in attesa di validazione sperimentale.

⁷ La base di riferimento per la valutazione è costituita dagli effetti osservati nelle popolazioni esposte ai bombardamenti atomici di Hiroshima e Nagasaki e in alcune popolazioni esposte accidentalmente ad esplosioni nucleari in atmosfera, in gruppi di pazienti sottoposti a irradiazioni terapeutiche, dal monitoraggio dei lavoratori esposti nelle attività di estrazione di minerali radioattivi e - più recentemente - nelle popolazioni esposte agli effetti del disastro di Chernobyl.

Le grandezze radioprotezionistiche

Gli effetti biologici delle radiazioni non dipendono solo dalla dose assorbita dai tessuti, ma anche dal tipo di radiazione e dalle condizioni di irraggiamento (organi colpiti e rapidità con cui la dose è accumulata). Si è perciò venuta sviluppando, accanto alla dosimetria fisica basata sul concetto fondamentale di dose assorbita, anche una dosimetria radioprotezionistica, specificamente finalizzata alla valutazione dei rischi sanitari derivanti dall'esposizione del corpo umano e dei suoi organi alle radiazioni ionizzanti. Scopo e oggetto di questa branca della dosimetria è la quantificazione di indicatori di rischio basata da un lato sulla misura della dose assorbita nei tessuti viventi, e dall'altro sulla valutazione dei restanti fattori (tipo di radiazione, tipo di tessuto) che ne influenzano gli effetti biologici.

- La grandezza radioprotezionistica che quantifica il rischio associato all'irradiazione di un singolo organo o tessuto tenendo conto del tipo di radiazione è la dose equivalente. Il suo valore si ottiene moltiplicando la dose assorbita dal tessuto biologico per un fattore correttivo che dipende dal tipo di radiazione, detto *fattore di peso della radiazione* (vedi tabella 1). La dose equivalente si misura in *sievert* (simbolo Sv). Una dose equivalente di 1 Sv ad un determinato organo comporta per definizione lo stesso rischio di effetti stocastici dell'irradiazione dello stesso organo con una dose assorbita di 1 Gy di radiazione X o γ .
- La grandezza protezionistica destinata a quantificare il rischio complessivo per l'individuo irradiato, combinando gli effetti di diverse dosi in diversi organi o tessuti si chiama dose efficace. Questa grandezza tiene conto della diversa radiosensibilità dei diversi organi o tessuti e del corpo umano nel suo complesso e si ottiene sommando i contributi dovuti a ciascun organo irradiato. Il contributo di un particolare organo è pari alla dose equivalente all'organo moltiplicato per il fattore di peso indicato nella tab. 2. I fattori di peso sono determinati dalla ICRP in relazione alla sensibilità biologica dei vari organi o tessuti (tab. 3). La dose efficace si misura ancora in *sievert*. Una dose efficace di 1 Sv è per definizione equivalente, sotto il profilo del rischio di effetti stocastici, ad un'irradiazione uniforme dell'intero organismo con una dose equivalente di 1 Sv a ciascun organo. Il rischio complessivo associato all'irradiazione di un individuo si misura

dunque calcolando la dose efficace secondo lo schema rappresentato nella figura 1; a questo fine occorre moltiplicare le dosi assorbite dai vari organi per gli appropriati fattori di peso della radiazione (in modo da ottenere le corrispondenti dosi equivalenti) e successivamente per gli appropriati fattori di peso per i tessuti (in modo da ottenere il corrispondente contributo alla dose efficace) ed infine sommare i risultati così ottenuti. In relazione alle due forme di irradiazione descritte in precedenza, si suole parlare di dose interna o di dose esterna riferendosi, con ovvio significato dei termini, ai contributi alle dosi equivalenti o alla dose efficace dovuti alle due vie di irradiazione (vedi schema fig. 8)

Tabella 2 - Fattore di peso delle radiazioni per il calcolo della dose equivalente. (Fonte: ICRP)

<i>tipo di radiazione</i>	<i>fattore di peso</i>
fotoni in genere	1
raggi X	1
raggi γ	1
elettroni (particelle β) di tutte le energie	1
neutroni di energia < 10 keV	1
neutroni di energia compresa fra 10 e 100 keV	10
neutroni di energia compresa fra 100 keV e 2 MeV	20
neutroni di energia compresa fra 2 e 20 MeV	10
neutroni di energia maggiore di 20 MeV	5
neutroni di cui non si conosca l'energia	10
protoni di energia superiore a 2 MeV	5
particelle di carica unitaria e massa superiore a 1 amu	10
particelle α , particelle di carica multipla o non conosciuta	20
frammenti di fissione, nuclei pesanti	20



Figura 8 - Schema di calcolo delle dosi equivalenti e della dose efficace.

Tabella 3 - Fattore di peso per i diversi organi e tessuti del corpo umano per il calcolo della dose efficace (Fonti: ICRP, d.lgs.230/95).

<i>organo o tessuto irradiato</i>	<i>fattore di peso ICRP</i>	<i>fattore di peso decreto lgs n. 230/95 (*)</i>
Gonadi	0,20	0,25
Mammelle	0,05	0,15
midollo osseo (rosso)	0,12	0,12
Polmoni	0,12	0,12
Tiroide	0,05	0,03
superfici ossee	0,03	0,03
Cute	0,01	
Colon	0,12	
Stomaco	0,12	
Vescica	0,05	
Fegato	0,05	
Esofago	0,05	
superfici ossee	0,01	
altri organi e tessuti	0,05 (**)	0,30 (***)

(*) I fattori di peso indicati nel D. Lgs. 230/95 si riferiscono in realtà al calcolo dell'equivalente di dose efficace, una grandezza radioprotezionistica analoga alla dose efficace impiegata nel predetto decreto. Essi sono qui riportati essenzialmente per mostrare il continuo progressivo affinamento dei concetti e degli strumenti tecnici impiegati in radioprotezione.

(**) Surrene, cervello, intestino crasso superiore, intestino tenue, rene, muscolo, pancreas, milza, timo e utero.

(***) Si valuta l'equivalente di dose medio per i cinque (altri) organi o tessuti più esposti (eccettuati cristallino, pelle, avambracci, mani, piedi e caviglie) utilizzando per ciascuno un fattore di ponderazione 0,06.

La tabella 4 fornisce un quadro riepilogativo delle principali grandezze di interesse radioprotezionistico e delle relative unità di misura indicate dal Sistema Internazionale (SI). Per completezza sono indicate anche le corrispondenti unità speciali precedentemente in uso. Per non appesantire ulteriormente il quadro, e per evitare possibili confusioni legate a spiccate somiglianze terminologiche, non si è ritenuto utile presentare, qui e nel paragrafo precedente, grandezze protezionistiche pur importanti, quali in particolare l'equivalente di dose e le grandezze da esso derivanti, né il fattore di qualità necessario per la loro definizione o per la valutazione dei fattori di ponderazione della radiazione per nei casi non indicati nelle raccomandazioni ICRP.

Sfortunatamente la normativa italiana vigente fa ancora uso - in parte - di queste ultime grandezze; il prossimo recepimento della direttiva 96/29 EURATOM comporterà tuttavia l'aggiornamento di questo aspetto della normativa.

Tabella 4 - Riepilogo delle principali grandezze di interesse radioprotezionistico.

Grandezza	Unità di misura del SI	Vecchia unità di misura	Equivalenza fra le unità
Attività	bequerel (Bq)	curie (Ci)	1 Bq = $2,7 \times 10^{-11}$ Ci
Tempo di dimezzamento	unità di tempo	unità di tempo	-
Esposizione	coulomb/chilogrammo (C/kg)	röntgen (R)	1 R = $2,58 \times 10^{-4}$ C/kg
Intensità di esposizione	röntgen/ora (R/h)	röntgen/ora (R/h)	-
Intensità di esposizione	röntgen/ora (R/h)	röntgen/ora (R/h)	-
Dose assorbita	gray (Gy)	rad (rad)	1 Gy = 100 rad
Intensità di dose assorbita	gray/ora (Gy/h)	rad/ora (rad/h)	1 Gy/ora = 100 rad/ora
Dose equivalente	sievert (Sv)	rem (rem)	1 Sv = 100 rem
Intensità di dose equivalente	sievert/ora (Sv/h)	rem/ora (rem/h)	1 Sv/ora = 100 rem/ora
Dose efficace	sievert (Sv)	rem (rem)	1 Sv = 100 rem
Intensità di dose efficace	sievert/ora (Sv/h)	rem/ora (rem/h)	1 Sv/ora = 100 rem/ora
Dose collettiva	sievert-uomo	rem-uomo	1 Sv-uomo = 100 rem-uomo

BIBLIOGRAFIA

- [1] Skwarzec B., Struminska D.I., Ulatowski J., Golebiowski M. Determination and distribution of ^{210}Po in tobacco plants from Poland. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 250/2:319-322; 2001.
- [2] Kiltbau G.F., Cancer risk in relation to radioactivity in tobacco. *Radiologic Technology* 67/3:217-222; 1996.
- [3] Peres A.C., Hiromoto G. Evaluation of ^{210}Pb and ^{210}Po in cigarette tobacco produced in Brazil. *Journal of Environmental Radioactivity* 62:115-119; 2002.
- [4] Abd El-Aziz N., Khater A.E.M., Al-Sewaidan H.A. Natural radioactivity contents in tobacco. *International Congress Series* 1276:407-408; 2005.
- [5] DOSSIER 1999 LA RADIOPROTEZIONE IN ITALIA LA SALVAGUARDIA DELLA POPOLAZIONE E DELL'AMBIENTE. ENEA-Ente per le nuove tecnologie l'energia e l'ambiente.

Foto: Particella alfa, beta e gamma, Henry Bequerel, Pierre Curie e Maria Sklodowska da Wikipedia l'enciclopedia libera.

CAPITOLO 2

LE APPLICAZIONI DELLA RADIOATTIVITA' E DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI

Le attività umane e le applicazioni che implicano l'uso diretto o indiretto della radioattività sono innumerevoli. Le più significative riguardano:

- in medicina nella radiodiagnostica e radioterapia
- nella ricerca scientifica e tecnologica sia come argomento di studio che strumento di indagine
- nell'industria come emettitori di particelle beta utilizzati nell'industria cartaria per la misurazione dello spessore dei fogli di carta oppure sorgenti di neutroni vengono utilizzate presso gli impianti termoelettrici per quantificare in tempo reale il contenuto di silicio, ferro, alluminio, zolfo e calcio del carbone, onde valutare preventivamente l'emissione di inquinanti conseguente alla combustione, traccianti γ dispersi nell'olio di lubrificazione dei motori di nuova progettazione e costruzione consentono, nella fase di ingegnerizzazione, di quantificarne sul banco di prova il consumo di olio o ancora, nella sterilizzazione di materiali sanitari e presidi chirurgici mediante impianti di sterilizzazione con sorgenti radioisotopiche, e tanti altri ancora.
- In campo agrobiologico l'uso delle radiazioni ha permesso lo studio e lo sviluppo di nuove tecniche antiparassitarie e di fertilizzazione che sono oggi impiegate in agricoltura e nella prevenzione sanitaria
- nella sicurezza ad esempio il controllo del contenuto dei bagagli negli aeroporti, si effettua con stazioni radiografiche che impiegano raggi X , un'altra applicazione è rappresentata dai rivelatori di fumo degli impianti antincendio a camera di ionizzazione, basati sull'impiego di emettitori alfa.
- la geologia e la prospezione mineraria, la presenza di radioisotopi a vita lunga nei minerali consente di datare con buona approssimazione le formazioni geologiche, ricavando informazioni preziose per la ricerca di minerali.
- nella protezione dell'ambiente come uso di traccianti radioattivi per monitorare la dispersione e la diffusione degli inquinanti. Mescolando ai combustibili piccole

quantità di traccianti è possibile verificare l'efficienza dei sistemi di captazione delle ceneri e di depurazione dei fumi oppure nella sterilizzazione dei fanghi di risulta degli impianti di depurazione o anche l'uso dei traccianti consente inoltre di studiare la mappatura delle falde acquifere e delle risorse idriche sotterranee.

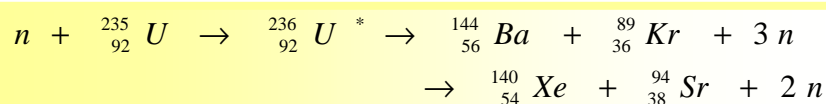
- In archeologia le radiazioni sono alla base di due importanti tecniche di datazione : la prima misurando il suo contenuto in ^{14}C , la seconda attraverso termoluminescenza.
- produzione di energia nucleare descritta nel paragrafo successivo

La produzione di energia nucleare

I nuclei pesanti ($Z > 92$), se bombardati ad es. con neutroni, tendono a decadere spezzandosi in due nuclei di massa circa metà di quella di partenza, emettendo inoltre altri neutroni, che possono provocare una reazione a catena. reattori nucleari sono basati proprio sulla reazione di fissione nucleare a catena indotta da neutroni nell'uranio-235 e nel plutonio-239. Bombardando nuclei di uranio con neutroni si ottengono moltissime sostanze radioattive. Se i neutroni passano attraverso sostanze particolari (moderatori: es. *acqua o paraffina*) che diminuiscono la loro velocità, l'effetto radioattivo aumenta molto. Inoltre vengono emessi altri neutroni che possono essere utilizzati a loro volta per continuare il processo a catena (fig 1).



Figura 1 *Come avviene la fissione dell'atomo*



Nella fissione viene emessa energia di circa 200 MeV (contro i 20 eV delle reazioni chimiche) ; 1g di fissione porta 30000 kWh di energia che è pari al consumo familiare di 5 anni.

Il ${}^{239}\text{Pu}$ (Z=94) dà una reazione di fissione, proprio come il ${}^{235}\text{U}$ (Z=92) però, a differenza dell' ${}^{235}\text{U}$ è difficile da controllare.

Si stima che oggi ci siano circa 1000 tonnellate di ${}^{239}\text{Pu}$ prodotto da reattori nucleari conservate in vari depositi sparsi nel mondo.

Esaurita la carica di ${}^{235}\text{U}$, le barre del reattore debbono essere estratte e sostituite, ma sono ancora piene di ${}^{238}\text{U}$, ${}^{239}\text{Pu}$, ${}^{229}\text{Th}$, ${}^{231}\text{Pa}$, e molti altri nuclei radioattivi della famiglia che inizia con l'attinio.

Dal 1987 l'Italia ha chiuso col nucleare, ma 13 centrali straniere sono a un passo da noi. L'Anpa (Agenzia nazionale per la protezione ambientale) le considera come se fossero praticamente nel territorio italiano, per le conseguenze di un incidente sulla popolazione e sull'ambiente. In fig 2 è riportata una mappa delle fonti di un possibile inquinamento nucleare per l'Italia.

Come si evidenzia, il nostro Paese è circondato da una serie di centrali nucleari stanziate a pochi centinaia di km dai confini. Sono evidenziati in rosso i centri di rilevamento di radiazioni che dovrebbero dare tempestivamente l'allarme in caso di incidente nucleare.



Figura 2 Mappa delle fonti di un possibile inquinamento nucleare per l'Italia

Alla fine del 1997 erano in funzione 437 centrali in 32 paesi, per una potenza installata complessiva di 352.000 MWe. L'energia nucleare fornisce attualmente il 17% dell'elettricità prodotta nel mondo, contributo che sale al 25% nella media dei paesi OCSE e al 35% nella media dei paesi dell'Unione Europea, con valori locali anche molto elevati .

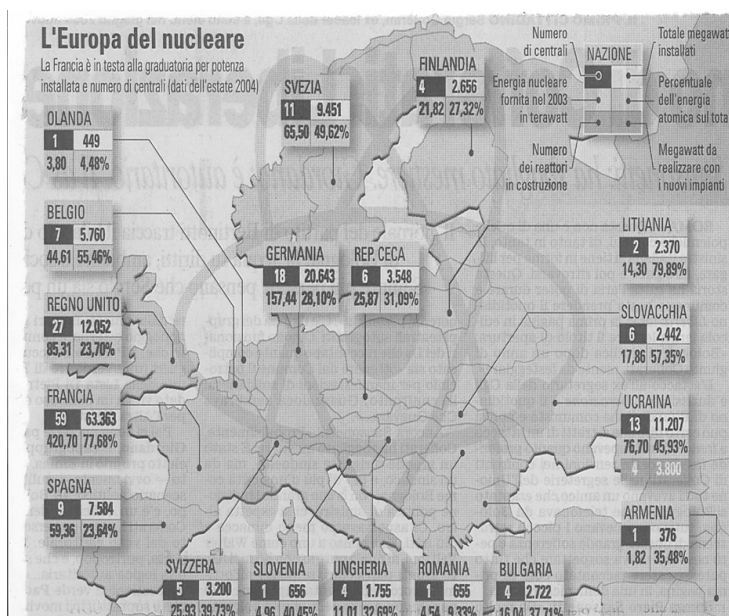


Figura 3 Il nucleare in Europa

La fig 4 riassume gli aspetti positivi e negativi legati alla produzione di energia nucleare.

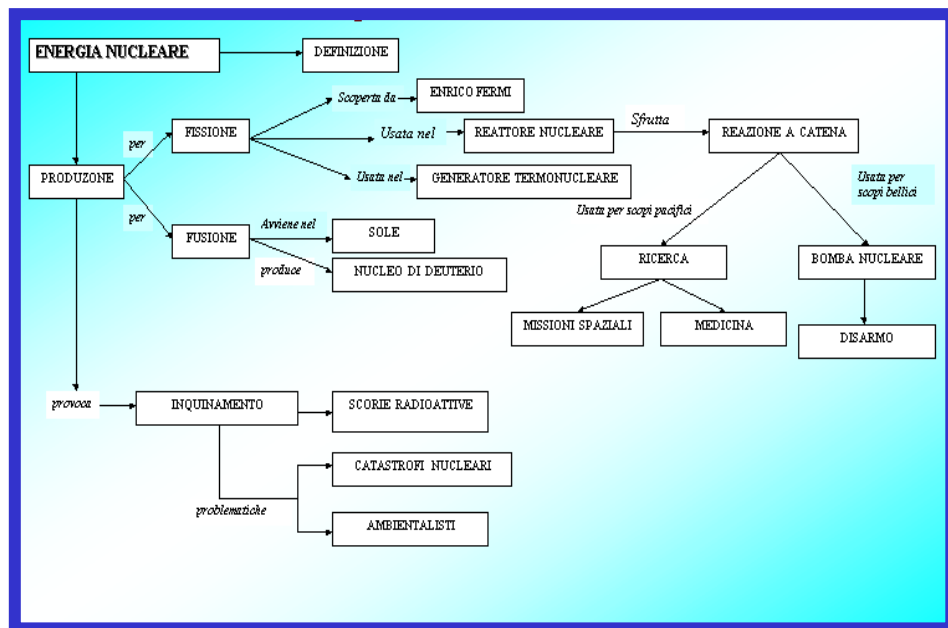


Figura 4 Aspetti positivi e negativi legati alla produzione di Energia Nucleare

Il Laboratorio di Sorveglianza Ambientale del Centro Ricerche della Casaccia è storicamente impegnato nel controllo della radioattività ambientale da origine naturale o artificiale dispersa nell'ambiente relativo proprio al Sito Nucleare che ha il centro nell'Impianto TRIGA.

Il Sito è sulla Via Anguillarese a circa 30 chilometri dalla Città di Roma e nasce storicamente come Centro di studi Nucleari CNRN nel 1958 e si sviluppa nel tempo con la costruzione di Impianti, Laboratori e Servizi. Nel tempo assume poi la definizione di CNEN per divenire l'attuale ENEA (maggiori dettagli sullo sviluppo delle attività del laboratorio di sorveglianza ambientale del sito Casaccia sono descritte in appendice 7)

CAPITOLO 3

METODI RADIOCHIMICI

I metodi radiochimici sono di tre tipi, a seconda dell'origine della radioattività: analisi di attivazione, metodi in cui la radioattività viene introdotta fisicamente nel campione mediante l'aggiunta di una quantità nota di specie radioattiva detta tracciante, misura della radioattività naturale.

I metodi di attivazione si basano sulla misura della radioattività o radiazione prodotta nei campioni quando vengono irradiati con neutroni, particelle cariche, come ioni idrogeno, deuterio e elio. L'analisi per attivazione neutronica (NAA) può essere eseguita misurando i raggi gamma immediati durante l'irradiazione o misurando i raggi gamma ritardati. La misura dell'emissione dei raggi gamma ritardati è più comune. Un campione ed uno standard vengono irradiati contemporaneamente con neutroni (o altri tipi di radiazione). I campioni possono essere solidi, liquidi o gas, ma i primi due sono i più comuni. Gli standard dovrebbero avvicinarsi quanto più possibile al campione sia chimicamente che fisicamente. In genere, i campioni e gli standard sono contenuti in piccole fiale di polietilene; all'occorrenza si usano fiale di quarzo sigillate al calore. Bisogna prestare cura a che i campioni e gli standard siano esposti allo stesso flusso di neutroni. Il tempo di irradiazione dipende da una varietà di fattori, e spesso viene determinato in modo empirico. Molto spesso, si usa un tempo di esposizione che è, grosso modo, da tre a cinque volte l'emivita del prodotto dell'analita. I tempi di irradiazione in genere variano da pochi minuti a varie ore. Quando l'irradiazione è terminata, spesso i campioni e gli standard vengono lasciati decadere per un periodo che di nuovo varia da pochi minuti a diverse ore. Durante il raffreddamento, decadono le interferenze a vita breve, per cui esse non influenzano l'esito dell'analisi. Un altro motivo per lasciar raffreddare un campione irradiato è per ridurre il rischio per la salute, connesso proprio ai livelli più elevati di radioattività.

I metodi di attivazione neutronica offrono diversi vantaggi, tra cui l'elevata sensibilità,

la minima preparazione del campione e la facilità di calibrazione. Spesso questi metodi sono non distruttivi, e per questo motivo si applicano all'analisi di oggetti artistici, monete, campioni forensi e reperti archeologici. Gli svantaggi principali metodi di attivazione consistono nella necessità di un'attrezzatura ingombrante e costosa e nel fatto che si è costretti a maneggiare materiali radioattivi. Un altro limite sta nel lungo intervallo di tempo richiesto per completare le analisi quando si usano radionuclidi a vita lunga. I metodi di diluizione isotopica (uso di traccianti) sono precedenti a quelli di attivazione neutronica. Nella tecnica di diluizione isotopica si utilizzano sia nuclidi stabili che radioattivi. Questi ultimi, comunque, sono più convenienti, per la facilità con cui si può determinare la concentrazione dell'isotopo. I metodi di diluizione isotopica richiedono la preparazione di una quantità di analita in forma radioattiva. Si mescola poi al campione una massa nota di questa contrassegnata isotopicamente. Dopo un trattamento che garantisca omogeneità tra le specie attive e non attive, una parte dell'analita viene isolata chimicamente sotto forma di un composto purificato. Conteggiando una massa nota di questo prodotto, si può calcolare il grado di diluizione del materiale attivo e correlarlo alla quantità di sostanza non attiva presente nel campione d'origine. Si noti che non è richiesto un recupero quantitativo della specie. Pertanto, contrariamente alla tipica separazione analitica, l'analisi può essere eseguita su porzioni che garantiscono un prodotto ad elevata purezza sul quale basare la determinazione. E' proprio questa indipendenza dalla necessità di un isolamento quantitativo che determina la grande selettività del metodo di diluizione isotopica.

Infine, per quanto riguarda la misura della radiazione proveniente da una sorgente radioattiva, essa può essere rivelata e misurata sostanzialmente allo stesso modo della radiazione X. Le camere a riempimento di gas, i contatori a scintillazione e i rivelatori a semiconduttori sono tutti sensibili alle particelle alfa e beta e ai raggi gamma, perché l'assorbimento di tali particelle produce ionizzazione o fotoelettroni, che possono a loro volta produrre migliaia di coppie di ioni. Viene così prodotto un impulso rivelabile per ogni particella che raggiunge il trasduttore (convertitore di energia radiante in segnale elettrico). Esistono trasduttori a gas, contatori a scintillazione e trasduttori a semiconduttore. Un altro metodo di elaborazione è il conteggio di fotoni qui di seguito descritto.

Fotoconteggio

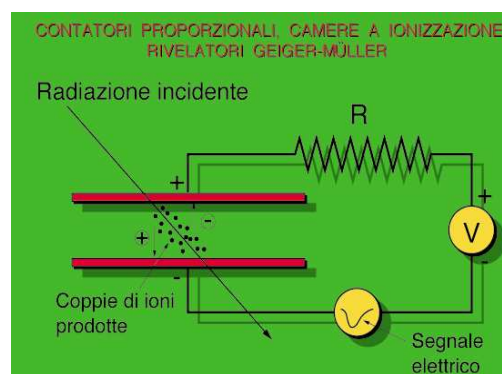
In questi dispositivi il singolo impulso elettrico, prodotto da un quanto di radiazione, è assorbito dal trasduttore e conteggiato; la potenza del fascio è quindi registrata digitalmente in termini di numero di conteggi per unità di tempo. Questo tipo di operazione richiede che i tempi di risposta del trasduttore e dell'elaboratore di segnale siano rapidi, in modo che i singoli fotoni possano essere accuratamente trasdotti e registrati; il fotoconteggio è quindi applicabile solo a fasci di intensità relativamente bassa. Quando l'intensità del fascio aumenta, gli impulsi fotonici incominciano a sovrapporsi e si può allora misurare solo una corrente stazionaria, che rappresenta il numero medio di impulsi al secondo. Se il tempo di risposta del trasduttore è elevato, si verifica la sovrapposizione di impulsi ad intensità fotoniche relativamente basse, mentre per tempi di risposta brevi, il trasduttore individua più facilmente i fotoni senza alcuna sovrapposizione.

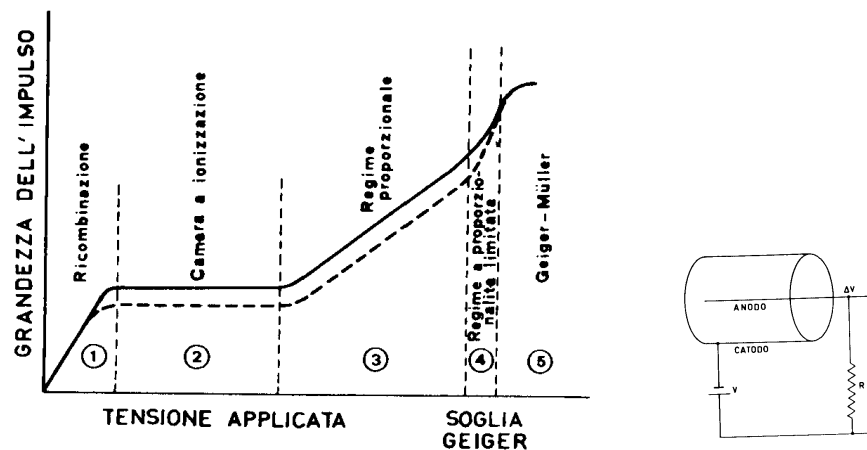
Per deboli sorgenti di radiazione, il conteggio di fotoni fornisce generalmente dati di intensità più accurati di quelli ottenibili da misure di corrente medie. Il miglioramento può essere attribuito al fatto che gli impulsi del segnale sono generalmente ben maggiori di quelli derivanti dal rumore di fondo di sorgente, trasduttore e rispettivi circuiti elettronici; la separazione del segnale dal rumore può essere poi ottenuta con un *discriminatore di ampiezza di impulso*. Gli analizzatori di ampiezza d'impulso sono costituiti da uno o più selettori d'ampiezza, configurati in modo tale da fornire spettri di energia. Un analizzatore a canale singolo tipicamente ha un intervallo di tensione di circa 10 V, con una finestra da 0,1 a 0,5 V. La finestra può essere variata manualmente o automaticamente così da esplorare l'intero intervallo, fornendo quindi dati per uno spettro a dispersione di energia (vedi spettrometria γ). Gli analizzatori multicanale generalmente contengono varie centinaia di canali separati, ognuno dei quali agisce come un canale singolo regolato per una differente finestra di tensione. Il segnale proveniente da ogni canale viene immagazzinato in una locazione di memoria dell'analizzatore corrispondente all'energia del canale, consentendo il conteggio e la registrazione simultanea di un intero spettro.

Trasduttori a gas basati sulla ionizzazione

Sono rivelatori basati sulla misura della ionizzazione prodotta in sostanze esposte alle radiazioni. Attraversando una qualsiasi sostanza le radiazioni producono, in modo diretto o indiretto, coppie di ioni, costituite da un elettrone e dal residuo atomico o molecolare.

L'energia media W ceduta al mezzo per coppia di ioni prodotta è maggiore del potenziale di ionizzazione (tra 5 e 20 eV) poiché parte dell'energia è trasferita al mezzo in processi di eccitazione anziché di ionizzazione. W , il numero di coppie di ioni prodotte a parità d'energia ceduta, dipende dal tipo e dall'energia della radiazione e dal materiale. Il dispositivo impiegato consiste in una camera cilindrica riempita con gas, in cui sono immersi due elettrodi. Un elettrodo è costituito dalle pareti della camera (catodo), l'altro dal filo centrale (anodo). Esponendo la camera alle radiazioni si formano ioni nel gas di riempimento che saranno trasportati verso gli elettrodi, grazie al campo elettrico esistente tra anodo e catodo. La velocità degli elettroni, maggiore rispetto a quella degli ioni positivi, dipende dall'intensità del campo elettrico, dalla natura e pressione del gas. La carica raccolta sull'anodo causa una rapida diminuzione del potenziale dell'anodo (dipende dal numero di elettroni raccolti) e produce una corrente nel circuito esterno. L'ampiezza dell'impulso sull'anodo è funzione anche del potenziale applicato tra gli elettrodi. In fig. è riportata l'ampiezza dell'impulso prodotto in un rivelatore in funzione del potenziale applicato. La curva a tratto pieno è per particelle alfa quella tratteggiata per particelle beta.





Regime di ricombinazione

Quando il potenziale applicato è modesto l'ampiezza dell'impulso cresce al crescere della tensione. Infatti, per piccole differenze di potenziale il tempo richiesto per la raccolta degli ioni è lungo da permettere che un gran numero di ricombinazioni. Al crescere della tensione, il tempo richiesto per la raccolta diminuisce, la ricombinazione diminuisce, la carica e l'ampiezza dell'impulso aumenta.

Regime di camera a ionizzazione

Quando la differenza di potenziale aumenta, l'ampiezza dell'impulso non varia più con la tensione (pianerottolo). In tale situazione, la tensione è sufficiente perché la ricombinazione risulti trascurabile e tutti gli ioni prodotti raggiungono gli elettrodi. In questo regime di funzionamento la corrente media che fluisce nel circuito esterno dipende dall'intensità della radiazione e dal tipo e tende ad un valore limite, detto corrente di saturazione. Gli strumenti che si avvalgono della misura della corrente sono detti camere a ionizzazione. Le camere a ionizzazione non richiedono un'alimentazione particolarmente stabile. La tensione richiesta, perché si instauri il regime di camera a ionizzazione, cresce al crescere dell'intensità delle radiazioni poiché con ionizzazione elevata nei dintorni del catodo si raccolgono un gran numero di ioni positivi (lenti) la cui carica positiva spaziale diminuisce il campo elettrico, l'aumento della ricombinazione e la diminuzione della sensibilità della camera.

Regime proporzionale

Quando gli ioni vanno verso gli elettrodi vengono accelerati e acquistano energia tra un urto e il successivo. Aumentando la tensione gli elettroni possono acquistare un'energia tale da produrre a loro volta ionizzazione. Aumentando ancora la tensione anche gli elettroni secondari potranno a loro volta causare ionizzazione. Per ogni elettrone prodotto inizialmente si viene a formare una cascata o valanga di ioni. Il numero di elettroni che raggiungono l'anodo per ogni elettrone primario è detto amplificazione A (10^5 - 10^6). Per rivelatori a camera cilindrica ed anodo centrale, è possibile trovare un intervallo di tensione in cui A dipende esclusivamente dalla tensione applicata e non dal luogo in cui è prodotta la ionizzazione primaria. L'ampiezza dell'impulso risulta proporzionale al numero di elettroni inizialmente prodotti, cioè in definitiva all'energia ceduta al gas. Ciò si ottiene quando l'intensità del campo elettrico è tale per cui si instaura la moltiplicazione solo in una zona molto ristretta attorno all'anodo. In questa situazione, gli elettroni primari, ovunque siano stati prodotti, vengono trascinati verso la corona cilindrica dell'anodo senza produrre moltiplicazione; giunti alla corona, invece, danno inizio alla cascata la cui estensione viene controllata in quanto non dipende dalla posizione in cui vengono prodotti gli ioni primari.

Per ottenere una buona proporzionalità è necessaria un'alimentazione in tensione notevolmente stabile per evitare variazioni di A .

Il contatore proporzionale permette di discriminare tra diversi tipi di radiazioni.

Se esso è esposto contemporaneamente a particelle alfa e beta di uguale energia (3,5 MeV), il gas è aria, si rileva che l'alfa perderà tutta la sua energia nella C.I. producendo 10^5 ioni.

Lungo lo stesso percorso la particella Beta produce una ionizzazione molto più piccola: 100 ioni.

Si possono progettare circuiti che discriminano i tipi di impulsi.

Regime di Geiger-Muller

Quando la differenza di potenziale supera un valore, soglia di Geiger, l'ampiezza

dell'impulso diventa indipendente dal numero iniziale di ioni formati. La differenza di potenziale è così elevata che anche una singola ionizzazione, ovunque sia prodotta, produce una scarica poiché ciascun ione secondario produce una cascata di ionizzazioni. La scarica risulterebbe permanente se non intervenissero fenomeni di carica spaziale a fermarla.

Gli impulsi forniti dai contatori G. M. sono molto più grandi di quelli dei contatori proporzionali. A questo vantaggio, tuttavia, si contrappone l'impossibilità di distinguere i vari tipi di radiazione incidente.

Contatori a scintillazione

La luminescenza prodotta quando una radiazione colpisce un materiale fosforescente costituisce uno dei più vecchi metodi di rivelazione della radioattività ed è ancora ampiamente usata in certi tipi di misura. Nelle prime applicazioni, era necessario il conteggio manuale dei lampi prodotti quando ogni fotone, o particella radiochimica, colpiva uno schermo di solfuro di zinco. La noia di osservare e conteggiare i singoli lampi indusse Geiger a sviluppare dei trasduttori a gas che non solo erano più pratici ed affidabili, ma anche più sensibili alla radiazione. L'avvento dei tubi fotomoltiplicatori e in particolare dei materiali fosforescenti, ha tuttavia dato nuova linfa a questa tecnica e il contatore a scintillazione è nuovamente diventato uno dei metodi più importanti nella rivelazione della radiazione.

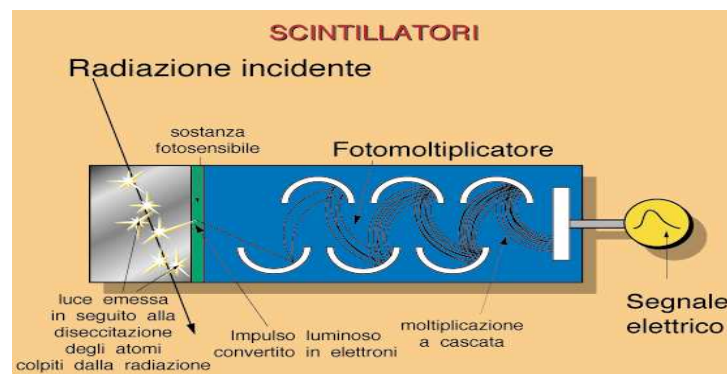
I *rivelatori a scintillazione* moderni maggiormente usati sono costituiti da un cristallo trasparente di ioduro di sodio attivato per drogaggio con circa 100,2% di ioduro di tallio. Il cristallo ha generalmente la forma di un cilindro di 8-10 cm; una delle superfici piane è rivolta verso il catodo di un tubo fotomoltiplicatore. Quando la radiazione incidente attraversa il cristallo, la sua energia viene dapprima ceduta allo *scintillatore*, e successivamente rilasciata sotto forma di fotoni di radiazione fluorescente. Ogni particella o fotone primario produce varie migliaia di fotoni di lunghezza d'onda di circa 400 nm in un periodo di circa 0,25 μ s (il tempo morto). Il tempo morto di uno scintillatore è quindi decisamente inferiore a quello di un rivelatore a gas.

I lampi di luce prodotti da un cristallo scintillatore vengono trasmessi al fotocatodo di un tubo fotomoltiplicatore e quindi convertiti in impulsi elettrici che possono essere

amplificati e conteggiati. Una caratteristica importante degli scintillatori è che il numero di fotoni prodotti in ogni lampo è proporzionale all'energia della radiazione incidente. Di conseguenza, l'accoppiamento con un analizzatore d'ampiezza d'impulso per monitorare il segnale di uscita di un contatore a scintillazione costituisce la base dei fotometri a dispersione di energia.

Schema di uno scintillatore NaI (TI)

Questo strumento è molto sensibile e può rilevare qualsiasi tipo di radiazione. Oltre a permettere il conteggio, può misurare l'energia delle particelle. Si tratta dunque di uno strumento abbastanza completo, pratico e robusto; sicuramente molto utile anche per scopi pratici.



Oltre ai cristalli di ioduro di sodio, sono stati utilizzati vari scintillatori organici, come lo stilbene, l'antracene e il terfenile. Questi composti hanno, in forma cristallina, tempi morti da 0,01 a 0,1 μ s. Sono stati sviluppati anche scintillatori organici liquidi, che hanno il vantaggio di presentare un autoassorbimento di radiazione minore di quello dei solidi. Un esempio di scintillatore liquido è una soluzione di p-terfenile in toluene. Con l'adozione dei fotomoltiplicatori, che trasformano l'impulso di luce in un impulso elettrico, i rivelatori a scintillazione hanno acquistato grande importanza. Il metodo della scintillazione è uno dei metodi più sensibili ed è utile per rivelare le radiazioni β e X. Poiché è normalmente possibile misurare l'energia delle particelle incidenti, si presta anche a misure spettrometriche. Gli scintillatori sono divisi in 4 classi:

- cristalli organici

- soluzioni di sostanze organiche in solventi organici
- soluzioni di sostanze organiche in materie plastiche (scintillatori plastici).
- cristalli inorganici.

Le caratteristiche richieste ad uno scintillatore sono:

- la capacità di trasformare in energia luminosa una elevata frazione dell'energia ceduta al cristallo per ionizzazione ed eccitazione.
- trasparenza dei rivelatori alla luce emessa nelle scintillazioni.
- tempo di decadimento degli impulsi di luce sufficientemente breve.
- composizione spettrale della luce emessa compatibile con una buona risposta dei fotomoltiplicatori.

Nei migliori scintillatori, l'energia media che deve essere assorbita per ogni fotone emesso è generalmente compresa tra 15 e 60 eV.

Negli scintillatori organici (cristalli e soluzioni plastiche o liquide), a parità di energia depositata, una particella α produce solo 1/10 della quantità di luce prodotta da una particella β .

Negli scintillatori inorganici, invece, la frazione di energia delle particelle α trasformata in luce è più elevata, essi perciò sono più adatti per la rivelazione di queste particelle.

Rivelatori con buona efficienza sono:

Cristalli di NaI attivati al tallio (inorganico) (raggi X, e γ).

Cristalli di antracene ($C_{14}H_{10}$) (organico) per radiazioni β .

Solfuro di Zinco (inorganico), che presenta un elevato assorbimento della luce emessa e deve essere usato in strati sottili, risultando adatto per le particelle α .

I contatori organici ed i gas nobili hanno un tempo di decadimento particolarmente breve: per il transtilbene ($C_{14}H_{12}$), è circa $5 \cdot 10^{-9}$ secondi, per NaI (inorganico) è $0,25 \mu s$.

Il *tempo di decadimento* è il tempo richiesto per l'emissione del 63% della luce. La compatibilità della luce emessa con la risposta dei fotomoltiplicatori è soddisfacente per gli scintillatori più usati.

Quando ciò non avviene, esempio negli scintillatori liquidi, si può ovviare all'inconveniente aggiungendo sostanze che possono assorbire la luce emessa nelle scintillazioni ed emettere luce con diversa composizione spettrale.

I fotomoltiplicatori sono valvole a vuoto spinto in cui sono collocati alcuni elettrodi: il

fotocatodo, i dinodi e l'anodo. I fotoni di luce da misurare uscenti dallo scintillatore vengono fatti incidere sul fotocatodo, costituito da uno strato di sostanza fotosensibile come antimoniuro di cesio (Cs_3Sb), che emette elettroni secondari per effetto fotoelettrico. Generalmente sul fotocatodo si ottiene un elettrone per 18 eV di energia luminosa incidente.

Rivelazione mediante semi-conduttori.

E' possibile realizzare dispositivi nei quali il gas è sostituito da un semi-conduttore. Anche in questo caso, a seguito della ionizzazione prodotta nel mezzo, si liberano cariche elettriche che vengono raccolte su elettrodi esterni per mezzo di campi elettrici.

Questo tipo di rivelatori si presta molto bene per misure sulle particelle cariche il cui percorso nei solidi è di qualche millimetro o meno. In un solido a struttura cristallina i livelli energetici degli elettroni, soprattutto di quelli che negli atomi isolati avrebbero occupato le orbite esterne, risultano raccolti in bande che contengono un gran numero di livelli di energia poco differenti tra loro.

Il numero dei livelli occupati è uguale al numero di elettroni. Le proprietà conduttrici di un solido cristallino dipendono dalla disposizione dei livelli energetici che risultano occupati all'interno delle bande. Nei conduttori metallici, la banda di più alta energia, detta banda di conduzione, è parzialmente piena e gli elettroni che occupano quei livelli energetici sono liberi di muoversi attraverso il cristallo. Nel caso dei semi-conduttori e degli isolanti si ha una banda, di valenza, completamente piena di quegli elettroni legati che formano i legami interatomici mentre la banda di più alta energia è vuota. Tra la banda di valenza e la banda di conduzione, si ha un intervallo di energia non permessa: banda proibita. Perché avvenga la conduzione è necessario fornire agli elettroni un'energia non inferiore alla larghezza della banda proibita ΔE .

La differenza tra semi-conduttori e isolanti risiede nel diverso valore di ΔE . Nei primi è dell'ordine di 1 eV, nei secondi di 10 eV.

Nei semi-conduttori si può avere una modesta conducibilità a temperatura ambiente poiché l'energia d'agitazione termica può permettere il passaggio di elettroni dalla banda di valenza a quella di conduzione. Ciò non è possibile nel caso degli isolanti.

Quando un elettrone viene portato nella banda di conduzione, nella banda di valenza un livello viene lasciato libero (lacuna): si crea una coppia elettrone-lacuna.

Se viene applicato al cristallo un campo elettrico l'elettrone si muove nella banda di conduzione. È possibile pensare anche alla lacuna come ad una carica elettrica positiva che si muove sotto l'azione del campo elettrico in verso opposto.

Nei rivelatori a semiconduttore, la ionizzazione prodotta da Radiazioni Ionizzanti crea coppie elettroni-lacune che si muovono liberamente nel cristallo sotto l'azione di campi elettrici esterni: in modo analogo a quanto avviene nei gas. Anche in questo caso gli elettroni si muovono più velocemente delle lacune. Anche in questo caso, un dispositivo sottoposto ad intensi campi di radiazione può essere soggetto ad effetto di carica spaziale tale da ostacolare la raccolta degli elettroni. Allo stato attuale per le radiazioni ionizzanti sono utilizzabili solo due sostanze: il silicio ed il germanio. I semiconduttori contengono sempre una certa quantità di impurità che modificano la struttura delle bande in modo determinante per le caratteristiche elettriche del materiale.

Si distinguono due tipi di impurità che producono effetti completamente differenti: i donatori e gli accettori. I donatori sono atomi che contengono più elettroni di valenza di quanti ne sono richiesti per i legami interatomici. Gli elettroni in eccesso, debolmente legati, possono passare facilmente alla banda di conduzione. Il risultato è come se fosse diminuita la larghezza della banda proibita. Atomi di Fosforo aggiunti ad un cristallo di silicio riducono l'ampiezza della banda proibita a soli 0,045 eV.

Gli accettori come il Boro non contengono un numero di elettroni sufficiente a saturare i legami di valenza. Viene allora facilmente accettato un elettrone da un atomo circostante producendo lo spostamento della lacuna in quella che sarebbe stata una banda di valenza piena.

Se le impurità sono costituite prevalentemente da donatori il semi-conduttore è detto di tipo n; se prevalgono gli accettori si parlerà di semi-conduttori di tipo p.

Se il numero di donatori e quello di accettori è bilanciato il semi-conduttore è detto intrinseco. In questo caso i portatori di carica sono esclusivamente quelli prodotti dall'agitazione termica che sposta elettroni dalla banda di valenza a quella di conduzione come nel caso di un semi-conduttore puro. Le impurità possono essere naturalmente presenti in un semiconduttore o introdotte artificialmente con una

procedura: drogaggio.

Le impurità, così come i difetti cristallini, possono agire da trappole che trattengono temporaneamente i portatori di carica. In questo caso, anche se l'elettrone o la lacuna vengono successivamente rilasciati, il ritardo può far sì che essi non contribuiscano al segnale di uscita.

Un altro processo che può influenzare la raccolta delle cariche è la ricombinazione, che comporta la perdita di una coppia elettrone-lacuna, prima che questa possa essere raccolta dal campo elettrico applicato.

Misura della radioattività alfa

Per ridurre al minimo l'autoassorbimento i campioni che emettono particelle alfa vengono in genere sottoposti a conteggio come sottili depositi preparati per elettrodeposizione o per vaporizzazione. Spesso, tali depositi vengono poi sigillati con sottili strati di materiale e conteggiati in contatori proporzionali a flusso di gas privi di finestre o in camere di ionizzazione. Oppure, vengono posizionati immediatamente vicino ad un rivelatore di stato solido, sotto vuoto, per il conteggio. Il conteggio a scintillazione liquida sta diventando sempre più importante per conteggiare gli emettitori alfa grazie alla semplicità di preparazione del campione maggiore sensibilità per la rivelazione delle particelle alfa. Poiché gli spettri delle particelle alfa sono formati da picchi di energia discreti e caratteristici, sono abbastanza utili per l'identificazione. Gli analizzatori ad altezza di impulso consentono di registrare gli spettri delle particelle alfa.

Misura della radioattività beta

Per sorgenti beta che hanno energie maggiori di 0.2 MeV si conteggia di solito uno strato uniforme del campione con un Geiger a finestra sottile o un contatore a tubo proporzionale. Per emettitori beta a bassa energia, carbonio-14, zolfo-35 e trizio, sono preferibili i contatori a scintillazione liquida. In questo caso, il campione è disciolto in una soluzione del composto che scintilla. Una fiala contenente la soluzione viene poi collocata tra due tubi fotomoltiplicatori alloggiati in uno scomparto impenetrabile alla

luce. L'emissione dei due tubi viene convogliata in un contatore a coincidenza, un dispositivo elettronico che registra un conteggio solo quando gli impulsi dai due trasduttori arrivano contemporaneamente. Il contatore a coincidenza riduce il rumore di fondo a causa della bassa probabilità che tale rumore interessi allo stesso tempo entrambi i sistemi. Il conteggio a scintillazione interessa la maggioranza delle determinazioni delle particelle beta, grazie all'ampio utilizzo di questa tecnica nei laboratori clinici. Poiché di solito gli spettri beta sono continui, l'analisi ad altezza di impulso non è così utile come con le particelle alfa.

Misura della radiazione gamma

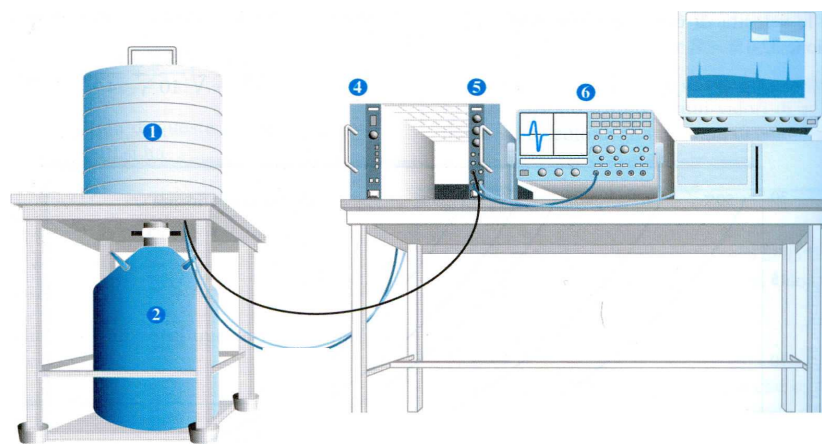
L'assorbimento delle radiazioni γ ($e x$) nella materia avviene in modo sostanzialmente diverso da quello degli elettroni e delle particelle cariche, che rallentano gradualmente attraverso molte simultanee interazioni con gli atomi del mezzo, ed hanno percorsi ben definiti. I raggi γ interagiscono in modo discontinuo e la loro intensità non viene mai ridotta a zero, anche da spessori via via crescenti di materia.

L'interazione dei raggi γ con la materia avviene attraverso tre processi fondamentali:

1. effetto Compton;
2. effetto fotoelettrico;
3. produzione di coppie.

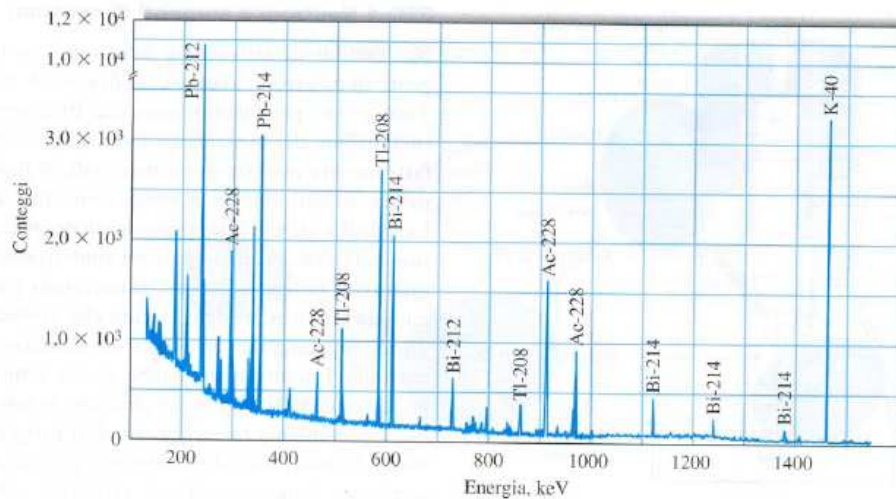
Il primo produce un parziale trasferimento dell'energia del fotone ad un elettrone del mezzo, mentre il fotone viene deviato di un certo angolo; negli altri due casi il fotone scompare, e trasferisce tutta la propria energia rispettivamente ad un elettrone o a un elettrone e a un positrone. Se però una di queste interazioni non si verifica, la radiazione può passare attraverso il materiale. La ionizzazione prodotta viene detta secondaria, cioè si ha una limitata produzione diretta di elettroni (primari), che a loro volta cedono la propria energia al mezzo, producendo la maggior parte della

ionizzazione. Lo spettrometro gamma è un sistema in grado di determinare la distribuzione energetica dei fotoni γ . I dati ottenuti sono espressi come numero degli impulsi in funzione dell'energia delle radiazioni (spettro). L'interferenza da parte delle radiazioni alfa e beta viene evitata filtrando la radiazione con un sottile pezzo di alluminio o di plastica. Gli spettrometri a raggi gamma sono simili agli analizzatori ad altezza di impulso, su descritti. In Figura è rappresentato uno schema di uno spettrometro a raggi gamma con un rivelatore a germanio di elevata purezza.

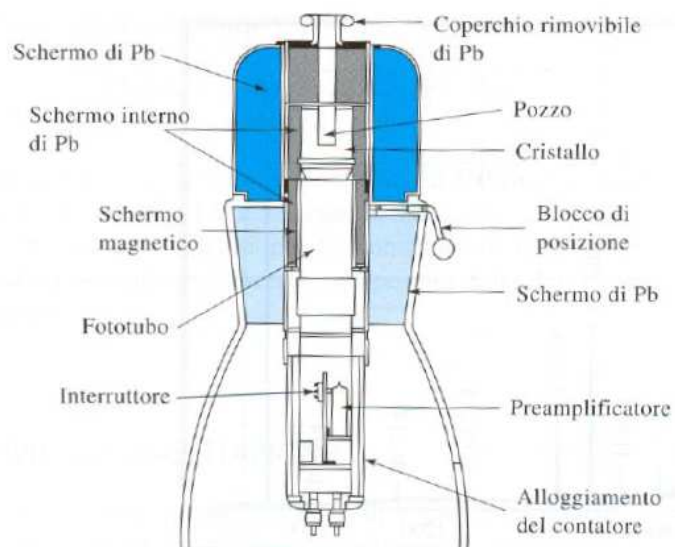


Rappresentazione schematica di uno spettrometro a raggi gamma con un rivelatore a germanio di elevata purezza: (1) rivelatore a germanio di elevata purezza con schermo protettivo in piombo, (2) va so Dewar con criostato e preamplificatore, (3) computer con convertitore analogico-digitale e software per analizzatore multicanale, (4) alimentazione di polarizzazione del rivelatore, (5) amplificatore, (6) oscilloscopio. (Adattamento autorizzato da Nuclear Physics Laboratory, Università di Cipro).

Lo spettro a raggi gamma di un campione di terreno ottenuto con uno spettrometro ad alta risoluzione capace di misurare i raggi gamma nell'intervallo tra 50 e 3000 keV, è di seguito riportato. In questo caso, i picchi caratteristici dei vari elementi vengono sovrapposti su un continuo che ha origine soprattutto dall'effetto Compton.



Spettro a raggi gamma di un campione di terreno registrato con un rivelatore a germanio di elevata purezza. (Adattamento autorizzato da Nuclear Physics Laboratory, Università di Cipro).



Schema di un contatore di scintillazione del tipo a "pozzo" con un cristallo di NaI.

Il conteggio della radiazione gamma può essere effettuato anche con un contatore di scintillazione del tipo a "pozzo" (rappresentato in figura). In questo caso, il campione è contenuto in una piccola fiala e collocato in un foro cilindrico, o pozzo, nel cristallo di scintillazione del contatore.

Gli spettrometri a raggi gamma sono stati usati con successo nell'esplorazione delle superfici lunare e marziana, e lo spettrometro a raggi gamma era un componente molto importante della missione Mars Surveyor. I suoi obiettivi erano la determinazione delle abbondanze degli elementi sulla superficie di Marte, la mappatura della distribuzione dell'acqua, lo studio delle calotte polari stagionali e l'indagine sulla natura delle esplosioni cosmiche di raggi gamma.

Bibliografia

K.H.Lieser, *Nuclear and Radiochemistry*, 2nd ed., Weinheim, Germania: Wiley-VCH,2001;
Handbook of Radioactivity Analysis, M.F. L'Annunziata, ed., San Diego: Academic Press, 1998;

Chemical Analysis by Nuclear Methods, Z.B. Alfassi, ed. Chichester, UK: Wiley, 1994

W.D. Ehmann and D.E. Vance, *Radiochemistry and Nuclear Methods of Analysis*, New York: Wiley, 1991

Handbook of Prompt Gamma Activation Analysis with Neutrons Beams, G. Molnar ed. Dordrecht, Netherland: Kluwer Academic Publishers, 2204

S.J.Parry, *Activation Spectrometry in Chemical Analysis*, New York: Wiley, 1991

G. Gilmore and J. D. Hemingway, *Practical Gamma-Ray Spectrometry*, New York: Wiley, 1995

CAPITOLO 4

OBIETTIVI E METODOLOGIE

Il dottorato ha avuto due obiettivi :

1. stilare, ottimizzare e standardizzare metodiche analitiche applicabili sia nel monitoraggio ambientale che nella sorveglianza di lavoratori esposti a radionuclidi. Gli isotopi oggetto di studio del presente lavoro sono stati: ^{226}Ra , ^{238}U , ^{234}U , ^{235}U .

In particolare sono state definite procedure di campionamento, separazione e quantificazione degli elementi su detti in matrici reali complesse. La separazione è operata attraverso trattamento con resina a scambio ionico. L'identificazione e quantificazione è stata effettuata mediante spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS).

2. definire e identificare specie animali di riferimento per stabilire se un ambiente sia adeguatamente protetto dal punto di vista radiologico. Dopo un attento esame della letteratura pertinente è stato utilizzato, come specie di riferimento il lombrico *Eisenia fetida* per studiare la presenza e la tossicità indotta dall'uranio nel terreno e individuare eventuali differenze tra gli effetti indotti dall'uranio naturale (U) e depleto (DU) per mettere in relazione le esposizioni ai valori di dose e quindi ai conseguenti effetti, argomento di forte attualità. Il programma si inserisce nel nuovo approccio ICRP (International Commission on Radiological Protection)

Cromatografia a scambio ionico

La cromatografia a scambio ionico separa i componenti di una miscela sulla base delle cariche presenti sulla molecola in grado di interagire con lo scambiatore di ioni.

Scambiatori: lo scambiatore di ioni è costituito da una matrice, che può essere una resina sintetica, una cellulosa o un destrano, la quale porta legati covalentemente dei gruppi in grado di ionizzarsi in uno ione fisso, che rimane attaccato alla matrice, ed in un contro-ione (Na^+ o Cl^-) che può essere scambiato con qualsiasi altro ione di egual segno, presente in soluzione. Gli scambiatori si dividono perciò in due grandi categorie: quelli che portano cariche positive e sono chiamati scambiatori di anioni e quelli che portano cariche negative e sono chiamati scambiatori di cationi.

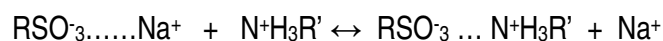
-Gli scambiatori di anioni portano gruppi amminici, talvolta mono o bisostituiti, a carattere debolmente basico oppure gruppi ammonici quaternari a carattere fortemente basico R_3HN^+ , $\text{R}_2\text{H}_2\text{N}^+$, R_4N^+ .

- Gli scambiatori di cationi portano radicali solfonici $-\text{SO}_3^-$ fortemente acidi, o gruppi carbossilici $-\text{COO}^-$ debolmente acidi.

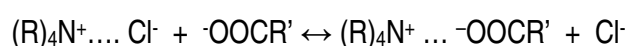
- Classificando gli scambiatori in base alla matrice abbiamo resine polistireniche, cellulose (DEAE-cellulosa con il gruppo $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ e CM- cellulosa con il gruppo $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$), gel (destrani, poliacrilammidi, agarosio). In quest'ultimo tipo di scambiatori i gruppi (DEAE-, CM-) sono legati covalentemente a una matrice costituita dallo stesso materiale impiegato per la gel filtrazione. Poiché la matrice è un gel, essi esplicano anche un certo potere di filtro molecolare.

Teoria dello scambio ionico: La reazione di scambio ionico è un processo reversibile che, per la legge di azione di massa, raggiungerà un equilibrio, la cui posizione dipende dalle quantità relative di contro-ioni presenti sullo scambiatore e nella soluzione.

Negli scambiatori cationici:



Negli scambiatori anionici:



Il pH e la forza ionica iniziali sono normalmente scelti in modo tale che tutte le sostanze che interessano possano legarsi allo scambiatore. Ad esempio, per separare una miscela di amminoacidi su uno scambiatore di cationi, il pH di partenza sarà intorno a 2, per permettere a tutti gli amminoacidi di attaccarsi allo scambiatore nella loro forma cationica.

Una volta applicato il campione sulla colonna, l'eluizione differenziale dei componenti si otterrà modificando o la forza ionica o il pH (talvolta entrambi) del tampone, ossia effettuando un'eluizione in gradiente che può essere di tipo continuo o discontinuo.

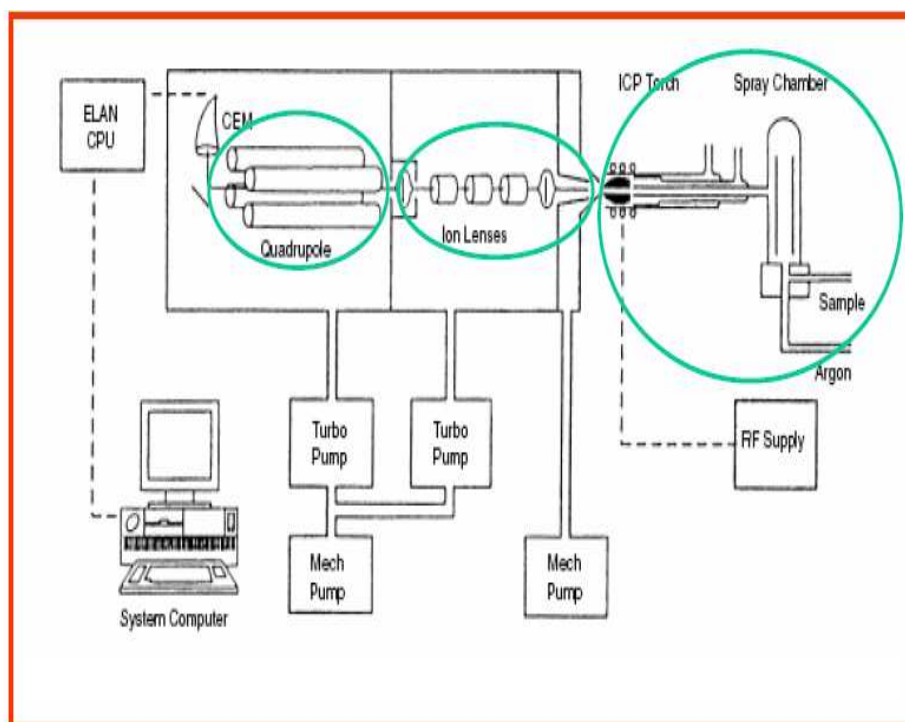
L'aumento della forza ionica, che si effettua aggiungendo NaCl o KCl in concentrazione crescente al tampone che alimenta la colonna, agisce poiché gli ioni salini di segno opportuno rimpiazzano le molecole del campione sullo scambiatore e ne causano l'eluizione, a cominciare da quelle che hanno formato un minore numero di legami con lo scambiatore. La variazione del pH influenza invece la carica netta di una molecola, perciò, al variare del pH, le molecole si staccheranno dallo scambiatore via via che raggiungeranno il loro punto isoelettrico.

Spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato

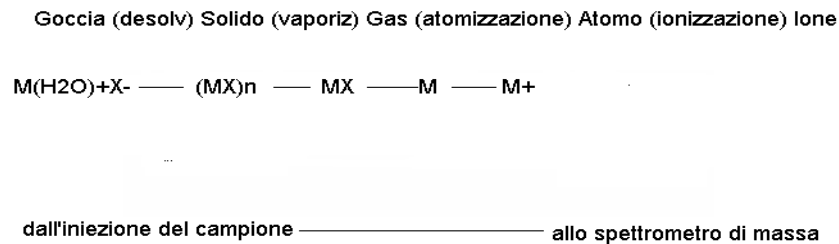
La spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS) si è costantemente evoluta sin dai primi anni '80, tale da diventare una delle tecniche più importanti per l'analisi elementare grazie ai suoi bassi limiti di rivelabilità per la maggior parte degli elementi, alla elevata selettività e alla buona precisione e accuratezza.

La spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato è una tecnica che interfaccia una sorgente a plasma induttivamente accoppiato (ICP) che funge sia da atomizzatore che ionizzatore con uno spettrometro di massa.

Il principio di funzionamento dell'ICP-MS è sostanzialmente basato sul conteggio di ioni carichi discriminati sulla base del rapporto massa/carica (m/z); l'intensità di ogni picco è proporzionale alla quantità del particolare isotopo dell'elemento nel campione. Nella figura seguente è rappresentato lo schema a blocchi di un ICP-MS.



Il campione, aspirato attraverso il sistema di introduzione (nebulizzatore e spray chamber) viene spinto all'interno del sistema verso la torcia di plasma dove subisce i seguenti mutamenti:



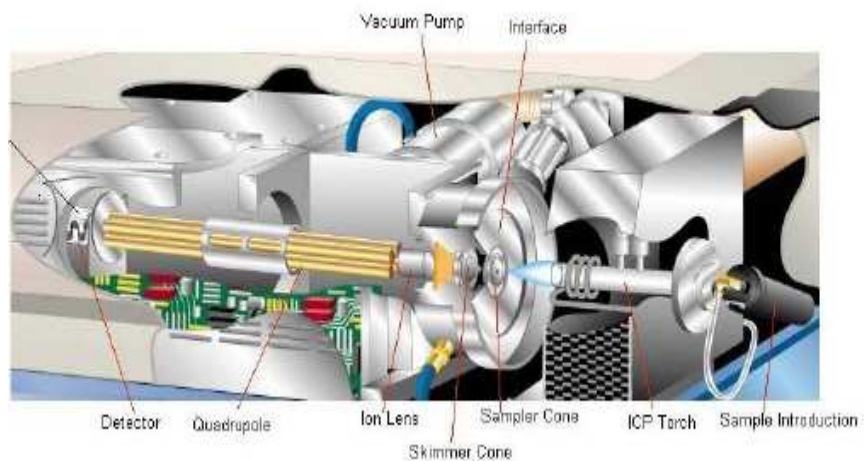
Durante questo tempo il campione è trasformato da un aerosol liquido a particella solida e poi in gas. Quando arriva nelle cosiddette zone “analitiche” del plasma (a circa 6000-7000 K) esiste come atomo eccitato e come ione rappresentando la composizione elementare del campione.

L'eccitazione dell'elettrone esterno nello stato fondamentale di un atomo per produrre uno specifico fotone di lunghezza d'onda specifica è la base fondamentale dell'emissione atomica. Tuttavia c'è anche abbastanza energia nel plasma per rimuovere un elettrone dall'orbitale dell' elemento per generare uno ione. Ed è la generazione, il trasporto e la rivelazione di un congruo numero di questi ioni positivi che conferisce all' ICPMS la capacità di rivelare ultratracce.

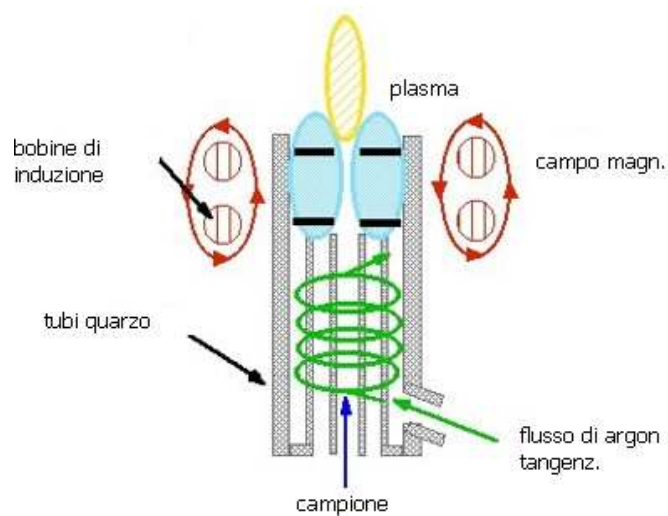
Lo strumento può essere così schematizzato:

- 1) sistema di introduzione del campione
- 2) torcia di plasma
- 3) interfaccia
- 4) quadrupolo: sistema di separazione delle masse
- 5) detector

Come possiamo vedere dalla seguente figura schematizzata :



Il campione, in genere in forma liquida, è pompato nel sistema attraverso un sistema di introduzione formato da una SPRAY CHAMBER e da un nebulizzatore, da questo viene emesso un aerosol che viene aspirato verso un plasma di argon. Un **plasma** è un **gas ionizzato**, costituito da una collezione di elettroni e ioni del gas, ma che globalmente è neutro (cioè la carica elettrica totale è nulla). Essendo però costituito di particelle cariche, i moti complessivi delle particelle del plasma sono in gran parte dovuti alle forze a lungo raggio che si vengono continuamente a creare, e che tendono a mantenere il plasma neutro; questo fatto stabilisce una differenza importante rispetto ai gas ordinari, nei quali i moti delle particelle sono dovuti a forze che si estendono al massimo per qualche primo vicino.





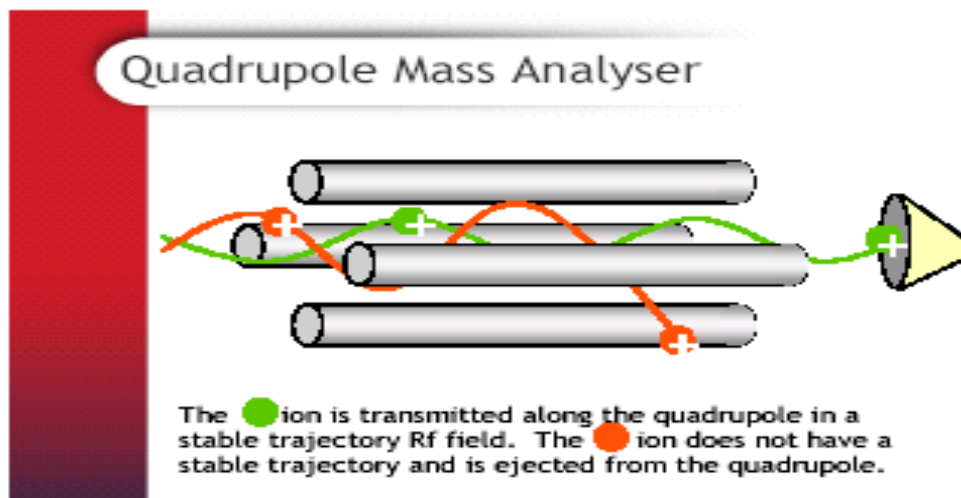
Funzionamento della torcia :

Nella torcia l'argon ultrapuro entra in tre flussi: principale, ausiliario e di trasporto del campione. Quando una radiofrequenza è applicata all'avvolgimento di rame che circonda la torcia, una corrente alternata oscilla nell'avvolgimento ad un valore che corrisponde alla frequenza del generatore (40 MHz): questa oscillazione della radiofrequenza della corrente nell'avvolgimento crea un campo magnetico all'estremità della torcia stessa.

A questo punto una scintilla ad alto voltaggio è applicata al gas che fluisce nella torcia e questo causa la perdita di elettroni dagli atomi di argon. Questi elettroni catturati ed accelerati dal campo magnetico collidono con altri atomi di gas e causano la fuoriuscita di altri elettroni; la ionizzazione indotta del gas di argon continua a catena rompendo il gas in atomi di argon, ioni di argon ed elettroni formando quello che di RF dello strumento stesso . Il risultato è un autosostentamento del plasma a temperature superiori a 5000°C.

Gli ioni che escono dalla torcia, opportunamente focalizzati dal "sistema di focalizzazione degli ioni" composto dalle "lenti" ioniche (cilindri e/o barrette metalliche cariche elettricamente), arrivano sul quadrupolo e vengono separati in funzione del rapporto massa/ carica. Il voltaggio delle lenti ioniche ed il voltaggio del quadrupolo sono regolati in modo da ottenere la migliore sensibilità ed il minor rumore di fondo dall'operatore che utilizza a questo scopo una soluzione standard da 1 µg/L di elementi a peso molecolare noto.

Le barre di quadrupolo lasciano passare , a seconda di un determinato rapporto DC (corrente continua) /RF (radiofrequenza indotta) un certo ione, scartando gli altri. La variazione nel tempo dei rapporti DC/RF permettono al quadrupolo di separare tutte le masse nel range di misura scelto. [1]



Gli ICP-MS quadrupolari raggiungono in genere una risoluzione di massa atomica unitaria ciò può costituire uno svantaggio soprattutto quando si hanno problemi di interferenze polinucleari ossia la sovrapposizione di segnali di ioni la cui massa differisce di 0.5 UMA (ad esempio lo ione $^{56}\text{Fe}^+$ subisce l'interferenza da parte della specie $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$).

Il problema delle interferenze poliatomiche è invece molto ridotto se si vanno a misurare ioni elementari a peso molecolare elevato.

I sistemi quadrupolari sono però molto veloci e perciò adatti ai laboratori che eseguono analisi di routine.

Il più grande problema della tecnica ICP-MS è costituito dalle interferenze che possono essere: non spettrali e spettrali.

Le interferenze non spettrali si hanno per:

- 1 Diversa viscosità tra campione e standard (correzione mediante standard interno)
- 2 Plasma overloading
- 3 Depositi sull'interfaccia di introduzione (solidi disciolti totali)

Le interferenze spettrali si verificano quando sono presenti specie aventi rapporto massa/carica coincidente con quello dell'elemento di interesse.

- Interferenze poliatomiche : specie molecolari generate dalla combinazione di Ar, O, ecc. con elementi presenti nel campione (^{195}Pt e $^{179}\text{Hf}^{16}\text{O}$, ^{56}Fe e $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$,)
- Interferenze isobariche : sovrapposizioni spettrali tra gli isotopi naturali degli elementi (^{106}Pt e $^{106}\text{Cd}^+$, Lantanidi)
- Interferenza doppia carica : ioni M^{2+} causano interferenza a metà del m/z dello ione a singola carica ($^{103}\text{Rh}^+$ e $^{206}\text{Pb}^{2+}$).

Quindi si pone il problema di come ridurre le interferenze spettrali, usando vari accorgimenti:

- ❖ Adeguata preparazione del campione (modificatori di matrice), sistemi di introduzione con desolvatazione e/o matrix matching
- ❖ Correzione mediante metodi matematici
- ❖ Utilizzo di plasma freddo
- ❖ Celle di collisione/reazione
- ❖ Utilizzo di tecniche accoppiate

La correzione mediante metodi matematici avviene attraverso equazioni, mentre le condizioni di plasma freddo ($T=2500-3000$) si ottengono agendo sul settaggio della potenza del RF ponendola a (550-650 W).

La funzione di una cella di collisione è quella di ridurre o eliminare le interferenze lasciando possibilmente inalterati i segnali degli analiti. Esse sono costituite da un sistema di guida degli ioni (esapolo/ottapolo/quadrupolo), nella cella viene introdotto un flusso controllato di gas, gli ioni interagiscono con il gas, anche con vere e proprie reazioni chimiche se il gas è "reattivo".

Bibliografia

[1] Simon M.Nelms . *ICP Mass Spectrometry Handbook*. Blackwell Publishing 2005

CAPITOLO 5 SEZIONE SPERIMENTALE

5.1 IL RADIO

Introduzione

Il radio è un elemento del gruppo IIA (metalli alcalino-terrosi) come il magnesio, il calcio, lo stronzio e il bario. Gli isotopi del radio sono tutti radioattivi e quelli più diffusi in natura appartengono alle serie naturali $4n$ (^{228}Ra e ^{224}Ra), $4n+2$ (^{226}Ra). In tabella vengono riportate alcune caratteristiche radiometriche di questi tre isotopi del radio.[2]

Isotopo	Tipo di emissione	Emissione (%)	Energia (MeV)	$t_{1/2}$	Attività specifica (Bq/g)
^{224}Ra	α_1	$94,9 \pm 0,2$	5,686	$(3,66 \pm 0,04)$ giorni	5,9 E+15
	α	$5,07 \pm 0,05$	5,445		
	γ_1	$4,05 \pm 0,04$	0,241		
^{226}Ra	α_1	$94,45 \pm 0,05$	4,784	(1600 ± 7) anni	3,7 E+10
	α	$5,55 \pm 0,05$	4,602		
	γ_1	$3,51 \pm 0,25$ ⁶	0,186		
^{228}Ra	β	100	0,0099 ⁷	$(5,75 \pm 0,03)$ anni	1,0 E+13
	β_1	$1,6 \pm 0,0$	0,014		

Tutti e tre gli isotopi si portano all'equilibrio secolare (caso in cui il radionuclide padre ha una vita media molto più lunga del radionuclide figlio ($\lambda_1 \ll \lambda_2$), dopo un certo tempo si raggiunge uno stato di equilibrio secolare dove le attività di padre e figlio diventano uguali: ($A_2=A_1$) con i discendenti in tempi sufficientemente rapidi da permetterne la determinazione indiretta attraverso questi ultimi.

Il ^{226}Ra è un isotopo alfa emettitore, prodotto di decadimento del ^{238}U , con un tempo di dimezzamento di 1600 anni e costituisce uno dei radionuclidi più significativi dal punto di vista del monitoraggio della radioattività ambientale in particolare dalla pubblicazione del decreto Legislativo n. 241 del 26 maggio 2000, di attuazione della direttiva 96/29 EURATOM.

E' noto che il ^{226}Ra è presente nei materiali di tubazioni idriche adsorbito o coprecipitato con gli ossidi di Ferro e di Manganese ed è uno dei costituenti del materiale di deposito sulle pareti delle tubazioni degli impianti di distribuzione delle acque. [3]. E' inoltre indice

della presenza di Radon (^{222}Rn) che essendo un gas inerte, si muove liberamente attraverso materiale poroso come i terreni o frammenti di roccia, dissolvendosi nell'acqua; da un recente studio è stato inoltre comprovato che all'aumentare della concentrazione di uranio nei campioni di matrice ambientali, aumenta tipicamente anche il contenuto di Radio 226.

Il D.L.vo 31/2001 sulla qualità delle acque destinate al consumo umano [4], recepimento della direttiva Europea 98/83/CE [5], prevede esplicitamente e per la prima volta l'obbligo di verificare nelle acque ad uso potabile il valore di due parametri relativi al contenuto di radioattività: la concentrazione di trizio, che deve essere inferiore a 100 Bq/l, e la dose totale indicativa (DTI), che deve essere inferiore a 0,1 mSv/anno. Come noto la dose totale indicativa non può essere valutata mediante una misura diretta ma deve essere calcolata sommando le dosi relative ai singoli radionuclidi, che dipendono tra l'altro anche dalla classe d'età considerata. Le dosi dovute ai singoli radioisotopi, a loro volta, si ottengono moltiplicando le concentrazioni dei radionuclidi (misurabili analiticamente) per opportuni coefficienti di conversione, espressi in Sv/Bq, e per le quote di consumo medio di acqua. Nei campioni ambientali il ^{226}Ra può essere presente in concentrazioni molto basse, e poiché si separa con difficoltà dagli altri elementi del secondo gruppo come Calcio, Stronzio, Bario e non forma complessi che passano in fasi organiche, necessita quindi di particolari procedure chimico analitiche per la sua estrazione.

Stato dell'arte dei metodi analitici per la determinazione del ^{226}Ra

Metodi diretti e indiretti di quantificazione del radio sono riportati in letteratura [5],[6]. Di seguito ne sono descritti le principali fasi che li caratterizzano.

1. Coprecipitazione con bario: si preconcentra e si purifica il ^{226}Ra mediante coprecipitazione con bario in presenza di solfato. La coprecipitazione dei solfati di radio ($\text{pKs}=8$) e bario ($\text{pKs}=10$) è un procedimento semplice e quantitativo. I solfati precipitano da una soluzione contenente il radio a cui si aggiungono volumi noti di una soluzione standard di bario cloruro in solfato d'ammonio. I precipitati, tenuti sotto agitazione per diverse ore, sono separati mediante filtrazione. La resa viene stimata per via gravimetrica,

nota la quantità di bario aggiunta. In alcuni casi si aggiunge ^{133}Ba come tracciante per la determinazione della resa chimica tramite la misura della sua emissione gamma. La misura del ^{226}Ra può essere a questo punto effettuata in modo diretto sul precipitato di $\text{Ba}(\text{Ra})\text{SO}_4$ deposto su filtro tramite spettrometria alfa: si segue la crescita dei prodotti di decadimento o il raggiungimento dell'equilibrio isotopico (tre settimane circa) mediante il conteggio con rivelatori a scintillazione al solfuro di zinco o con contatori proporzionali. Il metodo non è selettivo, ne consegue che si deve tener conto della possibile presenza degli altri isotopi del radio e dei loro prodotti di decadimento, tutti alfa emettitori. Detection limit (D.L.) 10-20 mBq/l

2. Il ^{226}Ra viene separato e purificato attraverso trattamento cromatografico, successivamente viene elettrodepositato. Il campione ottenuto è sottoposto a conteggio via spettrometria α . La spettrometria α è soggetta ad interferenza spettrale da parte dell' ^{234}U con emissione a 4.773MeV, (^{226}Ra ha due picchi di emissione alfa: 4.602MeV (5.55%) e 4.785MeV (94.45%)) pertanto la fase di separazione e purificazione è determinante ai fini della quantificazione.

3 La quantificazione del ^{226}Ra in un campione viene effettuata valutando il ^{222}Rn , prodotto di decadimento ^{226}Ra : procedimento lento che richiede almeno 20 giorni per il raggiungimento del pieno equilibrio e comporta problemi nel campionamento essendo il ^{222}Rn un gas. Grandi quantità di campione sono necessarie per raggiungere bassi detection limits.

4. Anche la spettrometria γ è utilizzata per la quantificazione del ^{226}Ra sebbene quest'ultimo abbia una emissione γ debole: la minima attività rilevabile (MAR) è pari a 0,1-0.3 Bq/l, ed è soggetta ad una interferenza spettrale da parte del ^{235}U (185,7 Kev per il ^{235}U e 186,7Kev per il ^{226}Ra).

Messa a punto di una metodica innovativa per la determinazione del ^{226}Ra in matrici biologiche e ambientali.

È ben noto che la determinazione di basse concentrazioni (ma rilevanti da un punto di vista radioprotezionistico) di radionuclidi nelle matrici ambientali, antropiche e biologiche, è ulteriormente complicata dalla presenza di un elevato contenuto di ioni interferenti.

Nel paragrafo precedente sono stati descritti i metodi radiometrici in uso che, nella maggior parte dei casi, richiedono trattamenti del campione laboriosi e lunghi tempi di conteggio oltre che alti detection limits. Nasce, quindi, l'esigenza di tecniche sensibili, ad elevata affidabilità di analisi quantitativa dei radionuclide in tempi rapidi e senza dover eseguire complesse preparazioni preliminari.

Nel corso del presente lavoro è stata messa a punto per il ^{226}Ra una procedura sperimentale che prevede la quantificazione mediante spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS). La metodica è stata validata sia su campioni in fase liquida che solida: lo step comune consiste nel separare dalla matrice e concentrare il radionuclide mediante cromatografia a scambio ionico.

Dopo un attento esame della letteratura pertinente è stata scelta la resina cationica Dowex AG-50W-X8, stirenica-divinilbenzenica (fig.1) con grado di cross linking del 8% particelle con un intervallo di granulometria 100-200 mesh in forma H^+ . La concentrazione di HCl usato come eluente, influenza drasticamente il valore dei rapporti di distribuzione, D_j , per gli ioni Ra, Ba, Sr, e Ca. D_j è inteso come rapporto tra frazione di ione metallico per grammo di resina e la frazione di ione metallico per millilitro di eluente [7]. Il trattamento della resina con soluzioni di HCl con concentrazione $<4\text{M}$ comporta un più alto adsorbimento sulla resina del radio, e molto più basso per calcio e stronzio (valori minimi si osservano per HCl 5 M). L'utilizzo di HCl con concentrazione maggiore di 6M nell'eluizione determina la diminuzione di D_{Ra} e l'aumento di D_{Ca} e D_{Sr} (fig. 2).

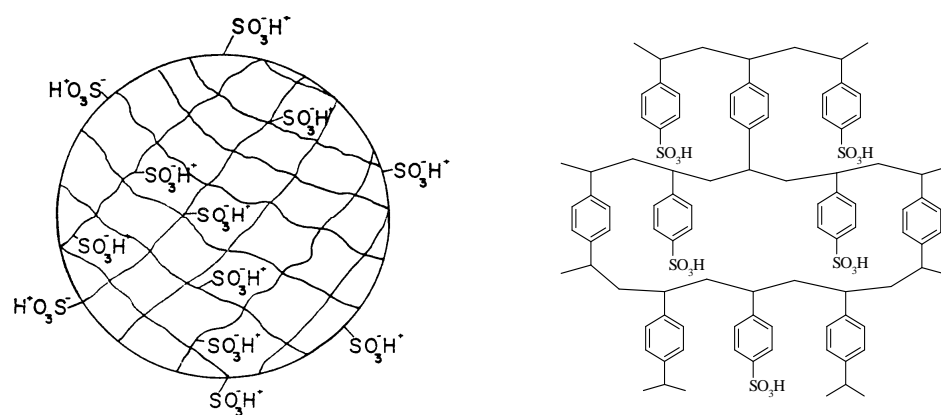


Figura 1 Dowex AG-50W-X8, resina stirenica-divinilbenzenica

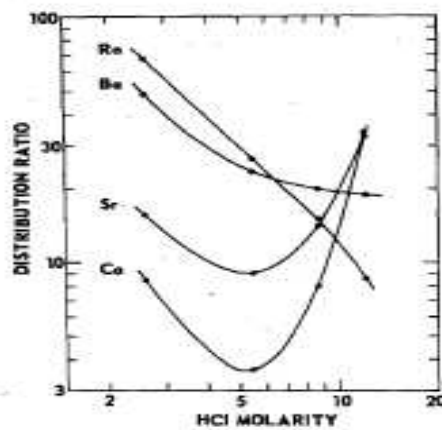


Figura 2 Variazione del rapporto di distribuzione dei metalli alcalini con la concentrazione di acido cloridrico sulla resina Dowex AG-50 (10-12% DVB).

Validazione del metodo

Acque

La messa a punto del metodo di determinazione del ^{226}Ra nelle acque è stata affrontata sulla base di un'attenta analisi e una valutazione sperimentale preliminare, sia del metodo pubblicato Yong-Jae Kim et.al. [8] che del metodo pubblicato da J.S.Alvarado et.al. [9] in campioni di acqua.

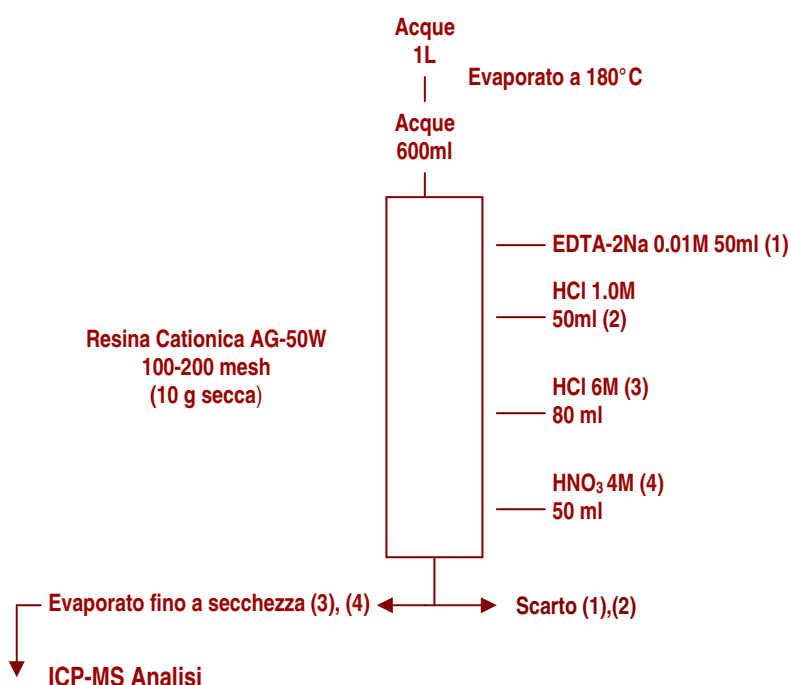


Figura 3: Procedura di separazione chimica per il ^{226}Ra nelle acque.

Si preleva 1 litro di soluzione campione, si concentra mediante evaporazione fino ad un volume finale di 600 ml, si acidifica fino a pH 4-5 con HCl concentrato. Dopo agitazione il campione viene introdotto in colonna (preparata con 10 grammi di resina cationica Dowex AG-50W 100-200 mesh precedentemente preconditionata con HCl 6M). La frazione non trattata viene scartata.

In fig. 3 sono stati schematizzati i principali stadi dell'eluizione del radio:

Stadio (1): si introducono circa 50 ml di EDTA-2Na (EDTA Disodium Salt) 0,01 M, per ridurre le interferenze con ioni metallici Ca, Mg e Sr [8],

Stadio (2): si introducono circa 15 ml di HCl 1M per eliminare le tracce di EDTA

Stadio (3): si introducono circa 80 ml di HCl 6M e successivamente 50ml di HNO₃ 4M allo scopo di eluire il radio. L'utilizzo di HCl 6M nell'eluizione è giustificato dal diagramma riportato in fig.6.

L'eluato è portato a secco ed il residuo, dopo essere stato trattato con HNO₃, H₂O₂ e HF, è ripreso in acqua ultra pura acidulata al 1% con acido nitrico ultrapuro.

La procedura sperimentale è stata validata su 5 campioni di acqua ultrapura distillata (18.2MΩ cm⁻¹ a 25°C) a cui sono addizionati volumi noti di soluzione standard di ²²⁶Ra con concentrazione 5.39 E-12 g/ml (vedere appendice 1).

I risultati sono riportati in tab.1.

Il metodo risulta semplice, rapido e permette di ottenere eluati con un residuo fisso mediamente basso.

Tabella 1: Valori della resa chimica associato ad ogni Bianco, misure Acque

Campione	C _{teorica} ²²⁶ Ra (g/ml)	C _{misurata} ²²⁶ Ra (g/ml) ± RSD % (*)	Resa %	Valore medio %
1	5.39 E-12	4,19 E-12 ± 6,5	77.8%	
2	5.39 E-12	4,62 E-12 ± 7,0	85.7 %	
3	5.39 E-12	4,20 E-12 ± 5,8	78.0%	
4	5.39 E-12	4.13 E-12 ± 7,4	76.7%	
5	5.39 E-12	3.77 E-12 ± 6,3	70%	
				77.6 ± 5.6

(*) Tutte le incertezze sono state calcolate applicando la formula seguente

$$u_c(X_i) = \sqrt{u^2(X_i) + \sum_j u_{B,j}^2(X_i)}$$

Campioni biologici

La procedura è stata, quindi, validata su una matrice complessa (urina). In assenza di matrici certificate, sono stati preparati 15 campioni di urine, di personale non esposto. 5 campioni sono stati analizzati tal quale (bianco) ai restanti 10 campioni sono stati addizionati volumi noti di soluzioni standard di ^{226}Ra . A ciascun campione vengono successivamente aggiunti 15 g di resina a scambio cationico Dowex AG-50W 100-200 mesh. Dopo agitazione per circa 4 ore resina + campione sono introdotti in colonna e quindi sottoposti ai trattamenti descritti nel paragrafo precedente.

In Tabella n.2 sono riportati i risultati ottenuti dallo studio.

Tabella 2 Recupero % del ^{226}Ra in campioni di urina.

Campione Urine 200 ml	$C_{\text{teorica}}^{226}\text{Ra}$ (g/ml)	$C_{\text{misurata}}^{226}\text{Ra}$ (g/ml)	Resa Chimica %	Valore Medio Resa %
1	0	< D.L.	-	
2	0	< D.L.	-	
3	0	< D.L.	-	
4	0	< D.L.	-	
5	0	< D.L.	-	
6	8.09 E-12	5.4 E-12 ± 0.2E-12	67	
7	8.09 E-12	5.5 E-12 ± 1.1E-12	68	
8	8.09 E-12	6.2 E-12 ± 0.5E-12	77	
9	8.09 E-12	6.1E-12 ± 0.9E-12	75	
10	8.09 E-12	6.6 E-12 ± 0.7E-12	82	
11	8.09 E-12	6.3 E-12 ± 0.8E-12	78	
12	8.09 E-12	5.8 E-12 ± 0.9E-12	72	
13	8.09 E-12	7.3 E-12 ± 0.8E-12	90	
14	8.09 E-12	5.6 E-12 ± 0.2E-12	69	
15	8.09 E-12	6.6 E-12 ± 0.47E-12	82	
				76 ± 7.3

Suolo

La validazione della procedura su suolo è stata eseguita su matrici certificate: Reference soil IAEA-375. Essendo un campione in fase solida è necessario mineralizzarlo. La mineralizzazione è una tecnica di solubilizzazione con acidi forti che può essere effettuata in sistema aperto (procedura seguita nel presente studio) o in sistema chiuso (pressurizzato).

La mineralizzazione in sistema aperto consiste nel dissolvere il campione in presenza di acidi forti: cloridrico, fluoridrico, nitrico, solforico o perclorico in aggiunte singole e/o in combinazione tra loro. Il metodo più utilizzato è la solubilizzazione acida con acido fluoridrico da solo o preceduto da trattamento con una miscela di acido nitrico-solforico o nitrico-cloridrico (acqua regia) per l'ossidazione della matrice organica effettuata direttamente su piastra riscaldante in contenitori speciali di Teflon (polytetrafluoroethylene). Il campione dopo l'aggiunta di HF è portato a secco ad una temperatura di 110°C per permettere la decomposizione chimica dei silicati e la volatilizzazione del silicio in forma gassosa (SiF₄); il residuo è portato a secco in più riprese e poi in soluzione con HNO₃ 70% e H₂O₂ fino alla completa solubilizzazione dei fluoruri. L'uso dell'acido perclorico può essere rischioso per l'operatore per la formazione di composti esplosivi; per tale motivo si cerca di utilizzare la miscela HCl-HNO₃ dopo l'attacco con HNO₃ 70% e H₂O₂ facendo più cicli fino alla completa solubilizzazione del campione [10]

I campioni sono stati quindi sottoposti al seguente pre-trattamento:

1. Lisciviazione con HNO₃, H₂O₂, HF e HCl a 180°C fino a concentrare il residuo a secchezza.
2. Trattamento in microonde ad una temperatura di 500°C per 1 ora.
3. Solubilizzazione del campione in una miscela di 4 ml di HNO₃ e 8 ml HClO₄.
4. Evaporazione fino a secchezza.
5. Solubilizzazione del campione in 40 ml di HCl 4 M .
6. Filtrazione su filtro di fibra di vetro.

Il campione in fase liquida è introdotto in colonna, riempita con 15 g di resina cationica.

In figura 4 sono schematizzate le fasi di pre-trattamento e separazione mediante la procedura di eluizione descritta nei paragrafi precedenti.

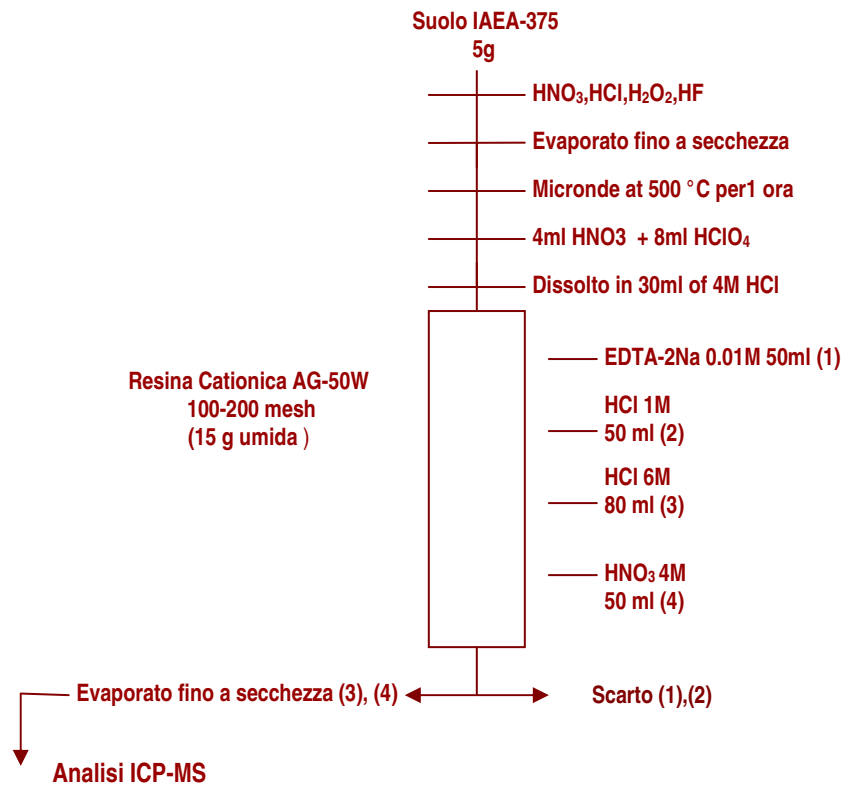


Figura 4: Procedura di separazione chimica per il ²²⁶Ra nel suolo IAEA-375

Sono stati studiati due campioni; i risultati ottenuti sono riportati in tabella n.3

Tabella 3: Recupero % del ²²⁶Ra in campioni di suolo IAEA-375

Suolo REFERENCE SHEET IAEA 375	Recommended Value Bq/Kg ± 95% Confidence Interval	Valore misurato di ²²⁶ Ra(g) ± σ	Attività specifica (Bq/Kg)	Resa %
1 (5 g)	20 ± 4	1.75 E-12	6,41E-02	64
1 (5 g)	20 ± 4	1.60 E-12	5,86 E-02	59

Applicazione della procedura a campioni reali

Una volta validato il metodo è stato applicato a campioni reali, in particolare a campioni di rete per la sorveglianza ambientale del sito Casaccia.

Campioni di acqua

Le acque utilizzate sono state prelevate nei pressi del sito Casaccia*. Vedi figura 5

Il campionamento è stato effettuato con pompa peristaltica (Watson & Marlow. 323S/D), prelevando in ciascun punto di raccolta un volume di 5 dm³ di acqua successivamente conservati in bottiglie di

Polietilene a bassa densità (PE-LD) tali campioni sono stati tenuti a riposo in assenza di luce per due settimane in maniera tale da permettere il raggiungimento dell'equilibrio secolare da parte dei figli del ²²⁶Ra per un eventuale verifica mediante spettrometria gamma (vedi figura 6 e tabella 5).

*Il sito del C.R. dell'ENEA Casaccia possiede il reattore Triga e il reattore Tapiro, per legge deve quindi essere sottoposto a monitoraggio ambientale. Il tutto costituisce una rete locale

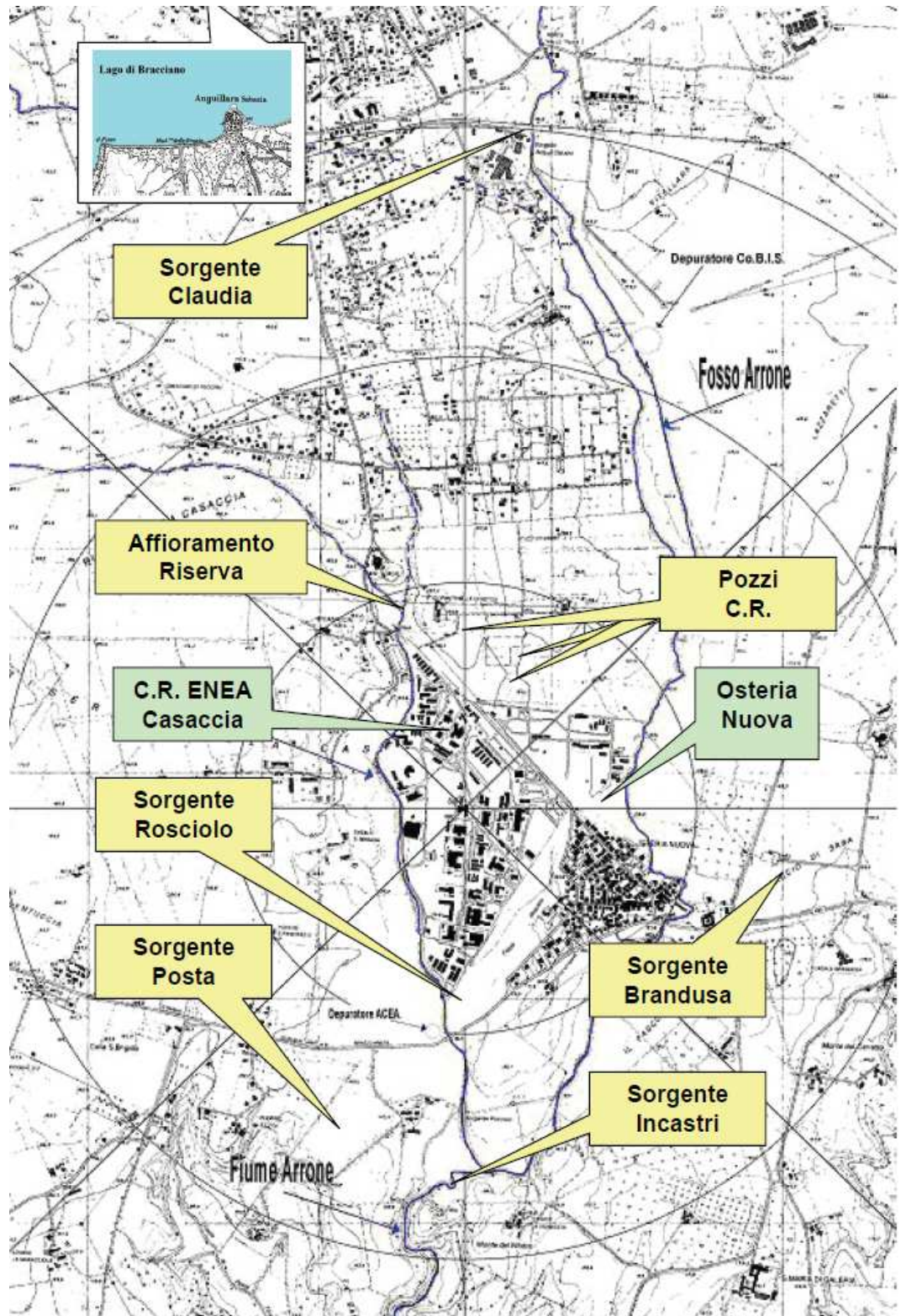


Figura 5: Punti di prelievo

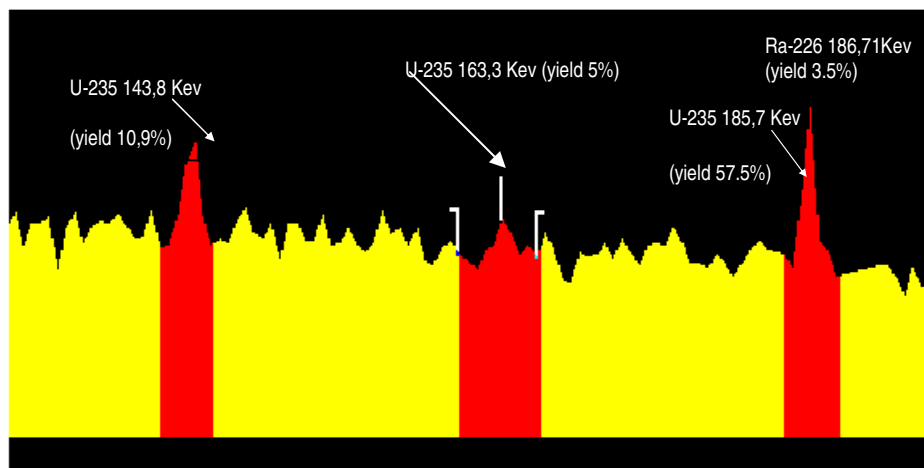


Figura 6 : *Esempio di spettro di emissione gamma con rivelatore HPGe*

Il metodo proposto è stato testato applicandolo a numero 8 campioni di acque prelevati nel sito Casaccia e dintorni i cui valori di concentrazione ^{226}Ra sono riportati in tabella n.4 .

Tabella 4: Misure delle concentrazioni di ^{226}Ra in acque prelevati nei dintorni del sito Casaccia con spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato.

Campione (Località)	Valore misurato di ^{226}Ra (g l ⁻¹)	RDS %	Attività Specifica (mBq l ⁻¹)
Acqua Rosciolo	7.53 E-13	12.70	27.6
Acqua Brandusa	3.60 E-13	29.14	13.2
Acqua Posta Forano	5.58 E-14	22.32	2.04
Fonte Claudia	3.21E-13	47.20	11.8
Acqua Rete Idrica Casaccia	4.63 E-14	28.07	1.7
Acqua Zona Incastri	2.41 E-13	7.38	8.8
Acqua Riserva Olmo	6.60 E-13	12.15	24.2
Acqua Lago Anguillara	9.25 E -14	13.05	3.40

Tabella 5: Misure delle concentrazioni di ^{226}Ra in acque prelevati nei dintorni del sito Casaccia con spettrometria gamma

Campione (Località)	Efficienza di rivelazione	Risoluzione FWHM (kev)	Durata di misura (sec)	Quantità misurata (L)	^{226}Ra Bq/L	M.A.R. Bq/L
Acqua Rosciolo	30%	1,85	336000	10	n.d.	0,15
Acqua Brandusa	30%	1,85	350000	10	n.d.	0,31
Acqua Posta Forano	35%	2,1	76000	10	n.d.	0,16
Fonte Claudia	35%	2,1	175000	10	n.d.	0,19
Acqua Rete Idrica Casaccia	35%	2,1	273000	30	n.d.	0,06
Acqua Zona Incastri	30%	2.1	300000	10	n.d.	0,11
Acqua Riserva Olmo	35%	2,1	320000	10	n.d.	0,18
Acqua Lago Anguillara	35%	2,1	320000	10	n.d.	0,19

Le misure di attività gamma sono state effettuate con rivelatori al Ge, utilizzando beker di Marinelli da 1000 cc.

Il software di analisi prevede la scomposizione di eventuali picchi di emissione gamma con energia circa coincidenti (come nel caso dell'²³⁵U e ²²⁶Ra) e la relativa deconvoluzione dei picchi sovrapposti con l'analisi del test residuale; tuttavia viste le basse concentrazioni di entrambi gli isotopi presenti normalmente nelle acque prese in considerazione unite alla bassa frazione di emissione gamma in particolare del ²²⁶Ra, le misure nelle condizioni indicate non permettono di scendere sotto i limiti (M.A.R.) riportati. (n.d.= non determinato) I campioni di acqua sono stati concentrati da 10L ad 1 L ad una temperatura oscillante tra 90-100 °C per un tempo di circa 36-48 ore/10L.

La grande stabilità dei complessi del Ba con l'EDTA [11] e l'impossibilità da parte del Radio di formare con esso complessi a pH < 4.5 permette di purificare il ²²⁶Ra da uno dei principali interferenti che competono con i siti di scambio della resina e che possono aumentare in maniera considerevole il residuo fisso dell'eluato.

L'ulteriore eluizione dalla colonna con HNO₃ è in accordo con il metodo di Yong-Jae Kim [8] e con le valutazioni sperimentali preliminari eseguite durante la messa a punto della purificazione cromatografica .

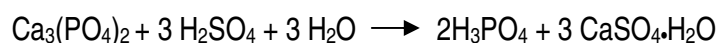
Durante la progettazione del presente metodo è stato previsto uno studio sul possibile uso di una preliminare preconcentrazione del ²²⁶Ra attraverso una precipitazione gravimetrica. Sono stati analizzati i carbonati, gli ossalati, i bicromati e i fosfati di Radio [11].

In tutti i casi i recuperi percentuali sono stati molto bassi, e l'ipotesi è stata abbandonata. Il metodo è comunque utilizzabile sia facendo percolare il campione su una colonna che "in batch" (come è stato utilizzato per le urine).

Come matrici complesse sono state considerate anche i fosfogessi:

Con il termine di fosfogessi si intende comunemente il materiale di risulta che si ottiene nella produzione di acido fosforico attraverso la via umida (attacco acido). Questa tipologia di produzione, che ha operato per diversi decenni, è finalizzata allo scopo di ottenere acido fosforico principalmente per l'industria dei fertilizzanti e quindi come prodotto intermedio per la chimica e per le preparazioni alimentari.

Il sistema produttivo utilizzato negli impianti era basato sulla reazione seguente:



In particolare il minerale era preventivamente macinato e vagliato, quindi si procedeva alla sua miscelazione con l'acido fosforico ed alla successiva reazione del composto ottenuto. Si ricavava quindi l'acido fosforico per filtrazione e come sottoprodotto una "torbida" contenente il gesso[12]

La procedura di analisi del ^{226}Ra precedentemente descritta è stata applicata su campioni con matrice certificata (fosfogesso ALMERA).

La fase di pretrattamento consiste in:

- 1) Lisciviazione con HNO_3 8M
- 2) Filtrazione
- 3) Evaporazione fino a secchezza.
- 4) Solubilizzazione del campione in 40 ml di HCl 4 M

Il campione in fase liquida è introdotto in colonna, riempita con 15 g di resina cationica. La separazione del ^{226}Ra è fatta mediante la procedura di purificazione e concentrazione descritta in fig.3 .

I risultati sono illustrati in tabella n. 6

Tabella 6 risultati delle concentrazioni di ^{226}Ra , in fosfogesso ALMERA

Matrice Fosfogessi Intercal Almera	attività ^{226}Ra [Bq/g]	BIAS %
Valori certificati	0,78 Bq/g (*)	
Trattamento matrice		
Dissoluzione A⁽¹⁾	0,66 Bq/g	-15

(*) valore certificato

(1) Lisciviazione con HNO_3 8M

Conclusioni

Il metodo proposto per la quantificazione del ^{226}Ra nelle acque comporta una resa chimica elevata: 77.6% (SD 5.3%). Per campioni di urina la resa chimica è 76% (SD 7.6%). I limiti di rivelabilità del metodo sono inferiori ai limiti posti dalla normativa Nazionale e Internazionale; inoltre si rileva una maggiore sensibilità e rapidità di esecuzione del metodo rispetto ai metodi radiometrici tradizionalmente utilizzati.

In particolare, il limite di rivelabilità (0,5 mBq/l) di ^{226}Ra risulta inferiore di quello ottenibile con la spettrometria γ sia conteggio previa separazione gravimetrica e conseguente determinazione del ^{226}Ra via α totale (D.L. 10-20 mBq \cdot l $^{-1}$).

Nel caso dei campioni di acqua prelevati nel sito Casaccia è stato possibile infatti misurare concentrazioni comprese tra 1.7 mBq l $^{-1}$ e 27.6 mBq l $^{-1}$.

L'ampia variabilità di concentrazione presente nei campioni del sito (tra 1.7 mBq l $^{-1}$ e 27.6 mBq l $^{-1}$) è ampiamente giustificata dalla diversa natura delle acque analizzate. Le concentrazioni infatti riscontrate sono infatti più elevate nelle acque di profondità rispetto a quelle superficiali, ciò in relazione al tipo di rocce acquifere e dalle caratteristiche chimico-fisiche dell'acqua stessa [14].

Il metodo utilizzato per la purificazione dei campioni può essere applicato anche nel campo della sorveglianza della contaminazione interna di lavoratori esposti al rischio di introduzione di ^{226}Ra .

Il metodo proposto è dotato di praticità e rapidità; i tempi richiesti per l'isolamento del ^{226}Ra sia nelle acque che nelle urine sono pari a circa 3 giorni dalla data di consegna del campione e per il suolo 5 giorni in confronto ad un mese per l'analisi tramite spettrometria alfa e almeno 20 giorni per l'analisi tramite scintillazione liquida.

Nel caso di misure di routine effettuate ad esempio con scadenza semestrale i limiti di rivelabilità e quantificazione raggiunti permettono di determinare, tutte le contaminazione interne da ^{226}Ra superiori a 0.5 mSv/anno (inalazione), con tempi di risposta molto più rapidi di quelli caratteristici di altri metodi quali spettrometria α o conteggio α totale previo trattamento gravimetrico.

Confrontando le rese chimiche ottenute sia per le acque che per le urine si nota una maggiore variabilità rispetto alle rese avute nel trattamento delle acque, ciò imputabile ad una maggiore salinità e variabilità nella composizione della matrice stessa.

Ancora più complessa è l'analisi e la purificazione del ^{226}Ra dal terreno. Quest'ultimo per quanto riguarda il trattamento preliminare con attacco acido secondo lo schema di fig 4 porta ad un ulteriore abbassamento delle rese: 59% e 69% vedi tabella 3 quindi la preparazione preliminare del campione da sottoporre poi a purificazione cromatografia è stato oggetto di un ulteriore approfondimento grazie allo studio per la messa a punto della metodica per la determinazione degli isotopi di uranio: ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U in matrici solide complesse quali: fosfogessi, sedimenti, sabbie e suoli dove si è analizzata e messo a confronto i diversi metodi di mineralizzazione del campione.

Bibliografia

- [1] Simon M.Nelms . *ICP Mass Spectrometry Handbook. Blackwell Publishing 2005*
- [2] Guida tecnica sulle misure di radioattività ambientale: H3, α e β totale in acque potabili, α e β emettitori artificiali e naturali in matrici ambientali. APAT SISTEMA NAZIONALE CONOSCITIVO E DEI CONTROLLI IN CAMPO AMBIENTALE
- [3] Valentine RL, Stearns S. *Radon release from water distribution system deposits Environ Sci Technol 1994; 28:534-7*
- [4] Council Directive 98/83/CE of 3 November 1998 "on the quality of water intended for human consumption" Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n.L. 330,5 dicembre 1998.
- [5] Stefan Purkl, Anton Eisenhauer " *A rapid method for α -spectrometric analysis of radium isotopes in natural waters using ion-selective membrane technology*". Applied Radiation and Isotopes 59 (2003) 245–254
- [6] M . Kohler, W. Preuß, B. Gleisberg, I. Schaffer, T. Heinrich, B. Knobusch " *Comparison of methods for the analysis of ^{226}Ra in water samples*" Applied Radiation and Isotopes 56 (2002) 387–392

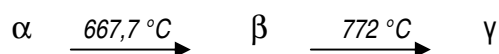
- [6] S. Risica and S. Grande (2000) "Council Directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption: calculation of derived activity concentrations". Rapporto ISTISAN 00/16.
- [7] R. M. Diamond, J. Am. Chem. Soc. 77, 2978 (1955).
- [8] Yong-Jae Kim, Chang-Kyu Kim, Cheol-Su Kim, Ju-Yong Yun, Byung-Hwan Rho. *Determination of ²²⁶Ra in environmental samples using high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. Vol.240, No.2 (1999) 613-618.
- [9] J.S.Alvarado,k.A.Orlandini, M.D. Erickson. *Rapid determination of radium isotopes by alpha spectrometry*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. Articles vol.194, No.1 (1995) 163-172
- [10] Hossner L.R. 1996. Dissolution for total Elemental Analysis. P 49-64. Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series no.5. Madison WI. USA
- [11] The Radiochemistry of Radium, National Academy of Sciences, National Research Council, Nuclear Science Series. US Atomic Energy Commission.
- [12] *Le discariche dei fosfogessi nella laguna di Venezia: valutazioni preliminari dell'impatto radiologico*, ANPA-Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente, Maria Belli, Guogang Jia, Umberto Sansone.
- [13] A. Amr, N.F. Zahran, A.I.Helal. *Measurement of Ra-226 in sand filters of underground water treatment stations by ICP-MS*
- [14] Gascoyne M., *High levels of uranium and radium in groundwaters at Canada's underground research laboratory, lac du Bonnet, Manitoba, Canada Applied Geochemistry* 4, 5

5.2 L'URANIO

Introduzione

L'uranio ha massa atomica 238,029 e numero atomico 92 con stati di ossidazione +2, +3, +4, +5, e +6. Venne scoperto nel 1789 da *M. H. Klaproth* analizzando il minerale pechblenda (ritenuto un ossido misto di ferro, zinco e tungsteno). In natura l'uranio non si trova allo stato libero, ma solo sotto forma di ossido o sale complesso, in minerali come la pechblenda, la carnotite, l'uranite, autunite, uranofane e trovato in rocce fosfatiche, lignite, sabbie monazite; può essere recuperato da queste sorgenti.

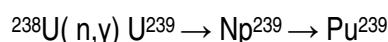
L'uranio può essere prodotto da elettrolisi di KUF_5 o UF_4 disciolto in una miscela di $CaCl_2$ - $NaCl$. L'uranio altamente puro può essere preparato dalla decomposizione termica degli alogenuri di uranio su filamenti caldi. L'uranio esibisce tre forme allotropiche schematizzate di seguito:



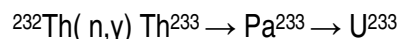
L'uranio è un metallo poco più tenero dell'acciaio, debolmente paramagnetico dal colore bianco-argenteo, quando finemente diviso è piroforico, reagisce con l'acqua a temperatura ambiente esposto all'aria si copre superficialmente di uno strato del proprio ossido. Gli acidi attaccano il metallo ma è insensibile agli alcali. Ha 14 isotopi, tutti sono radioattivi. Naturalmente l'uranio è costituito dagli isotopi ^{238}U , ^{235}U , ^{234}U presenti in percentuale diversa nella crosta terrestre: ^{238}U 99.2830%, ^{235}U 0.711%, ^{234}U 0.0054%.

Studi mostrano che la % di ^{235}U varia in natura dello 0,1% dipendente dalla sorgente.

Anche ^{238}U può trovare impiego nei reattori nucleari, dove è convertito in ^{239}U per assorbimento di neutroni (fertilizzazione), il quale decade in ^{239}Pu , fissile.



Anche l'isotopo ^{233}U è fissile; è prodotto per bombardamento con neutroni di ^{232}Th isotopo non fissile [1]



Nel corso delle attività che portano alla fabbricazione del combustibile nucleare l'uranio subisce un processo chimico fisico, detto di arricchimento, che comporta un rapporto isotopico diverso da quello naturale. Per usi civili l'arricchimento massimo consentito è pari al 5%; l'uranio con percentuale in massa di ^{235}U inferiore a 0,71% prende il nome di uranio impoverito. L'uranio si considera quindi "arricchito" quando la frazione di ^{235}U è considerevolmente maggiore del livello naturale (circa lo 0,7%), tipicamente su valori compresi tra il 3% ed il 7%, impoverito quando contiene valori di ^{235}U generalmente compresi tra lo 0,2% e lo 0,3%, a seconda delle esigenze economiche e di produzione.

I tre isotopi naturali dell'uranio sono radioattivi; quello dotato di tempo di dimezzamento più lungo è il ^{238}U (emivita: $4,5 \cdot 10^9$ anni), seguono ^{235}U ($7 \cdot 10^8$ anni) e ^{234}U ($2,5 \cdot 10^5$ anni). ^{238}U emette prevalentemente particelle alfa decadendo in ^{234}Th . A sua volta, questo decade beta, continuando la catena fino a giungere al ^{206}Pb , stabile.

Non è semplice fare una distinzione netta tra le applicazioni civili e militari dell'uranio, in quanto esiste una permeabilità tra questi due utilizzi. Ad esempio, l'uranio arricchito può essere usato come combustibile nei reattori nucleari civili, ma anche nei reattori nucleari dei sottomarini e delle portaerei militari a propulsione nucleare. Il potenziale dell'uranio come fonte di energia divenne evidente nel 1954, con il varo del primo sottomarino nucleare, il *Nautilus*. Gli impianti tradizionali, per produrre 60.000 kW di elettricità, consumano 18 milioni di kg di carbone al mese, mentre un impianto nucleare usa solo 7 kg di uranio. Tuttavia, problemi di scarsità dell'uranio, di sicurezza degli impianti e l'accumulo dei rifiuti radioattivi di uranio e plutonio pongono seri interrogativi.



Figura 1: Centrale nucleare tedesca



Figura 2: Vetro colorato con uranio

Tra gli altri usi si annoverano:

- l'inclusione di sali di uranio nelle ceramiche e nei vetri, per colorare le prime e impartire una fluorescenza gialla o verde ai secondi;
- la datazione delle rocce ignee ed altri metodi di datazione geologica quali la datazione uranio-torio e uranio-piombo attraverso la misura della concentrazione di ^{238}U , la cui emivita è di circa 4,51 miliardi di anni;
- l'acetato di uranile, $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$, trova impiego in chimica analitica; forma con il sodio un sale insolubile;
- il nitrato di uranio è usato in fotografia;
- in chimica l'uranio è utilizzato come catalizzatore in alcune reazioni;
- i fertilizzanti fosfatici di origine minerale possono contenere quantità di uranio relativamente alte, se questo è presente come impurezza nei minerali di partenza;
- l'uranio metallico trova uso in dispositivi a guida inerziale e nelle bussole giroscopiche.

La principale applicazione militare dell'uranio è, nella sua forma arricchita nell'isotopo ^{235}U , all'interno delle bombe atomiche o come innesco per le bombe termonucleari. La prima bomba atomica con ^{235}U , Little Boy, venne realizzata nel contesto del Progetto Manhattan, durante gli anni della seconda guerra mondiale e venne sganciata nell'agosto del 1945

sulla città giapponese di Hiroshima (si veda Bombardamento atomico di Hiroshima e Nagasaki).

Va ricordato, inoltre, che parte dell'uranio arricchito prodotto nelle nazioni nucleari più avanzate è utilizzato come combustibile per i reattori ospitati in navi e sottomarini da guerra, rappresentando di fatto un utilizzo indiretto di questo elemento per fini bellici.



Figura 3 : *Proiettile di uranio impoverito*

L'altra importante applicazione militare dell'uranio si basa sul cosiddetto uranio impoverito, ovvero uranio in cui la percentuale di ^{235}U è stata artificialmente ridotta (mediamente contiene lo 0,25-0,4% di ^{235}U). L'uranio è un metallo molto denso e pesante, e proprio per questo è utilizzato per rendere le corazzature dei carri armati particolarmente resistenti e per costruire munizioni anticarro (al posto del più costoso e meno efficiente tungsteno).

L'uranio nell'ambiente è ubiquitario dovuto a processi naturali o inquinamento antropico. Negli ultimi anni il suo studio ha avuto una crescente attenzione anche in ragione del D.L.vo n. 241 del 26 maggio 2000 attuazione della direttiva 96/29/EURATOM in materia di protezione sanitaria della popolazione e dei lavoratori contro i rischi derivanti dalle radiazioni ionizzanti.

Ogni matrice ambientale contiene solitamente radionuclidi naturali provenienti principalmente dalla famiglia dell' ^{238}U in quantità variabile, concentrazioni più basse nelle acque e più alta nelle matrici solide come sedimenti, suolo etc... Quasi sempre per la loro determinazione si rende necessaria la preconcentrazione con procedimenti fisici e anche chimici, quando richiesta dal metodo di rivelazione.

Stato dell'arte dei metodi analitici per la determinazione dell'Uranio

In tabella 1 sono riportate alcune caratteristiche radiometriche degli isotopi naturali dell'uranio:

Tabella 1 Caratteristiche degli isotopi naturali dell'Uranio

Isotopo	Tipo di emissione	Emissione (%)	Energia (MeV)	$t_{1/2}$	Attività specifica (Bq/g)
^{234}U	α_1	$71,37 \pm 0,02$	4,775	$2,457\text{E}+05$ anni \pm $6,0\text{E}+02$	$2,3\text{E}+08$
	α	$28,42 \pm 0,02$	4,723		
	γ_1	$0,123 \pm 0,002$	0,053		
^{235}U	α_1	$55,0 \pm 3,0$	4,400	$7,040\text{E}+08$ anni \pm $1,0\text{E}+06$	$8,0\text{E}+04$
	α	$17,0 \pm 2,0$	4,365		
	α	$5,7 \pm 0,6$	4,218		
	α	$5,0 \pm 0,5$	4,599		
	α	$4,4 \pm 0,5$	4,325		
	α	$4,2 \pm 0,3$	4,556		
	α	$2,1 \pm 0,2$	4,414		
	γ_1	$57,2 \pm 0,5$	0,186		
	γ	$10,96 \pm 0,08$	0,144		
	γ	$5,08 \pm 0,04$	0,163		
^{238}U	α_1	$79,0 \pm 3,0$	4,202	$4,470\text{E}+09$ anni \pm $2,0\text{E}+07$	$1,2\text{E}+04$
	α	$21,0 \pm 3,0$	4,153		
	γ_1	$8,0 \pm 2,0$	0,015		

I metodi d'analisi dell'uranio possono essere divisi in due principali categorie:

- a) Analisi dell'uranio come elemento: non vengono differenziati gli isotopi ma si quantifica l'uranio complessivo. Tra le tecniche disponibili si ricordano la fluorimetria, la spettrometria di fluorescenza X, la spettrometria di assorbimento atomico, la spettrometria di emissione atomica con induzione al plasma (ICP-AES). Dall'esame dei rapporti isotopici (vedi tabella) si deduce che la concentrazione dell'uranio in termini di massa coincide sostanzialmente con quella dell'isotopo ^{238}U . Anche la tecnica di scintillazione liquida (che richiede una procedura poco laboriosa, non richiede l'utilizzo di uno standard interno) permette la misura dell'uranio totale ($^{234}\text{U}+^{235}\text{U}+^{238}\text{U}$) e non delle singole concentrazioni degli isotopi. La valutazione

dell'alfa totale di un campione fornisce anch'essa una stima complessiva delle attività degli isotopi dell'uranio [2],[3].

b) Analisi dell'uranio isotopico:spettrometria alfa e gamma.

-La spettrometria γ – metodo indiretto, fornisce il contenuto di ^{238}U da ^{234}Th in equilibrio secolare con il ^{238}U : sono richiesti lunghi tempi di conteggio e il D.L. sperimentale è di 15 Bq/Kg. Mediante spettrometria γ si misurano anche le concentrazioni di ^{234}U (alfa emettitore mediante metodo indiretto),e di ^{235}U (50% di probabilità di emissione γ): il D.L. sperimentale è di 5Bq/l e 100mBq/l rispettivamente.

-La spettrometria α – metodo preciso, richiede l'utilizzo di un tracciante (^{232}U o ^{236}U) occorrono circa 8 ore per la preparazione del campione - separazione cromatografica- e 66 ore per il conteggio della misura α . Sono possibili interferenze spettrali da parte del ^{226}Ra . Come è ben noto anche la spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS), dà informazioni sul contenuto isotopico di un elemento. In particolare, in molti casi, si ottengono valori di D.L. minori di quelli ottenuti da altre tecniche.

Uno degli obiettivi del presente lavoro è stato quello di definire una metodica di analisi dell'uranio (totale e isotopico) in matrici ambientali mediante ICP-MS [7],[8],[9]. Come verrà in seguito descritto, saranno presi in esame campioni solidi con matrici molto complesse, che richiedono particolari trattamenti prima di poter effettuare la misura del contenuto di uranio.

MESSA A PUNTO DI UNA METODICA PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ISOTOPI DELL'URANIO - ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U IN MATRICI AMBIENTALI SOLIDE COMPLESSE QUALI: FOSFOGESSI, SEDIMENTI E SABBIE

La metodica di analisi può essere suddivisa in diverse fasi, descritte nei paragrafi seguenti.

Pretrattamento del campione

La solubilizzazione di un campione solido è effettuata essenzialmente mediante due procedure:

Attacco acido (mineralizzazione)

La mineralizzazione è una tecnica di solubilizzazione del campione di suolo con acidi forti che può essere effettuata in sistema aperto o in sistema chiuso (pressurizzato). Il primo metodo consiste nel dissolvere il campione in un contenitore speciale aperto riscaldato a temperatura mediamente elevata (120- 160° C) ed a pressione atmosferica.

La mineralizzazione in sistema chiuso utilizza un contenitore con chiusura stagna che è riscaldato a temperature maggiori (160-180° C) ed a pressioni notevolmente superiori (5- 8 MPa) di quella atmosferica.

La mineralizzazione in sistema aperto consiste nel dissolvere il campione in presenza di acidi forti: cloridrico, fluoridrico, nitrico, solforico o perclorico in aggiunte singole e/o in combinazione tra loro. Il metodo più utilizzato è la solubilizzazione acida con acido fluoridrico da solo o preceduto da trattamento con una miscela di acido nitrico - solforico o nitrico - cloridrico (acqua regia) per l'ossidazione della matrice organica effettuata direttamente su piastra riscaldante in contenitori speciali di Teflon (polytetrafluoroethylene). Il campione dopo l'aggiunta di HF è portato a secco ad una temperatura di 110°C per permettere la decomposizione chimica dei silicati e la volatilizzazione del silicio in forma gassosa (SiF₄); il residuo è portato a secco in più riprese e poi in soluzione con HNO₃ 70% e H₂O₂ fino alla completa solubilizzazione dei fluoruri. L'uso dell'acido perclorico può essere rischioso per l'operatore per la formazioni di composti esplosivi; per tale motivo si cerca di utilizzare la miscela HCl-HNO₃ dopo l'attacco con HNO₃ 70% e H₂O₂ facendo più cicli fino alla completa solubilizzazione del campione.[10]

L'altro modo di mineralizzare un campione a matrice complessa è con HNO₃ 8 M in batch o in colonna a riflusso a ricadere su piastra riscaldante a 160 °C sotto agitazione.

Fusione alcalina

La tecnica della fusione alcalina è impiegata per la decomposizione di campioni di suolo che contengono silicati primari e alcuni minerali argillosi particolarmente insolubili agli

acidi forti. Il campione è riscaldato su fiamma ossidante a circa 1000°C in un crogiuolo di platino insieme a 4-5 g di Na₂CO₃. A questa temperatura il carbonato fonde decomponendo i silicati e formando una massa viscosa. Il crogiuolo è raffreddato e il contenuto è dissolto in più volte con HCl. Tutti gli elementi pesanti sono presenti in forma di cloruri mentre il Si è presente in forma parzialmente solubile come SiO₂ e viene eliminato filtrando la soluzione.

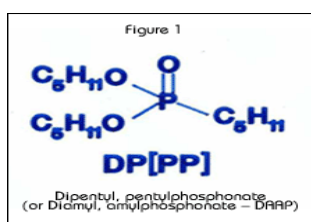
Separazione dell'Uranio dalla matrice

La letteratura riporta diverse tecniche di separazione dell'uranio (nello stato di ossidazione +6) basate sulla sua tendenza alla formazione di complessi anionici. In acido cloridrico concentrato (4 M), ad esempio, si forma il complesso UO₂Cl₆⁴⁻ che si coordina stabilmente con composti elettrondonatori quali organofosforati (triottilfosfinossido detto TOPO oppure acido bis-2-etiletilortofosforico detto HDEHP), ammine (tri-n-ottilammina detta TNOA oppure Triiso-ottilammina detta TIOA), resine anioniche forti (Dowex 1X8 o Biorad AG 1X8). La differenza di comportamento dei contaminanti meno facilmente separabili, sia chimici (es. Fe³⁺) che radiometrici (Pu, Th), ne permette l'isolamento. I protocolli EPA prevedono l'estrazione liquido-liquido dell'uranio con TIOA in xilene.

Generalmente, tuttavia, si preferisce effettuare la separazione con l'elettrondonatore organico fissato su una fase stazionaria e percolando lentamente la soluzione attraverso una colonna cromatografica (cromatografia di estrazione); in genere si utilizza una fase stazionaria di polietilene microporoso su cui viene fissato triottilfosfinossido (TOPO) su cui viene percolata una soluzione nitrica.

Numerose prove preliminari hanno evidenziato maggiore efficienza di separazione dell'uranio dalla matrice mediante la resina UTEVA [8].

- La resina UTEVA, Dipentil,pentil fosfanato o anche Diamil,amilfosfanato (DAAP) (fig.1) utilizzata nel corso del presente lavoro è stata fornita dalla Eichrom .

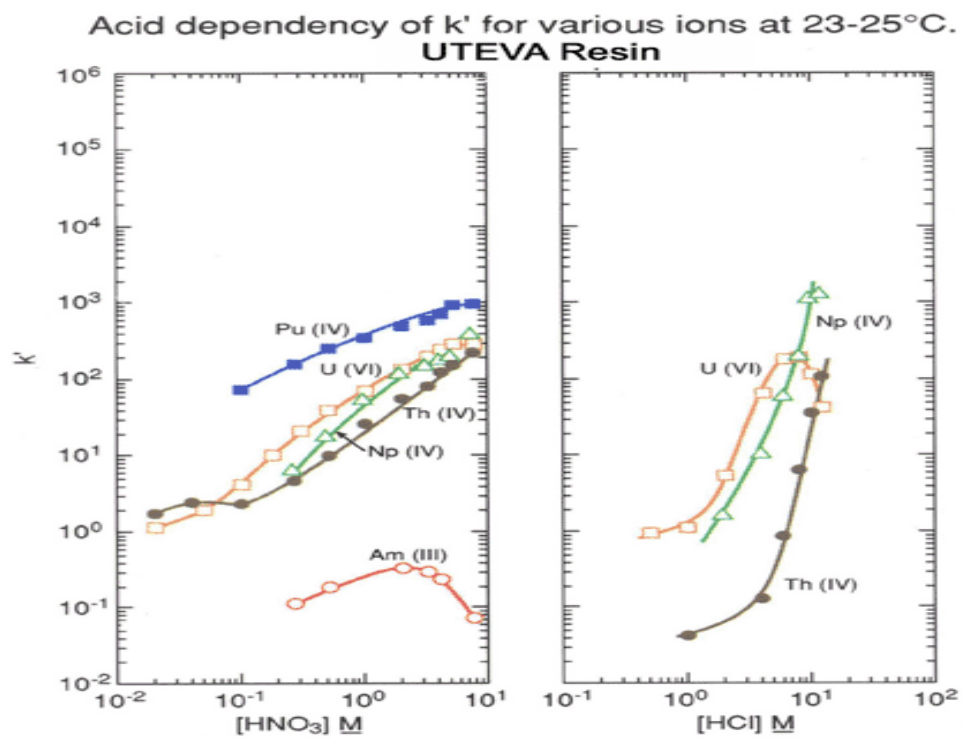


La resina UTEVA è anche usata per estrarre sequenzialmente uranio, plutonio e americio in campioni ambientali; nonché attinidi in urine e in scorie di rifiuti.

In fig.2, 3 si riporta la variazione di K' (costante di ripartizione) in funzione della concentrazione di acido nitrico (fig.2) e acido cloridrico (fig. 3) per la resina UTEVA. I radionuclidi in esame sono nettunio, torio e uranio esavalente. La grande differenza del K' dell'uranio con quella del torio, per concentrazioni 4-6M di HCl, permette l'eluizione selettiva del torio dalla resina.

Per quanto riguarda l'eluizione dell'uranio esavalente, buoni risultati possono essere ottenuti con acido nitrico 0,01-0,05M. Si osserva, però, che una separazione quantitativa dell'uranio dagli altri radionuclidi è raggiunta con HCl 0,01M-1M.

Figures 2 and 3



Horwitz, et al. (HP392)

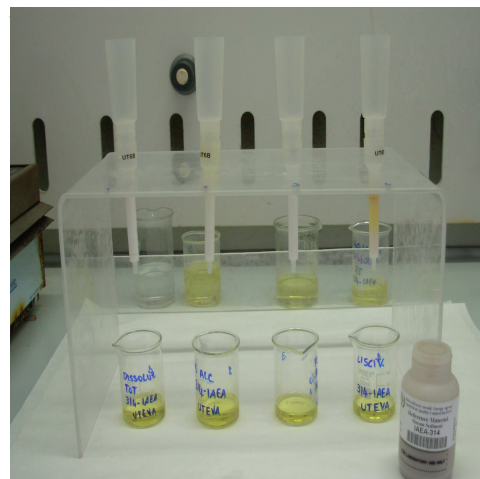
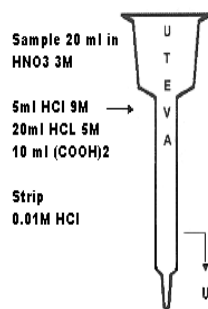


Figura 4 e 5 Purificazione e Concentrazione dell'Uranio

La procedura schematizzata in figure 4 e 5 può essere suddivisa in diversi stadi:

- 1) condizionamento della resina con HNO_3 3M
- 2) passaggio in colonna del campione dopo averlo disciolto in HNO_3 3M (20ml)
- 3) prima purificazione mediante HCl 9M (5ml)
- 4) HCl 5M (20 ml)
- 5) acido ossalico (10 ml)
- 6) Eluizione finale dell'Uranio mediante HCl 0,01 M. (20ml)

Il prodotto di separazione è quindi successivamente portato a secco. Si valuta il residuo e lo si riprende in acqua acidulata all'1% con acido nitrico ultrapuro ed analizzato mediante spettrometria di massa a plasma induttivamente accoppiato (vedi appendice 2).

Validazione della procedura

La procedura proposta è stata validata su campioni certificati quali:

Fosfogessi ALMERA

In tabella 2 si riportano, in relazione a diversi tipi di pretrattamento (mineralizzazione e/o fusione alcalina) della matrice, i valori misurati delle concentrazioni di ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nel fosfogesso ALMERA. L'analisi è stata effettuata per iniezione diretta del campione

pretrattato, dopo opportuna diluizione. In tabella lo scarto % dal valore certificato è definito BIAS%.

Tabella 2 Concentrazioni misurate degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nel fosfogesso per l'intercalibrazione ALMERA con iniezione diretta del campione per diverse tipologie di pretrattamento chimico

	attività ^{234}U [Bq/g]	BIAS %	attività ^{235}U [Bq/g]	attività ^{238}U [Bq/g]	BIAS %	Ratio $^{235}\text{U}/\text{U}^{238}$
Valori certificati	(*) 1,20E-01 (4,5)			(*) 1,20E-01 (5,5)		
Trattamento Dissoluzione A⁽²⁾	1,33E-01 (6)	11	5,81E-03 (5,4)	1,24E-01 (5,4)	3,6	7,27E-03
Trattamento Dissoluzione B⁽³⁾	1,29E-01 (6,7)	7	5,60E-03 (5,4)	1,19E-01 (5,4)	-0,5	7,29E-03
Trattamento Lisciviazione⁽⁴⁾	1,13E-01 (5,5)	-6	5,28E-03 (5,4)	1,12E-01 (5,5)	-6,7	7,33E-03
Trattamento Fusione Alcalina	1,18E-01 (6,0)	-1,6	5,96E-03 (6,5)	1,28E-01 (5,5)	0,32	7,24E-03

(*) valore certificato

(2) Fra parentesi valore di RSD %

(3) Attacco con miscela HCl-HNO₃ 3:1

(4) Attacco con HF, HNO₃ 70% e H₂O₂, e cicli con miscela HCl-HNO₃ 3:1

(5) Lisciviazione con HNO₃ 8M

Sedimento 314-IAEA

Nelle tabelle 3 e 4 si riportano, in relazione a diversi tipi di trattamento preliminare della matrice, i valori misurati delle concentrazioni di ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nel Reference Material IAEA 314 (sedimento fluviale). L'analisi è stata effettuata sia per iniezione diretta del campione pretrattato, dopo opportuna diluizione, che a seguito di trattamento chimico aggiuntivo di purificazione e concentrazione su colonna UTEVA effettuato secondo lo schema di fig. 4 e 5.

Tabella 3 Concentrazioni misurate degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nel sedimento 314- IAEA con iniezione diretta del campione per diverse tipologie di pretrattamento chimico

	^{234}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	^{235}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	^{238}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	Ratio $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Valori di riferimento	3,12E-03^(*)		4,09E-01^(*)		5,64E+01^(*)		
Trattamento Dissoluzione B⁽¹⁾	2,93E-03 (7,0)	-6,4	3,63E-01 (5,4)	-11,3	4,94E+01 (5,4)	-12,5	7,33E-03
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	3,23E-03 (8,1)	3,2	3,56E-01 (5,5)	-13,0	4,86E+01 (5,5)	-13,8	7,37E-03

Tabella 4 Concentrazioni misurate degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nel sedimento 314-IAEA iniettato dopo trattamento aggiuntivo di purificazione e concentrazione su resina UTEVA per diverse tipologie di pretrattamento chimico.

	^{234}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	^{235}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	^{238}U [mg/Kg] (RSD %)	BIAS (%)	Ratio $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Valori di riferimento	3,12E-03^(*)		4,09E-01^(*)		5,64E+01^(*)		
Trattamento Dissoluzione B⁽¹⁾	3,49E-03 (7,0)	10,6	4,43E-01 (5,4)	8,2	6,04E+01 (5,4)	7,1	7,33E-03
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	3,46E-03 (8,1)	10,7	4,28E-01 (5,5)	4,7	5,81E+01 (5,5)	3,0	7,37E-03
Trattamento Fusione Alcalina	3,35E-03 (17,8)	7,34	4,08E-01 (7,3)	-3,2	5,53E+01 (5,4)	-2	7,34E-03

(*) valore calcolato dal dato di concentrazione certificato di U totale pari a 56,8 mg/Kg sulla base delle abbondanze relative degli isotopi di uranio naturale

(1) Attacco con HF, HNO₃ 70% e H₂O₂, e cicli con miscela HCl-HNO₃ 3:1

(2) Lisciviazione con HNO₃ 8M

Osservazioni

Lo studio effettuato sui campioni certificati evidenzia che i diversi metodi di pretrattamento portano a valori misurati di concentrazione con accuratezza (BIAS% sempre inferiore al 14%) e precisione (RSD% sempre inferiore al 10% eccetto il dato per il ^{234}U con fusione alcalina del sedimento IAEA 314) simili.

Inoltre:

- Per quanto concerne la matrice fosfogesso [12],[13] tutte le metodologie di pretrattamento testate sono equivalenti e non richiedono l'applicazione di ulteriori procedure chimico analitiche propedeutiche alla misura ICP-MS.
- nel sedimento IAEA 314 il metodo per iniezione diretta del campione pretrattato porta a sottostime apparentemente sistematiche del valore di concentrazione misurato per ^{235}U e ^{238}U ; tali sottostime non si verificano con l'introduzione di un trattamento aggiuntivo del campione (purificazione e concentrazione dell'uranio), che tuttavia peggiora il dato di misura per il ^{234}U
- in generale non si sono osservate interferenze significative dovute alla presenza di uranio nei reagenti utilizzati nelle metodologie di mineralizzazione acida
- come atteso, in ragione delle caratteristiche intrinseche della tecnica di misura ICP-MS, la determinazione del ^{234}U , la cui abbondanza relativa è molto bassa, è quella che con più frequenza presenta le maggiori incertezze.

Si può concludere che la mineralizzazione acida costituisce una valida ed efficace alternativa alla metodica della fusione alcalina [14].

Applicazione della procedura a campioni reali

Campioni di sedimento marino

In tabella 5 si riportano i valori degli isotopi di Uranio: ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U dopo trattamento chimico sul sedimento marino prelevato lungo il litorale di Gela e iniezione diretta dopo opportuna diluizione per ogni campione.

Tabella 5 *Campione di sedimento marino prelevato lungo il litorale di Gela: risultati della determinazione degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U effettuata con iniezione diretta senza purificazione in colonna*

	Attività ^{234}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{235}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{238}U [Bq/g] (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Trattamento Dissoluzione⁽¹⁾	7,97E-03 (7,5)	3,16E-04 (5,5)	6,82E-03 (5,2)	7,21E-03
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	6,39E-03 (8)	2,85E-04 (5)	6,07E-03 (4,3)	7,29E-03
Trattamento Fusione Alcalina	7,45E-03 (6)	2,6E-04 (4,5)	6,00E-03 (5,7)	7,2E-02

(1) Attacco con HF, HNO₃ 70% e H₂O₂, e cicli con miscela HCl-HNO₃ 3:1

(2) Lisciviazione con HNO₃ 8M

Campioni di sabbia

In tabella 6 e 7 si riportano i valori degli isotopi di Uranio: ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U dopo trattamento chimico su sabbia prelevata lungo il litorale di Gela nei punti 1 e 2 (a differente attività) e iniezione diretta dopo opportuna diluizione per ogni campione.

Tabella 6 Campione di sabbia prelevata nel punto 1 lungo il litorale di Gela: risultati della determinazione degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U effettuata con iniezione diretta senza purificazione in colonna

	Attività ^{234}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{235}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{238}U [Bq/g] (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Trattamento Dissoluzione⁽¹⁾	4,61E-03 (8,9)	2,21E-04 (6,3)	4,66E-03 (4,5)	7,39E-03
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	5,4 E-03 (7)	2.03 E-04 (5,6)	4.50E-03 (6,7)	7,02E-03

Tabella 7 Campione di sabbia prelevata nel punto 2 lungo il litorale di Gela: risultati della determinazione degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U effettuata con iniezione diretta senza purificazione in colonna

	Attività ^{234}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{235}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{238}U [Bq/g] (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	2,36E-02 (9)	1,00E-03 (11)	2,16E-02 (6,5)	7,2E-03

Campioni di fosfogessi

In tabella 8 si riportano i valori degli isotopi di Uranio: ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U dopo trattamento chimico su campione di fosfogesso prelevata lungo il litorale di Gela e iniezione diretta dopo opportuna diluizione per ogni campione.

Tabella 8 Campione di fosfogesso prelevato in una discarica di fosfogessi di Gela: risultati della determinazione degli isotopi ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U effettuata con iniezione diretta senza purificazione in colonna

	Attività ^{234}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{235}U [Bq/g] (RSD %)	Attività ^{238}U [Bq/g] (RSD %)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
Trattamento Lisciviazione⁽²⁾	17,7 E-03 (10,5)	7.7 E-04 (8,2)	16,6E-03 (5,4)	7,02E-03

CONCLUSIONI

La metodica messa a punto con pretrattamento del campione mediante mineralizzazione acida e purificazione e concentrazione del campione su resina UTEVA con determinazione degli isotopi via ICP-MS risulta un metodo sensibile e veloce senza la necessità di utilizzare traccianti.

I detection limits raggiunti con la messa a punto della seguente metodica : riferiti ad 1 g di campione analizzato (campioni solidi o secchi) sono esposti in grigio nella seguente tabella e messi a confronto con quelli della spettrometria γ

	D.L. ^{234}U	D.L. ^{235}U	D.L. ^{238}U
ICP-MS	0,1 mBq/l	0.03 mBq/l	0,03 mBq/l
Spettrometria γ	5 Bq/l	0,1 Bq/l	15 Bq/l
Spettrometria α	0,05 mBq/l	0,05 mBq/l	0,05 mBq/l

Queste sensibilità come si può notare danno la possibilità di rilevare con successo concentrazioni degli isotopi dell'uranio: ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U nei campioni di sedimento e arenile là dove invece le vecchie metodiche [15],[16] fallivano anche in termini di velocità di esecuzione.

Bibliografia

- [1] Handbook of chemistry and physics 54TH edition 1973-1974
- [2] Determinazione dell'uranio in acque dolci (metodo fluorimetrico); UNICHIM acque 44 (Manuale N. 154 – Ed. **1991**).
- [3] Isotopic Uranium in Bone Ash; U-0-RC, EML Procedures Manual, HASL300, **1997**.
- [4] *“Determination of ²³⁴U/²³⁸U isotope ratios in environmental waters by quadrupole ICP-MS after stripping from alpha-spectrometry counting sources”*. Josè Luis Mas, Renli Ma, Cameron McLeod, Jesús González, Alan Cox, Paul Watson. Anal Bional Chem (**2006**) 386: 152-160
- [5] *“Determination of uranium in tap water by ICP-MS”* Mamoune El Himri · Agustín Pastor Miguel de la Guardia. Fresenius J Anal Chem (**2000**) 367 :151–156
- [6] *“Aspects of sample preparation for the determination of actinoids in soil”* C. Hill, M. Bickel*, L. Holmes, A. Bohnstedt, G. Sibbens, T. Altitzoglou. Applied Radiation and Isotopes 61 (**2004**) 283- 286
- [7] *“²³⁴U/²³⁸U isotope ratios in groundwater from Southern Nevada: a comparison of alpha counting and magnetic sector ICP-MS”*. James Cizdziela*, Dennis Farmerb, Vernon Hodgec, Kazumasa Lindleya, Klaus Stetzenbach. Science of the Total Environment 350 (**2005**) 248– 260
- [8] *“Comparison of uranium determination in some Syrian geologic samples using three reactor based methods”*. Youssef M. Jubeli . Applied Radiation and Isotopes 52 (**2000**) 1003±1007
- [9] Uranium in Biological and Environmental Materials; U-04-RC, EML Procedures Manual, HASL300, **1997**.
- [10] Hossner L.R. **1996**. Dissolution for total Elemental Analysis. P 49-64. Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series no.5. Madison WI. USA
- [11] *“Rapid sequel separation of actinides using Eichrom’s extraction chromatographic material”*. A. H. Thakkar Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol 248, No. 2 (**2001**) 453-456.

- [12] *“Partitioning of radionuclides and trace elements in phosphogypsum and its source materials based on sequential extraction methods”*. A.J.G. Santos, B.P. Mazzilli, D.I.T.Favàro,P.S.C. Silva. Journal of environmental radioactivity
- [13] *“Partitioning of radionuclides and trace elements in phosphogypsum and its source materials based on sequential extraction methods”*. A.J.G. Santos, B.P. Mazzilli, D.I.T.Favàro,P.S.C. Silva. Journal of environmental radioactivity
- [14] *“Comparison of alkaline fusion and acid digestion methods for the determination of rhenium in rock and soil samples by ICP-MS”* Shigeo Uchida, Keiko Tagami, Ken Tabei. Analytica Chimica Acta
- [15] Uranium – Radiochemical Method (proposed); Standard Methods (APHA, **1982**), 7500-U B.
- [16] *“Method development for the extraction of naturally occurring radionuclides in marine sediments”*. Heather S. Emerson*, Alan K. Young. The Science of the Total Environment 173/174 (**1995**) 313-322

Foto da Wikipedia l'enciclopedia libera.

CAPITOLO 6

STUDIO DI ECO-TOSSICITÀ DI URANIO E URANIO DEPLETO

Introduzione

È noto che le raccomandazioni della Commissione internazionale per la protezione radiologica (*International Commission on Radiological Protection, ICRP*) fino a pochi anni fa erano basate su un assunto antropocentrico, cioè che una efficace protezione dalle radiazioni delle persone fosse una sufficiente garanzia di protezione anche per l'ambiente. Questa impostazione è cambiata principalmente dopo l'incidente alla centrale nucleare di Chernobyl, quando si sono evidenziati i danni provocati all'ambiente nelle vicinanze dell'impianto. È iniziata, quindi, una seria riflessione delle organizzazioni internazionali sull'argomento. Nel 2000 il Comitato Scientifico delle Nazioni Unite sugli effetti delle radiazioni ionizzanti (*United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, UNSCEAR*) ha dedicato un voluminoso rapporto a questi effetti, la *OECD Nuclear Energy Agency (NEA)* ha organizzato tre *workshop* sull'argomento, in stretta collaborazione con l'ICRP, il primo dei quali è stato tenuto, su invito dell'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici (APAT), a Taormina nel 2002 (*Radiological Protection of the Environment: the Path Forward to a New Policy?*).

Molte sono le specie che vengono usate come biondicatori ad esempio: l'impiego dei molluschi bivalvi [1] nel monitoraggio della contaminazione chimica degli ambienti costieri è, da decenni, utilizzato sia negli Stati Uniti sia in numerosi Paesi europei in programmi internazionali di Mussel Watch. La caratteristica più importante, che la specie scelta come bioindicatore deve presentare, è la mancanza di meccanismi biochimici o fisiologici in grado di regolare le concentrazioni tissutali dei contaminanti. In questo modo, infatti, l'organismo concentra queste sostanze nei propri tessuti in maniera proporzionale al loro livello ambientale. I principali vantaggi offerti da un programma di monitoraggio condotto mediante l'utilizzo di bioindicatori si possono riassumere nei seguenti punti:

- valutazione del grado di contaminazione dell'area secondo una misura "integrata nel tempo" e non riferibile, quindi, al solo momento in cui è stato effettuato il prelievo;

- possibilità di evidenziare facilmente gradienti di inquinamento sia in senso spaziale che temporale, nonché di effettuare confronti tra aree geograficamente distanti;
- stima della “biodisponibilità” delle sostanze tossiche presenti nell’ambiente e valutazione del rischio legato al trasferimento di questi elementi attraverso le catene alimentari.

Tuttavia, il corretto utilizzo di organismi bioindicatori in programmi di biomonitoraggio non può prescindere dalla conoscenza che alcune variabili biologiche sono note influenzare l’accumulo dei contaminanti negli organismi. L’effetto di queste variabili deve dunque essere attentamente considerato sia per una impostazione rigorosa del programma di monitoraggio che per una corretta interpretazione dei risultati ottenuti.

Esistono alcuni requisiti considerati indispensabili affinché una specie possa essere utilizzata come bioindicatore. Tra questi, l’assenza di meccanismi di regolazione delle concentrazioni tissutali di contaminanti, la sessilità, le abitudini alimentari preferibilmente di tipo filtratorio, facilità di raccolta, ampia diffusione geografica ed infine, ma non per questo meno importante, la conoscenza del ciclo biologico. La specie sicuramente più utilizzata a livello mondiale per questo tipo di studi è il mitilo comune, per il quale la letteratura internazionale offre numerosi dati di riferimento ed indicazioni sulle principali variabili biologiche da considerare nell’interpretazione dei dati.

Nel corso del presente lavoro è stata studiata la tossicità indotta dall’uranio nel terreno e le eventuali differenze tra gli effetti indotti dall’uranio naturale (U) e dall’uranio depleto (DU) mediante l’organismo di riferimento *Eisenia Fetida* [2] di cui sono descritte alcune caratteristiche nei paragrafi seguenti

Anellidi “Eisenia fetida” classe Oligocheti

In genere misura dai 10 ai 15cm e può arrivare ad una lunghezza massima di 36 cm. Il corpo del lombrico è costituito da tanti anelli posti uno vicino all’altro. Ogni anello è provvisto di brevi setole che permettono di strisciare sul terreno e di scavare gallerie. Nel loro interno gli anelli sono attraversati da lungo intestino che si apre alle due estremità. Il lombrico sopravvive se è composto da almeno una dozzina di segmenti. Si potrebbe definire una fabbrica vivente di terreno: per nutrirsi ingoia materia organica in decomposizione mischiandola a piccoli granelli di sabbia. La terra, passando attraverso l’intestino del lombrico, si arricchisce di sostanze

nutritive grazie all'opera di particolari batteri che decompongono i materiali organici in essa contenuti. Scavando gallerie dissoda la terra, cioè la rende più soffice e porosa, facilitando la circolazione dell'acqua e dell'aria. Alcune specie amano i terreni acidi, altre specie i terreni alcalini. Il lombrico del letame (*EISENIA FOETIDA*) gradisce il calore: il lombrico vede e respira attraverso la pelle, infatti non ha occhi, eppure riesce a distinguere la luce dall'ombra perché la sua pelle contiene dei recettori sensibili ai raggi luminosi; inoltre, attraverso la pelle, assorbe l'ossigeno di cui ha bisogno (respirazione cutanea).



Tagliato in due parti, il lombrico non muore, la metà anteriore è capace di rigenerare gli anelli mancanti. Ci sono circa 2.000.000 di lombrichi, che, in un ettaro di buon terreno da giardino, arano 50t di terra. Come molti altri animali che vivono nel terreno, i lombrichi non amano la luce: durante il giorno vivono nelle gallerie, di notte escono e si nutrono di foglie morte che spingono nelle loro gallerie. I lombrichi ingeriscono il terriccio trattenendo le sostanze ad essi utili ed eliminano scorie sotto forma di mucchietti di terra mista a feci accumulati all'uscita delle gallerie. Il lombrico, quando piove, deve abbandonare i suoi cunicoli allagati ed esporsi alla luce del giorno che distruggendo i suoi globuli rossi lo può uccidere. L'allevamento dei lombrichi è abbastanza facile da attuare anche per scopi agricoli, come la preparazione del terreno e per il compost. L'allevamento risale all'antichità ma solo nel XIX secolo questi animali furono studiati accuratamente. Charles Darwin fu uno tra i primi ad occuparsi del lombrico riconoscendone la grandissima utilità per la fertilità del terreno paragonandolo ad aratro vivente. *"L'aratro è una delle più antiche e preziose invenzioni dell'uomo ma, molto prima che l'uomo esistesse, la terra era regolarmente arata dai vermi e continua ad esserlo tuttora"*.

Test di tossicità

L'utilizzo di lombrichi nella valutazione eco tossicologica dei suoli è stato sviluppato a partire dagli anni '80 e, successivamente, è stato standardizzato in diversi protocolli applicativi (EPA, OECD, EEC, ecc.). Il vantaggio di questo test è rappresentato dall'assenza di trattamenti della matrice e, dunque, dalla possibilità di poter testare la tossicità di molecole di contaminante direttamente sui campioni di suolo tal quali e non su estratti acquosi. I lombrichi sono animali che hanno come habitat naturale il terreno per cui sono degli ottimi indicatori dello stato di "salute" di quest'ultimo. In particolare la prova (Metodo ISO 11268-1) valuta la tossicità dei suoli utilizzando il lombrico *Eisenia Fetida* [3], sia per prove di screening, sia per prove definitive.

Per la valutazione della tossicità, vengono considerate, la percentuale di sopravvivenza e la differenza tra il peso iniziale della massa di lombrichi e il loro peso finale. Si utilizzano per la prova unicamente lombrichi adulti, sessualmente maturi, con clitello ben sviluppato e un'età compresa tra sei mesi e un anno. La percentuale di mortalità riscontrata è comparata con dati presenti in letteratura in base alla tipologia di suolo. Gli animali utilizzati devono avere un peso iniziale unitario omogeneo ed essere sottoposti alle seguenti condizioni di prova: aerazione continua, umidità controllata, temperatura di 20 ± 2 °C ed illuminazione di 400-800 lux.

I lombrichi essendo uno delle più importanti componenti biotiche nel suolo, sono comunemente utilizzati negli studi di tossicità [4] e inclusi nella lista di riferimento suggerita da organismi internazionali e organizzazioni nazionali.

Parte sperimentale

Valutazione del bioaccumulo di U e DU nell'organismo di riferimento

Gli steps principali dello studio sono stati:

a) preparazione di soluzioni stock di U o di DU a concentrazione note a partire da acetato di uranile

b) a 80 g di terreno certificato (375-IAEA) sono aggiunti 40 ml di soluzione a dosaggi crescenti di U o DU in modo da ottenere le seguenti concentrazioni finali di uranio in terreno pari a 1.86; 5; 9.3; 18.6; 50; 93; 150; 186; 300; 600 (mg kg^{-1}).

c) ciascun campione è messo in contatto con 6 lombrichi adulti condizionati per 48 h su carta da filtro bagnata, per 7 (28 giorni).

d) Allo scadere di 7 (28 giorni) i lombrichi sono sottoposti a leggero shock elettrico per provocare l'estrusione dei celomociti (su cui è stato determinato il danno genetico tramite Comet assay (appendice 4)).

e) si valuta il bioaccumulo misurando la concentrazione di U e DU in ciascun campione (dopo incenerimento a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ per quattro ore e successiva mineralizzazione con acido nitrico ultrapuro) con ICP-MS. I risultati sono riportati in figura 1 e fig 2 e 3 (come istogrammi).

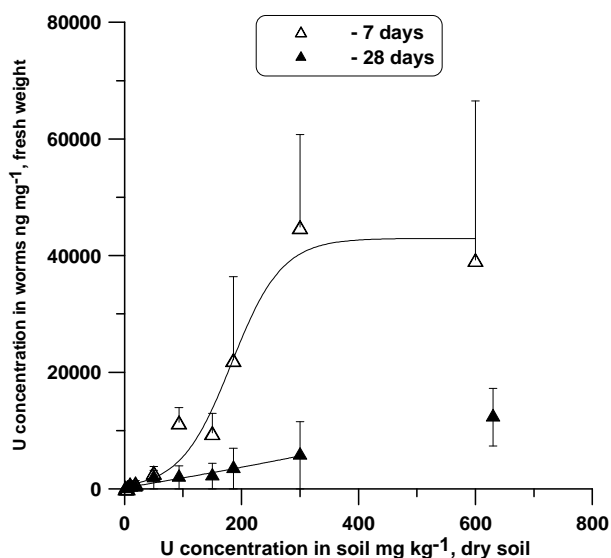


Figura 1. Bio-concentrazioni di U nei lombrichi (ng/g peso fresco) calcolato come media geometrica per ogni gruppo di vermi alle differenti concentrazioni nel terreno dopo 7 e 28 giorni di trattamento. Simboli diversi indicano tempi di esposizione diversi

I bioaccumulo di U nei tessuti aumenta all'aumentare del contenuto di uranio nel terreno. In particolare, la concentrazione di U nei vermi dopo 7 giorni di contatto (triangoli vuoti) aumenta da $0,15\text{ mg kg}^{-1}$ (corrispondente alla concentrazione nel terreno di $1,86\text{ mg kg}^{-1}$) fino a circa

116 mg kg⁻¹ (corrispondente alla concentrazione nel suolo di 600 mg kg⁻¹). Nei vermi mantenuti in terreno contaminato per 28 giorni il bioaccumulo aumenta linearmente fino alla concentrazione nel terreno di 50 mg kg⁻¹ (5.1 mg kg⁻¹); nel range 50-150 mg kg⁻¹ di terreno, invece, non si osserva aumento del bioaccumulo. Da 186 mg kg⁻¹, la concentrazione di uranio nel lombrico aumenta linearmente.

Risultati analoghi sono ottenuti per il bioaccumulo di DU, come si evidenzia dai grafici riportati in figura 2 e 3 (b)

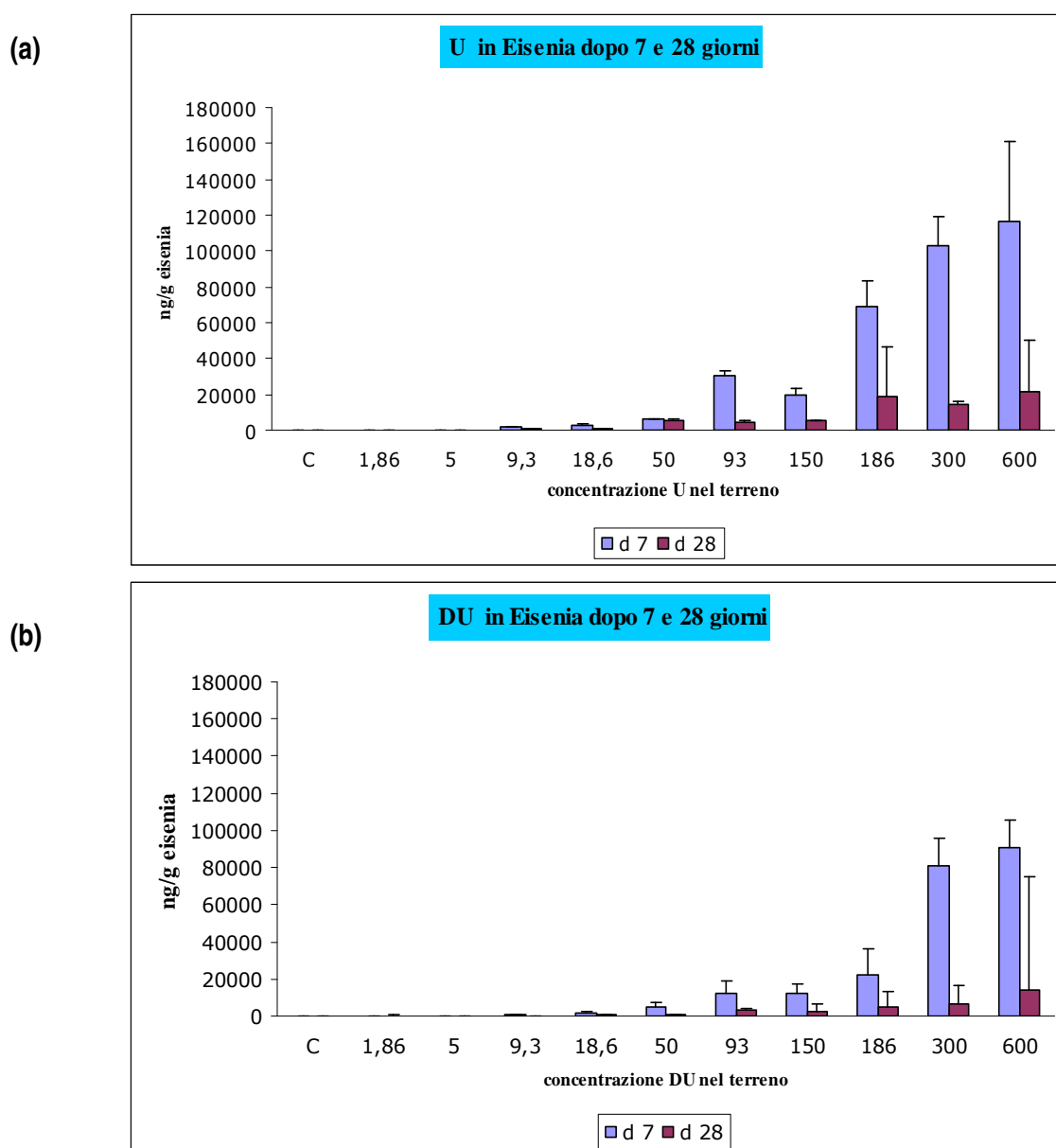


Figure .2 ,3 Bioaccumulo di Uranio (a) e Uranio Depleto (b) in Eisenia Fetida dopo 7 giorni di esposizione e 28 giorni

Si osservi che, a parità di concentrazione di uranio e uranio depleto nel terreno il bioaccumulo è molto maggiore per tempi di esposizione minori. Il carico corporeo sembra quindi più legato a meccanismi fisiologici.

Un'analisi della letteratura pertinente conferma un andamento simile per il bioaccumulo di metalli pesanti. Alcuni esempi sono riportati nelle figure seguenti.[5]

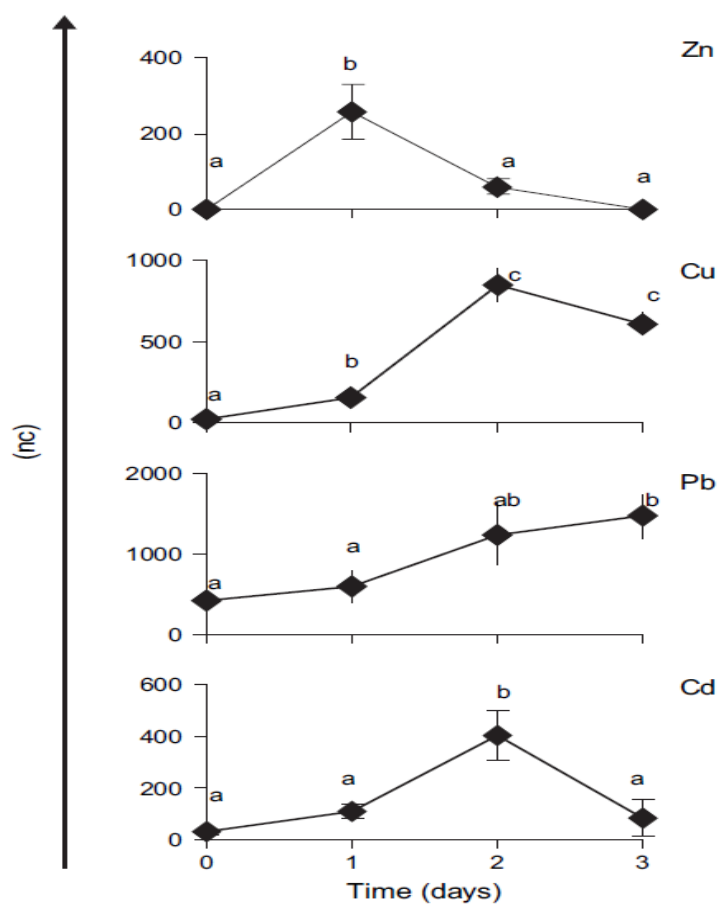


Figura 4 Analisi con microscopio a scansione elettronica (SEM) di metalli in celomociti di *Eisenia Fetida* esposti a metalli pesanti (Zn, Cu, Pb, Cd) per 1,2 e 3 giorni.

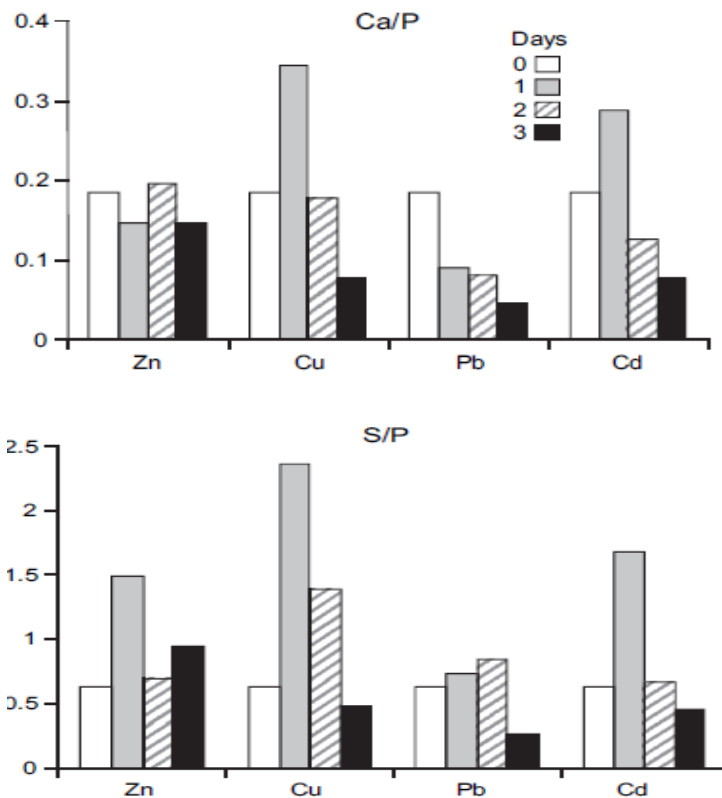


Figura 5 *Contenuto degli elementi (espresso semi-quantitativamente come rapporto Ca/P e S/P) di celomociti di Eisenia Fetida esposti a metalli pesanti (Zn, Cu, Pb, Cd) per 0,1,2,3 giorni, misurati con microscopio a raggi X a scansione elettronica.*

Nell'ambito del presente studio è stato valutato il danno genetico (mediante il Comet assay [7]) provocato dal bioaccumulo di uranio [6]. Ciò è stato eseguito in collaborazione con il lab di radiobiologia che si occupa dell'individuazione dei meccanismi molecolari e della risposta cellulare alle esposizioni alle basse dosi.

Il Comet assay (vedi appendice 3) permette di quantificare il livello di frammentazione del DNA sottoponendo i nuclei a migrazione elettroforetica: quanto più piccoli sono gli eventuali frammenti tanto più velocemente migreranno verso il catodo formando una cometa, la cui lunghezza è direttamente proporzionale al danno genetico.

La determinazione del danno genetico è stata effettuata sugli celomociti (i vermi esposti all'uranio sono sottoposti ad un leggero shock elettrico in soluzione di Ringer). I risultati sono riportati in Fig 2:

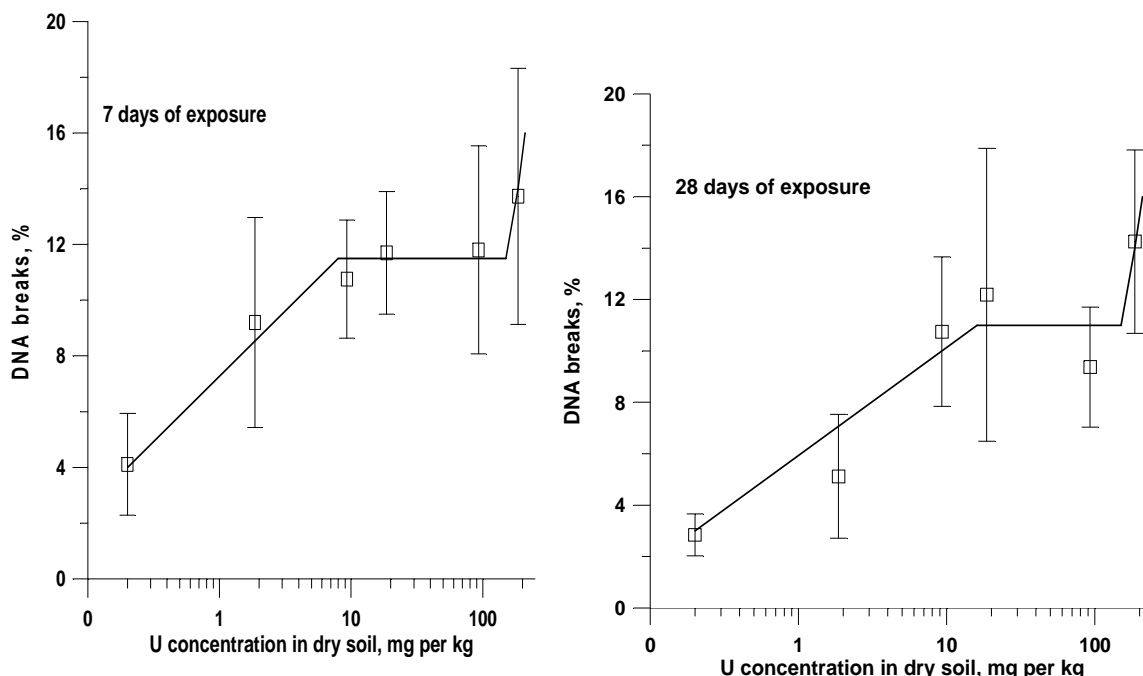
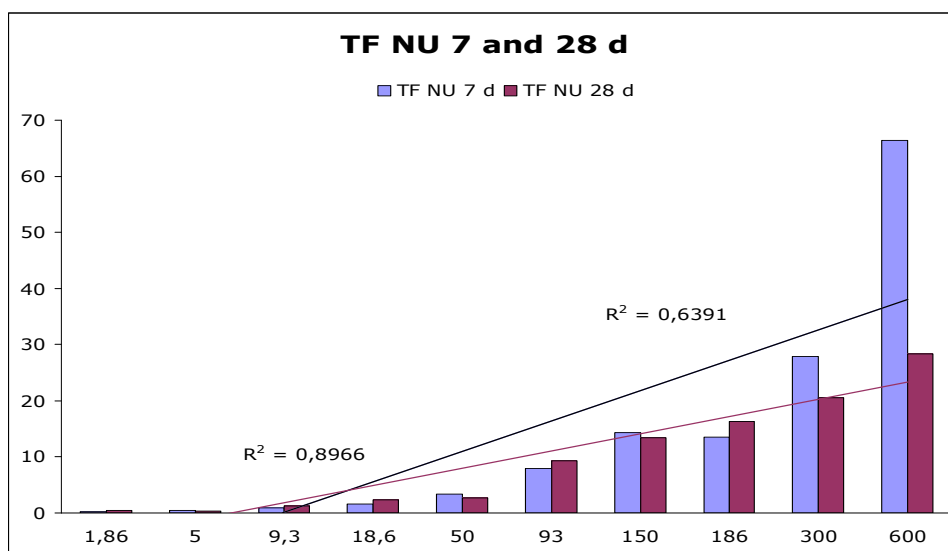


Figura 2 Percentuale di rotture del DNA osservata nei celomociti dei campioni esposti per 7 e 28 giorni alle diverse concentrazioni di U nel terreno.

la percentuale di rotture del DNA mostra un aumento lineare fino a 9.3 mg kg^{-1} , probabilmente non sono attivati quei meccanismi alla base del danno indiretto al DNA (risposta adattativa, instabilità genomica, bystander effect). Nel range $10\text{-}150 \text{ mg kg}^{-1}$ il numero di rotture è indipendente dalla concentrazione di uranio, verosimilmente per l'attivazione dei meccanismi di difesa come sistema di riparo del DNA (apoptosi, risposta immune). Per concentrazioni di U superiori a 150 mg kg^{-1} le cellule potrebbero non essere più in grado di contrastare il danno genetico, infatti si osserva un aumento della frammentazione del DNA con la concentrazione di U nel terreno.

Una simile relazione dose-effetto viene riportata per numerose specie vegetali ed animali sottoposte a stress ambientali.

(2a)



(2b)

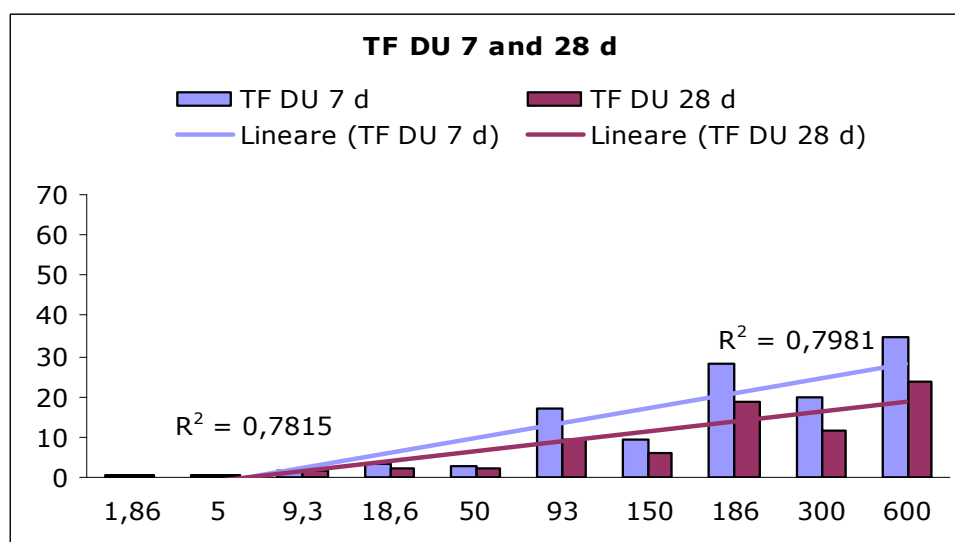


Figura 2 Danno genetico in *Eisenia Fetida* dopo 7 e 28 giorni di esposizione da Uranio(2a) Uranio Depleto (2b)

Analogamente a quanto sopra riportato per il bioaccumulo, nei grafici che seguono sono confrontati il danno genetico dovuto all'esposizione all'uranio naturale (fig.2a) con il danno dovuto all'esposizione all'uranio depleto (fig. 2b). Dai dati ottenuti si può osservare che il danno genetico è più alto per i vermi esposti ad uranio naturale. La dipendenza dal tempo di esposizione del danno genetico è analoga a quella del bioaccumulo: tempi brevi di esposizione determinano una maggiore frammentazione del DNA.

Il fattore di tossicità è maggiore per l'Uranio rispetto all'Uranio Depleto. In particolare la radiotossicità (dal punto di vista chimico e radiologico) dell'U è maggiore del 40% rispetto al DU

.

Conclusioni

Lo studio non è ancora completo. I risultati fin qui ottenuti e riportati nel presente lavoro indicano che l'*Eisenia fetida* non è un buon organismo di riferimento per studi di ecotossicità, dato che, come dimostrato, esso presenta meccanismi di autoregolazione (ad esempio parziale smaltimento di Uranio e Uranio Depleto).

Bibliografia

- [1] Utilizzo dei molluschi bivalvi nel programma di monitoraggio dell'ambiente costiero (*Protocollo Mussel Watch*) Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio ICRAM.
- [2] PENTREATH R.J., WOODHEAD D.S., A system for protecting the environment from ionising radiation: selecting reference fauna and flora, and the possible dose models and environmental geometries that could be applied to them. *Sci Tot Environ*, **277** (2001) 33-43.
- [3] SPURGEON D.J., HOPKIN S.P., Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Appl Soil Ecol* **11** (1999) 227-243.

- [4] Robidoux PY, Dubois C, Hawari J, Sunahara GI, Assessment of soil toxicity from an antitank firing range using *Lumbricus terrestris* and *Eisenia andrei* in mesocosms and laboratory studies. *Ecotoxicology*, 13:603-614 (2004).
- [5] “Disrupted homeostasis in coelomocytes of *Eisenia fetida* and *Allolobophora chlorotica* exposed dermally to heavy metals” J. Homa a,* , S.R. Stürzenbaum b, A.J. Morgan c, B. Plytycz. *European Journal of Soil Biology* 43 (2007) S273eS280
- [6] Anna Giovanetti, Maria Letizia Cozzella^a, Giuseppina Vanga, Sergey Fesenko: “Uranium bioaccumulation by the earthworm *Eisenia fetida*” International Conference on Environmental Radioactivity: From Measurements and Assessments to Regulation 23-27 April 2007, Vienna, Austria
- [7] Singh NP, Mc Coy, MT, Tice RR, Schneider EL, A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175: 289-296 (1988).

APPENDICE 1

REAGENTI ED ANALISI

La soluzione standard di cloruro di ^{226}Ra , con concentrazione pari a 1.924 Bq/g, è fornita da Amersham International p.l.c. Tutte le soluzioni sono state preparate usando reagenti di grado analitico (Fine Chemical Division, Ashland Chemical Italiana, Baker). I reagenti analitici usati sono: HNO_3 70%, EDTA-2Na, HCl 37%, HF 50%, H_2O_2 al 30%

L' HNO_3 usato per la preparazione dei campioni per l'analisi via ICP-MS è di tipo double distilled PPB/teflon grade 70% (Sigma Aldrich).

Sono state utilizzate colonne di vetro 20 cm x 1cm riempite con 10 g -15 g di resina cationica Dowex (100-200 mesh) AG-50W-X8 (Bio-Rad, Richmond, CA). La resina è stata preliminarmente lavata con HCl 6M, poi con H_2O fino all'eliminazione dell'eccesso di acidità e infine conservata in HCl 1.5 M .

SPETTROMETRO ICP-MS

Lo spettrometro di massa a quadrupolo (Q ICP-MS) è fornito dalla Thermo™ Elemental Serie X (vedi fig.1) e permette un'analisi multi elementare con un ampio intervallo di linearità della risposta.



Figura 1: Q-ICP-MS Thermo™ Elemental Serie X

I parametri imposti allo strumento per le misure effettuate sui campioni contenenti radio sono riportati in Tabella 1. :

Tabella 1: Valori dei parametri strumentali usati

Forward power: 1300 W
Plasma gas: 13.0 L/min
Auxiliary gas: 1.01 L/min
Nebulizer gas: 0.96 L/min
Sample flow: 100 microlitres/min
Torch: Single piece, quartz
Nebulizer: MIRAMIST
Spray chamber: Quartz impact bead, peltier cooled to +2°C
Sampler: Standard high sensitivity Ni sampler (1.0 mm i.d. orifice)
Skimmer: Standard Ni skimmer cone (0.7 mm i.d. orifice)
Data acquisition: Pulse counting, collected via embedded PC on instrument before transfer to user PC.
Dead time: 100 ms
Points per peak: 1

La calibrazione dello strumento è stata effettuata utilizzando una soluzione multi elementare standard di 1 ppb (Tune A) fornita dalla Thermo. In tale procedura chiamata Performance Report, lo strumento deve rientrare in determinare specifiche imposte (ampiezza del picco e centratura) come è riportato in tabella 2.

Tabella 2: Specifiche Imposte dal Performance Report

Analyte	Limits			Results	
	Max. width	Min. width	Max. error	Peak width	Peak error
9Be	0.98	0.55	0.35	0.82	-0.00
59Co	0.98	0.57	0.15	0.77	-0.05
115In	0.98	0.58	0.15	0.77	-0.00
238U	0.98	0.40	0.55	0.82	-0.00

In Figura 2 sono riportati, a titolo di esempio, i picchi rappresentativi del ^{59}Co , ^{115}In e ^{238}U ottenuti dopo aver superato il Performance Report.

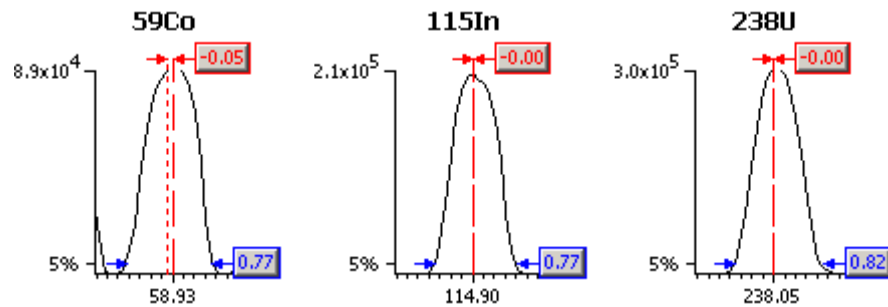


Figura 2 Picchi rappresentativi del ^{59}Co , ^{115}In e ^{238}U nel Performance Report

Una volta effettuato con successo il Performance Report, si procede alla costruzione di una retta di Taratura o di Calibrazione. Le soluzioni standard sono ottenute mediante diluizione con HCl di una soluzione certificata dell'elemento di interesse.

Si riporta, a titolo di esempio, la procedura seguita per le misure di ^{226}Ra . Gli standard sono ottenuti a partire da una soluzione cloridrica di ^{226}Ra fornita da Amersham International p.l.c. avente concentrazione 192,4 Bq/g pari a 197,52 Bq/ml .

In figura 3 si riporta la retta di taratura ottenuta per soluzioni con concentrazioni comprese tra 6.75E-02 ppt e 13.15 ppt.

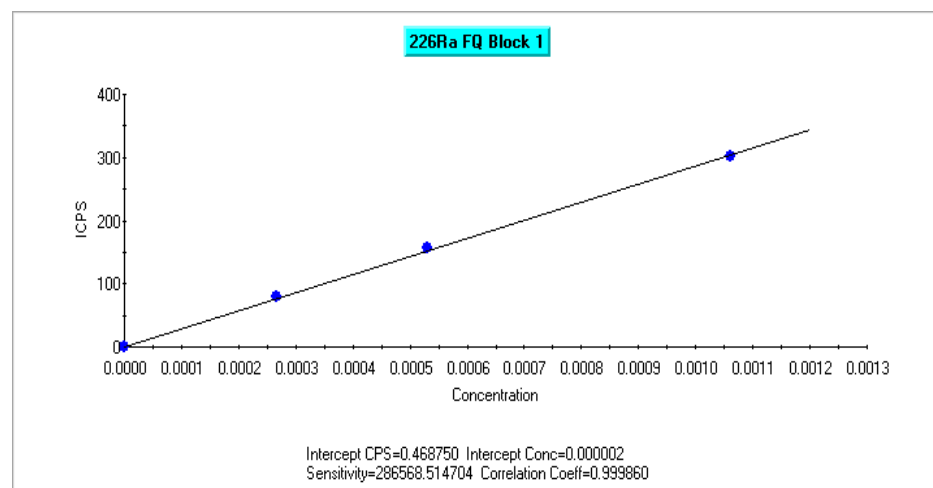


Figura 3: Retta di taratura

Determinazione del limite di rilevabilità (ldr) e di quantificazione (ldq):

Il limite di rivelabilità (ldr) è la minima concentrazione (o massa) di analita rilevabile con una precisata probabilità di errore del primo e secondo tipo nel test statistico di ipotesi da una certa procedura analitica. In altre parole, ldr è la concentrazione di analita corrispondente al minimo segnale significativo, vale a dire al minimo segnale vicino a quello del bianco, (soluzione in cui l'analita è virtualmente assente) ma da esso significativamente diverso e quindi assegnabile all'analita in conformità ad un criterio specifico. Il valore di ldr è qui stato determinato sulla base della seguente formulazione [9]:

$$ldr = 2 \cdot k \cdot \frac{\sqrt{\sigma_B^2 + \sigma_a^2 + \frac{\sigma_b^2 \cdot (a - \mu_B)^2}{b^2}}}{b}$$

μ_B e σ_B sono valore medio e deviazione standard della distribuzione del conteggio del bianco ottenuti su misure su 10 campioni distinti di una soluzione di acqua ultrapura deionizzata acidificata con l'1% di HNO_3 double distilled PPB/teflon grade 70%,

a e b sono pendenza ed intercetta con le rispettive deviazioni standard

σ_a e σ_b ottenute applicando il metodo di regressione lineare ai dati di ICPS in funzione della concentrazione ricavati della retta di calibrazione.

$K\alpha$ con $\alpha = \beta = 0,05$ nella distribuzione normale cumulativa.

Ldq è il limite di quantificazione, ed è definito come quella concentrazione di analita misurata con una precisione corrispondente a un coefficiente di variazione al 10%.

Nel caso di un metodo relativo, ldq viene spesso definito come la concentrazione più bassa inclusa nella normale curva di taratura.

Valore teorico ottenuto applicando la formula :

$$ldq = 20\sigma_B/b$$

Tenendo conto i valori di resa media ottenuti :

ldq per le acque diventa circa 0.46 mBq/l

ldq per le urine diventa circa 0.5 mBq/l

Nella figura 4 si riporta lo spettro di massa di una soluzione standard di ^{226}Ra .

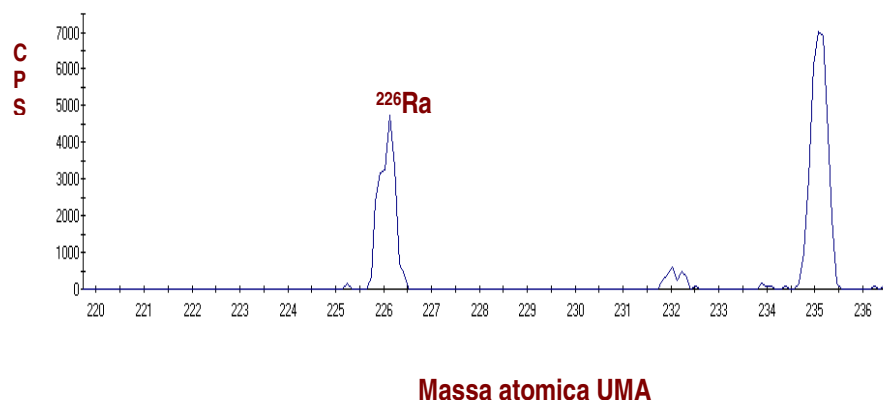


Figura 4: Spettro di massa della soluzione standard ^{226}Ra di concentrazione 13.15 ppt

Possibili interferenze nella determinazione del ^{226}Ra

In tabella 3 vengono ricavati mediante l'ausilio di uno spettrometro di massa ad alta risoluzione (H-ICP-MS) le possibili interferenze isobariche che possono esistere nella determinazione del ^{226}Ra [10]. Anche per le determinazioni eseguite con un Q-ICP-MS è opportuno valutare la possibile presenza di “falsi positivi”, ottenuti dalla somma di ioni presenti nella soluzione oggetto dell'analisi, che possano comportare un errore di sovrastima della concentrazione dell'analita.

Tabella 3: **Possibili interferenze isobariche per l'analisi del ^{226}Ra mediante H-ICP-MS**

Interferenze	Massa	Interferenze	Massa
^{226}Ra	226.02	$^{97}\text{Mo}^{129}\text{Xe}$	225.81
$^{88}\text{Sr}^{138}\text{Ba}$	225.81	$^{94}\text{Mo}^{132}\text{Xe}$	225.81
$^{87}\text{Sr}^{139}\text{La}$	225.82	$^{92}\text{Mo}^{134}\text{Xe}$	225.81
$^{86}\text{Sr}^{140}\text{Ce}$	225.81	$^{95}\text{Mo}^{131}\text{Xe}$	225.82
$^{186}\text{W}^{40}\text{Ar}$	225.92	$^{98}\text{Mo}^{128}\text{Xe}$	225.81
$^{209}\text{Bi}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$	225.98	$^{96}\text{Mo}^{130}\text{Xe}$	225.81
$^{208}\text{Pb}^{18}\text{O}$	225.98	$^{100}\text{Mo}^{126}\text{Xe}$	225.81

Bibliografia

[9] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition*, Anal. Chem., 55 (1983) 713

APPENDICE 2

REAGENTI ED ANALISI

Gli standard contenenti uranio sono: una soluzione di Uranio Naturale fornita dalla Procorad con concentrazione pari a 1 ppm, *reference materials* forniti dalla IAEA fra cui il sedimento 314-IAEA, fosfogessi utilizzati per l'itercalibrazione nel circuito ALMERA.

ALMERA è una rete coordinata dall'Agenzia Internazionale per l'Energia Atomica (IAEA) per i laboratori analitici che misurano la radioattività ambientale.

Sono state utilizzate colonne cromatografiche UTEVA della Eichrom per la concentrazione e purificazione dell'Uranio.

Tutte le soluzioni sono state preparate usando i seguenti reagenti di grado analitico (Fine Chemical Division, Ashland Chemical Italiana, Baker): HNO₃ del tipo double distilled PPB/teflon grade 70% (Sigma Aldrich™), HCl 37%, HF 50%, H₂O₂ al 30% , HClO₄, Na₂CO₃, acido ossalico.

STRUMENTO ICP-MS

Le misure delle concentrazioni di uranio effettuate nel corso del presente studio sono state realizzate usando lo spettrometro di massa a quadrupolo (Q ICP-MS) Thermo™ Elemental Serie X mostrato in APPENDICE 1.

I parametri sperimentali utilizzati sono riportati in Tabella 1.

La calibrazione dello strumento prevede l'esecuzione della procedura chiamata Performance Report (v.APPENDICE 1).

In figura 4,5,6 sono riportate le rette di taratura relative agli isotopi dell'uranio ottenute per soluzioni con concentrazioni comprese tra 0,01 ppb (10E-9 g/mL) a 1 ppb.

Tabella 1: Valori dei parametri strumentali usati

Forward power: 1302 W
Plasma gas: 13.0 L/min
Auxiliary gas: 0,76 L/min
Nebulizer gas: 1.02 L/min
Sample flow: 100 microlitres/min
Torch: Single piece, quartz
Nebulizer: MIRAMIST
Spray chamber: Quartz impact bead, peltier cooled to +2°C
Sampler: Standard high sensitivity Ni sampler (1.0 mm i.d. orifice)
Skimmer: Standard Ni skimmer cone (0.7 mm i.d. orifice)
Data acquisition: Pulse counting, collected via embedded PC on instrument before transfer to user PC.
Dead time: 100 ms
Points per peak: 1

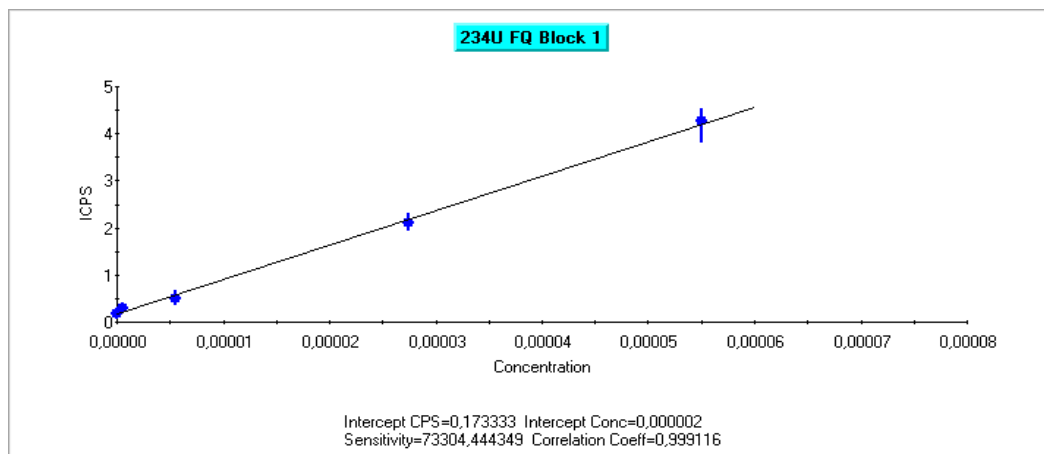


Figura 4: Retta di taratura per l'isotopo dell'Uranio : ^{234}U

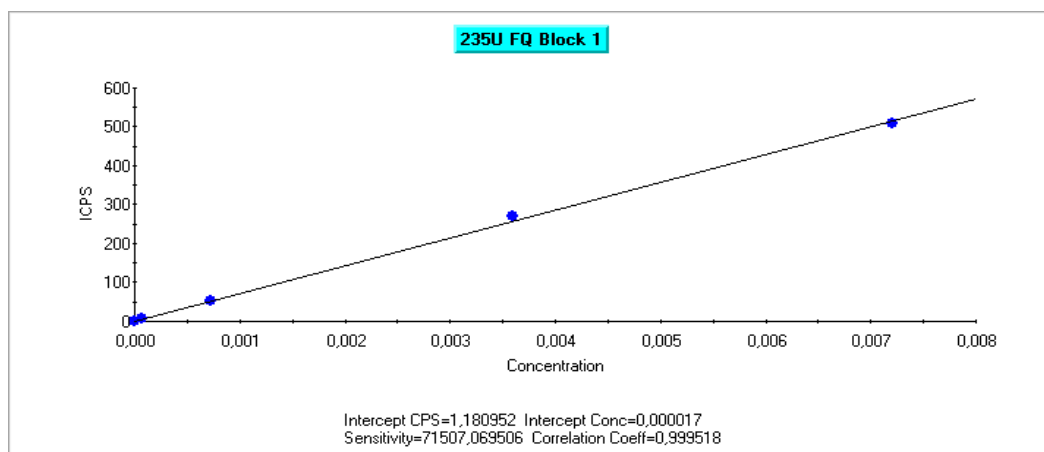


Figura 5: Retta di taratura per l'isotopo dell'Uranio : ^{235}U

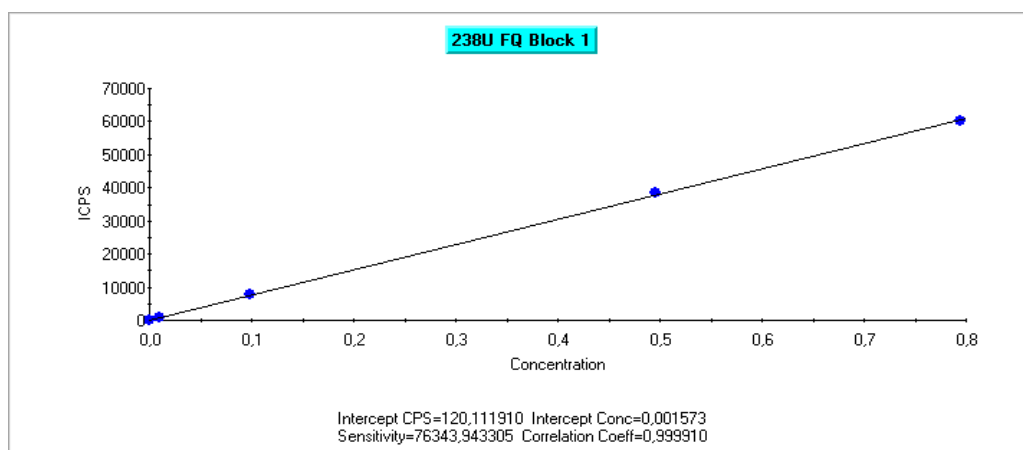


Figura 6: Retta di taratura per l'isotopo dell'Uranio : ^{238}U

APPENDICE 3

REAGENTI ED ANALISI

La determinazione del danno genetico è stata effettuata utilizzando soluzioni preparate usando i seguenti reagenti di grado analitico (Fine Chemical Division, Ashland Chemical Italiana, Baker): HF 50%, H₂O₂ al 30%, soluzione di Ringer (25 mM NaCl, 4 mM KCl, 6 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 26 mM Na₂SO₄, 2 mM TRIS, 55 mM saccarosio), soluzione di lisi (100 mM EDTA, 2.5 M NaCl, 10 mM Tris/HCl, con 10% DMSO and 1% Triton X-100), NaOH, EDTA, 2%, DMSO.

HNO₃ del tipo double distilled PPB/teflon grade 70% (Sigma Aldrich™).

Materiale di riferimento fornito dalla IAEA: Suolo IAEA-375, Acetato di Uranile.

84 lombrichi adulti “ *Eisenia fetida*” (peso fresco circa 0,30 ± 0,045 g), forniti da “Lombrico amico” (Manduria, TA, Italy),.

VALUTAZIONE DEL DANNO GENETICO: COMET ASSAY

Nell'ambiente diversi xenobiotici hanno un'azione genotossica in quanto sono in grado di interagire con il DNA e alterarlo. Alcuni dei fattori che influenzano l'induzione di danni genetici in un organismo esposto ad un agente mutageno possono essere: la sua concentrazione, il suo ingresso e la sua distribuzione nell'organismo, la capacità metabolizzante dei tessuti con cui il composto viene a contatto, la reattività del composto chimico e/o i suoi metabolici con i bersagli cellulari, (soprattutto il DNA), la capacità delle cellule di ripartire o amplificare il danno, l'opportunità di espressione del danno genetico, l'abilità del tessuto bersaglio di riconoscere e sopprimere la moltiplicazione di cellule con proprietà aberranti.

Prima che una lesione indotta al DNA venga fissata o stabilizzata, numerosi tipi di processi enzimatici, quali sistemi per foto riattivazione o escissione, possono provvedere alla sua riparazione e l'effetto finale dell'insulto al DNA può essere nullo. Ciò è particolarmente vero per esposizione a basse dosi in cui gli enzimi del sistema riparativo non sono ancora totalmente saturati dal numero eccessivo di siti di DNA danneggiati.

Gli effetti biologici generati da composti in grado di alterare il DNA sono mutazioni, alterazioni dell'espressione genica, aneuploidie, scambio di cromatidi fratelli e formazione di micronuclei. L'esposizione dell'uomo a sostanze mutagene può portare, da un lato, ad un aumento di mutazioni di cellule germinali, incrementando il rischio di malattie genetiche nelle generazioni successive, e dall'altro, a mutazioni in cellule somatiche che possono causare malattie neoplastiche. Per valutare le potenzialità genotossiche di tali xenobiotici negli organismi si sono sviluppati diversi test di genotossicità: qualsiasi sostanza in grado di generare una risposta positiva in questi test può essere considerata ad azione genotossica.

Nel 1984 Ostling e Johanson furono i primi a sviluppare un metodo per l'indagine al fine di rilevare i danni indotti al DNA su singole cellule utilizzando l'elettroforesi su gel di agarosio. Questa tecnica che prende il nome di elettroforesi su gel a singola cellula (SCGE) o più comunemente Comet Assay (test della cometa), permette lo studio del danno primario al DNA rilevato come rotture a singolo o doppio filamento, siti alcalo-labili e cross-link in cellule eucariotiche in vitro e in vivo in diversi tessuti di diversi organismi (uomo e roditori, pesci, molluschi, uccelli, organismi vegetali, etc....). L'estrema sensibilità del Comet assay e la capacità che ha di misurare il danno al DNA a livello di ciascuna cellula, lo hanno reso uno strumento mediante il quale risulta estremamente rapida la valutazione della genotossicità di sostanze o miscele di interesse. La capacità di registrare il danno in un numero alto di cellule dà forza statistica al metodo e, allo stesso tempo, permette di rilevare l'eterogeneità di risposta in una popolazione di cellule.

Il Comet assay si basa sulla capacità del DNA di migrare, in presenza di un campo elettrico, fuori dalla cellula. Il DNA di cellule danneggiate, visualizzato al microscopio, appare come una cometa con la testa (regione nucleare) e una coda determinata dai frammenti o filamenti di DNA che migrano più velocemente nella direzione dell'anodo; il DNA non danneggiato migra invece molto poco e rimane prevalentemente ai confini del nucleo.

Il Comet assay si articola in diverse fasi principali:

- Preparazione delle cellule su vetrini da microscopia immerse in agarosio
- Lisi delle cellule per rompere le membrane e liberare il DNA
- "Unwinding" del DNA (srotolamento del DNA)
- Elettroforesi
- Neutralizzazione degli alcali

- Colorazione del DNA e visualizzazione dei vetrini al microscopio a fluorescenza

La variazione di alcuni fattori, quali la concentrazione di agarosio nel gel, il pH, la temperatura e la durata dell'unwinding, il voltaggio, l'ampereaggio e la durata dell'elettroforesi, devono essere messe a punto a seconda il tipo di cellula che si vuole analizzare.

PROTOCOLLO SPERIMENTALE :

Le cellule da saggiare, intrappolate in un gel di agarosio (LMP), vengono distribuite su un comune vetrino da microscopio precedentemente preparato. Gli strati di agarosio possono variare a seconda del protocollo, ma generalmente sono due o tre. Sia la concentrazione delle cellule sul vetrino che la concentrazione dell'agarosio sono parametri importanti per una corretta analisi. Infatti un'alta concentrazione di agarosio può limitare la migrazione del DNA durante l'elettroforesi e un'alta concentrazione di cellule può determinare la sovrapposizione delle cellule stesse e quindi di delle eventuali comete. La stabilità del gel sul vetrino è inoltre un passaggio critico del test.

Preparazione dei vetrini

Scartare i vetrini per una migliore adesione del gel di agarosio

Distribuire uniformemente agarosio allo 0.65% sui vetrini

Conservare i vetrini a +4° C over night in modo da far solidificare il gel mantenendo una certa umidità per evitare che si asciughi il gel.

Preparazione del campione celomociti (Eisenia Fetida)

Estrusione celomociti

Soluzione estraente

2.5 mg/ml di Na₂EDTA in una soluzione salina sterile 0.9% NaCl portarla a pH 7.5 e preparare una soluzione al 10% di etanolo assoluto.

Prelevare direttamente i lombrichi (*Eisenia fetida*) dal terreno

- metterli in un beker con dell'acqua per lavarli dal terreno. Asciugarli delicatamente.
- riempire una eppendorf sterile da 1.5 ml con 1ml di soluzione estraente (per ogni lombrico)
- mettere il lombrico nell'eppendorf e dopo averlo tenuto il tempo necessario affinché espelli le cellule celomociti (colore giallino), toglierlo e rimetterli nel terreno.

Ci vorrà circa un mese per riformare i celomociti

Procedere con la centrifugazione a 4° C per 4 minuti a 500 rcf per avere un pellet.

Togliere 0.9 ml di sovrantante e aggiungere 250 µl di PBS sterile. Risospendere delicatamente il pellet. Tenere i campioni in ghiaccio. Procedere con il Comet.

40 µl celomociti + 60 µl PBS

10 µl celomociti + PBS + 80 µl LMP (0.65%) preparazione campione su vetrino

85 µl sul vetrino (per ogni campione) – copri- oggetto – 4° C per 10'

togliere copri- oggetto ; procedere con la lisi

Lisi delle cellule

Dal momento in cui inizia questa operazione è essenziale lavorare al buio, per evitare che il DNA possa essere danneggiato da radiazioni luminose. In questo passaggio vengono lisate le cellule, in modo da rompere le membrane cellulari e consentire la successiva migrazione del DNA durante l'elettroforesi:

- mettere sui vetrini la soluzione di lisi tenuta precedentemente a 4° C per almeno 1 h
- lasciare 30' (sangue), 10'(coelomociti) in soluzione di lisi a 4°C
- sciacquare delicatamente i vetrini con PBS sterile per eliminare qualsiasi residuo di sali e detergenti e immergerli nella stessa soluzione per 2'.

“Unwinding” del DNA

In questa fase i vetrini vengono incubati nel buffer alcalino di elettroforesi (pH>13) per consentire lo srotolamento dei doppi filamenti del DNA in modo tale da esprimere la presenza di siti labili (ALS - Alkile Labile Sites) e le SSB (Single Strand Breaks) come rotture del singolo filamento.

- mettere intorno alla vaschetta di elettroforesi del ghiaccio in modo che la soluzione non si surriscaldi durante la corsa.
- versare il buffer precedentemente preparato, nelle camere laterali della vaschetta
- posizionare i vetrini in modo da non avere spazi fra loro
- rabboccare le camere laterali della vaschetta con il buffer e ricoprire i vetrini in modo da creare uno “strato” uniforme.
- lasciare 15' (sangue) 25' (celomociti)

Elettroforesi

Le condizioni di elettroforesi sono molto importanti.

La procedura da seguire è la seguente:

collegare i cavi alla vaschetta e dopo aver impostato i parametri, 1V/cm - 250 mA -13' per i campioni di sangue; 1V/cm – 300 mA - 20' per i coelomociti, fare partire l'elettroforesi. Prima di fare partire la corsa, bisogna controllare che lo "strato" che ricopre i vetrini sia adeguato al mantenimento dei parametri da noi impostati e quindi una buona riuscita dell'elettroforesi.

Colorazione del DNA e visualizzazione dei vetrini al microscopio a fluorescenza

Possono essere utilizzati diversi fluorocromi per la visualizzazione delle cellule al microscopio: etidio bromuro, propizio induro, DAPI (4,6-diamino-2phenilindole) e SYBR Green I. Mettere in ogni campione pochi µl di colorante, mettere il copri- oggetto aspettare qualche minuto. Una volta colorato, il campione è pronto per l'osservazione al microscopio ottico a fluorescenza (obiettivo 40X). E' preferibile analizzare i vetrini non oltre le 48 ore circa dalla preparazione, per evitare che si asciughi il gel, compromettendo la visione delle cellule. Per avere una stima della frequenza delle tre tipologie di cellule all'interno di ogni vetrino, viene eseguita una conta al microscopio delle cellule classificandole nelle tre categorie nuclei intatti, comete, ghost.

Immagine ottenuta al microscopio con colorazione DAPI

a - Nuclei intatti

Il materiale genetico rimane sostanzialmente confinato all'interno del nucleo; la migrazione nel corso dell'elettroforesi è nulla o minima. Questi nuclei appartengono a cellule con DNA intatto che non hanno subito effetti genotossici rilevanti.

b - Comete

Le comete presentano una "testa" costituita dalla porzione di DNA intatto e una "coda" che contiene i frammenti di DNA minori che hanno migrato durante l'elettroforesi. I nuclei che generano comete hanno subito effetti genotossici che possono essere stimati attraverso la misura dei parametri sotto indicati

c - Ghost

Le ghost si riconoscono per l'assoluta mancanza di un corpo centrale e presentano una forma allargata a "macchia". Il DNA è del tutto frammentato e degradato, fenomeno che non può

essere imputabile unicamente ad un danno genotossico, ma ad un effetto citotossico importante o a cellule apoptotiche giunte alla fine del ciclo vitale.

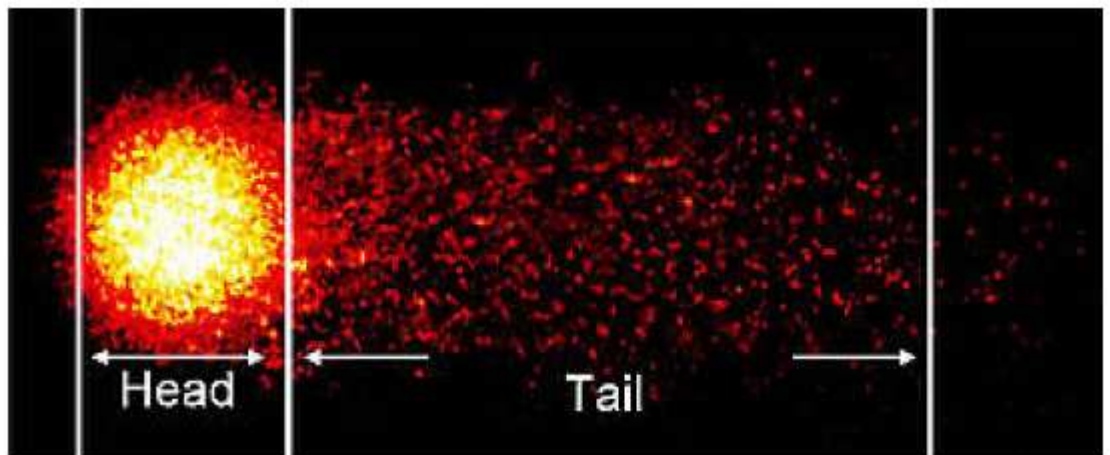


a – nucleo intatto

b – cometa

c - ghost

Lo scopo della visualizzazione dei campioni al microscopio è la quantificazione del numero di cellule che presentano il DNA frammentato rispetto a quelle con nucleo intatto, e la quantificazione del danno genetico subito attraverso misurazioni di determinati parametri strutturali della cometa stessa (**testa** - superficie occupata dal nucleo; **coda** – superficie DNA migrato; **densità** - rapporto tra il numero di pixel e la superficie dell'immagine)



Questi parametri vengono elaborati dal software consentendo di procedere all'analisi quantitativa e quindi, la scelta dei valori da attribuire è fondamentale e può risultare estremamente variabile a seconda delle condizioni sperimentali adottate. Le misure necessarie a determinare l'entità del danno genotossico subito vengono effettuate su n. 50 immagini prese random tra le 100 immagini cellule non *ghost*.

Sulla base di queste misure vengono calcolate:

% di DNA migrato

$$= (\text{densità}_{\text{coda}} \times \text{area}_{\text{coda}}) / [(\text{densità}_{\text{coda}} \times \text{area}_{\text{coda}}) + \text{densità}_{\text{testa}} \times \text{area}_{\text{testa}}] \times 100$$

Tail moment

% DNA migrato X lunghezza coda (tail)

Tail moment Olive

%DNA migrato x distanza tra la testa e il centro di massa del DNA nella coda

Indice di danno

Per calcolare questo indice (DI), le cellule vengono allocate in classi secondo la lunghezza della coda. Per calcolare il DI si somma il rapporto tra la percentuale di cellule appartenenti ad ogni classe ed il corrispettivo numero di classe.

APPENDICE 4

AGENZIA INTERNAZIONALE PER L'ENERGIA ATOMICA (IAEA)

Il monitoraggio ambientale è generalmente effettuato da diverse istituzioni territoriali, che possono utilizzare metodi analitici e protocolli per la raccolta delle informazioni ambientali tra loro diversificati.

La necessità di ottenere la confrontabilità a livello internazionale dei dati ed informazioni, ottenuti con metodi e protocolli tra loro diversi, richiede una strategia per la definizione di procedure armonizzate ed omogenee da utilizzare a livello globale. In questo quadro l'Agenzia Internazionale per l'Energia Atomica (IAEA) assicura la comparabilità e affidabilità dei risultati analitici prodotti nei laboratori degli Stati Membri tramite la produzione di materiali di riferimento (materiali in cui i valori di una o più proprietà sono sufficientemente omogenei e ben stabiliti da misurazioni adeguate) e l'organizzazione di circuiti di interconfronto per valutare la competenza dei laboratori di analisi e poter anche armonizzare le azioni di monitoraggio/controllo ambientale.

L'Agenzia Internazionale per l'Energia Atomica (IAEA) ha inoltre la responsabilità programmatica di fornire assistenza ai laboratori degli Stati Membri per assicurare la comparabilità e affidabilità dei risultati analitici.

L'affidabilità e la comparabilità nel tempo dei dati prodotti dai laboratori viene generalmente garantita tramite l'effettuazione di circuiti di interconfronto, in cui vengono utilizzati materiali di riferimento per valutare le prestazioni analitiche dei diversi laboratori ed individuare eventuali scostamenti tra valori misurati e valori di riferimento. La partecipazione alle riunioni di discussione tecnica tra i partecipanti ai circuiti di interconfronto, consente inoltre ai diversi laboratori di predisporre, dove necessario, le opportune azioni correttive. In questo quadro, le attività della IAEA sono anche indirizzate al mantenimento di sistemi di misura a livello globale, da utilizzare nel caso di emissioni intenzionali e/o incidentali di radionuclidi nell'ambiente. Al fine di ottemperare agli impegni programmatici e garantire un sistema di misura della radioattività ambientale in grado di dare risposte rapide ed affidabili a livello globale, la IAEA coordina una rete internazionale dei laboratori analitici per la misura di radioattività ambientale: la rete ALMERA.

APPENDICE 5

ISTITUTO PER LA RADIOPROTEZIONE

L'Istituto di Radioprotezione (IRP) è dislocato nei Centri di Ricerca ENEA di Bologna, Casaccia, Frascati, Saluggia e Trisaia ed opera trasversalmente per i Dipartimenti in tutte le sedi ENEA. L'attività dell'Istituto di Radioprotezione si articola in:

- **ricerca, sviluppo e qualificazione:** Le attività di ricerca sono rivolte prevalentemente allo sviluppo di tecnologie, all'ottimizzazione delle tecniche di dosimetria ambientale e individuale, alla soluzione dei problemi della pratica radioprotezionistica, a studi di sicurezza radiologica per impianti radiogeni ed al continuo aggiornamento delle competenze specialistiche in questo campo;
- **sorveglianza fisica di radioprotezione:** L'attività di sorveglianza fisica di radioprotezione è svolta attualmente presso 9 centri ENEA e riguarda 3 impianti nucleari e le pratiche di categoria A e B (ex D.Lgs.230/95) svolte in circa 50 laboratori. L'attività comprende: - funzione di esperto qualificato per le attività con rischio da radiazioni ionizzanti; - sorveglianza di radioprotezione operativa (dosimetria ambientale, sopralluoghi periodici negli impianti/laboratori, misure di caratterizzazione radiologica degli ambienti di lavoro); - monitoraggio della radioattività ambientale secondo le prescrizioni tecniche ministeriali degli impianti nucleari del Centro Ricerca della Casaccia; - dosimetria individuale esterna ed interna per i lavoratori ENEA esposti alle radiazioni; mantenimento dell'archivio dosimetrico per i lavoratori esposti;
- **prestazione di servizi tecnici per terzi dosimetria e taratura strumentazione:** La necessità di svolgere funzioni tecniche di radioprotezione e di servizio dosimetrico per l'ENEA consente a IRP di mantenere viva una serie di competenze e di tecnologie, che sono oggetto di servizio svolto per terzi (oltre 400 utenti fra aziende private e pubbliche amministrazioni) secondo un tariffario approvato dall'Ente.

L'Istituto costituisce una realtà di competenze riunite in un sistema integrato, unico nel suo genere in campo nazionale, in grado di affrontare un largo spettro di problematiche legate alla dosimetria e, in generale, alla protezione dalle radiazioni ionizzanti. Tali competenze sono una risorsa a disposizione dell'ENEA e dell'intero Paese, per il quale l'Istituto può svolgere una funzione di supporto all'attività legislativa, in connessione con l'attuazione delle direttive internazionali da parte del governo italiano, e la funzione di organo tecnico, operativo nei centri nucleari e nelle pratiche con rischio da radiazioni ionizzanti, al servizio delle istituzioni governative in materia di radioprotezione.

Inoltre l'Istituto svolge il compito istituzionale di formazione su temi di radioprotezione, attraverso corsi, seminari e lezioni in occasioni di giornate di studio e convegni di radioprotezione o presso Università. Particolare risalto va dato all'attività di tirocinio formativo per aspiranti Esperti Qualificati (richiesto per legge) svolta presso gli impianti/laboratori ENEA a cura degli Esperti Qualificati IRP.

Le attività dell'Istituto sono inserite nel contesto della ricerca internazionale, in particolare europea. Questa integrazione è garantita anche dalla partecipazione a gruppi di lavoro e organismi internazionali (ISO, IEC, IAEA, EURADOS) e commissioni di riferimento nel campo della radioprotezione (ICRP, ICRU) degli esperti IRP. Inoltre, l'Istituto è Membro Votante di EURADOS (EUropean RAdiation DOSimetry Group) e partner dei Progetti Europei:

- a. IDEAS - Contratto N. FIKR-CT2001-00160
- b. ENETRAP - Contratto N. (FI6O) 516529
- c. CONRAD - Contratto N. (FP6) 12684

APPENDICE 6

Il laboratorio di Sorveglianza Ambientale del Sito ENEA della Casaccia

Nel corso degli anni l'Ente ha subito alcune ristrutturazioni che hanno portato a sviluppare diverse linee di ricerca e di sperimentazione spostando l'interesse primitivo della ricerca sul Nucleare, come applicazione pacifica dell'impiego dell'Energia Nucleare, ad attività più significativamente volte alla ricerca su sistemi di produzioni energetiche diversificate. Questo passaggio è stato quanto mai avvertito con la moratoria del 1986, a seguito di un referendum popolare con il quale in Italia è stato posto fine all'impiego delle attività nucleari come mezzo di produzione dell'energia.

Pur in un generale depotenziamento delle attività strettamente "Nucleari", il Laboratorio Misure Ambientali della Casaccia ha tuttavia continuato a sviluppare tutte le attività previste per gli Impianti nucleari di ricerca del Centro secondo quanto disposto nel capo VII° del DPR 185 del 1964 e del successivo DGIs 230 del 1995 in merito alla sorveglianza ambientale dei siti. In particolare l'art. 54 "Sorveglianza locale della radioattività ambientale" recita:

Il titolare dell'autorizzazione o del nulla osta e l'esercente sono tenuti a provvedere alle attrezzature per la sorveglianza permanente del grado di radioattività dell'atmosfera, delle acque, del suolo e degli alimenti nelle zone sorvegliate e nelle zone limitrofe ed alle relative determinazioni.

I compiti assegnati al laboratorio di sorveglianza ambientale comprendono diverse linee di attività che vanno riferite direttamente sia al territorio che costituisce il sito nucleare della Casaccia che alle attività più strettamente inerenti i laboratori e gli impianti ivi presenti.

1. Rete di sorveglianza ambientale

E' l'attività istituzionale alla quale competono tutti gli interventi volti alla determinazione della presenza o meno nel territorio di contaminazioni acute o croniche derivanti dalle installazioni nucleari presenti nel sito.

La rete di controllo tiene conto di tutti i parametri ambientali che caratterizzano l'area "Casaccia":

- ❖ idrologia superficiale e sotterranea

- ❖ orografia
- ❖ demografia
- ❖ studio dei venti dominanti e delle relative classi di stabilità atmosferica
- ❖ produzione agro-alimentare
- ❖ produzione casearia

Sulla base di tutto questo è organizzata la rete locale con le relative frequenze di prelievo e di misura.

Le determinazioni di routine previste sono:

- ❖ Misura della attività totale di emettitori alfa
- ❖ Misura della attività totale di emettitori beta
- ❖ Misura della attività totale di emettitori gamma su matrici ambientali ridotte a geometria nota
- ❖ Misura della attività da Isotopi del Plutonio per analisi spettrometrica alfa
- ❖ Misura della attività da Sr-90 per estrazione e decadimento dell'Y-90

La continuità delle attività, dettata dai precisi obblighi di legge già detti e da una doverosa attenzione verso tutto il patrimonio di persone, beni e dell'ambiente sottoposti a questi controlli è documentata con rapporti annuali.

2. Controllo sugli scarichi degli effluenti liquidi radioattivi dopo trattamento di decontaminazione nell'ambiente esterno al Centro

3. Intercettazioni di contaminazioni ambientali derivanti da sostanze marcate con radiofarmaci per terapie e/o diagnosi

4. Misure per Enti, Istituzioni ed Amministrazioni statali

5. Verifica delle condizioni di trasporto di colli radioattivi destinati ai laboratori del Centro per le attività di ricerca.

6. Strumentazione

L'evoluzione tecnologica è alla base delle innovazioni apportate ai vari sistemi di misura.

La strumentazione attualmente funzionante in Laboratorio consente la misura simultanea di almeno quattro campioni per analisi spettrometrica sia gamma che alfa mentre un cambiacampioni da 50 campioni e un multicontatore da 10 campioni a basso fondo con

contatore proporzionale a flusso di gas permettono la misura simultanea per emettitori alfa e/o beta. Questa potenzialità consente, oltre alle attività di normale routine, misure contemporanee di campioni che rivestano particolare carattere di urgenza/emergenza.

7. Interconfronti

La partecipazione agli interconfronti è una opportunità che permette la verifica continua del grado di raffinatezza e precisione delle proprie misure. Già dal 1990 il Laboratorio ha partecipato agli interconfronti proposti dall'Istituto di Metrologia delle Radiazioni Ionizzanti dell'Enea ed in anni recenti ai Proficiency test proposti per interconfronto con i Laboratori internazionali inseriti nella rete di emergenza IAEA-ALMERA.

- ❖ **1990** taratura e interconfronto su misure Beta (Sr-90) e spettrometria gamma (soluzioni acquose)
- ❖ **1991** interconfronto su misure di spettrometria Gamma (emettitori gamma nel suolo)
- ❖ **1996** taratura e interconfronto su misure di spettrometria gamma (soluzioni acquose d=1)
- ❖ **2004** Interconfronto su misure di spettrometria Gamma (emettitori nel particolato atmosferico)
- ❖ **2006** Proficiency test on the determination of gamma emitting radionuclides
- ❖ **2007** Proficiency test on the determination of radionuclides in soil, spinach and water,
- ❖ **2008** Proficiency test on the determination of natural radionuclides in phosphogypsum and spiked water
- ❖ **2009** Proficiency test on determination of gamma emitting radionuclides on simulated air filters.

8. Attuazione del piano di emergenza nucleare esterna

Una sezione del Laboratorio è da sempre impegnata nell'attuazione del piano di emergenza esterno del Centro Casaccia. Il sistema prevede una unità di interfaccia tra la Direzione di Emergenza e le unità di controllo e misure che svolgono la loro attività direttamente nel territorio e permette il controllo del flusso dei dati in caso di emergenza, pianifica l'intervento nella zona di interesse in accordo con il Direttore di Emergenza Esterna, mantiene efficiente la strumentazione in dotazione, verifica con frequenza annuale eventuali variazioni della viabilità, programma corsi di addestramento per il personale chiamato all'intervento in caso di emergenza.

9. Prospettive

Tra i compiti istituzionali è fondamentale mantenere un livello costantemente aggiornato circa:

- ❖ la conoscenza del territorio, la viabilità ed i nuovi insediamenti;
- ❖ le produzioni locali di aziende agricole e zootecniche
- ❖ l'utilizzo del suolo
- ❖ l'utilizzo delle acque

Evidentemente le evoluzioni relative ai mercati, la variazione della dieta, la demografia e le relative integrazioni nel territorio di notevoli raggruppamenti e comprensori abitativi, la modifica degli allevamenti e delle colture sono oggetto di un aggiornamento continuo.

In ordine a tutto questo, oltre la normale rete di sorveglianza, che è basata su punti fissi, l'ufficio integra molti altre stazioni di controllo che vengono di volta in volta studiate in funzione delle diverse condizioni e/o situazioni.

Le competenze acquisite, la potenzialità della strumentazione e delle determinazioni che possono essere effettuate pongono oggi il Laboratorio in grado di orientarsi verso un sistema per la gestione della qualità.

E' in questo ambito che si stanno aggiornando delle procedure che descrivono le misure radiometriche per assicurare la conformità del servizio secondo i criteri base di:

- ❖ definizione delle procedure di laboratorio
- ❖ gestione delle risorse
- ❖ attività di controllo del sistema in Qualità
- ❖ analisi dei dati

il tutto volto all'ottenimento della certificazione ISO ed al successivo accreditamento del laboratorio per ogni linea di misura.

Bibliografia

[1] *Il laboratorio di Sorveglianza Ambientale del Sito ENEA della Casaccia: oltre 40 anni di controlli e misure radiometriche per la sicurezza delle persone, dell'ambiente e dei beni.*

R. Stefanoni; E. Borra; N. Di Marco; E. Soldano; P. Battisti . Congresso Airp 2009- Frascati

Ringraziamenti

Ringrazio tutto l'Istituto di Radioprotezione che mi ha ospitato presso i propri laboratori durante questo lavoro di tesi, in particolare la responsabile dell'istituto Elena Fantuzzi e il mio tutor in ENEA nonché responsabile dei laboratori dell'istituto, Paolo Battisti.

Inoltre un grazie a:

-- il laboratorio di Sorveglianza Ambientale del C.R. ENEA-Casaccia : Roberto Stefanoni, Giorgia Iurlaro, Elvio Soldano ,Nadia Di Marco, Giuseppe Antonacci, Luciano Sperandio, Enrico Borra.

-- il laboratorio di Radiotossicologia del C.R. ENEA-Casaccia.

-- la dottoressa Anna Giovannetti, M.L. Cozzella e S. Fesenko che hanno ideato e curato il progetto dell' Uso dell'organismo di Riferimento *Eisenia Fetida* per lo studio di eco-tossicità di U e DU.

Ed infine:

un grazie particolare al prof. Diego Ferri e la prof.ssa Carla Manfredi per il loro sostegno e aiuto; due persone che per me sono state esempio di grande professionalità e umanità.